【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3年1月7日(2021.1.7)

【公表番号】特表2020-511953(P2020-511953A)
【公表日】令和2年4月23日(2020.4.23)
【年通号数】公開・登録公報2020-016
【出願番号】特願2019-539924(P2019-539924)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｑ　1/6851　(2018.01)
Ｇ０１Ｎ　33/53　(2006.01)
Ｃ１２Ｑ　1/6813　(2018.01)
Ｃ１２Ｑ　1/686　(2018.01)
Ｃ１２Ｎ　15/113　(2010.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｑ　1/6851　Ｚ
Ｇ０１Ｎ　33/53　Ｍ
Ｃ１２Ｑ　1/6813　Ｚ
Ｃ１２Ｑ　1/686　Ｚ
Ｃ１２Ｎ　15/113　ＺＮＡＺ

【手続補正書】
【提出日】令和2年11月18日(2020.11.18)
【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】
対象において軽度外傷性脳傷害（mTBI）を診断するために唾液サンプル中の少なくとも1種の標的miRNAの量を決定する方法であって、
（a）対象から取得された唾液サンプルを準備するステップ、
（b）前記唾液サンプルを、miR-27b-3p、let-7i-5p、miR-142-3p、miR-107及びmiR-135b-5pからなる群より選択される少なくとも1種のmiRNAに結合可能な核酸を含むプローブと接触させるステップ、
（c）前記唾液サンプル中の少なくとも1種の標的miRNAの量を決定するステップであって、該少なくとも1種の標的miRNAが、
（i）miR-142-3p、
（ii）miR-107、
（iii）miR-135b-5p、又は
（iv）まとめてmiR-27b-3p、let-7i-5p、miR-142-3p、miR-107及びmiR-135b-5p
を含む、前記ステップ、
（d）少なくとも1種の標的miRNAの量が所定の閾値と比較して又は対照サンプル中の少なくとも1種の標的miRNAの量と比較して増大している場合に、対象がmTBIを有すると同定するステップ
を含む、上記方法。
【請求項２】
前記少なくとも1種の標的miRNAがmiR-142-3pである、請求項１に記載の方法。
【請求項３】

前記少なくとも1種の標的miRNAがmiR-107である、請求項１に記載の方法。
【請求項４】
前記少なくとも1種の標的miRNAがmiR-135b-5pである、請求項１に記載の方法。
【請求項５】
前記唾液サンプルが、傷害の24時間～15日後、24時間～7日後、及び2～5日後から選択される傷害後に取得されたサンプルである、請求項１～４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項６】
傷害の後の1以上の追加の時点で対象から取得された1以上の追加の唾液サンプルを準備すること、各追加のサンプルについて前記接触ステップ、決定ステップ及び同定ステップを反復することをさらに含む、請求項１～５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項７】
前記1以上の追加の唾液サンプルが、傷害から2日後、3日後、5日後、7日後、10日後、14日後、又は15日後に取得されたサンプルである、請求項６に記載の方法。
【請求項８】
前記少なくとも1種の標的miRNAの量の決定ステップが、PCRに基づくアッセイを用いて行われる、請求項１～７のいずれか１項に記載の方法。
【請求項９】
前記所定の閾値が、2-デルタデルタCT（2-ΔΔCT）法において1.5倍以上の倍率変化と同等である、請求項１～８のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１０】
前記所定の閾値が、2-デルタデルタCT（2-ΔΔCT）法において2倍以上の倍率変化と同等である、請求項１～８のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１１】
前記唾液サンプル中の少なくとも2種の標的miRNAの量を決定するステップを含む、請求項１～１０のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１２】
前記少なくとも2種の標的miRNAが、miR-27b-3p、let-7i-5p、miR-142-3p、miR-107又はmiR-135b-5pから選択される、請求項１１に記載の方法。
【請求項１３】
前記少なくとも1種の標的miRNAが、miR-27b-3p、let-7i-5p、miR-142-3p、miR-107及びmiR-135b-5pをまとめて含む、請求項１～１２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１４】
let-7c-5p、let-7i-5p、miR-142-3p、miR-148a-3p、miR-15b-5p、miR-16-5p、miR-181a-5p、miR-20a-5p、miR-20b-5p、miR-221-3p、 miR-24-3p、miR-27b-3p、miR-29a-3p、miR-29c-3p、miR-424-5p、miR-30a-5p、miR-107、miR-135b-5p、miR-199b-5p、miR-324-5p、及びmiR-652-3pから選択される1種以上の追加のmiRNAの量を決定するステップをさらに含む、請求項１～１３のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１５】
対象における軽度外傷性脳傷害（mTBI）の診断方法において使用するための、miR-27b-3p、let-7i-5p、miR-142-3p、miR-107及びmiR-135b-5pからなる群より選択される少なくとも1種のmiRNAに結合可能な核酸を含むプローブを含むキットであって、前記方法が、
（a）対象から取得された唾液サンプルを準備するステップ、
（b）前記唾液サンプルを、miR-27b-3p、let-7i-5p、miR-142-3p、miR-107及びmiR-135b-5pからなる群より選択される少なくとも1種のmiRNAに結合可能な核酸を含むプローブと接触させるステップ、
（c）前記唾液サンプル中の少なくとも1種の標的miRNAの量を決定するステップであって、該少なくとも1種の標的miRNAが、
（i）miR-142-3p、
（ii）miR-107、
（iii）miR-135b-5p、又は

（iv）まとめてmiR-27b-3p、let-7i-5p、miR-142-3p、miR-107及びmiR-135b-5p
を含む、前記ステップ、
（d）少なくとも1種の標的miRNAの量が所定の閾値と比較して又は対照サンプル中の少なくとも1種の標的miRNAの量と比較して増大している場合に、対象がmTBIを有すると同定するステップ
を含むものである、上記キット。
【請求項１６】
対象において軽度外傷性脳傷害（mTBI）を処置するための、1種以上の神経保護薬を含む医薬組成物であって、該対象が、唾液サンプル中の少なくとも1種の標的miRNAの量を決定することによりmTBIを有すると同定されており、該少なくとも1種の標的miRNAが、
（i）miR-142-3p、
（ii）miR-107、
（iii）miR-135b-5p、又は
（iv）まとめてmiR-27b-3p、let-7i-5p、miR-142-3p、miR-107及びmiR-135b-5p
を含む、上記医薬組成物。
【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０１５６
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０１５６】
本発明のいずれかの態様と関連して本明細書中に行なわれる記述は、適切な場合、本発明のいずれかの他の態様に等しく適用できることが理解されるであろう。
本発明は、例えば以下の実施形態を包含する。
［実施形態１］対象において軽度外傷性脳傷害（mTBI）を診断及び/又はモニターする方法であって、対象から取得された唾液サンプル中の少なくとも1種のmiRNAのレベルを決定するステップを含み、該少なくとも1種のmiRNAがmiR-27b-3p、let-7i-5p、miR-142-3p、miR-107及びmiR-135b-5p、又はそれらの任意の組み合わせからなる群より選択される、上記方法。
［実施形態２］前記少なくとも1種のmiRNAの上方調節レベルがmTBIを示す、実施形態１に記載の方法。
［実施形態３］前記少なくとも1種のmiRNAのレベルが所定の閾値を超える又は対照と比較して増大している場合に、対象がmTBIを有すると診断される、実施形態１に記載の方法。
［実施形態４］前記所定の閾値が、2-デルタデルタCT（2-ΔΔCT）法において2倍以上の倍率変化と同等である、実施形態３に記載の方法。
［実施形態５］前記少なくとも1種のmiRNAがmiR-27b-3pである、実施形態１～４のいずれかに記載の方法。
［実施形態６］前記少なくとも1種のmiRNAがlet-7i-5pである、実施形態１～４のいずれかに記載の方法。
［実施形態７］前記少なくとも1種のmiRNAがmiR-142-3pである、実施形態１～４のいずれかに記載の方法。
［実施形態８］前記少なくとも1種のmiRNAがmiR-107である、実施形態１～４のいずれかに記載の方法。
［実施形態９］前記少なくとも1種のmiRNAがmiR-135b-5pである、実施形態１～４のいずれかに記載の方法。
［実施形態１０］前記対象から取得された唾液サンプル中の少なくとも2種のmiRNAのレベルを決定するステップを含む、実施形態１～９のいずれかに記載の方法。
［実施形態１１］前記少なくとも2種のmiRNAが、miR-27b-3p、let-7i-5p、miR-142-3p、miR-107又はmiR-135b-5pから選択される、実施形態１０に記載の方法。
［実施形態１２］前記少なくとも2種のmiRNAの上方調節レベルがmTBIを示す、実施形態１

０又は１１に記載の方法。
［実施形態１３］前記少なくとも2種のmiRNAのレベルが所定の閾値を超える又は対照と比較して増大している場合に、対象がmTBIを有すると診断される、実施形態１０又は１１に記載の方法。
［実施形態１４］前記所定の閾値が、2-デルタデルタCT（2-ΔΔCT）法において1.5倍以上の倍率変化と同等である、実施形態１３に記載の方法。
［実施形態１５］前記唾液サンプルが傷害の24時間～15日後に取得される、実施形態１～１４のいずれかに記載の方法。
［実施形態１６］前記唾液サンプルが傷害の24時間～7日後に取得される、実施形態１５に記載の方法。
［実施形態１７］前記唾液サンプルが傷害の2～5日後に取得される、実施形態１６に記載の方法。
［実施形態１８］miR-27b-3p、let-7i-5p、miR-142-3p、miR-107及びmiR-135b-5pのmiRNAのレベルを決定するステップを含む、実施形態１～１７のいずれかに記載の方法。
［実施形態１９］let-7c-5p、let-7i-5p、miR-142-3p、miR-148a-3p、miR-15b-5p、miR-16-5p、miR-181a-5p、miR-20a-5p、miR-20b-5p、miR-221-3p、 miR-24-3p、miR-27b-3p、miR-29a-3p、miR-29c-3p、及びmiR-424-5p、miR-30a-5p、miR-107、miR-135b-5p、miR-199b-5p、miR-324-5p、又はmiR-652-3pから選択される1種以上の追加のmiRNAのレベルを決定するステップをさらに含む、実施形態１～１８のいずれかに記載の方法。
［実施形態２０］miR-27b-3p、let-7i-5p、miR-142-3p、miR-107又はmiR-135b-5pの少なくとも1種に対して特異的なプローブを用いて官能化されている基板を含む、mTBIを診断及び/又はモニターするための検出系用センサー素子。
［実施形態２１］前記プローブが少なくとも1種のmiRNAに結合可能な核酸を含む、実施形態２０に記載のセンサー素子。
［実施形態２２］前記プローブが、標的miRNAの配列の相補体である配列に対して少なくとも70％の同一性を有する核酸を含む、実施形態２０又は２１に記載のセンサー素子。
［実施形態２３］前記プローブが、配列番号25、26、35、39又は40の相補体である配列に対して少なくとも70％の同一性を有する核酸を含む、実施形態２０又は２１に記載のセンサー素子。
［実施形態２４］以下の構成要素：
・実施形態２０～２３のいずれかに記載のセンサー素子；及び
・前記プローブに対する標的miRNAの結合を検出することが可能である検出デバイス
を備えた、mTBIを診断及び/又はモニターするための検出系。
［実施形態２５］前記標的miRNAが上方調節されているかどうかを決定するための手段をさらに含む、実施形態２４に記載の検出系。
［実施形態２６］mTBIを有することが疑われる対象のための行動方針を決定する方法であって、対象から取得された唾液サンプルを実施形態２４又は２５に記載の検出系に適用するステップ、及び少なくとも1種のmiRNAの上方調節レベルが検出された場合には、mTBIのための処置を施すステップを含む、上記方法。
［実施形態２７］mTBIが疑われる対象を処置する方法であって、
（i）miR-27b-3p、let-7i-5p、miR-142-3p、miR-107及びmiR-135b-5pからなる群より選択される少なくとも1種のmiRNAの上方調節レベルが対象から取得された唾液サンプルにおいて検出可能であるかどうかを決定するステップ、
（ii）少なくとも1種のmiRNAの上方調節レベルが検出された場合に対象に対してmTBIのための処置を施すステップ
を含む、上記方法。