

【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 12 N 15/113 (2010.01)

C 12 N 15/09 (2006.01)

C 12 N 15/115 (2010.01)

【F I】

C 12 N 15/113 Z N A Z

C 12 N 15/09 1 1 0

C 12 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 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 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2つの一本鎖突出部の核酸配列が互いに対しても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 siRNA 及び前記第2の siRNA がそれぞれ少なくとも1つのリガンドと共に作用する、多標的分子。

【請求項2】

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 siRNA 及び前記第2の siRNA がそれぞれ少なくとも1つのリガンドと共に作用する、多標的分子。

【請求項3】

前記第1及び第2の siRNA が、独立に、前記第1の siRNA 及び前記第2の siRNA 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 siRNA 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 siRNA 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siRNA及び前記第2のsiRNA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つと共に役する、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つと共に役する、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に役し、かつ第2のリガンドがアンチセンス鎖と共に役する、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のリガンドと共に役するセンス鎖が前記第2のsiRNAに由来し、かつ前記第2のリガンドと共に役するアンチセンス鎖が前記第1のsiRNA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のリガンドと共に役するセンス鎖が前記第1のsiRNAに由来し、かつ前記第2のリガンドと共に役するアンチセンス鎖が前記第2のsiRNA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siRNAの一本鎖突出部が、全てDNA、全てRNA、又はDNA及びRNA又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siRNAの一本鎖突出部が、全てDNA、全てRNA、又はDNA及びRNA又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siRNAの一本鎖突出部、前記第2のsiRNA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、従つて、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が一緒に連結され、少なくとも1つのリガンドが前記多標的分子と共に役され、前記多標的分子が、前記エフェクター分子が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つのリガンドと共に役される、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が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つのリガンドと共に役される、多標的分子。

12. 前記第1及び第2のsiRNAが、独立に、前記第1のsiRNA及び前記第2のsiRNA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11に記載の多標的分子。

13. 前記第1のsiRNA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siRNA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siRNA及び前記第2のsiRNA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つと共に役される、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つと共に役される、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に役され、及び第2のリガンドがアンチセンス鎖と共に役される、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のリガンドと共に役される前記センス鎖が前記第2のsiRNAに由来し、及び前記第2のリガンドと共に役される前記アンチセンス鎖が前記第1のsiRNAに由来する、実施形態20に記載の多標的分子。

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

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

24. 前記第1のリガンドと共に役される前記センス鎖が前記第2のsiRNAに由来し、及び前記第2のリガンドと共に役される前記アンチセンス鎖も前記第2のsiRNA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siRNA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つのリガンドと共に役される、多標的分子。

32. 前記第1及び第2のsiRNAが、独立に、前記第1のsiRNA及び前記第2のsiRNA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siRNA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siRNA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siRNA及び前記第2のsiRNA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つと共に役される、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つと共に役される、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に役され、及び第2のリガンドがアンチセンス鎖と共に役される、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のリガンドと共に役される前記センス鎖が前記第2のsiRNAに由来し、及び前記第2のリガンドと共に役される前記アンチセンス鎖が前記第1のsiRNAに由来する、実施形態40に記載の多標的分子。

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

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

44. 前記第1のリガンドと共に役される前記センス鎖が前記第2のsiRNAに由来し、及び前記第2のリガンドと共に役される前記アンチセンス鎖も前記第2のsiRNA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siRNA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siRNA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siRNAの前記アンチセンス鎖の一本鎖突出部、前記第2のsiRNA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及び前記第2のsiRNA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に作用される、多標的分子。

52. 前記第1のsiRNA分子のセンス鎖が前記第2のsiRNA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siRNA分子のセンス鎖が前記第2のsiRNA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siRNA分子のアンチセンス鎖が前記第2のsiRNA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siRNAが、独立に、前記第1のsiRNA及び前記第2のsiRNA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siRNA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siRNA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siRNA及び前記第2のsiRNA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つと共に作用される、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'末端において共作用される、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'末端において共作用される、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'末端において共作用される、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'末端において共作用される、実施形態59に記載の多標的分子。

64. 前記第1のsiRNA分子及び前記第2のsiRNA分子がヌクレオチドベースのリンク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. 前記リンクが一本鎖である、実施形態64に記載の多標的分子。

66. 前記リンクが二本鎖である、実施形態64に記載の多標的分子。

67. 前記二本鎖リンク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siRNA分子及び前記第2のsiRNA分子が非ヌクレオチドベースのリンク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クが切断可能なリンクである、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クに共作用される、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 siRNA 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。

73. 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' - MOE ヌクレオシド、アクリルヌクレオシド、S - cEt 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。

74. 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。