

【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4月21日(2011.4.21)

【公表番号】特表2009-528070(P2009-528070A)

【公表日】平成21年8月6日(2009.8.6)

【年通号数】公開・登録公報2009-031

【出願番号】特願2008-557519(P2008-557519)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

G 0 1 N 33/15 (2006.01)

G 0 1 N 33/50 (2006.01)

A 6 1 K 31/713 (2006.01)

A 6 1 K 31/7115 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/68 Z N A A

C 1 2 Q 1/02

C 1 2 N 15/00 A

G 0 1 N 33/15 Z

G 0 1 N 33/50 Z

A 6 1 K 31/713

A 6 1 K 31/7115

A 6 1 P 43/00 1 1 1

A 6 1 P 35/00

A 6 1 K 48/00

【手続補正書】

【提出日】平成22年2月23日(2010.2.23)

【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】

被験体が膵臓癌に罹患しているのか、もしくは膵臓癌を発症する危険性があるのかを診断するのを補助する方法であって、前記被験体の膵臓由来の生体試料における少なくとも 1 つの m i R 遺伝子産物のレベルを測定する手順であって、前記生体試料における前記 m i R 遺伝子産物のレベルが対照試料における対応する m i R 遺伝子産物のレベルに比べて変化することによって、前記被験体が膵臓癌に罹患していることか、もしくは膵臓癌を発症する危険性があることのいずれかであることが示される、手順を含む、方法。

【請求項 2】

前記 m i R 遺伝子産物が、M I R 0 3 4 b、M I R 0 9 2 2 P、M I R 0 9 6 P、M I R 1 2 9 2、M I R 1 3 0 a P、M I R 1 3 3 b、M I R 1 3 9、M I R 1 8 8 b P、M I R 1 9 2、M I R 2 0 0 a P、M I R 2 0 4、

MIR 210、MIR 299 P、MIR 302 d、MIR 337、MIR 371、MIR 378、MIR 383、MIR 422 b、MIR 423、MIR 375、let 7a 2 P、let 7b、let 7c、let 7d、let 7f 1、let 7i、MIR 001 2、MIR 007 1、MIR 015 a、MIR 015 b、MIR 016 1、MIR 019 b 1 P、MIR 021、MIR 023 a、MIR 024 1、2、MIR 027 a、b、MIR 029 a、c、MIR 030 d、MIR 032、MIR 092 1、MIR 098、MIR 099 a、MIR 100、MIR 107、MIR 125 b 1、MIR 126、MIR 128 a、MIR 132、MIR 136、MIR 142 P、MIR 145 P、MIR 152、MIR 155、MIR 181 a、c、MIR 196 a 2、MIR 212、MIR 213、MIR 215、MIR 218 1、2、MIR 221、MIR 222 P、MIR 301、MIR 328、MIR 331 P、MIR 345、MIR 367、MIR 376、MIR 424 およ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 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記 miR 遺伝子産物が、let 7b、let 7c、let 7d、let 7f 1、let 7i、MIR 015 a、MIR 015 b、MIR 016 1、MIR 021、MIR 023 a、MIR 024 1、2、MIR 027 a、b、MIR 098、MIR 099 a、MIR 100、MIR 125 b 1、MIR 126、MIR 132、MIR 142 P、MIR 145 P、MIR 152、MIR 155、MIR 181 a、c、MIR 196 a 2、MIR 212、MIR 213、MIR 218 1、2、MIR 221、MIR 222 P、MIR 301、MIR 331 P、MIR 345、MIR 376 およ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 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記生体試料における miR 遺伝子産物のレベルが、前記対照試料におけるその対応する miR 遺伝子産物のレベルよりも低い、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記 miR 遺伝子産物が、MIR 092 2 P、MIR 096 P、MIR 129 2、MIR 133 b、MIR 139、MIR 188 b P、MIR 204、MIR 299 P、MIR 337、MIR 371、MIR 383、MIR 375 およ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 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記 miR 遺伝子産物が MIR 139 である、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記 miR 遺伝子産物が MIR 096 P である、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 8】

前記 miR 遺伝子産物が MIR 375 である、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 9】

前記生体試料における前記 miR 遺伝子産物のレベルが、前記対照試料におけるその対応する miR 遺伝子産物のレベルよりも高い、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 10】

前記 miR 遺伝子産物が、let 7a 2 P、let 7b、let 7c、let 7d、let 7f 1、let 7i、MIR 001 2、MIR 007 1、MIR 015 a、MIR 015 b、MIR 016 1、MIR 019 b 1 P、MIR 021、MIR 023 a、MIR 024 1、2、MIR 027 a、b、MIR 029 a、c、MIR 030 d、MIR 032、MIR 092 1、MIR 098、MIR 099 a、MIR 100、MIR 107、MIR 125 b 1、MIR 126、MIR 128 a、MIR 132、MIR 136、MIR 142 P、MIR 145 P、MIR 152、MIR 155、MIR 181

a, c、MIR 196 a 2、MIR 212、MIR 213、MIR 215、MIR 218 1, 2、MIR 221、MIR 222 P、MIR 301、MIR 328、MIR 331 P、MIR 345、MIR 367、MIR 376、MIR 424 およ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9に記載の方法。

【請求項11】

前記miR遺伝子産物が、let 7b、let 7c、let 7d、let 7f 1、let 7i、MIR 007 1、MIR 015 a、MIR 015 b、MIR 016 1、MIR 021、MIR 023 a、MIR 024 1, 2、MIR 027 a, b、MIR 030 d、MIR 098、MIR 099 a、MIR 100、MIR 125 b 1、MIR 126、MIR 132、MIR 142 P、MIR 145 P、MIR 152、MIR 155、MIR 181 a, c、MIR 196 a 2、MIR 212、MIR 213、MIR 218 1, 2、MIR 221、MIR 222 P、MIR 301、MIR 331 P、MIR 345、MIR 376 およ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9に記載の方法。

【請求項12】

前記miR遺伝子産物が、let 7b; let 7d; let 7f; let 7i、MIR 015 a; MIR 015 b; MIR 016 1; MIR 021; MIR 023 a、MIR 024、MIR 100; MIR 125 b; MIR 132、MIR 155、MIR 181 a、MIR 181 c; MIR 212; MIR 221; MIR 301; MIR 376 a およ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9に記載の方法。

【請求項13】

前記miR遺伝子産物が、let 7a 2 P、let 7b、let 7c、let 7d、let 7f 1、let 7i、MIR 015 b、MIR 019 b 1 P、MIR 098、MIR 128 a、MIR 136、MIR 152、MIR 155、MIR 181 a、MIR 196 a 2、MIR 212、MIR 215、MIR 218 1、MIR 218 2、MIR 301、MIR 328、MIR 331 P、MIR 424 およ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9に記載の方法。

【請求項14】

前記miR遺伝子産物が、let 7b、let 7d、let 7f 1、let 7i、MIR 155、MIR 181 a、MIR 212、MIR 301 およ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9に記載の方法。

【請求項15】

前記miR遺伝子産物がMIR 155である、請求項9に記載の方法。

【請求項16】

前記miR遺伝子産物がMIR 007 1である、請求項9に記載の方法。

【請求項17】

前記miR遺伝子産物がMIR 021である、請求項9に記載の方法。

【請求項18】

被験体が膵臓癌に罹患しているのか、もしくは膵臓癌を発症する危険性があるのかを診断するのを補助する方法であって、

複数のmiR遺伝子産物を含む、前記被験体の膵臓由来の試験試料におけるmiR遺伝子産物の発現レベルを検定して、前記試験試料のmiR発現プロファイルを得る手順；および

前記試験試料の前記miR発現プロファイルを、対照試料から作成された対応するmiR発現プロファイルと比較する手順であって、前記試験試料の前記miR発現プロファイルと前記対照試料の前記miR発現プロファイルとの差によって、前記被験体が膵臓癌に

罹患していることか、もしくは膵臓癌を発症する危険性があることのいずれかが示される、手順を含む、方法。

【請求項 19】

前記複数の mi R 遺伝子産物が、細胞内の mi R 遺伝子の補体全長の実質部分に相当する、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 20】

前記複数の mi R 遺伝子産物が、細胞内の mi R 遺伝子の補体全長の約 95% に相当する、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 21】

前記複数の mi R 遺伝子産物が、細胞内の mi R 遺伝子の補体全長の約 90% に相当する、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 22】

前記複数の mi R 遺伝子産物が、細胞内の mi R 遺伝子の補体全長の約 80% に相当する、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 23】

前記複数の mi R 遺伝子産物が、細胞内の mi R 遺伝子の補体全長の約 70% に相当する、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 24】

前記複数の mi R 遺伝子産物が、細胞内の mi R 遺伝子の補体全長の約 60% に相当する、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 25】

前記複数の mi R 遺伝子産物が、MIR 139、MIR096 P、MIR 375、let 7b、let 7d、let 7f 1、let 7i、MIR 155、MIR 181a、MIR 212、MIR 301、MIR 007 1、MIR 021 およびそれらの組み合わせからなる群から選択される 1 つ以上の mi R 遺伝子産物を含む、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 26】

前記対照試料が正常膵組織に由来する、請求項 1 ~ 25 に記載の方法。

【請求項 27】

前記試験試料が、癌または前癌性であることが疑われる膵臓の領域に由来する、請求項 1 ~ 25 に記載の方法。

【請求項 28】

前記 mi R 遺伝子産物が mi RNA 前駆体である、請求項 1 ~ 25 に記載の方法。

【請求項 29】

前記 mi R 遺伝子産物が成熟型 mi RNA である、請求項 1 ~ 25 に記載の方法。

【請求項 30】

前記 mi R 遺伝子産物のレベルが、増幅に基づく検定を使用して測定される、請求項 1 ~ 29 に記載の方法。

【請求項 31】

前記増幅に基づく検定が、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR)、逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応 (RT PCR)、定量的 RT PCR、リアルタイム定量的 RT PCR および in situ PCR からなる群から選択される、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 32】

前記 mi R 遺伝子産物のレベルが、ハイブリダイゼーションに基づく検定を使用して測定される、請求項 1 ~ 29 に記載の方法。

【請求項 33】

前記ハイブリダイゼーションに基づく検定が、ノーザンブロット解析、in situ ハイブリダイゼーション、溶液ハイブリダイゼーション、リボヌクレアーゼ防御検定、RNA マイクロアレイ分析ならびに DNA または cDNA マイクロアレイ分析からなる群か

ら選択される、請求項 32 に記載の方法。

【請求項 34】

前記 miR 遺伝子産物のレベルが、前記試料における前記対応する miR 遺伝子コピーを測定することによって判定される、請求項 1～29 に記載の方法。

【請求項 35】

前記生体試料が脾組織、脾腫瘍または脾臓細胞を含む、請求項 1～34 に記載の方法。

【請求項 36】

前記生体試料が脾液の試料を含む、請求項 1～34 に記載の方法。

【請求項 37】

脾臓癌に罹患しているか、もしくは脾臓癌を発症する危険性がある被験体における脾臓癌を診断するためのキットであって、

(a) 前記被験体の脾臓由来の生体試料における少なくとも 1 つの miR 遺伝子産物のレベルを測定する手段、および

(b) 前記生体試料における前記 miR 遺伝子産物のレベルを、対照試料における対応する miR 遺伝子産物のレベルと比較する手段を含み、

前記生体試料における前記 miR 遺伝子産物のレベルと、前記対照試料における前記対応する miR 遺伝子産物のレベルとの間で検出された差によって、前記被験体が脾臓癌に罹患していることか、もしくは脾臓癌を発症する危険性があることのいずれかであることが示される、キット。

【請求項 38】

脾臓癌を発症する危険性がある被験体をスクリーニングするのを補助する方法であって、前記被験体の脾臓由来の生体試料中の脾臓癌に関連した、少なくとも 1 つの miR 遺伝子産物または miR 遺伝子産物の組み合わせのレベルを評価する手順であって、前記生体試料における miR 遺伝子産物または miR 遺伝子産物の組み合わせのレベルが、対照試料における対応する miR 遺伝子産物のレベルに比べて変化することによって、前記被験体に脾臓癌を発症する危険性があることが示される、手順を含む、方法。

【請求項 39】

前記生体試料が、正常であるか、もしくは前癌性の疑いがある脾組織を含む、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 40】

対照細胞よりも多くの miR 遺伝子産物を含む脾臓癌細胞を有する被験体における脾臓癌の進行を抑制するための組成物であって、前記脾臓癌細胞内の前記 miR 遺伝子産物の量を減少させることができる有効量の阻害剤分子を含む、組成物。

【請求項 41】

前記 miR 遺伝子産物が、let 7a 2 P、let 7b、let 7c、let 7d、let 7f 1、let 7i、MIR 001 2、MIR 007 1、MIR 015a、MIR 015b、MIR 016 1、MIR 019b 1 P、MIR 021、MIR 023a、MIR 024 1, 2、MIR 027a, b、MIR 029a, c、MIR 030d、MIR 032、MIR 092 1、MIR 098、MIR 099a、MIR 100、MIR 107、MIR 125b 1、MIR 126、MIR 128a、MIR 132、MIR 136、MIR 142 P、MIR 145 P、MIR 152、MIR 155、MIR 181a, c、MIR 196a 2、MIR 212、MIR 213、MIR 215、MIR 218 1, 2、MIR 221、MIR 222 P、MIR 301、MIR 328、MIR 331 P、MIR 345、MIR 367、MIR 376、MIR 424 およ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 40 に記載の組成物。

【請求項 42】

前記 mi R 遺伝子産物が、let 7 b、let 7 c、let 7 d、let 7 f 1、let 7 i、MIR 007 1、MIR 015 a、MIR 015 b、MIR 016 1、MIR 021、MIR 023 a、MIR 024 1、2、MIR 027 a、b、MIR 030 d、MIR 098、MIR 099 a、MIR 100、MIR 125 b 1、MIR 126、MIR 132、MIR 142 P、MIR 145 P、MIR 152、MIR 155、MIR 181 a、c、MIR 196 a 2、MIR 212、MIR 213、MIR 218 1、2、MIR 221、MIR 222 P、MIR 301、MIR 331 P、MIR 345、MIR 376 およ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 40 に記載の組成物。

【請求項 43】

前記 mi R 遺伝子産物が、let 7 b；let 7 d；let 7 f；let 7 i、MIR 015 a；MIR 015 b；MIR 016 1；MIR 021；MIR 023 a、MIR 024、MIR 100；MIR 125 b；MIR 132、MIR 155、MIR 181 a、MIR 181 c；MIR 212；MIR 221；MIR 301；MIR 376 a およ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 40 に記載の組成物。

【請求項 44】

mi R 遺伝子産物が、let 7 a 2 P、let 7 b、let 7 c、let 7 d、let 7 f 1、let 7 i、MIR 015 b、MIR 019 b 1 P、MIR 098、MIR 128 a、MIR 136、MIR 152、MIR 155、MIR 181 a、MIR 196 a 2、MIR 212、MIR 215、MIR 218 1、MIR 218 2、MIR 301、MIR 328、MIR 331 P、MIR 424 およ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 40 に記載の組成物。

【請求項 45】

前記 mi R 遺伝子産物が、let 7 b、let 7 d、let 7 f 1、let 7 i、MIR 155、MIR 181 a、MIR 212、MIR 301 およ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 40 に記載の組成物。

【請求項 46】

前記 mi R 遺伝子産物が MIR 155 である、請求項 40 に記載の組成物。

【請求項 47】

前記 mi R 遺伝子産物が MIR 007 1 である、請求項 40 に記載の組成物。

【請求項 48】

前記 mi R 遺伝子産物が MIR 021 である、請求項 40 に記載の組成物。

【請求項 49】

前記 mi R 遺伝子産物が成熟型 mi R である、請求項 40 ~ 48 に記載の組成物。

【請求項 50】

前記阻害剤分子が前記 mi R 遺伝子産物の転写後のサイレンシングを引き起こす、請求項 40 ~ 48 に記載の組成物。

【請求項 51】

前記阻害剤分子が前記 mi R 遺伝子産物の成熟を阻害する、請求項 40 ~ 48 に記載の組成物。

【請求項 52】

前記阻害剤分子が前記 mi R 遺伝子産物のアンチセンスオリゴヌクレオチドである、請求項 40 ~ 48 に記載の組成物。

【請求項 53】

前記阻害剤分子が低分子干渉 RNA ( si RNA ) である、請求項 40 ~ 48 に記載の組成物。

【請求項 54】

前記阻害剤分子が、前記miR遺伝子産物についてコードする遺伝子とともに3重らせんを形成することができる分子である、請求項40～48に記載の組成物。

【請求項55】

前記阻害剤分子がリボザイムである、請求項40～48に記載の組成物。

【請求項56】

前記阻害剤分子が送達剤とともに裸のRNAとして投与されるものであることを特徴とする、請求項40～54に記載の組成物。

【請求項57】

前記阻害剤分子が、前記阻害剤分子をコードする核酸として投与されるものであることを特徴とする、請求項40～54に記載の組成物。

【請求項58】

対照細胞よりも少ないmiR遺伝子産物を含む膵臓癌細胞を有する被験体における膵臓癌の進行を抑制するための組成物であって、前記miR遺伝子産物に対応する有効量の単離されたmiR遺伝子産物を含む、組成物。

【請求項59】

前記miR遺伝子産物が、MIR 092 2 P、MIR 096 P、MIR 129 2、MIR 133 b、MIR 139、MIR 188 b P、MIR 204、MIR 299 P、MIR 337、MIR 371、MIR 383、MIR 375およ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58に記載の組成物。

【請求項60】

前記miR遺伝子産物がMIR 139である、請求項58に記載の組成物。

【請求項61】

前記miR遺伝子産物がMIR 096 Pである、請求項58に記載の組成物。

【請求項62】

前記miR遺伝子産物がMIR 375である、請求項58に記載の組成物。

【請求項63】

前記単離されたmiR遺伝子産物が前記機能性成熟型miRである、請求項58～62に記載の組成物。

【請求項64】

前記単離されたmiR遺伝子産物が、ヘアピンのループ部を含むmiR前駆体ヘアピン配列を含むオリゴヌクレオチドである、請求項58～62に記載の組成物。

【請求項65】

前記単離されたmiR遺伝子産物が、前記ヘアピンを有さない2本鎖のmiR前駆体を含むオリゴヌクレオチドである、請求項58～62に記載の組成物。

【請求項66】

前記単離された遺伝子産物が送達剤とともに裸のRNAとして投与されるものであることを特徴とする、請求項58～62に記載の組成物。

【請求項67】

前記単離された遺伝子産物が、前記単離されたmiR遺伝子産物をコードする核酸として投与されるものであることを特徴とする、請求項58～62に記載の組成物。

【請求項68】

前記核酸が組換えプラスミドまたは組換えウイルスベクターである、請求項67に記載の組成物。

【請求項69】

請求項40～57に記載の阻害剤分子と薬学的に許容される担体とを含む、被験体における膵臓癌を治療するための薬学的組成物。

【請求項70】

請求項58～66に記載の単離されたmiR遺伝子産物と薬学的に許容される担体とを含む、被験体における膵臓癌を治療するための薬学的組成物。

【請求項71】

請求項 67～68 に記載の単離された miR 遺伝子産物をコードする核酸と薬学的に許容される担体とを含む、被験体における膵臓癌を治療するための薬学的組成物。

【請求項 72】

被験体における膵臓癌の進行を抑制する治療レジメンの有効性を判定するのを補助する方法であって、

対照細胞に比べてアップレギュレートされた miR 遺伝子産物を有する癌細胞を含む前記被験体の膵臓由来の第 1 の試験試料における前記アップレギュレートされた miR 遺伝子産物のレベルと、前記被験体に治療レジメンが施された後の前記被験体の膵臓由来の第 2 の試験試料における前記アップレギュレートされた miR 遺伝子産物のレベルを比較する手順であって、前記第 2 の試験試料における前記アップレギュレートされた miR 遺伝子産物レベルが前記第 1 の試験試料よりも低いことによって、前記治療レジメンが前記被験体における膵臓癌の進行抑制に効果的であることが示される、手順を含む、方法。

【請求項 73】

被験体における膵臓癌の進行を抑制する治療レジメンの有効性を判定するのを補助する方法であって、

対照細胞に比べてダウンレギュレートされた miR 遺伝子産物を有する癌細胞を含む前記被験体の膵臓由来の第 1 の試験試料における前記アップレギュレートされた miR 遺伝子産物のレベルと、前記被験体に治療レジメンが施された後の前記被験体の膵臓由来の第 2 の試験試料における前記ダウンレギュレートされた miR 遺伝子産物のレベルを比較する手順であって、前記第 2 の試験試料における前記ダウンレギュレートされた miR 遺伝子産物レベルが前記第 1 の試験試料よりも高いことによって、前記治療レジメンが前記被験体における膵臓癌の進行抑制に効果的であることが示される、手順を含む、方法。

【請求項 74】

膵臓癌用抗癌剤を同定する方法であって、

(a) 膵臓癌細胞を含む生体試料において過剰発現する少なくとも 1 つの miR 遺伝子産物の発現レベルを測定し、これにより前記 miR 遺伝子産物の試験前の発現レベルについてのデータを作成する手順；

(b) 前記生体試料に試験剤を接触させる手順；

(c) 手順 (b) の後に前記生体試料における前記 miR 遺伝子産物の発現レベルを測定し、これにより試験後の発現レベルについてのデータを作成する手順；および

(d) 前記 miR 遺伝子産物の試験後の発現レベルを試験前の発現レベルと比較する手順であって、前記 miR 遺伝子産物の前記試験後の発現レベルが低下することによって、前記試験剤が膵臓癌の抗癌性を有することが示される、手順を含む、方法。

【請求項 75】

膵臓癌用抗癌剤を同定する方法であって、

(a) 膵臓癌細胞を含む生体試料において過小発現する少なくとも 1 つの miR 遺伝子産物の発現レベルを測定し、これにより前記 miR 遺伝子産物の試験前の発現レベルについてのデータを作成する手順；

(b) 前記生体試料に試験剤を接触させる手順；

(c) 手順 (b) の後に前記生体試料における前記 miR 遺伝子産物の発現レベルを測定し、これにより試験後の発現レベルについてのデータを作成する手順；および

(d) 前記 miR 遺伝子産物の前記試験後の発現レベルを前記試験前の発現レベルと比較する手順であって、前記 miR 遺伝子産物の前記試験後の発現レベルが上昇することによって、前記試験剤が膵臓癌の抗癌性を有することが示される、手順を含む、方法。