

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2012142142/10, 01.04.2011

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
02.04.2010 US 61/320,414

(43) Дата публикации заявки: 10.05.2014 Бюл. № 13

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 02.11.2012(86) Заявка РСТ:
US 2011/030873 (01.04.2011)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2011/123745 (06.10.2011)Адрес для переписки:
190000, Санкт-Петербург, ВОХ-1125,
ПАТЕНТИКА

(71) Заявитель(и):

КУРНА, ИНК. (US)

(72) Автор(ы):

КОЛЛАРД Джозеф (US),
ХОРКОВА ШЕРМАН Ольга (US)(54) **ЛЕЧЕНИЕ КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩИХ ФАКТОРОВ 3 (CSF3) ЗАБОЛЕВАНИЙ,
СВЯЗАННЫХ С ТОРМОЖЕНИЕМ ЕСТЕСТВЕННЫХ АНТИСМЫСЛОВЫХ РНК CSF3**

(57) Формула изобретения

1. Способ модулирования функции и/или экспрессии полинуклеотида колониестимулирующего фактора 3 (CSF3) в клетках или тканях пациента *in vivo* или *in vitro*, включающий:

приведение указанных клеток или тканей в контакт с по меньшей мере одним антисмысловым олигонуклеотидом, составляющим в длину от 5 до 30 нуклеотидов, причем указанный по меньшей мере один олигонуклеотид имеет последовательность, по меньшей мере на 50% идентичную последовательности, обратной комплементарной полинуклеотиду, содержащему от 5 до 30 последовательных нуклеотидов в рамках от 1 до 742 нуклеотида SEQ ID NO:2; с модулированием, таким образом, функции и/или экспрессии полинуклеотида колониестимулирующего фактора 3 (CSF3) в клетках или тканях пациента *in vivo* или *in vitro*.

2. Способ модулирования функции и/или экспрессии полинуклеотида колониестимулирующего фактора 3 (CSF3) в клетках или тканях пациента *in vivo* или *in vitro*, включающий:

приведение указанных клеток или тканей в контакт с по меньшей мере одним антисмысловым олигонуклеотидом, составляющим в длину от 5 до 30 нуклеотидов, причем указанный по меньшей мере один олигонуклеотид имеет последовательность, по меньшей мере на 50% идентичную последовательности, обратной комплементарной природной антисмысловой последовательности полинуклеотида

колониестимулирующего фактора 3 (CSF3); с модулированием, таким образом, функции и/или экспрессии полинуклеотида колониестимулирующего фактора 3 (CSF3) в клетках или тканях пациента *in vivo* или *in vitro*.

3. Способ модулирования функции и/или экспрессии полинуклеотида колониестимулирующего фактора 3 (CSF3) в клетках или тканях пациента *in vivo* или *in vitro*, включающий:

приведение указанных клеток или тканей в контакт с по меньшей мере одним антисмысловым олигонуклеотидом, составляющим в длину от 5 до 30 нуклеотидов, причем указанный олигонуклеотид имеет последовательность, по меньшей мере на 50% идентичную антисмысловому олигонуклеотиду к указанному полинуклеотиду колониестимулирующего фактора 3 (CSF3); с модулированием, таким образом, функции и/или экспрессии полинуклеотида колониестимулирующего фактора 3 (CSF3) в клетках или тканях пациента *in vivo* или *in vitro*.

4. Способ модулирования функции и/или экспрессии полинуклеотида колониестимулирующего фактора 3 (CSF3) в клетках или тканях пациента *in vivo* или *in vitro*, включающий:

приведение указанных клеток или тканей в контакт с по меньшей мере одним антисмысловым олигонуклеотидом, который нацелен на участок природного антисмыслового олигонуклеотида указанного полинуклеотида колониестимулирующего фактора 3 (CSF3); с модулированием, таким образом, функции и/или экспрессии указанного полинуклеотида колониестимулирующего фактора 3 (CSF3) в клетках или тканях пациента *in vivo* или *in vitro*.

5. Способ по п.4, отличающийся тем, что функцию и/или экспрессию указанного колониестимулирующего фактора 3 (CSF3) повышают *in vivo* или *in vitro* относительно контроля.

6. Способ по п.4, отличающийся тем, что указанный по меньшей мере один антисмысловой олигонуклеотид нацелен на природную антисмысловую последовательность полинуклеотида колониестимулирующего фактора 3 (CSF3).

7. Способ по п.4, отличающийся тем, что указанный по меньшей мере один антисмысловой олигонуклеотид нацелен на последовательность нуклеиновой кислоты, содержащую кодирующие и/или некодирующие последовательности нуклеиновых кислот полинуклеотида колониестимулирующего фактора 3 (CSF3).

8. Способ по п.4, отличающийся тем, что указанный по меньшей мере один антисмысловой олигонуклеотид нацелен на перекрывающиеся и/или неперекрывающиеся последовательности полинуклеотида колониестимулирующего фактора 3 (CSF3).

9. Способ по п.4, отличающийся тем, что указанный по меньшей мере один антисмысловой олигонуклеотид содержит одну или более модификаций, выбранных из следующих: по меньшей мере один модифицированный фрагмент сахара, по меньшей мере одна модифицированная межнуклеозидная связь, по меньшей мере один модифицированный нуклеотид и их комбинации.

10. Способ по п.9, отличающийся тем, что указанные одна или более модификаций включают по меньшей мере один модифицированный фрагмент сахара, выбранный из следующих: фрагмент 2'-О-метоксиэтилмодифицированного сахара, фрагмент 2'-метоксимодифицированного сахара, фрагмент 2'-О-алкилмодифицированного сахара, фрагмент бициклического сахара и их комбинации.

11. Способ по п.9, отличающийся тем, что указанные одна или более модификаций включают по меньшей мере одну модифицированную межнуклеозидную связь, выбранную из: фосфотиоата, 2'-О-метоксиэтила (МОЭ), 2'-фтора, алкилфосфоната, фосфородитиоата, алкилфосфонотиоата, фосфорамидата, карбамата, карбоната, фосфата триэфира, ацетамидата, карбоксиметилового эфира и их комбинаций.

12. Способ по п.9, отличающийся тем, что указанные одна или несколько модификаций включают по меньшей мере один модифицированный нуклеотид, выбранный из: пептидной нуклеиновой кислоты (ПНК), закрытой нуклеиновой кислоты (ЗНК), арабино-нуклеиновой кислоты (ФАНК), аналога, производного и их комбинаций.

13. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанный по меньшей мере один олигонуклеотид содержит по меньшей мере одну олигонуклеотидную последовательность, представленную в последовательностях SEQ ID NO:3-7.

14. Способ модулирования функции и/или экспрессии гена колониестимулирующего фактора 3 (CSF3) в клетках или тканях млекопитающих *in vivo* или *in vitro*, включающий:

приведение указанных клеток или тканей в контакт по меньшей мере с одним олигонуклеотидом малой интерферирующей РНК (миРНК), составляющим в длину 5-30 нуклеотидов, причем указанный по меньшей мере один олигонуклеотид миРНК специфичен для антисмыслового полинуклеотида полинуклеотида колониестимулирующего фактора 3 (CSF3), причем указанный по меньшей мере один олигонуклеотид миРНК имеет последовательность, по меньшей мере на 50% идентичную комплементарной последовательности, состоящей из по меньшей мере приблизительно пяти последовательных нуклеиновых кислот антисмысловой и/или смысловой молекулы нуклеиновой кислоты указанного полинуклеотида колониестимулирующего фактора 3 (CSF3); и модулирование функции и/или экспрессии колониестимулирующего фактора 3 (CSF3) в клетках или тканях млекопитающих *in vivo* или *in vitro*.

15. Способ по п.14, отличающийся тем, что указанный олигонуклеотид имеет последовательность, по меньшей мере на 80% идентичную последовательности, состоящей из по меньшей мере приблизительно пяти последовательных нуклеиновых кислот, комплементарной антисмысловой и/или смысловой молекуле нуклеиновой кислоты указанного полинуклеотида колониестимулирующего фактора 3 (CSF3).

16. Способ модулирования функции и/или экспрессии колониестимулирующего фактора 3 (CSF3) в клетках или тканях млекопитающих *in vivo* или *in vitro*, включающий:

приведение указанных клеток или тканей в контакт по меньшей мере с одним антисмысловым олигонуклеотидом, составляющим в длину приблизительно 5-30 нуклеотидов, специфичным для некодирующих и/или кодирующих последовательностей смысловой и/или природной антисмысловой цепи полинуклеотида колониестимулирующего фактора 3 (CSF3), причем указанный по меньшей мере один антисмысловый олигонуклеотид имеет последовательность, по меньшей мере на 50% идентичную по меньшей мере одной последовательности нуклеиновой кислоты из представленных в последовательностях SEQ ID NO:1 и 2; и модулирование функции и/или экспрессии указанного колониестимулирующего фактора 3 (CSF3) в клетках или тканях млекопитающих *in vivo* или *in vitro*.

17. Синтетический модифицированный олигонуклеотид, содержащий по меньшей мере одну модификацию, причем указанная по меньшей мере одна модификация выбрана из: по меньшей мере одного модифицированного фрагмента сахара; по меньшей мере одной модифицированной межнуклеотидной связи; по меньшей мере одного модифицированного нуклеотида; и их комбинаций; причем указанный олигонуклеотид представляет собой антисмысловое соединение, которое гибридизуется с геном колониестимулирующего фактора 3 (CSF3) и модулирует его функцию и/или экспрессию *in vivo* или *in vitro* по сравнению с контролем.

18. Олигонуклеотид по п.17, отличающийся тем, что указанная по меньшей мере одна модификация содержит межнуклеотидную связь, выбранную из группы, состоящей из: фосфотиоата, алкилфосфоната, фосфородитиоата, алкилфосфонотиоата, фосфорамидата, карбамата, карбоната, фосфата триэфира, ацетамидата, карбоксиметилового эфира и их комбинаций.

19. Олигонуклеотид по п.17, отличающийся тем, что указанный олигонуклеотид содержит по меньшей мере одну фосфотиоатную межнуклеотидную связь.

20. Олигонуклеотид по п.17, отличающийся тем, что указанный олигонуклеотид содержит остов из фосфотиоатных межнуклеотидных связей.

21. Олигонуклеотид по п.17, отличающийся тем, что указанный олигонуклеотид содержит по меньшей мере один модифицированный нуклеотид, причем указанный модифицированный нуклеотид выбран из: пептидной нуклеиновой кислоты, закрытой нуклеиновой кислоты (ЗНК), их аналога, производного и комбинации.

22. Олигонуклеотид по п.17, отличающийся тем, что указанный олигонуклеотид содержит множество модификаций, причем указанные модификации включают модифицированные нуклеотиды, выбранные из: фосфотиоата, алкилфосфоната, фосфородитиоата, алкилфосфонотиоата, фосфорамидата, карбамата, карбоната, фосфата триэфира, ацетамидата, карбоксиметилового эфира и их комбинации.

23. Олигонуклеотид по п.17, отличающийся тем, что указанный олигонуклеотид содержит множество модификаций, причем указанные модификации включают модифицированные нуклеотиды, выбранные из: пептидных нуклеиновых кислот, закрытых нуклеиновых кислот (ЗНК), их аналогов, производных и комбинаций.

24. Олигонуклеотид по п.17, отличающийся тем, что указанный олигонуклеотид содержит по меньшей мере один модифицированный фрагмент сахара, выбранный из: фрагмента 2'-О-метоксиэтилмодифицированного сахара, фрагмента 2'-метоксимодифицированного сахара, фрагмента 2'-О-алкилмодифицированного сахара, фрагмента бициклического сахара и их комбинации.

25. Олигонуклеотид по п.17, отличающийся тем, что указанный олигонуклеотид содержит множество модификаций, причем указанные модификации включают модифицированные фрагменты сахара, выбранные из: фрагмента 2'-О-метоксиэтилмодифицированного сахара, фрагмента 2'-метоксимодифицированного сахара, фрагмента 2'-О-алкилмодифицированного сахара, фрагмента бициклического сахара и их комбинации.

26. Олигонуклеотид по п.17, отличающийся тем, что длина указанного олигонуклеотида составляет по меньшей мере приблизительно 5-30 нуклеотидов, и указанный олигонуклеотид гибридизуется с антисмысловой и/или смысловой цепью полинуклеотида колониестимулирующего фактора 3 (CSF3), причем указанный олигонуклеотид имеет последовательность, по меньшей мере приблизительно на 20% идентичную комплементарной последовательности, состоящей из по меньшей мере приблизительно пяти последовательных нуклеиновых кислот антисмысловых и/или смысловых кодирующих и/или не кодирующих последовательностей нуклеиновых кислот указанного полинуклеотида колониестимулирующего фактора 3 (CSF3).

27. Олигонуклеотид по п.17, отличающийся тем, что указанный олигонуклеотид имеет последовательность по меньшей мере приблизительно на 80% идентичную комплементарной последовательности из по меньшей мере приблизительно пяти последовательных нуклеиновых кислот антисмысловой и/или смысловой кодирующей и/или не кодирующей последовательности нуклеиновой кислоты указанного полинуклеотида колониестимулирующего фактора 3 (CSF3).

28. Олигонуклеотид по п.17, отличающийся тем, что указанный олигонуклеотид гибридизуется по меньшей мере с одним полинуклеотидом колониестимулирующего фактора 3 (CSF3) и модулирует его экспрессию и/или функцию *in vivo* или *in vitro* по сравнению с контролем.

29. Олигонуклеотид по п.17, отличающийся тем, что указанный олигонуклеотид содержит последовательности, представленные в последовательностях SEQ ID NO:3-7.

30. Композиция, содержащая один или более олигонуклеотид, специфичный для одного или более полинуклеотида колониестимулирующего фактора 3 (CSF3), причем указанные полинуклеотиды включают антисмысловые последовательности, комплементарные последовательности, аллели, гомологи, изоформы, варианты, производные, мутанты, фрагменты или их комбинации.

31. Композиция по п.30, отличающаяся тем, что указанные олигонуклеотиды имеют последовательности, по меньшей мере приблизительно на 40% идентичные любым нуклеотидным последовательностям, представленным в последовательностях SEQ ID NO:3-7.

32. Композиция по п.30, отличающаяся тем, что указанные олигонуклеотиды содержат нуклеотидные последовательности, представленные в последовательностях SEQ ID NO:3-7.

33. Композиция по п.32, отличающаяся тем, что олигонуклеотиды, представленные в последовательностях SEQ ID NO:3-7, содержат одну или более модификацию или замену.

34. Композиция по п.33, отличающаяся тем, что указанная одна или более модификация выбрана из: фосфотиоата, метилфосфоната, пептидной нуклеиновой кислоты, молекулы закрытой нуклеиновой кислоты (ЗНК) и их комбинации.

35. Способ предотвращения или лечения заболевания, связанного по меньшей мере с одним полинуклеотидом колониестимулирующего фактора 3 (CSF3) и/или по меньшей мере одним кодируемым указанным полинуклеотидом продуктом, включающий:

введение пациенту терапевтически эффективной дозы по меньшей мере одного антисмыслового олигонуклеотида, который связывается с природной антисмысловой последовательностью указанного по меньшей мере одного полинуклеотида колониестимулирующего фактора 3 (CSF3) и модулирует экспрессию указанного по меньшей мере одного полинуклеотида колониестимулирующего фактора 3 (CSF3); обеспечивая, таким образом, предотвращение или лечение заболевания, связанного с указанным по меньшей мере одним полинуклеотидом колониестимулирующего фактора 3 (CSF3) и/или с по меньшей мере одним кодируемым указанным полинуклеотидом продуктом.

36. Способ по п.35, отличающийся тем, что заболевание, связанное с указанным по меньшей мере одним полинуклеотидом колониестимулирующего фактора 3 (CSF3) выбрано из заболевания или расстройства, связанного с аномальной функцией и/или экспрессией CSF3, рака, нейтропении, неоплазмы, идиопатической тромбоцитопенической пурпуры (ИТП), гематологического заболевания или расстройства, раны, старения кожи, кожного заболевания или расстройства, морщин, дефектов кожи (например, повреждения кожи, шрамов, повреждения кожи в результате болезни или воздействия солнечного света и т.д.), заболевания или расстройства, связанного с отложением коллагена, заболевания или расстройства, связанного с нарушением нейрогенеза, заболевания или расстройства, связанного с нарушением образования гранулоцитов, сердечно-сосудистого заболевания или расстройства, диабетической периферической нейропатии, синдрома Фелти, системной красной волчанки (СКВ), патологического состояния, иммунного заболевания или расстройства, инфекционного заболевания или расстройства, аутоиммунного заболевания или расстройства, воспалительного заболевания или расстройства, поддержания трансплантации органов, реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ), воспаления, заболевания или расстройства с потерей костной массы, заболевания или расстройства костного мозга, пролиферативного заболевания или расстройства, неврологического заболевания или расстройства и хронического воспалительного заболевания или расстройства.

37. Способ идентификации и выбора по меньшей мере одного олигонуклеотида для введения *in vivo*, включающий: выбор целевого полинуклеотида, связанного с болезненным состоянием; идентификацию по меньшей мере одного олигонуклеотида, содержащего по меньшей мере пять последовательных нуклеотидов, комплементарных выбранному целевому полинуклеотиду или полинуклеотиду, который является антисмысловым к выбранному целевому полинуклеотиду; определение температуры плавления гибрида антисмыслового олигонуклеотида и целевого полинуклеотида или полинуклеотида, который является антисмысловым к выбранному целевому полинуклеотиду при гибридизации в жестких условиях; и выбор по меньшей мере одного олигонуклеотида для введения *in vivo* на основании полученной информации.

RU 2012142142 A

RU 2012142142 A