

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 1 区分

【発行日】令和 1 年 8 月 22 日 (2019.8.22)

【公表番号】特表 2018-520683 (P2018-520683A)

【公表日】平成 30 年 8 月 2 日 (2018.8.2)

【年通号数】公開・登録公報 2018-029

【出願番号】特願 2018-501169 (P2018-501169)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/113 (2010.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 15/115 (2010.01)

【F I】

C 1 2 N 15/113 Z N A Z

C 1 2 N 15/09 1 1 0

C 1 2 N 15/115

【手続補正書】

【提出日】令和 1 年 7 月 11 日 (2019.7.11)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

第 1 の二本鎖 s i R N A 分子及び第 2 の二本鎖 s i R N A 分子を含む多標的分子であって、前記第 1 の s i R N A のアンチセンス鎖がその 3' 末端に一本鎖突出部を含み、及び前記第 2 の s i R N A のアンチセンス鎖がその 3' 末端に一本鎖突出部を含み、前記 2 つの一本鎖突出部の核酸配列が互いに対して実質的に相補的であり、前記 2 つの一本鎖突出部が二重鎖を形成し、さらに前記第 1 の s i R N A 及び前記第 2 の s i R N A がそれぞれ少なくとも 1 つのリガンドと共役する、多標的分子。

【請求項 2】

第 1 の二本鎖 s i R N A 分子及び第 2 の二本鎖 s i R N A 分子を含む多標的分子であって、前記第 1 の s i R N A のセンス鎖がその 3' 末端に一本鎖突出部を含み、及び前記第 2 の s i R N A のアンチセンス鎖がその 3' 末端に一本鎖突出部を含み、前記センス鎖の一本鎖突出部の核酸配列が前記アンチセンス鎖の一本鎖突出部のヌクレオチド配列と実質的に相補的であり、前記 2 つの一本鎖突出部が二重鎖を形成し、さらに前記第 1 の s i R N A 及び前記第 2 の s i R N A がそれぞれ少なくとも 1 つのリガンドと共役する、多標的分子。

【請求項 3】

前記第 1 及び第 2 の s i R N A が、独立に、前記第 1 の s i R N A 及び前記第 2 の s i R N A が一緒に連結されていない場合と比べて少なくとも 70% まで、それぞれの標的核酸の遺伝子発現を調節する、請求項 1 又は 2 に記載の多標的分子。

【請求項 4】

前記第 1 の s i R N A が第 1 の標的核酸の遺伝子発現を調節し、かつ前記第 2 の s i R N A が第 2 の核酸の遺伝子発現を調節する、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の多標的分子。

【請求項 5】

前記第 1 の標的核酸と前記第 2 の標的核酸が同じである、請求項 4 に記載の多標的分子

。

【請求項 6】

前記第 1 の *s i R N A* 及び前記第 2 の *s i R N A* が同じ核酸配列をターゲティングする、請求項 5 に記載の多標的分子。

【請求項 7】

少なくとも 1 つのリガンドがセンス鎖の 1 つと共役する、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の多標的分子。

【請求項 8】

少なくとも 1 つのリガンドが、前記センス鎖の 1 つの 3' 末端、5' 末端又は内部位置において共役する、請求項 7 に記載の多標的分子。

【請求項 9】

少なくとも 1 つのリガンドがアンチセンス鎖の 1 つと共役する、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の多標的分子。

【請求項 10】

少なくとも 1 つのリガンドが、前記アンチセンス鎖の 1 つの 3' 末端、5' 末端又は内部位置において共役する、請求項 9 に記載の多標的分子。

【請求項 11】

第 1 のリガンドがセンス鎖と共役し、かつ 第 2 のリガンドがアンチセンス鎖と共役する、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の多標的分子。

【請求項 12】

前記第 1 のリガンドと共役するセンス鎖が前記第 2 の *s i R N A* に由来し、かつ 前記第 2 のリガンドと共役するアンチセンス鎖が前記第 1 の *s i R N A* に由来する、請求項 11 に記載の多標的分子。

【請求項 13】

前記第 1 のリガンドと共役するセンス鎖が前記第 1 の *s i R N A* に由来し、かつ 前記第 2 のリガンドと共役するアンチセンス鎖が前記第 2 の *s i R N A* に由来する、請求項 11 に記載の多標的分子。

【請求項 14】

前記第 1 の *s i R N A* の一本鎖突出部が、全て DNA、全て RNA、又は DNA 及び RNA ヌクレオチドの混合物を含み、前記 DNA 及び RNA が天然又は修飾されたものであり得る、請求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記載の多標的分子。

【請求項 15】

前記第 2 の *s i R N A* の一本鎖突出部が、全て DNA、全て RNA、又は DNA 及び RNA ヌクレオチドの混合物を含み、前記 DNA 及び RNA が天然又は修飾されたものであり得る、請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の多標的分子。

【請求項 16】

前記 2 つの一本鎖突出部によって形成される二重鎖の 5% 未満がヌクレアーゼによって切断される、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の多標的分子。

【請求項 17】

前記 2 つの一本鎖突出部によって形成される二重鎖の少なくとも 50% がヌクレアーゼによって切断される、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の多標的分子。

【請求項 18】

修飾ヌクレオシド間結合、修飾核酸塩基、修飾糖、及びこれらの任意の組合せからなる群より選択される少なくとも 1 つの修飾を含む、請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の多標的分子。

【請求項 19】

前記少なくとも 1 つの修飾が、センス鎖、アンチセンス鎖、前記 第 1 の *s i R N A* の一本鎖突出部、前記 第 2 の *s i R N A* の一本鎖突出部 又はこれらの任意の組合せに含まれる、請求項 18 に記載の多標的分子。

## 【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0612

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0612】

本明細書において好ましい実施形態を示し、詳細に説明してきたが、当業者には、様々な改変形態、追加形態、代替形態などが本発明の趣旨を逸脱することなくなされ得、従って、これらは、以下の特許請求の範囲に定義する通り、本発明の範囲内であるとみなされることは明らかであろう。さらに、当業者であれば、既述していない範囲まで本明細書で説明及び例示した様々な実施形態のいずれか1つをさらに改変して、本明細書に開示する他の実施形態のいずれかに示される特徴を組み込み得ることは理解されよう。

他の実施形態

1. 少なくとも2つのエフェクター分子を含む多標的分子であって、前記エフェクター分子と一緒に連結され、少なくとも1つのリガンドが前記多標的分子と共役され、前記多標的分子が、前記エフェクター分子と一緒に連結されていない場合と比べてそれぞれ少なくとも70%だけ少なくとも2つの標的核酸の遺伝子発現を調節し、前記少なくとも2つのエフェクター分子が互いに重ならない、多標的分子。

2. 前記少なくとも2つのエフェクター分子が互いに非共有的に連結され、及び前記少なくとも2つのエフェクター分子の各々が少なくとも1つのリガンドと共役される、実施形態1に記載の多標的分子。

3. 前記非共有結合が前記少なくとも2つのエフェクター分子間のヌクレオチドのハイブリダイゼーションである、実施形態2に記載の多標的分子。

4. 前記エフェクター分子が、siRNA、shRNA、アンチセンスオリゴヌクレオチド、マイクロRNA、抗マイクロRNA又は抗mir、スーパーmir、アンタゴmir、リボザイム、三重鎖形成性オリゴヌクレオチド、デコイオリゴヌクレオチド、スプライススイッチングオリゴヌクレオチド、免疫刺激オリゴヌクレオチド、RNA活性化剤、U1アダプター、CRISPR Cas及びこれらの組合せから選択される、実施形態1に記載の多標的分子。

5. 前記エフェクター分子と一緒に連結されていない場合と比べてそれぞれ少なくとも75%だけ少なくとも2つの標的核酸の遺伝子発現を調節する、実施形態1に記載の多標的分子。

6. 前記少なくとも2つのエフェクター分子の1つが第1の標的核酸の遺伝子発現を調節し、及び前記少なくとも2つのエフェクター分子のもう1つが第2の核酸の遺伝子発現を調節する、実施形態5に記載の多標的分子。

7. 前記第1の標的核酸及び前記第2の標的核酸が同じである、実施形態6に記載の多標的分子。

8. 前記第1の標的核酸及び前記第2の標的核酸が同じヌクレオチド配列をターゲティングする、実施形態7に記載の多標的分子。

9. 前記リガンドが前記少なくとも2つのエフェクター分子の1つの3'末端において共役される、実施形態1に記載の多標的分子。

10. 前記リガンドが前記少なくとも2つのエフェクター分子の1つの5'末端において共役される、実施形態1に記載の多標的分子。

11. 第1の二本鎖siRNA分子及び第2の二本鎖siRNA分子を含む多標的分子であって、前記第1のsiRNAのセンス鎖がその3'末端に一本鎖突出部を含み、及び前記第2のsiRNAのアンチセンス鎖がその3'末端に一本鎖突出部を含み、前記センス鎖の前記一本鎖突出部の核酸配列が前記アンチセンス鎖の前記一本鎖突出部のヌクレオチド配列と実質的に相補的であり、前記2つの一本鎖突出部が二重鎖を形成し、前記第1のsiRNA及び前記第2のsiRNAがそれぞれ少なくとも1つのリガンドと共役される、多標的分子。

12. 前記第1及び第2の*s i R N A*が、独立に、前記第1の*s i R N A*及び前記第2の*s i R N A*と一緒に連結されていない場合と比べて少なくとも70%だけそれらのそれぞれの標的核酸の遺伝子発現を調節する、実施形態11に記載の多標的分子。

13. 前記第1の*s i R N A*が第1の標的核酸の遺伝子発現を調節し、及び前記第2の*s i R N A*が第2の核酸の遺伝子発現を調節する、実施形態11又は12に記載の多標的分子。

14. 前記第1の標的核酸及び前記第2の標的核酸が同じである、実施形態13に記載の多標的分子。

15. 前記第1の*s i R N A*及び前記第2の*s i R N A*が同じ核酸配列をターゲティングする、実施形態14に記載の多標的分子。

16. 少なくとも1つのリガンドが前記センス鎖の1つと共役される、実施形態11～15のいずれかに記載の多標的分子。

17. 少なくとも1つのリガンドが前記センス鎖の1つの前記3'末端、5'末端又は内部位置において共役される、実施形態16に記載の多標的分子。

18. 少なくとも1つのリガンドが前記アンチセンス鎖の1つと共役される、実施形態11～16のいずれかに記載の多標的分子。

19. 少なくとも1つのリガンドが前記アンチセンス鎖の1つの前記3'末端、5'末端又は内部位置において共役される、実施形態18に記載の多標的分子。

20. 第1のリガンドがセンス鎖と共役され、及び第2のリガンドがアンチセンス鎖と共役される、実施形態11～19のいずれかに記載の多標的分子。

21. 前記第1のリガンドと共役される前記センス鎖が前記第2の*s i R N A*に由来し、及び前記第2のリガンドと共役される前記アンチセンス鎖が前記第1の*s i R N A*に由来する、実施形態20に記載の多標的分子。

22. 前記第1のリガンドと共役される前記センス鎖が前記第1の*s i R N A*に由来し、及び前記第2のリガンドと共役される前記アンチセンス鎖が前記第2の*s i R N A*に由来する、実施形態20に記載の多標的分子。

23. 前記第1のリガンドと共役される前記センス鎖が前記第1の*s i R N A*に由来し、及び前記第2のリガンドと共役される前記アンチセンス鎖も前記第1の*s i R N A*に由来する、実施形態20に記載の多標的分子。

24. 前記第1のリガンドと共役される前記センス鎖が前記第2の*s i R N A*に由来し、及び前記第2のリガンドと共役される前記アンチセンス鎖も前記第2の*s i R N A*に由来する、実施形態20に記載の多標的分子。

25. 前記センス鎖の前記一本鎖突出部が全てDNA、全てRNA又はDNA及びRNAヌクレオチドの混合物を含み、前記DNA及びRNAが天然又は修飾されたものであり得る、実施形態11～24のいずれかに記載の多標的分子。

26. 前記アンチセンス鎖の前記一本鎖突出部が全てDNA、全てRNA又はDNA及びRNAヌクレオチドの混合物を含み、前記DNA及びRNAが天然又は修飾されたものであり得る、実施形態11～25のいずれかに記載の多標的分子。

27. 前記2つの一本鎖突出部によって形成される前記二重鎖の5%未満がヌクレアーゼによって切断される、実施形態11～26のいずれかに記載の多標的分子。

28. 前記2つの一本鎖突出部によって形成される前記二重鎖の少なくとも50%がヌクレアーゼによって切断される、実施形態11～26のいずれかに記載の多標的分子。

29. 修飾ヌクレオシド間結合、修飾核酸塩基、修飾糖、及びこれらの任意の組合せからなる群から選択される少なくとも1つの修飾を含む、実施形態11～18のいずれかに記載の多標的分子。

30. 前記少なくとも1つの修飾が、センス鎖、アンチセンス鎖、前記センス鎖の一本鎖突出部、前記アンチセンス鎖の一本鎖突出部又はこれらの任意の組合せに含まれる、実施形態29に記載の多標的分子。

31. 第1の二本鎖*s i R N A*分子及び第2の二本鎖*s i R N A*分子を含む多標的分子であって、前記第1の*s i R N A*のアンチセンス鎖が3'末端に一本鎖突出部を含み、及び

前記第2の s i R N A のアンチセンス鎖が3'末端に一本鎖突出部を含み、前記2つの一本鎖突出部核酸配列の核酸配列が互いに対して実質的に相補的であり、及び前記2つの一本鎖突出部が二重鎖を形成し、前記2つの一本鎖突出部が二重鎖を形成し、前記第1の s i R N A 及び前記第2の s i R N A がそれぞれ少なくとも1つのリガンドと共役される、多標的分子。

32．前記第1及び第2の s i R N A が、独立に、前記第1の s i R N A 及び前記第2の s i R N A が一緒に連結されていない場合と比べて少なくとも70%だけそれらのそれぞれの標的核酸の遺伝子発現を調節する、実施形態31に記載の多標的分子。

33．前記第1の s i R N A が第1の標的核酸の遺伝子発現を調節し、及び前記第2の s i R N A が第2の核酸の遺伝子発現を調節する、実施形態31又は32に記載の多標的分子。

34．前記第1の標的核酸及び前記第2の標的核酸が同じである、実施形態33に記載の多標的分子。

35．前記第1の s i R N A 及び前記第2の s i R N A が同じ核酸配列をターゲティングする、実施形態34に記載の多標的分子。

36．前記リガンドの少なくとも1つがセンス鎖の1つと共役される、実施形態31～35のいずれかに記載の多標的分子。

37．前記リガンドの少なくとも1つが前記センス鎖の1つの3'末端、5'末端又は内部位置において共役される、実施形態36に記載の多標的分子。

38．前記リガンドの少なくとも1つが前記アンチセンス鎖の1つと共役される、実施形態31～36のいずれかに記載の多標的分子。

39．前記リガンドの少なくとも1つが前記アンチセンス鎖の1つの前記3'末端、5'末端又は内部位置において共役される、実施形態38に記載の多標的分子。

40．第1のリガンドがセンス鎖と共役され、及び第2のリガンドがアンチセンス鎖と共役される、実施形態31～39のいずれかに記載の多標的分子。

41．前記第1のリガンドと共役される前記センス鎖が前記第2の s i R N A に由来し、及び前記第2のリガンドと共役される前記アンチセンス鎖が前記第1の s i R N A に由来する、実施形態40に記載の多標的分子。

42．前記第1のリガンドと共役される前記センス鎖が前記第1の s i R N A に由来し、及び前記第2のリガンドと共役される前記アンチセンス鎖が前記第2の s i R N A に由来する、実施形態40に記載の多標的分子。

43．前記第1のリガンドと共役される前記センス鎖が前記第1の s i R N A に由来し、及び前記第2のリガンドと共役される前記アンチセンス鎖も前記第1の s i R N A に由来する、実施形態40に記載の多標的分子。

44．前記第1のリガンドと共役される前記センス鎖が前記第2の s i R N A に由来し、及び前記第2のリガンドと共役される前記アンチセンス鎖も前記第2の s i R N A に由来する、実施形態40に記載の多標的分子。

45．前記第1の s i R N A の前記アンチセンス鎖の前記一本鎖突出部が全てDNA、全てRNA又はDNA及びRNAヌクレオチドの混合物を含む、実施形態31～44のいずれかに記載の多標的分子。

46．前記第2の s i R N A の前記アンチセンス鎖の前記一本鎖突出部が全てDNA、全てRNA又はDNA及びRNAヌクレオチドの混合物を含む、実施形態31～45のいずれかに記載の多標的分子。

47．前記2つの一本鎖突出部によって形成される前記二重鎖の5%未満がヌクレアーゼによって切断される、実施形態31～46のいずれかに記載の多標的分子。

48．前記2つの一本鎖突出部によって形成される前記二重鎖の少なくとも50%がヌクレアーゼによって切断される、実施形態31～46のいずれかに記載の多標的分子。

49．修飾ヌクレオシド間結合、修飾核酸塩基、修飾糖、及びこれらの任意の組合せからなる群から選択される少なくとも1つの修飾を含む、実施形態31～48のいずれかに記載の多標的分子。

- 50．前記少なくとも1つの修飾が、センス鎖、アンチセンス鎖、前記第1の*s i R N A*の前記アンチセンス鎖の一本鎖突出部、前記第2の*s i R N A*の前記アンチセンス鎖の一本鎖突出部、又はこれらの任意の組合せに含まれる、実施形態39に記載の多標的分子。
- 51．第1の二本鎖*s i R N A*分子及び第2の二本鎖*s i R N A*分子を含む多標的分子であって、前記第1の*s i R N A*及び前記第2の*s i R N A*が互いに共有結合され、少なくとも1つのリガンドが前記多標的分子と共役される、多標的分子。
- 52．前記第1の*s i R N A*分子のセンス鎖が前記第2の*s i R N A*分子のセンス鎖に共有結合される、実施形態51に記載の多標的分子。
- 53．前記第1の*s i R N A*分子のセンス鎖が前記第2の*s i R N A*分子のアンチセンス鎖に共有結合される、実施形態51に記載の多標的分子。
- 54．前記第1の*s i R N A*分子のアンチセンス鎖が前記第2の*s i R N A*分子のアンチセンス鎖に共有結合される、実施形態51に記載の多標的分子。
- 55．前記第1及び第2の*s i R N A*が、独立に、前記第1の*s i R N A*及び前記第2の*s i R N A*が前記多標的分子の一部でない場合と比べて少なくとも70%だけそれらのそれぞれの標的核酸の遺伝子発現を調節する、実施形態51～53のいずれかに記載の多標的分子。
- 56．前記第1の*s i R N A*が第1の標的核酸の遺伝子発現を調節し、及び前記第2の*s i R N A*が第2の核酸の遺伝子発現を調節する、実施形態51～55のいずれかに記載の多標的分子。
- 57．前記第1の標的核酸及び前記第2の標的核酸が同じである、実施形態56に記載の多標的分子。
- 58．前記第1の*s i R N A*及び前記第2の*s i R N A*が同じ核酸配列をターゲティングする、実施形態57に記載の多標的分子。
- 59．前記リガンドが前記センス鎖の1つと共役される、実施形態51～58のいずれかに記載の多標的分子。
- 60．前記リガンドが前記センス鎖の1つの3'末端において共役される、実施形態59に記載の多標的分子。
- 61．前記リガンドが前記センス鎖の1つの5'末端において共役される、実施形態59に記載の多標的分子。
- 62．前記リガンドが前記アンチセンス鎖の1つの3'末端において共役される、実施形態59に記載の多標的分子。
- 63．前記リガンドが前記アンチセンス鎖の1つの5'末端において共役される、実施形態59に記載の多標的分子。
- 64．前記第1の*s i R N A*分子及び前記第2の*s i R N A*分子がヌクレオチドベースのリンカーを介して互いに連結される、実施形態51～60のいずれかに記載の多標的分子。
- 65．前記リンカーが一本鎖である、実施形態64に記載の多標的分子。
- 66．前記リンカーが二本鎖である、実施形態64に記載の多標的分子。
- 67．前記二本鎖リンカーが一本鎖領域を含む、実施形態66に記載の多標的分子。
- 68．前記第1の*s i R N A*分子及び前記第2の*s i R N A*分子が非ヌクレオチドベースのリンカーを介して互いに連結される、実施形態51～60のいずれかに記載の多標的分子。
- 69．前記2つのセンス鎖を連結する前記リンカーが切断可能なリンカーである、実施形態64～68のいずれかに記載の多標的分子。
- 70．前記リガンドが前記リンカーに共役される、実施形態64～68のいずれかに記載の多標的分子。
- 71．修飾ヌクレオチド間結合、修飾核酸塩基、修飾糖、及びこれらの任意の組合せからなる群から選択される少なくとも1つの修飾を含む、実施形態51～70のいずれかに記載の多標的分子。
- 72．前記少なくとも1つの修飾が、センス鎖、アンチセンス鎖又は前記少なくとも2つ

の s i R N A 分子を連結する前記リンカーに含まれる、実施形態 7 1 に記載の多標的分子<sup>o</sup>。

7 3 . 前記リンカーが、ロックド核酸、2' - O - アルキルヌクレオシド、2' - ハロヌクレオシド、2' - アミノヌクレオシド、2' - S - アルキルヌクレオシド、脱塩基ヌクレオシド、2' - シアノヌクレオシド、2' - メルカプトヌクレオシド；2' - M O E ヌクレオシド、アクリルヌクレオシド、S - c E t ヌクレオシド、及びこれらの任意の組合せからなる群から選択される少なくとも 1 つの核酸修飾を含む、実施形態 7 1 又は 7 2 に記載の多標的分子。

7 4 . 前記リンカーが、リン酸ジエステル、リン酸トリエステル、ホスホン酸水素、アルキル又はアリールホスホネート、ホスホロアミデート、ホスホロチオエート、メチレンメチルイミノ、チオジエステル、チオノカルバメート、N , N' - ジメチルヒドラジン、ホスホロセレネート、ボラノホスフェート、ボラノリン酸エステル、アミド、ヒドロキシアミノ、シロキサン、ジアルキルシロキサン、カルボキサミド、炭酸塩、カルボキシメチル、カルバメート、カルボン酸エステル、チオエーテル、エチレンオキシドリンカー、硫化物、スルホン酸塩、スルホンアミド、スルホン酸エステル、チオホルムアセタール、ホルムアセタール、オキシム、メチレンイミノ、メチレンカルボニルアミノ、メチレンメチルイミノ、メチレンヒドラゾ、メチレンジメチルヒドラゾ、メチレンオキシメチルイミノ、エーテル、チオエーテル、チオアセトアミド、これらの任意の組合せからなる群から選択される少なくとも 1 つの修飾ヌクレオチド間結合を含む、実施形態 5 1 ~ 7 3 のいずれかに記載の多標的分子。