

【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】平成28年6月30日(2016.6.30)

【公表番号】特表2015-518710(P2015-518710A)

【公表日】平成27年7月6日(2015.7.6)

【年通号数】公開・登録公報2015-043

【出願番号】特願2015-512844(P2015-512844)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/7088 (2006.01)

A 6 1 P 7/06 (2006.01)

A 6 1 K 47/42 (2006.01)

A 6 1 K 47/28 (2006.01)

A 6 1 K 47/48 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 31/7088

A 6 1 P 7/06

A 6 1 K 47/42

A 6 1 K 47/28

A 6 1 K 47/48

【手続補正書】

【提出日】平成28年5月13日(2016.5.13)

【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】

配列5' X - Y - Zを有する一本鎖オリゴヌクレオチドであって、ここで、Xは、任意のヌクレオチドであり、Yは、ヒトミクロRNAのシード配列ではない、長さ6ヌクレオチドのヌクレオチド配列であり、Zは、長さ1~23ヌクレオチドのヌクレオチド配列であり、前記一本鎖オリゴヌクレオチドが、ヘモグロビン遺伝子のPRC2関連領域の少なくとも8個の連続したヌクレオチドと相補的である、一本鎖オリゴヌクレオチド。

【請求項2】

(a) 前記オリゴヌクレオチドが、4個以上の連続したグアノシンヌクレオチドを含まず、任意選択で、前記オリゴヌクレオチドが、3個以上の連続したグアノシンヌクレオチドを含まない；及び/あるいは

(b) 前記オリゴヌクレオチドが、

i . 長さ8~30ヌクレオチドであるか、及び/又は

ii . 長さ8~10ヌクレオチドであり、前記PRC2関連領域の相補的配列のヌクレオチドの1、2、又は3個を除く全てが、シトシン又はグアノシンヌクレオチドである、請求項1に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

【請求項3】

前記オリゴヌクレオチドの少なくとも1個のヌクレオチドが、ヌクレオチド類似体であ

り、任意選択で、

前記少なくとも1個のヌクレオチド類似体が、前記少なくとも1つのヌクレオチド類似体を含まないオリゴヌクレオチドと比較して、1～5の範囲のオリゴヌクレオチドのTmの増加をもたらす、請求項1又は2に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

【請求項4】

(a)前記オリゴヌクレオチドの少なくとも1個のヌクレオチドが、2'-O-メチルを含み、任意選択で、(b)前記オリゴヌクレオチドの各ヌクレオチドが、2'-O-メチルを含む、請求項1～3のいずれか1項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

【請求項5】

(a)前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも1個のリボヌクレオチド、少なくとも1個のデオキシリボヌクレオチド、又は少なくとも1個の架橋ヌクレオチドを含み、任意選択で、前記架橋ヌクレオチドが、LNAヌクレオチド、cEtヌクレオチド又はENA修飾ヌクレオチドであるか；あるいは

(b)前記オリゴヌクレオチドの前記ヌクレオチドが、デオキシリボヌクレオチドを含み、前記デオキシリボヌクレオチドの5'及び3'末端の各々には、少なくとも1個のLNAヌクレオチドがフランキングされている、請求項1～3又は4(a)のいずれか1項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

【請求項6】

(a)前記オリゴヌクレオチドの各ヌクレオチドが、LNAヌクレオチドであるか；あるいは

(b)前記オリゴヌクレオチドの前記ヌクレオチドが、

(i)デオキシリボヌクレオチドと2'-フルオロ-デオキシリボヌクレオチドを交互に含むか；

(ii)デオキシリボヌクレオチドと2'-O-メチルヌクレオチドを交互に含むか；

(iii)デオキシリボヌクレオチドとENAヌクレオチド類似体を交互に含むか；

(iv)デオキシリボヌクレオチドとLNAヌクレオチドを交互に含むか；又は

(v)LNAヌクレオチドと2'-O-メチルヌクレオチドを交互に含む、

請求項1～3のいずれか1項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

【請求項7】

前記オリゴヌクレオチドの5'ヌクレオチドが、デオキシリボヌクレオチド又はLNAヌクレオチドである、請求項6(b)に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

【請求項8】

少なくとも2個のヌクレオチドの間に、ホスホロチオエートヌクレオチド間結合をさらに含み、任意選択で、全ヌクレオチドの間に、ホスホロチオエートヌクレオチド間結合をさらに含む、請求項1～7のいずれか1項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

【請求項9】

(a)前記オリゴヌクレオチドの3'位のヌクレオチドが、3'ヒドロキシル基を有する、

(b)前記オリゴヌクレオチドの3'位のヌクレオチドが、3'チオホスフェートを有する、及び/又は

(c)前記オリゴヌクレオチドが、5'ヌクレオチドに結合したビオチン部分をさらに含む、請求項1～8のいずれか1項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

【請求項10】

ヘモグロビン遺伝子のPRC2関連領域の少なくとも8個の連続したヌクレオチドと相補的な相補性の領域を含む一本鎖オリゴヌクレオチドであって、前記オリゴヌクレオチドが、以下：

(a)5'X-Y-Zの配列であって、ここで、Xは、任意のヌクレオチドであり、Xは、前記オリゴヌクレオチドの5'末端に固定されており、Yは、マイクロRNAのヒトシード配列ではない、長さ6ヌクレオチドのヌクレオチド配列であり、Zは、長さ1～23

ヌクレオチドのヌクレオチド配列である、配列；

(b) 3個以上の連続したグアノシンヌクレオチドを含まない配列；

(c) ヌクレオチドの全ての配列に対して閾値レベルに満たない配列同一性を有し、オフターゲット遺伝子の5'末端の上流50キロベースから前記オフターゲット遺伝子の3'末端の下流50キロベースの間にある、第2ヌクレオチド配列と同等長さの配列；

(d) 少なくとも2つの一本鎖ループを含む二次構造を形成するRNAをコードするPRC2関連領域と相補的な配列；及び/又は

(e) 60%を超えるG-C含有率を有する配列

の少なくとも1つを有し、任意選択で、(a)~(e)のうちのいずれかにおいて、前記オリゴヌクレオチドが、配列5' X - Y - Zを有し、前記オリゴヌクレオチドが、長さ8~50ヌクレオチドである、一本鎖オリゴヌクレオチド。

【請求項11】

請求項1~10のいずれか1項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチドと、担体とを含む組成物であって、任意選択で、

(a) 前記組成物が、薬学的に許容される担体を含む医薬組成物である、

(b) 前記組成物が、緩衝液中に前記一本鎖オリゴヌクレオチドを含む、及び/又は

(c) 前記オリゴヌクレオチドが、前記担体に結合しており、任意選択で、前記担体が、ペプチド又はステロイドである、組成物。

【請求項12】

請求項11に記載の組成物を収納する容器を含むキット。

【請求項13】

1細胞におけるヘモグロビン遺伝子の発現を増大するための組成物であって、請求項1~10のいずれか1項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチドを含み、

任意選択で、前記細胞への前記組成物の送達が、前記一本鎖オリゴヌクレオチドを含まない対照細胞における前記ヘモグロビン遺伝子の発現のレベルより少なくとも50%高い、前記ヘモグロビン遺伝子の発現のレベルをもたらず、組成物。

【請求項14】

1被験者におけるヘモグロビン遺伝子のレベルを増大するための組成物であって、請求項1~10のいずれか1項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチドを含む、組成物。

【請求項15】

1被験者におけるヘモグロビン遺伝子のレベル低下に関連する状態を治療するための組成物であって、請求項1~10のいずれか1項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチドを含み、任意選択で、前記状態が、貧血、鎌状赤血球貧血及び/又はサラセミアである組成物。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0006

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0006】

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

(項目1)

配列5' X - Y - Zを有する一本鎖オリゴヌクレオチドであって、ここで、Xは、任意のヌクレオチドであり、Yは、ヒトミクロRNAのシード配列ではない、長さ6ヌクレオチドのヌクレオチド配列であり、Zは、長さ1~23ヌクレオチドのヌクレオチド配列であり、前記一本鎖オリゴヌクレオチドが、ヘモグロビン遺伝子のPRC2関連領域の少なくとも8個の連続したヌクレオチドと相補的である、一本鎖オリゴヌクレオチド。

(項目2)

前記オリゴヌクレオチドが、3個以上の連続したグアノシンヌクレオチドを含まない、項目1に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

(項目3)

前記オリゴヌクレオチドが、4個以上の連続したグアノシヌクレオチドを含まない、
項目1または2に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

(項目4)

前記オリゴヌクレオチドが、長さ8~30ヌクレオチドである、項目1~3のいずれか
1項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

(項目5)

前記オリゴヌクレオチドが、長さ8~10ヌクレオチドであり、P R C 2 関連領域の相
補的配列のヌクレオチドの1、2、又は3個を除く全てが、シトシン又はグアノシヌク
レオチドである、項目1~4のいずれか1項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

(項目6)

前記オリゴヌクレオチドの少なくとも1個のヌクレオチドが、ヌクレオチド類似体であ
る、項目1~5のいずれか1項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

(項目7)

前記少なくとも1個のヌクレオチド類似体が、前記少なくとも1つのヌクレオチド類似
体を含まないオリゴヌクレオチドと比較して、1~5 の範囲のオリゴヌクレオチドのT
mの増加をもたらす、項目6に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

(項目8)

前記オリゴヌクレオチドの少なくとも1個のヌクレオチドが、2' O - メチルを含む、
項目1~7のいずれか1項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

(項目9)

前記オリゴヌクレオチドの各ヌクレオチドが、2' O - メチルを含む、項目1~8のい
ずれか1項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

(項目10)

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも1個のリボヌクレオチド、少なくとも1個のデ
オキシリボヌクレオチド、又は少なくとも1個の架橋ヌクレオチドを含む、項目1~8の
いずれか1項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

(項目11)

前記架橋ヌクレオチドが、L N Aヌクレオチド、c E tヌクレオチド又はE N A 修飾ヌ
クレオチドである、項目11に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

(項目12)

前記オリゴヌクレオチドの各ヌクレオチドが、L N Aヌクレオチドである、項目1~6
のいずれか1項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

(項目13)

前記オリゴヌクレオチドの前記ヌクレオチドが、デオキシリボヌクレオチドと2' - フ
ルオロ - デオキシリボヌクレオチドを交互に含む、項目1~6のいずれか1項に記載の
一本鎖オリゴヌクレオチド。

(項目14)

前記オリゴヌクレオチドの前記ヌクレオチドが、デオキシリボヌクレオチドと2' - O
- メチルヌクレオチドを交互に含む、項目1~6のいずれか1項に記載の一本鎖オリゴヌ
クレオチド。

(項目15)

前記オリゴヌクレオチドの前記ヌクレオチドが、デオキシリボヌクレオチドとE N A
ヌクレオチド類似体を交互に含む、項目1~6のいずれか1項に記載の一本鎖オリゴヌク
レオチド。

(項目16)

前記オリゴヌクレオチドの前記ヌクレオチドが、デオキシリボヌクレオチドとL N A
ヌクレオチドを交互に含む、項目1~6のいずれか1項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチ
ド。

(項目17)

前記オリゴヌクレオチドの前記5'ヌクレオチドが、デオキシリボヌクレオチドである、項目13～16のいずれか1項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

(項目18)

前記オリゴヌクレオチドの前記ヌクレオチドが、LNAヌクレオチドと2'-O-メチルヌクレオチドを交互に含む、項目1～6のいずれか1項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

(項目19)

前記オリゴヌクレオチドの前記5'ヌクレオチドが、LNAヌクレオチドである、項目18に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

(項目20)

前記オリゴヌクレオチドの前記ヌクレオチドが、前記デオキシリボヌクレオチドの前記5'及び3'末端の各々で、少なくとも1個のLNAヌクレオチドによってフランキングされているデオキシリボヌクレオチドを含む、項目1～8のいずれか1項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

(項目21)

少なくとも2個のヌクレオチドの間に、ホスホロチオエートヌクレオチド間結合をさらに含む、項目1～20のいずれか1項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

(項目22)

全ヌクレオチドの間に、ホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む、項目21に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

(項目23)

前記オリゴヌクレオチドの前記3'位のヌクレオチドが、3'ヒドロキシル基を有する、項目1～22のいずれか1項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

(項目24)

前記オリゴヌクレオチドの前記3'位のヌクレオチドが、3'チオホスフェートを有する、項目1～23のいずれか1項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

(項目25)

前記5'ヌクレオチドに結合したビオチン部分をさらに含む、項目1～24のいずれか1項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

(項目26)

ヘモグロビン遺伝子のPRC2関連領域の少なくとも8個の連続したヌクレオチドと相補的な相補性の領域を含む一本鎖オリゴヌクレオチドであって、前記オリゴヌクレオチドが、以下：

a) 5' X - Y - Zの配列であって、ここで、Xは、任意のヌクレオチドであり、Xは、前記ヌクレオチドの5'末端に固定されており、Yは、マイクロRNAのヒトシード配列ではない、長さ6ヌクレオチドのヌクレオチド配列であり、Zは、長さ1～23ヌクレオチドのヌクレオチド配列である、配列；

b) 3個以上の連続したグアノシンヌクレオチドを含まない配列；

c) ヌクレオチドの全ての配列に対して閾値レベルに満たない配列同一性を有し、オフターゲット遺伝子の5'末端の上流50キロベースから前記オフターゲット遺伝子の3'末端の下流50キロベースの間にある、前記第2ヌクレオチド配列と同等長さの配列；

d) 少なくとも2つの一本鎖ループを含む二次構造を形成するRNAをコードするPRC2関連領域と相補的な配列；及び/又は

e) 60%を超えるG - C含有率を有する配列

の少なくとも1つを有する、一本鎖オリゴヌクレオチド。

(項目27)

前記オリゴヌクレオチドが、配列5' X - Y - Zを有し、前記オリゴヌクレオチドが、長さ8～50ヌクレオチドである、項目26に記載の一本鎖オリゴヌクレオチド。

(項目28)

項目1～27のいずれか1項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチドと、担体とを含む組成

物。

(項目 29)

緩衝液中に項目 1 ~ 27 のいずれか 1 項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチドを含む組成物。

(項目 30)

前記オリゴヌクレオチドが、前記担体に結合している、項目 29 に記載の組成物。

(項目 31)

前記担体が、ペプチドである、項目 30 に記載の組成物。

(項目 32)

前記担体が、ステロイドである、項目 30 に記載の組成物。

(項目 33)

項目 28 ~ 32 のいずれか 1 項に記載の組成物と、薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物。

(項目 34)

項目 28 ~ 33 のいずれか 1 項に記載の組成物を収納する容器を含むキット。

(項目 35)

1 細胞におけるヘモグロビン遺伝子の発現を増大する方法であって、項目 1 ~ 27 のいずれか 1 項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチドを前記細胞送達することを含む方法。

(項目 36)

前記細胞への前記一本鎖オリゴヌクレオチドの送達、前記一本鎖オリゴヌクレオチドを含まない対照細胞におけるヘモグロビン遺伝子の発現のレベルより少なくとも 50 % 高い、ヘモグロビン遺伝子の発現のレベルをもたらす、項目 35 に記載の方法。

(項目 37)

1 被験者におけるヘモグロビン遺伝子のレベルを増大する方法であって、項目 1 ~ 26 のいずれか 1 項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチドを前記被験者に投与することを含む方法。

(項目 38)

1 被験者におけるヘモグロビン遺伝子のレベル低下に関連する状態を治療する方法であって、項目 1 ~ 27 のいずれか 1 項に記載の一本鎖オリゴヌクレオチドを前記被験者に投与することを含む方法。

(項目 39)

項目 38 に記載の方法において、前記病状が、貧血、鎌状赤血球貧血及び / 又はサラセミアであることを特徴とする方法。

本明細書に開示されている本発明の態様は、細胞中のヘモグロビン遺伝子 (HBB、HBD、HBE1、HBG1、及び / 又は HBG2) を上方制御するために有用である方法及び組成物を提供する。ある実施形態において、ヘモグロビン遺伝子 (例えば、ヒト HBB、ヒト HBD、ヒト HBE1、ヒト HBG1、ヒト HBG2) の PRC2 - 関連領域を標的とし、これによってこの遺伝子の上方制御を生じる、一本鎖オリゴヌクレオチドが提供される。ある実施形態において、ヘモグロビン遺伝子をコード化する遺伝子の PRC2 - 関連領域を標的とする、一本鎖オリゴヌクレオチドが提供される。ある実施形態において、これら一本鎖オリゴヌクレオチドは、ヘモグロビン遺伝子の PRC2 媒介抑制を軽減又は阻止することによって、ヘモグロビン遺伝子の発現を活性化又は増強する。