

【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23年9月22日(2011.9.22)

【公表番号】特表2011-515078(P2011-515078A)

【公表日】平成23年5月19日(2011.5.19)

【年通号数】公開・登録公報2011-020

【出願番号】特願2010-549777(P2010-549777)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

A 6 1 K 31/7105 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 35/76 (2006.01)

A 6 1 K 31/7125 (2006.01)

A 6 1 K 31/712 (2006.01)

A 6 1 K 9/127 (2006.01)

A 6 1 K 9/14 (2006.01)

A 6 1 K 47/48 (2006.01)

A 6 1 K 47/40 (2006.01)

A 6 1 K 47/34 (2006.01)

A 6 1 K 47/42 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 19/10 (2006.01)

A 6 1 P 17/02 (2006.01)

A 6 1 P 35/02 (2006.01)

A 6 1 P 9/00 (2006.01)

A 6 1 P 27/02 (2006.01)

A 6 1 P 13/12 (2006.01)

A 6 1 P 19/02 (2006.01)

A 6 1 P 9/10 (2006.01)

A 6 1 P 19/00 (2006.01)

A 6 1 P 17/06 (2006.01)

A 6 1 P 17/00 (2006.01)

A 6 1 P 15/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/7088 (2006.01)

A 6 1 K 47/28 (2006.01)

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 Q 1/68 A

A 6 1 K 31/7105

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 35/76

A 6 1 K 31/7125

A 6 1 K 31/712

A 6 1 K 9/127

A 6 1 K 9/14

A 6 1 K 47/48

A 6 1 K 47/40  
 A 6 1 K 47/34  
 A 6 1 K 47/42  
 A 6 1 P 35/00  
 A 6 1 P 19/10  
 A 6 1 P 17/02  
 A 6 1 P 35/02  
 A 6 1 P 9/00  
 A 6 1 P 27/02  
 A 6 1 P 13/12  
 A 6 1 P 19/02  
 A 6 1 P 9/10 1 0 1  
 A 6 1 P 9/10  
 A 6 1 P 19/00  
 A 6 1 P 17/06  
 A 6 1 P 17/00  
 A 6 1 P 15/00  
 A 6 1 K 31/7088  
 A 6 1 K 47/28  
 A 6 1 K 45/00  
 A 6 1 K 37/02

【手続補正書】

【提出日】平成23年8月8日(2011.8.8)

【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】

生物の細胞におけるSPARCタンパク質の発現を阻害するための組成物であって、該生物の細胞において、内因性SPARC RNAに結合し、SPARCタンパク質発現を阻害する、阻害有効量の1以上のmiRNAを含む組成物。

【請求項2】

miRNAが、pri-miRNA、pre-miRNA、ds miRNA、成熟miRNA、及びそれらの断片又は変異体からなる群から選択される、請求項1に記載の組成物。

【請求項3】

miRNAが、10ヌクレオチドから170ヌクレオチドの長さであり、且つSPARC mRNA 3'非翻訳領域に融合されたレポーターの転写産物をコードするコンストラクトから発現されるレポーター活性を減少させる、請求項2に記載の組成物。

【請求項4】

miRNAが、10から50ヌクレオチドの長さである、請求項3に記載の組成物。

【請求項5】

miRNA標的配列が、SPARCであり、且つmiRNAが、配列番号1~41及び44~83からなる群から選択される任意の1以上の配列の相補的配列に、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする、請求項2に記載の組成物。

【請求項6】

miRNA標的配列が、SPARCであり、且つmiRNAが、配列番号1~41及び

44 ~ 83 の 1 以上に少なくとも 90 % の配列同一性を有する、請求項 2 に記載の組成物。

【請求項 7】

miRNA が、合成 RNA であるか、又は単離された核酸によりコードされる、請求項 3 に記載の組成物。

【請求項 8】

単離された核酸がベクターを更に含む、請求項 3 に記載の組成物。

【請求項 9】

ベクターが、プラスミド、コスミド、ファージミド、ウイルス、及び人工染色体からなる群から選択される、請求項 8 に記載の組成物。

【請求項 10】

ベクターが、1 以上の *in vivo* 発現制御エレメントを更に含む、請求項 8 に記載の組成物。

【請求項 11】

*in vivo* 発現制御エレメントが、プロモーター、エンハンサー、RNA スプライシングシグナル、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 10 に記載の組成物。

【請求項 12】

単離された核酸が、生物の細胞内にトランスフェクトされる、請求項 7 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 13】

miRNA が、合成されたものであり、ネイキッド RNA として投与される、請求項 7 に記載の組成物。

【請求項 14】

miRNA が、合成されたものであり、化学修飾 RNA として投与される、請求項 7 に記載の組成物。

【請求項 15】

合成 miRNA が、ホスホロチオエート、ボラノホスフェート、2' - O - メチル、2' - フルオロ、PEG、末端逆方向 dT 塩基、2' tBDMs、2' - TOM、t' - ACE、LNA (ロック核酸)、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される化学的部分で修飾されている、請求項 14 に記載の組成物。

【請求項 16】

miRNA が、合成されたものであり、リボソーム、ポリマーベースのナノ粒子、コレステロール結合体、シクロデキストラン複合体、ポリエチレンイミンポリマー若しくはタンパク質複合体中で、又はネイキッド miRNA、ネイキッド DNA、ネイキッド LNA として若しくは RISC との複合体として、投与される、請求項 7 に記載の組成物。

【請求項 17】

miRNA が、合成されたものであり、病変組織に直接投与、静脈内投与、皮下投与、筋肉内投与、経鼻投与、腹腔内投与、経膈投与、肛門投与、経口投与、眼内投与又は髄腔内投与される、請求項 7 に記載の組成物。

【請求項 18】

miRNA が、癌、再狭窄、他の増殖性疾患、骨粗しょう症又は創傷治癒を患っている生物に投与される、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 19】

(a) 癌が、上皮内癌、異型過形成、癌種、肉腫、癌肉腫、肺癌、膵臓癌、皮膚癌、血液腫瘍、乳癌、脳腫瘍、結腸癌、膀胱癌、子宮頸癌、子宮内膜癌、食道癌、胃癌、頭頸部癌、多発性骨髄腫、肝臓癌、白血病、リンパ腫、口腔癌、骨肉腫、卵巣癌、前立腺癌、精巣癌、及び甲状腺癌からなる群から選択され、

(b) 再狭窄が、冠動脈再狭窄、大脳動脈再狭窄、頸動脈再狭窄、腎動脈再狭窄、大腿動脈再狭窄、末梢動脈再狭窄、又はそれらの組み合わせからなる群から選択され、そして

(c) 他の増殖性疾患が、過形成、子宮内膜症、肥厚性瘢痕及びケロイド、増殖性糖尿病性網膜症、糸球体腎炎、増殖性、肺高血圧症、関節リウマチ、動静脈奇形、動脈硬化性プラーク、冠動脈疾患、創傷治癒の遅れ、血友病関節、癒着不能骨折、オスラー-ウィーバー症候群、乾癬、化膿性肉芽腫、強皮症、トラコーマ、月経過多、血管癒着、並びに乳頭腫からなる群から選択される、  
請求項 18 に記載の組成物。

【請求項 20】

生物が、手術、化学療法、放射線治療、温熱療法、免疫療法、ホルモン療法及びレーザー療法からなる群から選択される 1 以上の癌治療を受けているヒトである、請求項 19 に記載の組成物。

【請求項 21】

生物が、手術、化学療法、放射線治療、温熱療法、免疫療法、ホルモン療法、レーザー療法、又はステント留置からなる 1 以上の抗増殖治療を受けているヒトである、請求項 19 に記載の組成物。

【請求項 22】

生物がヒトである、請求項 19 に記載の組成物。

【請求項 23】

生物の細胞における 1 以上のタンパク質の発現を阻害する組成物であって、タンパク質が、クラスタリン、鎖；クラスタリン、鎖；N-カドヘリン；セサーニン 1；コラーゲン、v 型、鎖；レニン、鎖；レニン；及びサイトケラチン I、II 型からなる群から選択され、且つ該組成物が、該生物の細胞において結合して S P A R C 発現を阻害する、阻害有効量の 1 以上の m i R N A を含む、組成物。

【請求項 24】

生物の細胞における 1 以上のタンパク質の発現を増加させる組成物であって、タンパク質が、α-アクチン；h s p 27；コラーゲン、I 型、α-2 鎖；ペルオキシレドキシニン 3；α-5 チューブリン；p 32、鎖からなる群から選択され、且つ該組成物が、該生物の細胞において結合して S P A R C 発現を阻害する、阻害有効量の 1 以上の m i R N A を含む、組成物。

【請求項 25】

生物の細胞における 1 以上のタンパク質の発現を調節する組成物であって、タンパク質が

(a) 以下の Gene bank アクセション番号：NM\_\_016619、NM\_\_016323、NM\_\_012294、NM\_\_006393、NM\_\_005609、NM\_\_002462、NM\_\_002346、NM\_\_001955、NM\_\_001548、NM\_\_000909、BM930167、BM874773、BI560717、AW511255、AK098543、AI860360、AI760944；

(b) 以下のマウス mRNA のヒト対応物：NM\_\_133664、NM\_\_011641、NM\_\_010226、NM\_\_008380、BB480262、AW909062；

(c) ヒト miRNA：hsa-miR-542-5p、hsa-miR-186；及び

(d) 以下のマウス miRNA のヒト対応物：rno-miR-377、mmu-miR-377；

からなる群から選択され、

前記組成物が、該生物の細胞において結合して S P A R C 発現を阻害する、阻害有効量の 1 以上の m i R N A を含む、組成物。

【請求項 26】

癌、再狭窄、他の増殖性疾患、骨粗しょう症又は創傷治癒のための治療を必要とする患者に投与するための治療組成物であって、S P A R C mRNA に結合して S P A R C タンパク質の発現を阻害する有効量の m i R N A の該患者の細胞における発現のための単離された核酸を含む、治療組成物。

【請求項 27】

miRNAが、pri-miRNA、pre-miRNA、ds miRNA、成熟miRNA、及びそれらの断片又は変異体からなる群から選択される、請求項26に記載の治療組成物。

【請求項28】

単離された核酸が、プラスミド、コスミド、ファージミド、ウイルス、及び人工染色体からなる群から選択されるベクターである、請求項27に記載の治療組成物。

【請求項29】

単離された核酸が、プロモーター、エンハンサー、RNAスプライシングシグナル、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される1以上のin vivo発現制御エレメントを更に含む、請求項28に記載の治療組成物。

【請求項30】

miRNAが、合成されたものであり、ネイキッドRNAとして投与される、請求項26に記載の治療組成物。

【請求項31】

miRNAが、合成されたものであり、化学修飾RNAとして投与される、請求項26に記載の治療組成物。

【請求項32】

合成miRNAが、ホスホロチオエート、ボラノホスフェート、2'-O-メチル、2'-フルオロ、末端逆方向dT塩基、PEG、2'-tBDMS、2'-TOM、t'-ACE、LNA、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される化学的部分で修飾されている、請求項31に記載の治療組成物。

【請求項33】

miRNAが、合成されたものであり、リポソーム、ポリマーベースのナノ粒子、コレステロール結合体、シクロデキストラン複合体、ポリエチレンイミンポリマー若しくはタンパク質複合体中で、又はネイキッドmiRNAとして若しくはRISCとの複合体として、投与される、請求項26に記載の治療組成物。

【請求項34】

miRNAが、合成されたものであり、病変組織に直接投与、静脈内投与、皮下投与、筋肉内投与、経鼻投与、腹腔内投与、経膈投与、肛門投与、経口投与、眼内投与又は髄腔内投与される、請求項26に記載の治療組成物。

【請求項35】

miRNAが、10ヌクレオチドから170ヌクレオチドの長さであり、且つSPARC mRNA 3'非翻訳領域に融合されたレポーターの転写産物をコードするコンストラクトから発現されるレポーター活性を減少させる、請求項34に記載の治療組成物。

【請求項36】

miRNAが、10から50ヌクレオチドの長さである、請求項35に記載の治療組成物。

【請求項37】

miRNA標的配列が、SPARCであり、且つmiRNAが、配列番号1~41及び44~83からなる群から選択される任意の1以上の配列の相補的配列に、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする、請求項26に記載の治療組成物。

【請求項38】

miRNAが、配列番号1~41及び44~83からなる群中の1以上の配列に少なくとも90%の同一性を有する、請求項26に記載の治療組成物。

【請求項39】

(a) 癌が、上皮内癌、異型過形成、癌種、肉腫、癌肉腫、肺癌、膵臓癌、皮膚癌、血液腫瘍、乳癌、脳腫瘍、結腸癌、膀胱癌、子宮頸癌、子宮内膜癌、食道癌、胃癌、頭頸部癌、多発性骨髄腫、肝臓癌、白血病、リンパ腫、口腔癌、骨肉腫、卵巣癌、前立腺癌、精巣癌、及び甲状腺癌からなる群から選択され、

(b) 再狭窄が、冠動脈再狭窄、大脳動脈再狭窄、頸動脈再狭窄、腎動脈再狭窄、大腿動

脈再狭窄、末梢動脈再狭窄、又はそれらの組み合わせからなる群から選択され、そして (c) 増殖性疾患が、過形成、子宮内膜症、肥厚性瘢痕及びケロイド、増殖性糖尿病性網膜症、糸球体腎炎、増殖性、肺高血圧症、関節リウマチ、動静脈奇形、動脈硬化性プラーク、冠動脈疾患、創傷治癒の遅れ、血友病関節、癒着不能骨折、オスラー-ウィーバー症候群、乾癬、化膿性肉芽腫、強皮症、トラコーマ、月経過多、血管癒着、並びに乳頭腫からなる群から選択される、

請求項 26 に記載の治療組成物。

【請求項 40】

生物の細胞における SPARC タンパク質の発現を増加させるための組成物であって、1 以上の内因性 miRNA に結合し、該内因性 miRNA により引き起こされる SPARC タンパク質発現の阻害を逆行させる、有効量の 1 以上の拮抗 miRNA を含む組成物。

【請求項 41】

拮抗 miRNA が、10ヌクレオチドから170ヌクレオチドの長さであり、且つ SPARC mRNA 3' 非翻訳領域に融合されたレポーターの転写産物をコードするコンストラクトから発現されるレポーター活性を誘導する、請求項 40 に記載の組成物。

【請求項 42】

拮抗 miRNA が、10 から 50ヌクレオチドの長さである、請求項 41 に記載の組成物。

【請求項 43】

拮抗 miRNA が、配列番号 1 ~ 41 及び 44 ~ 83 並びにそれらの組み合わせからなる群由来の配列に少なくとも 90% 相補的である核酸配列 [ここで、チミジン及びウラシルは、同じヌクレオチドとして扱われる] を有する、請求項 41 に記載の組成物。

【請求項 44】

拮抗 miRNA が、合成核酸であるか、又は単離された核酸によりコードされる、請求項 41 に記載の組成物。

【請求項 45】

単離された核酸がベクターを含む、請求項 44 に記載の組成物。

【請求項 46】

ベクターが、プラスミド、コスミド、ファージミド、ウイルス、及び人工染色体からなる群から選択される、請求項 45 に記載の組成物。

【請求項 47】

ベクターが、1 以上の *in vivo* 発現制御エレメントを更に含む、請求項 46 に記載の組成物。

【請求項 48】

*in vivo* 発現制御エレメントが、プロモーター、エンハンサー、RNA スプライシングシグナル、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 47 に記載の組成物。

【請求項 49】

単離された核酸が、生物の細胞内にトランスフェクトされる、請求項 44 に記載の組成物。

【請求項 50】

拮抗 miRNA が、合成されたものであり、ネイキッド核酸として投与される、請求項 44 に記載の組成物。

【請求項 51】

拮抗 miRNA が、合成されたものであり、化学修飾核酸として投与される、請求項 44 に記載の組成物。

【請求項 52】

合成拮抗 miRNA が、ホスホロチオエート、ボラノホスフェート、2'-O-メチル、2'-フルオロ、末端逆方向 dT 塩基、PEG、2'-tBDMS、又は 2'-TOM、t'-ACE、LNA、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される化学的部分で

修飾されている、請求項 5 1 に記載の組成物。

【請求項 5 3】

拮抗 miRNA が、合成されたものであり、リボタンパク質複合体、リボソーム、ポリマーベースのナノ粒子、コレステロール結合体、シクロデキストラン複合体、ポリエチレンイミンポリマー若しくはタンパク質複合体中で、又はネイキッド DNA、ネイキッド RNA 若しくは LNA として、投与される、請求項 4 4 に記載の組成物。

【請求項 5 4】

拮抗 miRNA が、合成されたものであり、生物中の病変組織に、静脈内投与、皮下投与、筋肉内投与、経鼻投与、腹腔内投与、経膈投与、肛門投与、経口投与、眼内投与又は髄腔内投与される、請求項 4 4 に記載の組成物。

【請求項 5 5】

生物がヒト患者であり、拮抗物質が、癌、再狭窄、又は他の増殖性疾患、骨粗しょう症又は過剰な創傷治癒の治療又は予防のために患者に投与される、請求項 4 4 に記載の組成物。

【請求項 5 6】

(a) 癌が、上皮内癌、異型過形成、癌種、肉腫、癌肉腫、肺癌、膵臓癌、皮膚癌、血液腫瘍、乳癌、脳腫瘍、結腸癌、膀胱癌、子宮頸癌、子宮内膜癌、食道癌、胃癌、頭頸部癌、多発性骨髄腫、肝臓癌、白血病、リンパ腫、口腔癌、骨肉腫、卵巣癌、前立腺癌、精巣癌、及び甲状腺癌からなる群から選択され、

(b) 再狭窄が、冠動脈再狭窄、大脳動脈再狭窄、頸動脈再狭窄、腎動脈再狭窄、大腿動脈再狭窄、末梢動脈再狭窄、又はそれらの組み合わせからなる群から選択され、そして

(c) 他の増殖性疾患が、過形成、子宮内膜症、肥厚性瘢痕及びケロイド、増殖性糖尿病性網膜症、糸球体腎炎、増殖性、肺高血圧症、関節リウマチ、動静脈奇形、動脈硬化性プラーク、冠動脈疾患、創傷治癒の遅れ、血友病関節、癒着不能骨折、オスラー-ウィーバー症候群、乾癬、化膿性肉芽腫、強皮症、トラコーマ、月経過多、血管癒着、並びに乳頭腫からなる群から選択される、

請求項 5 5 に記載の組成物。

【請求項 5 7】

生物がヒト患者であり、手術、化学療法、放射線治療、温熱療法、免疫療法、ホルモン療法及びレーザー療法からなる群から選択される 1 以上の癌治療を受けている、請求項 5 6 に記載の組成物。

【請求項 5 8】

生物がヒト患者であり、手術、化学療法、放射線治療、温熱療法、免疫療法、ホルモン療法、レーザー療法、又はステント留置からなる 1 以上の抗増殖治療を受けている、請求項 5 6 に記載の組成物。

【請求項 5 9】

生物がヒトである、請求項 5 6 に記載の組成物。

【請求項 6 0】

生物の細胞における 1 以上のタンパク質の発現を増加させる組成物であって、タンパク質が、クラスタリン、鎖；クラスタリン、鎖；N-カドヘリン；セサーニン 1；コラーゲン、v 型、鎖；レニン、鎖；レニン；及びサイトケラチン I、II 型からなる群から選択され、内因性 miRNA による SPARC タンパク質発現の阻害を逆行させるように 1 以上の内因性 miRNA に結合する有効量の 1 以上の拮抗 miRNA を含む、組成物。

【請求項 6 1】

生物の細胞における 1 以上のタンパク質の発現を減少させる組成物であって、タンパク質が、α-アクチン；hsp 27；コラーゲン、I 型、α-2 鎖；ベルオキシレドキシニン 3；α-5 チューブリン；p 3 2 鎖からなる群から選択され、内因性 miRNA による SPARC タンパク質発現の阻害を逆行させるように 1 以上の内因性 miRNA に結合する有効量の 1 以上の拮抗 miRNA を含む、組成物。

## 【請求項 6 2】

癌、再狭窄、他の増殖性疾患、骨粗しょう症又は創傷治癒を患っている生物の予防又は治療のための治療組成物であって、内因性 *miRNA* により引き起こされる *SPARC* タンパク質発現の阻害を逆行させる、有効量の 1 以上の拮抗 *miRNA* の、該生物の細胞における発現のための単離された核酸を含む治療組成物。

## 【請求項 6 3】

拮抗 *miRNA* が、合成核酸であるか、又は単離された核酸によりコードされる、請求項 6 2 に記載の治療組成物。

## 【請求項 6 4】

単離された核酸が、プラスミド、コスミド、ファージミド、ウイルス、及び人工染色体からなる群から選択されるベクターである、請求項 6 3 に記載の治療組成物。

## 【請求項 6 5】

単離された核酸が、プロモーター、エンハンサー、*RNA* スプライシングシグナル、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される 1 以上の *in vivo* 発現制御エレメントを更に含む、請求項 6 4 に記載の治療組成物。

## 【請求項 6 6】

拮抗 *miRNA* が、10ヌクレオチドから170ヌクレオチドの長さであり、且つ *SPARC mRNA* 3' 非翻訳領域に融合されたレポーターの転写産物をコードするコンストラクトから発現されるレポーター活性を増加させる、請求項 6 4 に記載の治療組成物。

## 【請求項 6 7】

拮抗 *miRNA* が、10から50ヌクレオチドの長さである、請求項 6 2 に記載の治療組成物。

## 【請求項 6 8】

拮抗 *miRNA* が、配列番号 1 ~ 4 1 及び 4 4 ~ 8 3 並びにそれらの組み合わせからなる群から選択される 1 以上の配列に少なくとも 9 0 % 相補的である、請求項 6 6 に記載の治療組成物。

## 【請求項 6 9】

(a) 癌が、上皮内癌、異型過形成、癌種、肉腫、癌肉腫、肺癌、膵臓癌、皮膚癌、血液腫瘍、乳癌、脳腫瘍、結腸癌、膀胱癌、子宮頸癌、子宮内膜癌、食道癌、胃癌、頭頸部癌、多発性骨髄腫、肝臓癌、白血病、リンパ腫、口腔癌、骨肉腫、卵巣癌、前立腺癌、精巣癌、及び甲状腺癌からなる群から選択され、

(b) 再狭窄が、冠動脈再狭窄、大脳動脈再狭窄、頸動脈再狭窄、腎動脈再狭窄、大腿動脈再狭窄、末梢動脈再狭窄、又はそれらの組み合わせからなる群から選択され、そして

(c) 増殖性疾患が、過形成、子宮内膜症、肥厚性瘢痕及びケロイド、増殖性糖尿病性網膜症、糸球体腎炎、増殖性、肺高血圧症、関節リウマチ、動静脈奇形、動脈硬化性プラーク、冠動脈疾患、創傷治癒の遅れ、血友病関節、癒着不能骨折、オスラー - ウィーバー症候群、乾癬、化膿性肉芽腫、強皮症、トラコーマ、月経過多、血管癒着、並びに乳頭腫からなる群から選択される、

請求項 6 6 に記載の治療組成物。

## 【請求項 7 0】

レポーター遺伝子が作動可能に連結された 1 以上の *in vivo* 発現制御エレメントを含む単離された核酸であって、前記レポーター遺伝子が *SPARC* 3' 非翻訳領域の全て又は一部の上流にあり、真核細胞への該単離された核酸のトランスフェクションにより、*in vivo* 発現制御エレメントが、*SPARC* 3' 非翻訳領域の上流のレポーターをコードする *mRNA* の産生をもたらす、単離された核酸。

## 【請求項 7 1】

単離された核酸が、プラスミド、コスミド、ファージミド、ウイルス、及び人工染色体からなる群から選択されるベクターである、請求項 7 0 に記載の単離された核酸。

## 【請求項 7 2】

1 以上の *in vivo* 発現制御エレメントが、プロモーター、エンハンサー、*RNA*

スプライシングシグナル、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 7 1 に記載の単離された核酸。

【請求項 7 3】

レポーター遺伝子がルシフェラーゼタンパク質をコードする、請求項 7 0 に記載の単離された核酸。

【請求項 7 4】

以下を含む S P A R C 発現モジュレーターの同定用キット：

( a ) S P A R C 3 ' 非翻訳領域の全て又は一部の上流にクローン化されている第一のレポーター遺伝子に作動可能に連結された 1 以上の *in vivo* 発現制御エレメントの第一のセットを有する第一の単離された核酸であって、真核細胞への前記第一の単離された核酸のトランスフェクションにより、*in vivo* 発現制御エレメントの第一のセットが、S P A R C 3 ' 非翻訳領域の上流の第一のレポーターをコードする mRNA の産生をもたらす、第一の単離された核酸；

( b ) 前記第一のレポーター遺伝子に作動可能に連結された、( a ) 由来の *in vivo* 発現制御エレメントの前記セットを含む第二の単離された核酸であって、真核細胞への前記第二の単離された核酸のトランスフェクションにより、*in vivo* 発現制御エレメントが、前記第一のレポーター分子をコードする mRNA の転写をもたらす、第二の単離された核酸；及び

( c ) 第二のレポーター遺伝子に作動可能に連結された、1 以上の *in vivo* 発現制御エレメントの第二のセットを含む第三の単離された核酸であって、真核細胞への該単離された核酸のトランスフェクションにより、*in vivo* 発現制御エレメントの前記第二のセットが、前記第二のレポーターの発現をもたらす、第三の単離された核酸。

【請求項 7 5】

以下の工程を含む S P A R C 発現モジュレーターを同定する方法：

( a ) S P A R C 3 ' 非翻訳領域の全て又は一部の上流にクローン化されているレポーター遺伝子に作動可能に連結された 1 以上の *in vivo* 発現制御エレメントを含む単離された核酸で、真核細胞をトランスフェクトする工程であって、*in vivo* 発現制御エレメントが、S P A R C 3 ' 非翻訳領域の上流のレポーターをコードする mRNA の産生をもたらす工程；及び

( b ) 前記レポーター遺伝子に作動可能に連結された前記 1 以上の *in vivo* 発現制御エレメントを含む単離された核酸で、他の真核細胞をトランスフェクトする工程であって、該発現制御エレメントが、レポーター分子をコードする mRNA の転写をもたらす工程；

( c ) ( a ) 及び ( b ) からのトランスフェクトされた細胞を、候補発現モジュレーターと接触及び偽接触させる工程；並びに

( d ) ( a ) 及び ( b ) からのトランスフェクトされた細胞を候補発現モジュレーターと接触させる場合及び接触させない場合の該トランスフェクトされた細胞におけるレポーター遺伝子活性を比較する工程。

【請求項 7 6】

( d ) において比較されるデータの標準化のための第二のレポーターを発現する第二のレポートコンストラクトを用いた、( a ) 及び ( b ) における細胞のコトランスフェクションを更に含む、請求項 7 5 に記載の方法。

【請求項 7 7】

レポーター発現コンストラクト中の S P A R C 3 ' 非翻訳領域を変異させる工程、前記変異させたレポーター発現コンストラクトを真核細胞にトランスフェクトする工程、及びトランスフェクトされた細胞を候補発現モジュレーターと接触させる場合及び接触させない場合の、変異させた及び変異させていないレポーター発現コンストラクトの発現からもたらされるレポーター遺伝子活性を比較する工程を更に含む、請求項 7 5 に記載の方法。

【請求項 7 8】

請求項 75 に記載の方法により同定された S P A R C 発現モジュレーター。

【請求項 79】

前記 S P A R C 発現モジュレーターが、小分子、L N A、核酸、ペプチド核酸、m i R N A 又はポリペプチドである、請求項 78 に記載の S P A R C 発現モジュレーター。

【請求項 80】

増殖性疾患の進行、増殖性疾患の治療への応答、又はそれらの組み合わせのためのバイオマーカーとしての m i R N A の使用。

【請求項 81】

m i R N A が、R T - P C R、マイクロアレイ、非 P C R 核酸検出アッセイ又は質量分析により検出される、請求項 80 に記載の使用。