|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **100020**  北京市朝阳区东三环中路1号环球金融中心办公楼东楼20层  北京市金杜律师事务所 陈文平(010-58785037) | | | | | | 发文日： |
|  | | | |  | |
| **申请号或专利号：201580072874.0** | | | | | **发文序号：** | |
| **案件编号：** | 4W113663 | | | | | |
| **发明创造名称：** | | B型肝炎病毒(HBV)iRNA组合物及其使用方法 | | | | |
| **专利权人：** | 阿尔尼拉姆医药品有限公司 | | | | | |
| **无效宣告请求人：** | | | 张媛 | | | |

**无效宣告请求审查决定书**

（第58530号）

根据专利法第46条第1款的规定，国家知识产权局对无效宣告请求人就上述专利权所提出的无效宣告请求进行了审查，现决定如下：

☐宣告专利权全部无效。

☒宣告专利权部分无效。

☐维持专利权有效。

根据专利法第46条第2款的规定，对本决定不服的，可以在收到本通知之日起3个月内向北京知识产权法院起诉，对方当事人作为第三人参加诉讼。

附：决定正文  23  页(正文自第2页起算)。

合议组组长：吴文英 主审员：魏聪 参审员：王亦然

专利局复审和无效审理部

**国家知识产权局**

**无效宣告请求审查决定(第58530号)**

|  |  |
| --- | --- |
| **案件编号** | 第4W113663号 |
| **决定日** | 2022年09月15日 |
| **发明创造名称** | B型肝炎病毒(HBV)iRNA组合物及其使用方法 |
| **国际主分类号** | C12N 15/113 |
| **无效宣告请求人** | 张媛 |
| **专利权人** | 阿尔尼拉姆医药品有限公司 |
| **专利号** | 201580072874.0 |
| **申请日** | 2015年11月10日 |
| **最早的****优先权日** | 2014年11月10日 |
| **授权公告日** | 2021年09月17日 |
| **无效宣告请求日** | 2021年12月31日 |
| **法律依据** | 专利法第26条第3、4款，专利法第22条第3款 |
| **决定要点：**  尽管RNA干扰（RNAi）技术的基本原理及作为该技术核心的小干扰RNA（siRNA）序列的设计规则在现有技术中已有初步的研究成果，但是仅依据基本技术原理难以推知确切的siRNA序列；同时siRNA序列的设计规则通常来源于大量序列的统计分析结果，其结论宽泛笼统、缺乏针对性，存在诸多例外的情形，序列设计的繁复规则之间还存在互相矛盾和不兼容之处，且在产业化实践中需要考虑体内稳定性、转染效率等性能的平衡，尚需设计周密、数据充分的效果实验加以选择验证，才能得到满足要求的siRNA用于基因治疗。因此，在评判此类发明创造性的技术启示时，需要重点关注在未得知发明技术方案的前提下，所属领域技术人员仅基于现有技术的教导是否有动机改进现有技术以获得发明的技术方案，而不是在知晓了发明的技术方案之后，再去考虑基于现有技术进行这种改进的可能性或可行性。同时，在判断是否有动机将两篇或多篇现有技术结合从而得到发明的技术方案时，应当充分分析所属领域技术人员对于引入区别技术特征以解决发明实际解决的技术问题是否存在合理的成功预期；如果无法预见两者结合后将产生的结果，则通常难以产生有目的结合的动机。 | |
| 生物医药学科属于典型的实验科学，对于说明书实验数据的真实性和证明力，通常需要有针对性地结合所属领域技术常识、整体现有技术状况、说明书记载的实验条件和衡量标准等，在充分考量影响实验数据的各方面因素的情况下进行综合分析评判，说明书实验数据与理论预期存在一定偏差的事实并不必然证明该实验数据完全不可信。如果所属领域技术人员根据申请公开的技术方案可以实现发明技术方案，解决其技术问题，并产生预期的技术效果，则应认为该申请符合专利法第26条第3款关于发明充分公开的规定。  权利要求书中的每一项权利要求所要求保护的技术方案应当是所属领域技术人员能够从说明书充分公开的内容中得到或概括得出的技术方案，并且不得超出说明书公开的范围。在判断权利要求是否得到说明书的支持时，应当站在所属领域技术人员的角度上，依据其所掌握的技术知识，充分参考相关的现有技术信息，并结合说明书的全部内容予以考虑，而不应仅限于具体实施方式部分的内容。  如果基于本领域的常规技术知识和专利申请文件的记载，所属领域技术人员能够理解权利要求中所记载的技术特征所表达的含义，则所述技术特征不会导致权利要求的保护范围不清楚。 | |

一、案由

本专利的专利号为201580072874.0，最早的优先权日为2014年11月10日，申请日为2015年11月10日，授权公告日为2021年09月17日。本专利授权公告时的权利要求书如下：

“1. 一种用于抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)表达的双链RNAi剂，其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链，

其中该正义链包含5’-GUGUGCACUUCGCUUCACA-3’(SEQ ID NO:39)且所述正义链的长度不超过21个核苷酸，且该反义链包含5’-UGUGAAGCGAAGUGCACACUU-3’(SEQ ID NO:40)且所述反义链的长度不超过23个核苷酸，

其中该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸，

其中该正义链与在3’-末端附接的配体缀合，且

其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物。

2. 如权利要求1所述的双链RNAi剂，其中该正义链的所有核苷酸及该反义链的所有核苷酸包含修饰。

3. 如权利要求1或2所述的双链RNAi剂，其中至少一个该经修饰的核苷酸是选自下组，该组由以下各项组成：脱氧-核苷酸、3’-末端脱氧-胸腺嘧啶(dT)核苷酸、2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、锁核苷酸、非锁核苷酸、构型限制性核苷酸、限制性乙基核苷酸、无碱基核苷酸、2’-氨基-修饰的核苷酸、2’-O-烯丙基-修饰的核苷酸、2’-C-烷基-修饰的核苷酸、2’-羟基-修饰的核苷酸、2’-甲氧基乙基修饰的核苷酸、2’-O-烷基-修饰的核苷酸、吗啉基核苷酸、氨基磷酸酯、包含非天然碱基的核苷酸、四氢吡喃修饰的核苷酸、1,5-脱水己糖醇修饰的核苷酸、环己烯基修饰的核苷酸、包含硫代磷酸酯基的核苷酸、包含甲基膦酸酯基的核苷酸、包含5’-磷酸酯的核苷酸、及包含5’-磷酸酯模拟物的核苷酸。

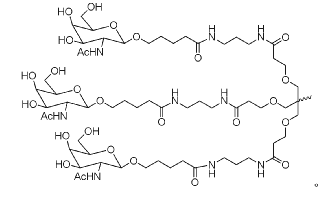
4. 如权利要求3所述的双链RNAi剂，其中5’-磷酸酯模拟物为5’-乙烯基磷酸酯(5’-VP)。

5. 如权利要求1所述的双链RNAi剂，其中正义链包含5’-gsusguGfcAfCfUfucgcuucaca-3’(SEQ ID NO:41)及反义链包含5’-usGfsugaAfgCfGfaaguGfcAfcacsusu-3’(SEQ ID NO:42)，其中a、g、c、与u分别为2'-O-甲基(2'-OMe)A、2'-OMe G、2'-OMe C和2'-OMe U；Af、Cf、Gf、与Uf分别为2'-氟A、2'-氟C、2'-氟G和2'-氟U；且s为硫代磷酸酯键联基。

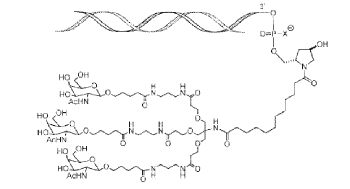
6. 如权利要求1或5所述的双链RNAi剂，其中至少一个链包含具有至少1个核苷酸的3’突出端，或其中至少一个链包含具有至少2个核苷酸的3’突出端。

7. 如权利要求1或5所述的双链RNAi剂，其中所述双链区具有19-21个核苷酸的长度。

8. 如权利要求1或5所述的双链RNAi剂，其中该配体为



9. 如权利要求8所述的双链RNAi剂，其中该RNAi剂与如下所示的配体缀合



其中X为O或S。

10. 如权利要求1所述的双链RNAi剂，其中该正义链包含5'-gsusguGfcAfCfUfucgcuucacaL96-3'(SEQ ID NO:1275)，且反义链包括5'-usGfsugaAfgCfGfaaguGfcAfcacsusu-3'(SEQ ID NO:1285)，其中a、g、c、与u分别为2'-O-甲基(2'-OMe)A、2'-OMe G、2'-OMe C和2'-OMe U；Af、Cf、Gf、与Uf分别为2'-氟A、2'-氟C、2'-氟G和2'-氟U；s为硫代磷酸酯键联基，且L96是N-[三(GalNAc-烷基)-酰胺基癸酰基)]-4-羟基脯氨醇。

11. 如权利要求1所述的双链RNAi剂，其中该正义链由5'-gsusguGfcAfCfUfucgcuucacaL96-3'(SEQ ID NO:1275)组成，且该反义链由5'-usGfsugaAfgCfGfaaguGfcAfcacsusu-3'(SEQ ID NO:1285)组成，其中a、g、c、与u分别为2'-O-甲基(2'-OMe)A、2'-OMe G、2'-OMe C和2'-OMe U；Af、Cf、Gf、与Uf分别为2'-氟A、2'-氟C、2'-氟G和2'-氟U；s为硫代磷酸酯键联基，且L96是N-[三(GalNAc-烷基)-酰胺基癸酰基)]-4-羟基脯氨醇。

12. 一种细胞，其包含如权利要求1，5，10及11中任一项所述的双链RNAi剂。

13. 一种药物组合物，其包含如权利要求1，5，10和11中任一项所述的双链RNAi剂。

14. 如权利要求13所述的药物组合物，其还包含未缓冲的溶液。

15. 如权利要求14所述的药物组合物，其中该未缓冲的溶液为生理食盐水或水。

16. 如权利要求13所述的药物组合物，其还包含缓冲液溶液。

17. 如权利要求16所述的药物组合物，其中该缓冲溶液包含乙酸盐、柠檬酸盐、醇溶谷蛋白、碳酸盐、或磷酸盐或其任何组合。

18. 如权利要求17所述的药物组合物，其中该缓冲溶液为磷酸盐缓冲的生理食盐水(PBS)。

19. 如权利要求1，5，10及11中任一项所述的双链RNAi剂、或如权利要求13至18中任一项所述的组合物用于制备治疗B型肝炎病毒(HBV)感染的药物的用途。

20. 如权利要求1，5，10及11中任一项所述的双链RNAi剂或如权利要求13至18中任一项所述的药物组合物用于制备治疗B型肝炎病毒(HBV)相关病症的药物的用途。

21. 如权利要求20所述的用途，其中该HBV相关病症是选自下组，该组由以下各项组成：D型肝炎病毒感染、δ型(delta)肝炎、急性B型肝炎；急性暴发性B型肝炎；慢性B型肝炎；肝纤维化；末期肝病；和肝细胞癌。

22. 如权利要求20所述的用途，其中该HBV相关病症为慢性肝炎，且该受试者为HBeAg阳性。

23. 如权利要求20所述的用途，其中该HBV相关病症为慢性肝炎，且该受试者为HBeAg阴性。

24. 如权利要求19-23中任一项所述的用途，其中该双链RNAi剂的给予剂量为0.01mg/kg至10mg/kg或0.5mg/kg至50mg/kg。

25. 如权利要求24所述的用途，其中该双链RNAi剂的给予剂量为10mg/kg至30mg/kg。

26. 如权利要求24所述的用途，其中该双链RNAi剂的给予剂量为3mg/kg。

27. 如权利要求24所述的用途，其中该双链RNAi剂的给予剂量为10mg/kg。

28. 如权利要求24所述的用途，其中该双链RNAi剂的给予剂量为0.5mg/kg，每周2次。

29. 如权利要求19-23中任一项所述的用途，其中该双链RNAi剂是给予固定剂量50mg至200mg。

30. 如权利要求19-23中任一项所述的用途，其中该双链RNAi剂是经皮下给予。

31. 如权利要求19-23中任一项所述的用途，其中该双链RNAi剂是经静脉内给予。

32. 如权利要求19-23中任一项所述的用途，其中该RNAi剂是给予2个或更多个剂量。

33. 如权利要求19-23中任一项所述的用途，其中该RNAi剂的给予间隔选自下组，该组由以下各项组成：每12小时一次、每24小时一次、每48小时一次、每72小时一次、及每96小时一次。

34. 如权利要求19-23中任一项所述的用途，其中该RNAi剂是每周给予2次。

35. 如权利要求19-23中任一项所述的用途，其中该RNAi剂是每隔一周给予。

36. 如权利要求19-23中任一项所述的用途，其中所述RNAi剂与另一种治疗剂一起给予。

37. 如权利要求36项所述的用途，其中该另一种治疗剂选自下组，该组由以下各项组成：抗病毒剂、反转录酶抑制剂、免疫刺激剂、治疗性疫苗、病毒侵入抑制剂、抑制HbsAg的分泌或释出的寡核苷酸、壳体抑制剂、共价闭合环状(ccc)HBV DNA抑制剂，及上述任一者的组合。

38. 如权利要求19-23中任一项所述的用途，其中所述RNAi剂与反转录酶抑制剂一起给予。

39. 如权利要求19-23中任一项所述的用途，其中所述RNAi剂与反转录酶抑制剂及免疫刺激剂一起给予。

40. 如权利要求38所述的用途，其中该反转录酶抑制剂选自下组，该组由以下各项组成：泰诺福韦(tenofovir disoproxil fumarate) (TDF)、替诺福韦埃拉酚(Tenofovir alafenamide)、拉米夫定(Lamivudine)、阿德福韦酯(Adefovir dipivoxil)、恩替卡韦(Entecavir)(ETV)、喜必福(Telbivudine)、及AGX-1009。

41. 如权利要求39所述的用途，其中该免疫刺激剂选自下组，该组由以下各项组成：聚乙二醇基化干扰素α2a(PEG-IFN-α2a)、干扰素α-2b、重组体人类介白素-7、及Toll-样受体7(TLR7)促效剂。”

请求人于2021年12月31日向国家知识产权局提出了无效宣告请求，其理由是权利要求1-41不清楚，不符合专利法第26条第4款的规定；权利要求1-10、12-41得不到说明书的支持，不符合专利法第26条第4款的规定；说明书公开不充分，不符合专利法第26条第3款的规定；权利要求1-41缺乏创造性，不符合专利法第22条第3款的规定，请求宣告本专利权利要求1-41无效，同时提交了如下证据：

证据1：周昌华等人，“化学修饰小干扰RNA研究进展”，国际检验医学杂志，第27卷第8期，公开日期为2006年08月；

证据2：Sayda M．Elbashir等人，“Functional anatomy of siRNAs for mediating efficient RNAi Drosophila melanogaster embryo lysate”及其部分中文译文，The EMBO Journal，第20卷第23期，公开日期为2001年；

证据3：Mohammed Amarzguioui等人，“Tolerance for mutations and chemical modifications in a siRNA”及其部分中文译文，Nucleic Acids Research，第31卷第2期，公开日期为2003年；

证据4：毕煌垒等人，“小分子干扰RNA分子化学修饰研究进展”，国际药学研究杂志，第35卷第6期，公开日期为2008年12月；

证据5：US2OO3/0206877 A1及其部分中文译文，公开日期为2003年11月06日；

证据6：Ronald P.van Rij，《Antiviral RNAi Concepts，Methods，and Applications》及部分其中文译文，Humanapress，公开日期为2011年；

证据7：Thazha P.Prakash等人，“Positional Effect of Chemical Modifications on Short Interference RNA Activity in Mammalian Cells”及部分其中文译文，Journal of Medicinal Chemistry，第48卷第13期，公开日期为2005年；

证据8：YA-LIN CHIU等人，“siRNA function in RNAi：A chemical modification analysis”及其部分中文译文，RNA，2003年第9期，线上公开日期为2014年12月30日；

证据9：Tariq M．Rana等人，“Illuminating the silence：understanding the structure and function of Small RNAs”及其部分中文译文，MOLECULAR CELL BIOLOGY，第8卷，公开日期为2007年01月；

证据10：Hayden Peacock等人，“Chemical Modification of siRNA Bases To Probe and Enhance RNA Interference”及其部分中文译文，The Journal of Organic Chemistry，第76卷，公开日期为2011年；

证据11：Alvaro Somoza等人， “Steric Effects in RNA Interference：Probing the Influence of Nucleobase Size and Shape”及其中文译文，Chemstry-A European journal，2008年第14期，公开日期为2008年；

证据12：陈伟等人，“小干扰RNA的设计”，国际药学研究杂志，第37卷第2期，公开日期为2010年04月；

证据13：CN1O3635576 A，公开日为2014年03月12日；

证据14：Nattanan Panjaworayan等人，“Effects of HBV Genetic Variability on RNAi Strategies”及其部分中文译文，Hepatitis Research and Treatment，第2O11卷，公开日为2011年07月02日；

证据15：WO2O14/179627 A2及其部分中文译文，公开日为2014年11月06日；

证据16：Rosemary Kanasty等人，“Delivery materials for siRNA therapeutics”及其部分中文译文，NATURE MATERIALS，第12卷，公开日为2013年11月；

证据17：Angela Reynolds等人，“Rational siRNA design for RNA interference”及其部分中文译文，Nature Biotechnology，第22卷第3期，线上公开日为2004年02月01日；

证据18：BERND JAGLA等人，“Sequence characteristics of functional siRNAs”及其部分中文译文，RNA，第11卷第6期，公开日期为2005年。

请求人认为：（1）依据证据1，权利要求1中“修饰”的限定不清楚，权利要求1中有关“实质上所有核苷酸”的术语和权利要求2、11中“所有核苷酸”的表述存在矛盾、有关权利要求3中并列技术方案都不清楚，导致权利要求1-41不清楚，不符合专利法第26条第4款的规定。（2）依据证据1-12，权利要求1中“修饰”、“包含”以及“配体”的限定、权利要求3中有关修饰的并列技术方案得不到说明书的支持，导致权利要求1-10、12-41不符合专利法第26条第4款的规定。

（3）权利要求1与证据13的区别技术特征在于：①权利要求1中未经修饰的正义链5’端起第19位由证据13相应位置中的C替换为A，与正义链互补的，权利要求1中未经修饰的反义链5’端起第1位为U；②权利要求1与证据13反义链的修饰核苷酸数量不同；③权利要求1的正义链在3’末端附接配体，该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物。实际解决的技术问题是提供另一些针对目标序列相同靶位置的经修饰的双链RNAi剂。对于区别①，证据14/17/18结合证据13，或者单独证据13均给出了技术启示；对于区别②，证据13给出了技术启示；对于区别③，证据15/16给出了技术启示；即使认为权利要求1反义链中包含的UU也构成区别，证据13也已经公开了该区别特征。因此，权利要求1不具备创造性，不符合专利法第22条第3款的规定。在此基础上，权利要求2-41也不符合专利法第22条第3款的规定。

（4）说明书未公开权利要求1的正义链或反义链“实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸”的技术方案，权利要求3的多项有关修饰类型的并列技术方案，AD-66810或者AD-66811两组RNAi剂的实验结果之间存在矛盾，导致说明书公开不充分，不符合专利法第26条第3款的规定。

经形式审查合格，国家知识产权局于2022年01月07日受理了上述无效宣告请求并将无效宣告请求书及证据副本转给了专利权人，同时成立合议组对本案进行审查。

专利权人针对上述无效宣告请求于2022年02月22日提交了意见陈述书以及证据3、14、15的译文补充页，同时修改了权利要求书，其中将权利要求2的技术特征加入权利要求1中，并且删除了原权利要求3中的术语“脱氧-核苷酸”、“2’-O-烷基-修饰的核苷酸”以及“包含非天然碱基的核苷酸”，相应调整了权利要求的编号和引用关系，修改后的权利要求1和2为：

“1. 一种用于抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)表达的双链RNAi剂，其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链，

其中该正义链包含5’-GUGUGCACUUCGCUUCACA-3’(SEQ ID NO:39)且所述正义链的长度不超过21个核苷酸，且该反义链包含5’-UGUGAAGCGAAGUGCACACUU-3’(SEQ ID NO:40)且所述反义链的长度不超过23个核苷酸，

其中该正义链的所有核苷酸及该反义链的所有核苷酸为经修饰的核苷酸，

其中该正义链与在3’-末端附接的配体缀合，且

其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物。

2.如权利要求1所述的双链RNAi剂，其中至少一个该经修饰的核苷酸是选自下组，该组由以下各项组成：3’-末端脱氧-胸腺嘧啶(dT)核苷酸、2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、锁核苷酸、非锁核苷酸、构型限制性核苷酸、限制性乙基核苷酸、无碱基核苷酸、2’-氨基-修饰的核苷酸、2’-O-烯丙基-修饰的核苷酸、2’-C-烷基-修饰的核苷酸、2’-羟基-修饰的核苷酸、2’-甲氧基乙基修饰的核苷酸、吗啉基核苷酸、氨基磷酸酯、四氢吡喃修饰的核苷酸、1,5-脱水己糖醇修饰的核苷酸、环己烯基修饰的核苷酸、包含硫代磷酸酯基的核苷酸、包含甲基膦酸酯基的核苷酸、包含5’-磷酸酯的核苷酸、及包含5’-磷酸酯模拟物的核苷酸。”

专利权人认为：（1）将权利要求2的技术特征加入权利要求1中，修改后的权利要求1保护“一种用于抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)表达的双链RNAi剂，其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链，

其中该正义链包含5’-GUGUGCACUUCGCUUCACA-3’(SEQ ID NO:39)且所述正义链的长度不超过21个核苷酸，且该反义链包含5’-UGUGAAGCGAAGUGCACACUU-3’(SEQ ID NO:40)且所述反义链的长度不超过23个核苷酸，

其中该正义链的所有核苷酸及该反义链的所有核苷酸包含修饰，

其中该正义链与在3’-末端附接的配体缀合，且

其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物。”

（2）本专利说明书已示例并验证本专利权利要求1所保护的siRNA具有强HBV抑制活性，并且权利要求4、9和10所保护的具体siRNA还可实现较长时间内持续降低活体内HBsAg水平的技术效果。

（3）修改后的权利要求1相对于证据13的区别在于：①双链部分的序列不同；②反义链3’-端序列不同；③修饰方式不同；④配体的种类和连接方式在证据13中未公开；实际解决的技术问题至少是提供一种具有强抗HBV活性的RNAi剂。权利要求4、9、10及相关权利要求进一步解决的技术问题在于该RNAi剂还可以在较长时间内持续降低活体内HBsAg水平。基于证据17的教导，证据13的SEQ ID NO：421和SEQ ID NO：585 dsRNA会被认为是为非功能性的，本领域技术人员根本没有动机选择它们作为改进的起点；证据14和证据17-18未给出将证据13的siRNA正义链的19位的C改造成A的技术启示；实际上遵守证据14、17和18的教导，本领域技术人员将不会考虑证据13中的421/585的siRNA；考虑到错配带来的潜在不利影响，本领域技术人员也不会将证据13中序列中19位的C改造成A；证据13未给出将正义链和反义链序列中核苷酸全部修饰的教导；证据15或16未给出使用配体与正义链的3’-末端附接，也未教导利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物；本发明中反义链序列3’-末端的UU碱基是非显而易见的。因此，权利要求1及其从属权利要求具备创造性。另外，现有技术中也没有任何教导具有本发明特定序列的dsRNA在体内能够降低活体内HBsAg水平，因此本专利权利要求4、9、10及相关权利要求的技术方案也具有显著进步。

（4）对于权利要求1的技术方案，本专利的说明书给出了AD-66810和AD-66811的实例，并公开了其代表HBV抑制活性的经典体外实验的IC50数据。以上两个实例均具有权利要求1中限定的dsRNA序列，且连接有GalNAc配体，并包含对于所有碱基的修饰。可见，本发明也通过具体的实例验证了权利要求1的技术方案所能够实现的效果。此外，本专利还列举了教导修饰方式的现有技术，本领域技术人员能够预期，具有权利要求1中所限定序列的dsRNA能够实现至少类似于AD-66810和AD-66811的体外siRNA效应。权利要求所限定的序列中并不存在非天然的碱基，且链长度已将末端碱基限制在很小的范围内，本领域技术人员了解如何选择末端碱基。权利要求1中的“包含”并不损害要求保护的dsRNA核心序列的完全互补性。本领域技术人员可以根据本发明的教导和现有技术，确定合适的1或2个加到末端的核苷酸，且该额外1-2个核苷酸的种类非常有限。此外，现有技术中已经对于突出区核苷酸数量和性质均有充分的教导。本领域技术人员基于其对于现有技术和本领域常规试验手段的了解使用合适的配体，从而制备本专利RNAi剂，权利要求1-9和11-40能够得到说明书的支持。

（5）本专利说明书中已对“修饰”进行了充分的描述，现有技术中也有大量相关的技术教导，权利要求所限定的序列也并不包含非天然碱基，权利要求1-40清楚地限定了本专利的保护范围。

（6）本领域技术人员基于说明书充分公开的内容，能够实现本发明的技术方案，解决技术问题并产生预期的技术效果，符合专利法对于说明书充分公开的要求。由于AD-66810与AD-66811的核苷酸修饰方式不同，在本发明公开的范围内表现出不同的体内活性效果是很正常的。

国家知识产权局本案合议组于2022年02月28日向双方当事人发出了口头审理通知书，定于 2022年04月15日举行口头审理，同时将专利权人于2022年02月22日提交的意见陈述书、修改后的权利要求书及反证转送给请求人。

请求人于2022年04月12日提交了意见陈述书，补充了证据6和15的部分内容以及证据6、14-15的部分中文译文，同时提交了如下证据（编号续前）：

证据19：胡颖等人，“RNA干扰技术中SIRNA设计原则的研究进展”，国际遗传学杂志，第30卷第6期，公开日为2007年12月15日；

证据20：Tim Kunne等人，“Planting the seed：target recognition of short guide RNAs”及其部分中文译文，Trends in Microbiology，第22卷第2期，公开日为2014年02月；

证据21：CN113430196 A（证据13的分案申请）的权利要求书。

请求人又于2022年04月14日提交了如下证据（编号续前）及参考资料：

证据22：Dianne S.Schwarz等，“Asymmetry in the Assembly of the RNAi Enzyme Complex”及其部分中文译文，Cell，第115卷，第199-208页，公开日期：2003年10月17日。

同日，专利权人亦提交了如下反证：

反证1（来自证据6中引用的一篇文献）：Derek M.Dykxhoorn等人，“Determinants of specific RNA interferenc –mediated silencing of human β-globin alleles differing by a single nucleotide polymorphism”及其部分译文，PNAS，第103卷第15期，第5953-5958页，公开日期：2006年04月11日。

口头审理如期举行，请求人委托的北京信诺创成知识产权代理有限公司专利代理师尹吉伟、陈悦军，以及闫珠君、吕鹏云，专利权人委托的北京市金杜律师事务所专利代理师陈文平、马慧、以及谌侃，朱青出席了本次口头审理，双方当事人对对方出庭人员的身份和资格无异议，对合议组成员无回避请求。本案合议组对本无效宣告请求的无效理由和证据逐一进行了调查，双方当事人充分陈述了意见。

在口头审理过程中，合议组向双方当事人明示，专利权人于2022年02月22日提交的意见陈述书和权利要求书修改替换页中针对权利要求1的修改内容不同，后者权利要求1的修改内容“该正义链的所有核苷酸及该反义链的所有核苷酸为经修饰的核苷酸”与授权文本中相应内容“该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸”在表述上并不一致，且不属于《专利审查指南》规定的专利无效程序中允许修改的情形，因此无法接受权利要求书修改替换页的修改方式。对此，专利权人主张，虽然意见陈述书和权利要求书修改替换页中针对权利要求1的修改形式上存在差异，但是实质含义是一致的，并且同意以意见陈述书的记载为准，即以2022年02月22日提交的意见陈述书中的权利要求1以及权利要求书修改替换页中的权利要求2-40作为本案审理的权利要求书文本，将在口头审理结束后提交相应的权利要求书修改替换页；请求人亦认可意见陈述书和权利要求书修改替换页中的权利要求1的保护范围实质相同，同意以2022年02月22日提交的意见陈述书中的权利要求1以及权利要求书修改替换页中的权利要求2-40作为本案审理的权利要求书文本。在此基础上，合议组确认以专利权人于2022年02月22日提交的意见陈述书中的权利要求1以及权利要求书修改替换页中的权利要求2-40以及本专利授权公告文本的其它内容为基础进行审理。

请求人当庭将2022年04月14日提交的意见陈述书以及证据和参考资料再次提交给合议组，合议组将其与请求人于2022年04月12日提交的意见陈述书以及证据一并转给专利权人。

专利权人当庭还提交了如下反证（编号续前）：

反证2：杨瑾著，《环境、肿瘤和表观遗传学》，军事医学科学出版社，2014年05月第一版第一次印刷；

反证3：冯美卿主编，《生物技术制药》，中国医药科技出版社，2016年1月第一版第一次印刷。

合议组将其与专利权人于2022年04月14日提交的意见陈述书及反证一并转给请求人。

请求人主张：（1）权利要求1-40不清楚，权利要求1-9、11-40得不到说明书的支持，不符合专利法第26条第4款的规定，其中权利要求1-40不清楚的具体无效理由以2022年04月12日提交的意见陈述书的主张为准，即权利要求1中的“修饰”、权利要求2中的“构型限制性核苷酸”与“锁核苷酸”、“2’-羟基-修饰”不清楚；证据6用于证明权利要求不清楚；证据1-12用于证明权利要求得不到说明书支持。（2）说明书公开不充分，不符合专利法第26条第3款的规定。（3）权利要求1-40缺乏创造性，不符合专利法第22条第3款的规定，其中证据13-22用于说明创造性问题；证据13作为最接近的现有技术，证据组合方式为：证据13＋证据14／17／18＋证据15／16。专利权人对于所有证据的真实性、合法性、关联性、公开性、公开时间及译文准确性无异议，请合议组代为核实，主张证据8的公开日期晚于本专利优先权日，不能作为现有技术文献使用，证据22属于超期提交的证据，不应该接受。专利权人明确，权利要求1中所述“修饰”后的核苷酸不包含非天然的碱基。

请求人主张，专利权人提交的补充译文属于反证，对于其内容无异议，对于反证1-3的真实性、合法性、关联性、公开性及公开时间无异议，对于反证1的提交时间有异议，反证3的公开时间晚于本专利优先权日，不能作为现有技术文献或者公知常识证据使用。专利权人回应称，该反证的公开时间虽然晚于本专利优先权日，但是反映的事实和规则是公知的。

请求人和专利权人分别于2022年04月28日和2022年04月29日提交了口审代理词，各自重申了口头审理中强调的理由，专利权人还同时提交了权利要求书的修改替换页，在口头审理当庭确认的文本的基础上进一步删除了权利要求2中的术语“2’-羟基-修饰”、“锁核苷酸”和“无碱基核苷酸”。

新修改的权利要求1-2如下：

“1.一种用于抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)表达的双链RNAi剂，其中该双链RNAi剂包含形成双链区的正义链与反义链，

其中该正义链包含5’-GUGUGCACUUCGCUUCACA-3’(SEQ ID NO:39)且所述正义链的长度不超过21个核苷酸，且该反义链包含5’-UGUGAAGCGAAGUGCACACUU-3’(SEQ ID NO:40)且所述反义链的长度不超过23个核苷酸，

其中该正义链的所有核苷酸及该反义链的所有核苷酸包含修饰，

其中该正义链与在3’-末端附接的配体缀合，且

其中该配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物。

2.如权利要求1所述的双链RNAi剂，其中至少一个该经修饰的核苷酸是选自下组，该组由以下各项组成：3’-末端脱氧-胸腺嘧啶(dT)核苷酸、2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、非锁核苷酸、构型限制性核苷酸、限制性乙基核苷酸、2’-氨基-修饰的核苷酸、2’-O-烯丙基-修饰的核苷酸、2’-C-烷基-修饰的核苷酸、2’-甲氧基乙基修饰的核苷酸、吗啉基核苷酸、氨基磷酸酯、四氢吡喃修饰的核苷酸、1,5-脱水己糖醇修饰的核苷酸、环己烯基修饰的核苷酸、包含硫代磷酸酯基的核苷酸、包含甲基膦酸酯基的核苷酸、包含5’-磷酸酯的核苷酸、及包含5’-磷酸酯模拟物的核苷酸。”

专利权人又于2022年05月19日提交了反证1-3的相关检索报告和文献提供证明供合议组参考。

至此，合议组认为本案事实已经清楚，可以作出审查决定。

二、决定的理由

（一）审查基础

在本案无效宣告程序中，专利权人于2022年02月22日提交的意见陈述书和权利要求书修改替换页中针对权利要求1的修改不同，其中权利要求书修改替换页中权利要求1的修改内容“该正义链的所有核苷酸及该反义链的所有核苷酸为经修饰的核苷酸”与授权文本中相应内容“该正义链实质上所有核苷酸及该反义链实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸”在表述上并不一致，由于专利无效宣告程序中“权利要求的进一步限定”是指在权利要求中补入其他权利要求中记载的一个或者多个技术特征，以缩小保护范围，而不应当涉及技术特征本身的修改，因此其不属于《专利审查指南》规定的专利无效程序中允许修改的情形，权利要求书修改替换页中权利要求1的上述修改内容不应当被接受。而专利权人前述意见陈述书中明确记载的权利要求1的修改文本仅是将原权利要求2的附加技术特征加入到原权利要求1中，符合《专利审查指南》的相关规定。双方当事人当庭均同意以专利权人于2022年02月22日提交的意见陈述书中明确记载文本内容的权利要求1以及采用文字概述的其它权利要求（即对应于权利要求书修改替换页中的权利要求2-40）作为本案审理的权利要求书文本，并经合议组当庭确认。

随后专利权人于2022年04月29日书面提交相应的权利要求书修改替换页（共7页40项），在口头审理当庭确认的文本的基础上仅进一步删除了权利要求2中的术语“2’-羟基-修饰”、“锁核苷酸”和“无碱基核苷酸”。

经审查，本案无效程序中权利要求的修改属于权利要求和技术方案的删除以及权利要求的进一步限定，符合《专利审查指南》中的相关规定。因此，本无效宣告请求案以专利权人于2022年04月29日提交的权利要求第1-40项以及本专利授权公告文本的其它内容为基础进行审查。

（二）关于证据

证据1-22分别属于中国、PCT专利文献以及中外文书籍文献，专利权人对于前述证据的真实性、合法性、公开性、公开时间以及证据2-3、5-11、14-18、20、22的译文准确性均无异议，合议组经核实予以确认。专利权人主张证据8的公开日期晚于本专利优先权日，不能作为现有技术文献使用；证据22属于超期提交的证据，不应该接受。

对此，合议组认为：请求人提交证据8用于证明权利要求得不到说明书支持，具体用于证明3MU修饰的EGFP siRNAs完全丧失了RNAi活性的客观事实，请求人并未以此证明现有技术的状况，也未作为现有技术文献使用，因此不应当依据专利权人的主张否定该证据的证据资格。

证据22的提交日是2022年04月14日，请求人主张该证据是针对专利权人提交的证据3、14、15和16的补充译文的回应，在收到合议组转送的专利权人反证之后1个月内提交，符合进一步提交证据的时间要件。对此，合议组认为：《专利审查指南》规定请求人在收到无效宣告请求之日起一个月后补充证据的，一般不予考虑，例外情形之一是“针对专利权人提交的反证，请求人在专利复审委员会指定的期限内补充证据，并在该期限内结合该证据具体说明相关无效宣告理由的”。经核实，请求人于2022年04月14日提交证据22时，并未结合该证据具体说明相关无效宣告理由，也未在合议组于2022年02月28日发出的转文通知书指定的期限内进一步结合该证据具体说明相关无效宣告理由，因此不符合《专利审查指南》的上述规定，由此该证据不应予以考虑。

反证1为证据6中引用的一篇期刊文献，专利权人主张其用于证明证据6的内容无法支持请求人的观点，该反证的提交日期（2022年04月14日）远远超出了转送证据6的无效宣告请求受理通知书所指定的答复期限，且专利权人在提交该反证时也未结合该反证具体说明理由，因此该反证不应予以考虑。

反证2、3属于中文教科书工具书，请求人对于反证2-3的真实性、合法性、关联性、公开性及公开时间无异议，其公开日期在本专利的优先权日之后，专利权人主张其所反映的事实和规则是公知的，并未以此证明现有技术的状况，也未作为现有技术文献使用，因此没有理由否定反证2-3的证据资格。

（三）关于专利法第26条第4款

专利法第26条第4款规定，权利要求书应当以说明书为依据，清楚、简要地限定要求专利保护的范围。

根据该款规定，如果基于本领域的常规技术知识和专利申请文件的记载，所属领域技术人员能够理解权利要求中所记载的技术特征所表达的含义，则所述技术特征不会导致权利要求的保护范围不清楚。

权利要求书中的每一项权利要求所要求保护的技术方案应当是所属领域技术人员能够从说明书充分公开的内容中得到或概括得出的技术方案，并且不得超出说明书公开的范围。在判断权利要求是否得到说明书的支持时，应当站在所属领域技术人员的角度上，依据其所掌握的技术知识，充分参考相关的现有技术信息，并结合说明书的全部内容予以考虑，而不应仅限于具体实施方式部分的内容。

就权利要求不清楚的无效理由，请求人主张，根据说明书第0421和0477段的关于“经修饰核苷酸”和“碱基修饰”的记载，权利要求1中的每一个核苷酸都可以经修饰以任意改变化学结构，且当存在较多非天然碱基时，无法确定该经修饰的序列是否对应于权利要求1中的SEQ ID NO：39/40序列，使得其中采用一级序列进行限定的方式失去意义。因此，权利要求1中的“修饰”不清楚。基于类似理由，其它权利要求也不清楚。

对此，合议组认为：首先本专利说明书在发明详述的“III.本发明的经修饰iRNA”部分中具体公开了本专利技术方案中针对iRNA（例如，dsRNA）的正义链和反义链进行核苷酸修饰的目的、作用和主要类型，明确了经过化学修饰以加强稳定性或其他有利特性的构思，还详细列举了可选的修饰类型以及参照的相应现有技术文献，其中第0421和0477段中所述的记载也就是对术语“经修饰核苷酸”和“碱基修饰”的常规解释，本领域公知碱基属于核苷酸的单体构件，碱基修饰属于核苷酸修饰的基本方式。基于本领域的常规技术知识和专利申请文件的记载，本领域技术人员能够理解权利要求所述“所有核苷酸包含修饰”这一术语的准确含义。

其次，在口头审理和书面意见陈述中专利权人均作出了解释说明，主张权利要求中的正义链和反义链（SEQ ID NO：39/40；SEQ ID NO：41/42及SEQ ID NO：1275/1285）中仅含有A、U、C和G四种碱基，根据说明书的记载和本领域的公知常识可知，它们代表天然的核苷酸碱基A、U、C和G；同时，按照本领域的惯例，当存在非天然碱基时，序列中会以特殊的标记标明，而本专利权利要求所限定的序列中并不包含特殊标记，可见权利要求序列中并不存在非天然的碱基。为了进一步澄清该问题，专利权人在口头审理和书面意见陈述中均确认，权利要求所述“修饰”后的核苷酸不包含非天然的碱基。另外，在2022年04月29日提交的权利要求书中已经删除了“无碱基核苷酸”和“包含非天然碱基的核苷酸”，进一步佐证了所述修饰后的核苷酸不包括非天然碱基。

请求人还主张，构型限制性核苷酸与锁核苷酸属于上下位概念（参见证据6），2’-羟基-修饰是在核苷酸核糖的2’位进行何种修饰不清楚，导致权利要求2中的“构型限制性核苷酸”与“锁核苷酸”、“2’-羟基-修饰”不清楚。

对此，专利权人于2022年04月28日提交的权利要求书修改文本中删除了权利要求2中的术语“2’-羟基-修饰”和“锁核苷酸”，请求人主张的上述无效理由的事实基础已不存在，因此相应的无效理由不能成立。

就权利要求得不到说明书支持的问题，请求人主张：（1）权利要求1未限定修饰的具体类型、位点、数量，说明书仅验证了两对仅有一个碱基修饰差异的所有核苷酸均经修饰的siRNA，证据1-5、7-11表明碱基的错配或者各种修饰的不恰当引入可能会导致siRNA效果的丧失，证据2、4、7、12表明修饰的位置和数量对于siRNA效果影响较大，证据2-3、5-6表明完全修饰会显著降低siRNA功能，由此本领域技术人员无法确信其他修饰都能达到与所验证序列相同或接近的技术效果；（2）说明书记载的修饰序列AD66810和AD66811仅包含了2’-O-甲基化、2’-氟代和硫代磷酸酯键联基三种修饰类型，本领域技术人员无法确认权利要求2中其它修饰类型、位置、数量可以获得同样的技术效果，其中证据2、3、5、8、10-11表明“包含非天然碱基的核苷酸”得不到说明书支持。

对此，合议组认为：

首先，如前所述，专利权人已确认，权利要求所述“修饰”后的核苷酸不包含非天然的碱基，请求人主张的相应无效理由已没有事实基础。

其次，权利要求1保护一种用于抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)表达的双链RNAi剂，并且通过RNA双链的特定一级序列结构、其正义链和反义链的所有核苷酸都存在修饰，以及配体的具体连接方式等具体结构特征作了进一步限定，标靶区主要针对HBV基因(SEQ ID NO:1)的位置1581-1599，设计的相应具体起始位点为1577（参见说明书第0947、1075段以及表27）。

与之相对应的，本专利说明书在具体实施方式部分公开了两个siRNA双螺旋实例（AD-66810和AD-66811）以及相应的体外和体内活性实验数据（参见说明书第1073-1075段以及表25、27、图6A、6B、图7），两者均具有权利要求1中限定的dsRNA一级序列，且连接有GalNAc配体，并包含对于所有核苷酸的修饰。其中，AD-66810和AD-66811体外抑制HBV的IC50值分别为0.29OnM和0.O29nM，在3mg/kg的剂量下小鼠体内的HBsAg的Log10降低分别为1.7和1.3（参见表27），显示了有效的体内和体外抑制活性。

本领域公知，siRNA的体外沉默效应主要取决于一级序列，且在一级序列的结构确定情况下，具体选择何种修饰基团是本领域技术人员基于现有技术教导可以实现的（参见本专利说明书第0421、0477段）。基于本专利说明书的教导，本领域技术人员还可明确，与现有技术的教导类似，本发明中dsRNA的RNA化学修饰的目的是增加体内稳定性或其他有利特性（参见说明书第0476段）。除此之外，本专利还列举了教导修饰方式的现有技术（参见例如，说明书第0479、0481段等）。基于本专利说明书的教导，本领域技术人员还知晓，本发明中基于特定的一级序列进行的修饰能够维持与核酸靶标化合物的杂交（参见说明书第0482段）。由此可以合理地确定，对于权利要求1已明确限定的一级序列，本领域技术人员能够预期，具有权利要求1中所限定序列的dsRNA能够实现至少类似于AD-66810和AD-66811的体外siRNA效应。就提高dsRNA的体内稳定性这一基本目的而言，证据8、9、13等现有技术文献中公开的技术信息佐证了现有技术中针对dsRNA序列的修饰已有较为充分的研究基础，系统介绍了修饰类型、方式以及功能活性的影响（参见证据8中文译文第1页第2段、证据9中文译文第1页倒数第2段以及表1、证据13说明书第102、105段），由此本领域技术人员有能力根据需要实际获得具有抑制病毒表达活性的经过修饰的dsRNA功能序列；上述证据还显示，本领域中对于dsRNA的碱基进行修饰是提高体内稳定性的常规技术手段，其具体的修饰方式和引入修饰的方法也是本领域技术人员基于现有技术可以合理确定的。

再次，尽管证据1-12从诸多不同方面介绍了核苷酸修饰对于siRNA活性的影响，但是这些现有技术文献均属于理论上的泛泛论述，并未针对HBV基因，特别是该基因序列(SEQ ID NO:1)的标靶区位置1581-1599进行修饰研究，其证明力显著弱于本专利说明书公开了实验数据的效果实验。同时，本领域技术人员为了获得用于抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)表达的siRNA分子，自然会考虑选用对于siRNA活性影响较小的修饰基团和修饰方式，避免其失活或者活性下降过多。因此，有理由认为，相比于一级序列的选择，本领域技术人员有能力选择出不显著影响活性的常规修饰方式。

基于以上的理解，在一级序列的结构确定的前提下，本领域技术人员有能力基于本专利说明书以及现有技术的教导具体选择修饰方式，并且维持与靶mRNA的杂交以导致其降解，抑制其表达（参见，例如本专利说明书第0477、0479、0481、0482段）。由此基于权利要求1限定的一级序列能够预期，具有权利要求1中所限定序列的修饰dsRNA能够有效抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)的表达。基于同样的理由，权利要求2以及直接或者间接引用权利要求1的其它权利要求中所限定的修饰dsRNA亦能够有效抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)的表达。

请求人还主张，（1）权利要求1采取了“包含”的限定方式，意味着可以在末端增加1-2个额外的核苷酸，本领域技术人员无法确定在两端增加哪些核苷酸可以保留与所验证的修饰序列类似的RNA干扰活性。权利要求2亦存在相同缺陷。（2）权利要求1未限定作为配体的GalNAc衍生物的具体种类，而说明书记载的是“L96”配体，本领域技术人员无法预先确定采用哪些其它分支键联体结构的配体的经修饰双链RNAi剂能达到相近的技术效果。

对此，合议组认为：（1）本领域公知，RNA干扰是由双链RNA（dsRNA）诱发的、同源mRNA高效特异性降解的现象。胞质中的核酸内切酶将dsRNA切割成多个siRNA；siRNA在细胞内RNA解旋酶的作用下解链成正义链和反义链，继之由反义siRNA再与体内一些酶结合形成RNA诱导的沉默复合物(RISC)。RISC与外源性基因表达的mRNA的同源区进行特异性结合，其中起靶序列识别作用的是siRNA的反义链；RISC具有核酸酶的功能，在结合部位切割mRNA，导致特定基因沉默，切割位点即是与siRNA中反义链互补结合的两端。被切割后的断裂mRNA随即降解，从而诱发细胞针对这些mRNA的降解反应。 siRNA不仅能引导RISC切割同源单链mRNA，而且可作为引物与靶RNA结合并在RNA聚合酶作用下合成更多新的dsRNA，新合成的dsRNA再由Dicer切割产生大量的次级siRNA，经过若干次的合成-切割循环，RNAi的作用不断放大，最终将靶mRNA完全降解（参见，例如证据9、12、17、18等）。可见，dsRNA核心序列与靶RNA的序列互补性是实现mRNA降解和次级siRNA产生的关键，本领域技术人员在理解权利要求1和2中所述术语“包含”时，也是以不损害dsRNA核心序列与靶RNA的序列互补性为前提的。此外，本专利说明书还具体公开了“包含序列的链”的含义、相对而言可忍受错配的区域、在正义链或者反义链形成突出端的结构、序列互补的定义及条件等信息（参见本专利说明书第0415、0426-0429、0433-0438、0474、0502-0521段），本领域技术人员基于本专利说明书的系统记载，结合常规技术手段加以选择验证，有能力在dsRNA核心序列的两端添加一到两个核苷酸，形成突出端等结构，并且维持相应的基本功能活性。

（2）就配体的选择和连接方式而言，本专利说明书公开了配体的引入有助于改善siRNA的分布、靶向或寿命，或者调控药物动力学特性（参见本专利说明书第0636、0642段），还公开了可选配体的种类、性能、连接方式等信息（参见本专利说明书第0635-0714段），其中作为优选的示例，描述了常见的几种通过二价或三价分支键联基接合的GalNAc衍生物的结构式及相应的诸多现有技术文献（参见本专利说明书第0709-0710段）。另外，现有技术中针对GalNAc衍生物作为siRNA配体的研究亦可提供参考，例如证据16即列举了现有技术中siRNA递送常用的配体类型和功能应用。因此，本领域技术人员基于本专利说明书的系统记载，结合常规技术手段加以选择验证，有能力得到siRNA的合适GalNAc配体及其连接方式，并且维持siRNA相应的基本功能活性。

（四）关于专利法第26条第3款

专利法第26条第3款规定，说明书应当对发明作出清楚、完整的说明，以所属技术领域的技术人员能够实现为准。

根据该款规定，所属技术领域的技术人员能够实现，是指所属技术领域的技术人员按照说明书记载的内容，能够实现该发明的技术方案，解决其技术问题，并且产生预期的技术效果。如果所属技术领域的技术人员根据申请公开的技术方案可以实现该技术方案，解决其技术问题，并产生预期的技术效果，则认为该申请符合专利法第26条第3款关于发明充分公开的规定。

本案中，请求人主张，说明书未公开权利要求1所涉及的双链RNAi剂的正义链或反义链“实质上所有核替酸为经修饰的核苷酸”的技术方案；说明书未公开权利要求3中除了2’-O-甲基化、2’-氟代、硫代磷酸酯键联基三种修饰类型以外的修饰类型的并列技术方案。

对此，合议组认为：基于前述专利法第26条第4款的第一点理由，基于权利要求1-40限定的一级序列能够预期，具有权利要求1中所限定序列的修饰dsRNA能够有效抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)的表达，相应的说明书公开不充分的无效理由不成立。

请求人还主张，从说明书表27所记载的体外实验数据看，AD-66811的抑制活性显著优于AD-66810，而体内数据看，AD-66811又显著劣于AD-66810，显示出不同实验结果之间存在矛盾，由此有理由怀疑上述实验数据的真实性，进而无法确认本发明的技术效果。

对此，合议组认为：生物医药学科属于典型的实验科学，对于说明书实验数据的真实性和证明力，通常需要有针对性地结合所属领域技术常识、整体现有技术状况、说明书记载的实验条件和衡量标准等，在充分考量影响实验数据的各方面因素的情况下进行综合分析评判，说明书实验数据与理论预期存在一定偏差的事实并不必然证明该实验数据完全不可信。

本案中，本专利说明书在具体实施方式部分进行了大量的修饰研究，例如，在表3中列出了数十个HBV基因序列中的第250位起始的未经修饰的正义链序列，表4列出了相应的经修饰的正义与反义链序列，表5进一步公开了这些修饰序列在Dual-Glo荧光素酶试验中的活性结果，活性的数值“以相对于阴性对照组的mRNA残留百分比表示”（参见本专利说明书第0960段）。由表5的结果可知，具有不同修饰方式的dsRNA序列在10nM下残留的mRNA均不到1％，其中又以反义链未修饰的AD-63938.2的活性最高。可见，经修饰后的反义链相比于未修饰的反义链，其活性有少量降低，但仍然保持在较高水平。即，反义链的修饰会一定程度上降低体外抑制活性，但是因其有助于改善化学稳定性，而适合用作基因表达抑制剂（参见本专利说明书第0476段）。在此基础上，具体研究了5个靶向位点的RNAi剂的体外抑制HBV活性的IC50值以及体内降低血清中HBsAg含量（参见本专利说明书第1075段以及表27），其中公开的siRNA双螺旋实例即包括AD-66810和AD-66811，还具体公开了相应的体外和体内活性实验数据（参见说明书第1073-1075段以及表25、27、图6A、6B、图7），两者对应于同一未经修饰的一级序列，仅各自反义链第1位的修饰方式有所不同，实验数据显示前者具有比后者更低的体外HBV抑制活性，同时具有比后者更高的体内HBsAg降低活性。本专利说明书记载的实验设计方案、操作方法以及具体参数选择均属于本领域的常规实验手段，请求人对此也未提出异议。尽管从理论预期来看，两种活性化合物在体内和体外的相对活性表现通常一致，但是本领域公知，siRNA在体内递送时存在转染效率低、脱靶效应、递送障碍等问题，同时其体内的化学稳定性也因其修饰方式的差异而有所不同，从而直接影响了其在体内表现的活性水平，因此真实的体内和体外活性数据恰恰是需要通过科学实验加以分析验证的。因此，不同siRNA双螺旋实例的体内和体外活性数据的相对大小关系并不必然一致，请求人仅以实验结果与理论预期矛盾为由质疑实验数据真实性的主张不能成立，相应的说明书公开不充分的无效理由也不成立。

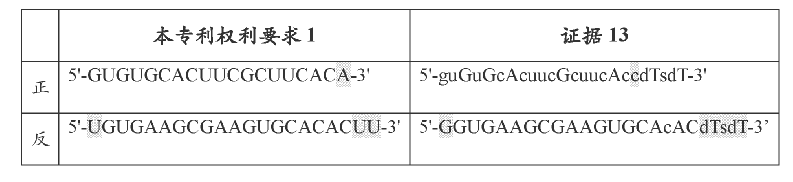
（五）关于专利法第22条第3款

专利法第22条第3款规定，创造性，是指与现有技术相比，该发明具有突出的实质性特点和显著的进步。

根据该款规定，尽管RNA干扰（RNAi）技术的基本原理及作为该技术核心的小干扰RNA（siRNA）序列的设计规则在现有技术中已有初步的研究成果，但是仅依据基本技术原理难以推知确切的siRNA序列；同时siRNA序列的设计规则通常来源于大量序列的统计分析结果，其结论宽泛笼统、缺乏针对性，存在诸多例外的情形，序列设计的繁复规则之间还存在互相矛盾和不兼容之处，且在产业化实践中需要考虑体内稳定性、转染效率等性能的平衡，尚需设计周密、数据充分的效果实验加以选择验证，才能得到满足要求的siRNA用于基因治疗。因此，在评判此类发明创造性的技术启示时，需要重点关注在未得知发明技术方案的前提下，所属领域技术人员仅基于现有技术的教导是否有动机改进现有技术以获得发明的技术方案，而不是在知晓了发明的技术方案之后，再去考虑基于现有技术进行这种改进的可能性或可行性。同时，在判断是否有动机将两篇或多篇现有技术结合从而得到发明的技术方案时，应当充分分析所属领域技术人员对于引入区别技术特征以解决发明实际解决的技术问题是否存在合理的成功预期；如果无法预见两者结合后将产生的结果，则通常难以产生有目的结合的动机。

本案中，权利要求1保护一种用于抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)表达的双链RNAi剂。证据13公开了一系列用于抑制乙型肝炎病毒的基因表达的双链核糖核酸（dsRNA）分子，其中具体公开了靶向乙型肝炎病毒基因的dsRNA的核心序列（SEQ ID NO：94/257）及其修饰序列（SEQ ID NO：421/585）（参见其说明书第0024段以及图4-表4），其中修饰序列在COS7细胞中psiCHECK2报道基因系统中的活性测试结果分别为平均剩余mRNA 54±4%（使用10nm siRNA）、87±4%（使用1nm siRNA）（参见其说明书第0022段以及图2-表2）。经计算，折合成体外抑制率为46±4%（使用10nm siRNA）、13±4%（使用1nm siRNA）。

将本专利权利要求1所述正义链、反义链分别与证据13公开的相应修饰序列比较，如下所示：



因此，将权利要求1的技术方案与证据13公开的前述技术方案相比较，区别体现在如下四个方面：（1）双链部分的序列不同：本专利正义链的19位碱基为A、反义链对应位置的碱基为U；而证据13在正义链19位的碱基为C、反义链对应位置的碱基为G；（2）反义链3’-端序列不同：本专利反义链的3’-末端包含经修饰的UU，而证据13的反义链相应位置的碱基为dTsdT；（3）修饰方式不同：本专利权利要求1限定反义链中所有的核苷酸为经修饰的核苷酸，而证据13中反义链的21个核苷酸中只有三个是经修饰的核苷酸；（4）配体的种类和连接方式：本专利限定配体与正义链的3’-末端附接，且限定配体为一种或多种利用二价或三价的分支键联体附接的GalNAc衍生物，而证据13中未公开与配体附接，更未公开配体的种类和附接的位置。

正如关于专利法第26条第4款所述，本专利说明书公开了权利要求1保护范围内的两个siRNA（AD-66810和AD-66811）的体外和体内活性数据，结合本申请说明书公开的大量不同修饰方式的HBV dsRNA的活性数据（参见本专利说明书表3-5），本领域技术人员可以确定权利要求1所限定的双链RNAi剂能够有效抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)表达。因此，该权利要求相对于证据13实际解决的技术问题在于提供了一种有效抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)表达的双链RNAi剂。

就以上区别技术特征而言，请求人主张，证据14/17/18结合证据13，或者单独证据13均给出了区别特征（1）的结合启示；证据13给出了区别特征（2）的结合启示；证据15/16给出了区别特征（3）的结合启示；证据13也已经公开了区别特征（4）。

对此，合议组认为：首先，不应把前述四方面的区别特征割裂开来看待，因为前述区别特征涉及序列结构特征的几个不同方面，只有综合考量才能客观分析siRNA分子的构效关系。事实上，前述本专利说明书公开了效果实验数据的两个siRNA实例（AD-66810和AD-66811）均具有权利要求1中限定的dsRNA序列，连接有GalNAc配体，并且包含对于所有碱基的修饰，也就是说本专利实际验证的是同时包含由以上四方面区别特征所限定的结构特征的siRNA分子的效果。

其次，以前述证据13公开的靶向乙型肝炎病毒基因的dsRNA修饰序列（SEQ ID NO：421/585）作为发明起点，本领域技术人员难以想到在其基础上进行结构改进，以便获得有效抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)表达的双链RNAi剂。原因在于：

（1）证据13作为专利文件，在说明书中详细公开了发明为了探索有效抑制乙型肝炎病毒基因表达的双链核糖核酸（dsDNA），列举了数百个候选dsDNA（参见证据13说明书图1-4，表1-4），请求人主张的最接近的现有技术即属于其中之一。但是，候选不代表有效，该证据说明书发明详述部分记载“在体外试验中，发明的dsDNA分子能够，例如在体外抑制至少约60%，优选至少70%，最优选至少80%的乙型肝炎病毒的表达”，可见该证明明确界定了dsDNA有效抑制乙型肝炎病毒基因表达的标准是体外抑制率达到至少约60%，而前述证据13公开的dsRNA修饰序列（SEQ ID NO：421/585）的体外抑制率只有46±4%（使用10nm siRNA）、13±4%（使用1nm siRNA），并未达到有效抑制乙型肝炎病毒基因表达的水平。由此，本领域技术人员基于该证据的记载，通常难以想到在该dsRNA修饰序列的基础上加以改进以获得有效抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)表达的双链RNAi剂。

（2）如前所述，本专利与最接近的现有技术（即证据13 公开的dsRNA修饰序列（SEQ ID NO：421/585））相比，在核心序列结构和反义链的修饰方式上均存在差异，而两者之间又是紧密联系的：本专利19位碱基为A/U；而证据13相应碱基为C/G，同时本专利还限定反义链中所有的核苷酸为经修饰的核苷酸，而证据13中反义链的21个核苷酸中只有三个是经修饰的核苷酸，也就是说该反义链（SEQ ID NO：585）是基本没有修饰的。该证据中测定该修饰序列的活性数据的实验，属于一种通过提高体外抑制活性以考察一级序列的活性的方式。例如，证据4公开了siRNA正义链的所有核苷酸进行甲基化或烯丙基化修饰，留下反义链不进行修饰，所产生的siRNA分子基本上能保持RNAi的功能，其抑制目标基因表达的活性接近未修饰的siRNA(参见证据4第421页右栏)。另外，仅作为参照，这样的技术常识也是与本专利说明书公开的作为反义链未修饰的siRNA分子示例（AD-63938.2）的体外抑制活性最好的实验数据相印证的（参见本专利说明书第0982-0990段及表5）。可见，依据证据13公开的信息可以分析得出，该证据实际上是将与本专利核心序列不同的dsRNA序列进行有针对性的少量修饰，以获得较为理想的体外抑制活性水平，其所选择的核心序列和修饰方式都是实现该活性的关键技术手段。由此，本领域技术人员为了获得有效抑制乙型肝炎病毒基因表达的siRNA，不容易想到在证据13中已经实现体外抑制活性最大化的dsRNA修饰序列（SEQ ID NO：421/585）的基础上，改变核心序列的关键碱基并且针对其反义链进行所有核苷酸的修饰，因为通常意义上这样的关键碱基的改构以及起靶序列识别作用的反义链的全面修饰都可能导致其抑制活性的降低。

再次，本案中的现有技术证据均未给出在最接近的现有技术（证据13 公开的dsRNA修饰序列（SEQ ID NO：421/585））的基础上进行核苷酸的替换和修饰，从而获得本专利双链RNAi剂的技术启示，具体来说：

证据13作为PCT专利申请文件，在发明详述部分还公开了针对靶向乙型肝炎病毒基因的dsRNA序列一系列可选规则，例如：包括在仅两条链中的一条上有“突出端”的dsRNA分子可以用于并且甚至在本发明的内容中有优势；最优选地，在dsRNA的两条链的3’末端发现两个“dT”核苷酸；两个“U”也能在用作dsRNA的两条链的3’末端的突出端；在互补区域与目标序列不是完全互补的情况下，错配最多容许在反义链的5’末端2-7个核苷酸之外；最优选的是具有19个核苷酸长度的双链结构等（参见证据13说明书第0074、0075、0099段）。

证据14作为技术综述文献，概述了抗HBV病毒的RNAi的设计思路（参见其译文第1页最后两段），其中提到RNAi靶位点的某些特征有助于提高siRNA效率，例如：3’-端的UU突出端、30-50%的GC碱基含量、位置19的核苷酸优选A等。

证据15作为PCT专利申请文件，公开了一种具有缀合基团的低聚化合物（参见其译文第1页倒数第2段-第2页第1段），其中提到包含GalNAc簇的缀合物已被用于促进某些化合物被摄取进入肝细胞，特别是肝实质细胞，例如某些含GalNAc的缀合物可提高体内肝细胞中双链siRNA的活性，通常缀合物连接到siRNA正义链的3’端；还提到包括一个或两个GalNAc配体的缀合基团可连接到任何反义化合物，包括单链寡核苷酸或双链寡核苷酸（例如siRNA）；并且公开了具体的缀合反义化合物示例（参见其译文第2页第2段-第3页第3段）。

证据16作为技术综述文献，列举了诸多siRNA递送系统的特点和适用范围，包括环糊精聚合物纳米颗粒、脂质纳米颗粒、缀合物递送系统等，其中提到一种三触角GalNAc-siRNA（参见其译文第1页最后两段），siRNA正义链的3’末端连接通过一个三价的键联体附接到3个GalNAc分子上，目的是将药物或脂质体靶向肝脏；并且公开了具体的三触角GalNAc-siRNA示例（参见其译文第2页图6）。

证据17作为科技论文，公开了RNA干扰中siRNA设计的思路和实验分析结论（参见其译文第1页左栏第2段、第2页左栏第2-3段、第4页右栏第2段），为了确定siRNA功能性的决定要素，综合分析了靶向萤火虫荧光素酶和人亲环素B mRNA的180个siRNA，其中根据siRNA最低敲除率的数值，将其分为功能性和非功能性两类，所有高于或者等于80%敲除率的siRNA均被认为是功能性siRNA，所有低于50%敲除率的siRNA均被认为是非功能性siRNA，针对功能性siRNA分析了几个标准（如A19、A3、U10等）在选择有效siRNA中的作用，发现这些标准在单独应用时对提升高效siRNA筛选效率“提供了小幅但显著的增长”。

证据18作为科技论文，公开了功能性siRNA的序列特征研究思路和结论（参见其译文摘要、第2页左栏第1-2段、第6页右栏第2段），对601种分别靶向三种人类内源性基因和一种外源性基因的siRNA进行分析统计，发现了一些规则，包括正义链第10位和第19位有一个A/U、第1位有一个G/C、第13-19位之间有超过三个A/U等；还提到A/U在siRNA的3’端，尤其是第19位富集，从而可以更好地整合到RISC复合物中。

可见，就siRNA的一级序列设计而言，证据13中前述除了本专利最接近的现有技术以外的内容仅是泛泛公开了可选的siRNA设计规则，本身既未教导将其用于所记载的特定dsRNA修饰序列（SEQ ID NO：421/585），也未明确各种规则的优先适用顺序和方式；证据14、17和18公开的是在众多基于靶标序列的可能siRNA中进行选择的规律，而非设计siRNA序列的明确原则，在将其应用于siRNA设计的实践中尚需甄选确认，且本专利最接近的现有技术——dsRNA修饰序列（SEQ ID NO：421/585）不满足以上证据所列的诸多选择规则，例如其第19位核苷酸并非A、GC％不符合30-50％含量范围（参见证据17）以及第10位核苷酸并非G/C（参见证据18）等,由此表明本领域技术人员没有动机在最接近的现有技术的基础上参照以上证据的选择规则来进行改构修饰；证据15、16更未公开相关信息。

另外，作为佐证，证据19公开了截至本专利优先权日之前六、七年的2007年，即已有超过60种不同的标准用于设计siRNA，且没有通用的设计方案可用于常见的疾病；请求人还使用证据20证明末端特定碱基的改变不会显著降低siRNA活性，使用证据21（即证据13的分案申请公开文本的权利要求书）说明证据13公开的技术信息，以上证据均缺乏针对靶向乙型肝炎病毒基因的siRNA序列设计和改构的明确教导，相反从不同角度显示了siRNA设计过程的难度和效果的不确定性。

最后，如前所述，依据本专利说明书公开的信息，可以确定权利要求1保护的双链RNAi剂能够有效抑制细胞中B型肝炎病毒(HBV)表达，这是本专利有针对性和方向性进行的大量实验筛选获得的结果，效果是基于现有技术难以预期的。进一步来说，本专利通过一级序列改构、核苷酸修饰以及配体选择等核心技术手段的联合应用，实现了活性与体内稳定性的平衡，使得体内活性持续时间有效延长，例如实例之一——AD-66810能达到体内70天，甚至140天的有效抑制活性（参见本专利说明书图6A、6B、图7），这是仅基于siRNA活性最长持续时间仅为48小时，且没有动物实验数据支持的现有技术（参见，例如证据13）所难以预期的技术效果。

综上，本专利权利要求1相对于证据13与证据14-18的结合均具备创造性，符合专利法第22条第3款的规定。基于类似理由，直接或者间接引用权利要求1的权利要求2-40也具备创造性，符合专利法第22条第3款的规定。请求人关于专利法第22条第3款的无效理由不成立。

基于以上事实和理由，合议组作出如下审查决定。

三、决定

在专利权人于2022年04月29日提交的权利要求1-40的基础上，维持第201580072874.0号发明专利权有效。

当事人对本决定不服的，可以根据专利法第46条第2款的规定，自收到本决定之日起三个月内向北京知识产权法院起诉。根据该款的规定，一方当事人起诉后，另一方当事人应当作为第三人参加诉讼。

合议组组长：吴文英

主 审 员：魏聪

参 审 员：王亦然

专利局复审和无效审理部