

【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21年3月5日(2009.3.5)

【公表番号】特表2008-517613(P2008-517613A)

【公表日】平成20年5月29日(2008.5.29)

【年通号数】公開・登録公報2008-021

【出願番号】特願2007-538421(P2007-538421)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

A 0 1 K 67/027 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

C 1 2 N 9/12 (2006.01)

G 0 1 N 33/574 (2006.01)

G 0 1 N 33/543 (2006.01)

G 0 1 N 33/577 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

G 0 1 N 33/573 (2006.01)

A 6 1 K 31/713 (2006.01)

A 6 1 P 7/00 (2006.01)

A 6 1 P 19/08 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

A 0 1 K 67/027

C 1 2 N 5/00 B

C 1 2 Q 1/68 A

C 1 2 N 9/12

G 0 1 N 33/574 A

G 0 1 N 33/543 5 4 5 A

G 0 1 N 33/577 B

G 0 1 N 33/53 D

G 0 1 N 33/573 Z

A 6 1 K 31/713

A 6 1 P 7/00

A 6 1 P 19/08

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 43/00 1 0 5

C 1 2 P 21/08

【手続補正書】

【提出日】平成21年1月13日(2009.1.13)

【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】

以下で「JAK2 V617F 変異体」と称する、617番アミノ酸に変異を含む、より特徴的には、V617F 変異を含むことを特徴とする、単離された JAK2 (Janus キナーゼ 2) タンパク質であり、該タンパク質の配列が SEQ ID No 1 で表されるか、または他の哺乳動物の 617 位が変異したこのタンパク質の等価物であるタンパク質。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の JAK2 V617F 変異体をコードするヌクレオチド配列であり、とりわけ、転写開始を示す ATG から数えて 1849 位で t / g 変異を有する配列 SEQ ID No 2。

【請求項 3】

ウイルスベクターもしくはプラスミドベクターであるか、または裸 DNA 型の、クローニングベクターおよび / または発現ベクターであり、哺乳動物の細胞で有効なプロモーターの制御下で請求項 2 に記載の配列を含むことを特徴とするベクター。

【請求項 4】

請求項 1 に記載の組換え JAK2 V617F 変異体を発現する、ヒトの胚性幹細胞又は生殖幹細胞以外の哺乳動物の細胞。

【請求項 5】

請求項 1 に記載の組換え JAK2 V617F を発現する、ヒトではないトランスジェニック動物。

【請求項 6】

相同組換えまたは部位特異的組換えにより、ゲノム中に少なくとも JAK2 V617F をコードする配列を組み込んだマウスまたはラットであることを特徴とする、請求項 5 に記載のヒトではないトランスジェニック動物。

【請求項 7】

JAK2 V617F / JAK2 V617F ホモ接合体または JAK2 V617F / JAK2 ヘテロ接合体であり、真性赤血球増加症および / または JAK2 V617F によって誘発される骨髄増殖症候群を再現することを特徴とする、請求項 5 または請求項 6 に記載のヒトではないトランスジェニック動物。

【請求項 8】

配列 SEQ ID No 3 または 4 の連続する 10 ~ 30 個のヌクレオチドを含み、変異ヌクレオチド t¹⁸⁴⁹を含むプローブまたはプライマー。

【請求項 9】

配列 SEQ ID No 5 ~ 12 から選択される、請求項 8 に記載のプローブまたはプライマー。

【請求項 10】

変異ヌクレオチド t¹⁸⁴⁹を含む配列 SEQ ID No 4 の JAK2 のゲノム DNA、cDNA、または mRNA とハイブリダイズする能力がある、少なくとも 10 個のヌクレオチド、特に 15 ~ 25 個のヌクレオチドのオリゴヌクレオチド。

【請求項 11】

PV 患者または PV もしくはその他のあらゆる骨髄増殖症候群、とりわけ赤血球増加症、白血球増加症、血小板増加症および骨髄線維症を発症する恐れのある患者のサンプルにおいて、JAK2 遺伝子の G1849T 変異体の有無を判定するためのエクスピボまたはインピトロでの方法であり、

a) 患者の核酸サンプルを得ること、

b) 患者から得た核酸サンプルにおいて JAK2 遺伝子の G1849T 変異体の有無を検出すること

を含み、

G1849T 変異体の存在が PV または他のあらゆる骨髄増殖症候群の指標となることを

特徴とする方法。

【請求項 1 2】

請求項 8 ~ 1 0 のいずれか一つに記載の少なくとも一つのプローブとのハイブリダイゼーションの過程を含むことを特徴とする、請求項 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 3】

請求項 8 ~ 1 0 のいずれか一つに記載の少なくとも一つのプライマー対を用いた P C R 反応による増幅の過程を含むことを特徴とする、請求項 1 1 または請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 4】

個体の m R N A について実施され、R T - P C R 反応を含むことを特徴とする、請求項 1 1 ~ 1 3 のいずれか一つに記載の方法。

【請求項 1 5】

前記プライマーを用いた増幅過程と、それに続く、ハイストリンジェンシーの条件の下で G 1 8 4 9 T 変異領域に対応する配列とハイブリダイズする少なくとも一つのプローブ、好ましくは二つのプローブとのハイブリダイゼーションの過程、そして前記プローブのマーカが生成するシグナルの検出を含み、プローブとプライマーが請求項 8 ~ 1 0 のいずれか一つで定義されたものであることを特徴とする、請求項 1 1 ~ 1 3 のいずれか一つに記載の方法。

【請求項 1 6】

P V または他のあらゆる骨髓増殖症候群に冒された、あるいはこれらを発症する恐れのある患者のサンプルにおいて J A K 2 V 6 1 7 F 変異体の有無を検出するためのエキスビボまたはインビトロでの方法であり、

b) 患者から得たサンプルにおける J A K 2 V 6 1 7 F 変異体の有無を検出することを含んでおり、
前記変異体の存在が P V または他のあらゆる骨髓増殖症候群の指標となることを特徴とする方法。

【請求項 1 7】

サンプルを、J A K 2 タンパク質の V 6 1 7 F 変異体に特異的な抗体、好ましくは V 6 1 7 F 変異体と変異していない J A K 2 タンパク質を区別する能力を有する抗体と接触させることを含む、請求項 1 6 に記載の方法。

【請求項 1 8】

抗体が、一本鎖または二本鎖の、モノクローナル抗体もしくはポリクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、または抗原に結合する F (a b ') 2 および F (v) 断片であることを特徴とする、請求項 1 7 に記載の方法。

【請求項 1 9】

E L I S A 試験であることを特徴とする、請求項 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 0】

5 1 % を超えるヘマトクリット値を有する患者の亜集団に対して実施されることを特徴とする、請求項 1 1 ~ 1 9 のいずれか一つに記載の方法。

【請求項 2 1】

4 5 0 0 0 0 を超える血小板の割合を有する患者の亜集団に対して実施されることを特徴とする、請求項 1 1 ~ 1 9 のいずれか一つに記載の方法。

【請求項 2 2】

J A K 2 V 6 1 7 F 変異体を特異的に認識するモノクローナル抗体。

【請求項 2 3】

請求項 2 2 に記載の抗体を産生するハイブリドーマ。

【請求項 2 4】

J A K 2 遺伝子の G 1 8 4 9 T 変異の有無を特異的に検出するための、請求項 8 ~ 1 0 のいずれか一つで定義した一つまたは複数のプライマーあるいはプローブを含む、ガンにおける J A K 2 V 6 1 7 F 変異体を検出するためのキット。

【請求項 25】

患者が真性赤血球増加症または J A K 2 V 6 1 7 F 変異体が関与する他のあらゆる骨髓増殖症候群、とりわけ赤血球増加症、白血球増加症、血小板増加症および骨髓線維症に冒されているかどうか判定するためのキットであり、J A K 2 遺伝子における G 1 8 4 9 T 変異の有無を特異的に検出するための、請求項 8 ~ 10 のいずれか一つで定義した一つまたは複数のプローブまたはプライマーを含むキット。

【請求項 26】

さらに、P C R 増幅のための耐熱ポリメラーゼ、増幅および / またはハイブリダイゼーション過程のための一つまたは複数の溶液、ならびに、マーカの検出を可能にするあらゆる試薬から選択される少なくとも一つの要素を含む、請求項 24 または 25 に記載のキット。

【請求項 27】

請求項 22 に記載の抗体を含む、患者が真性赤血球増加症または J A K 2 V 6 1 7 F 変異体が関与する他のあらゆる骨髓増殖症候群に冒されているかどうかを判定するためのキット。

【請求項 28】

J A K 2 V 6 1 7 F 変異体の発現を 50 % 以上あるいは 95 % 以上減少させる能力を有する s i R N A であり、19 ~ 25 個のヌクレオチド、好ましくは 19 個のヌクレオチド長を有し、第一の鎖の配列が、t¹⁸⁴⁹ 変異ヌクレオチドを含む配列 S E Q I D N o 3、S E Q I D N o 4 または S E Q I D N o 11 に同一であり、第二の鎖の配列がそれらの配列に相補的であることを特徴とする s i R N A。

【請求項 29】

一つまたは複数の化合物による J A K 2 V 6 1 7 F に特異的な阻害を判定することを可能にする インビトロでの方法であり、

- a) 一つまたは複数の化合物を、結合および / または阻害に適した条件下で、請求項 1 に記載の J A K 2 V 6 1 7 F タンパク質、J A K 2 V 6 1 7 F を含む膜画分、あるいは、請求項 4 に記載の J A K 2 V 6 1 7 F を発現する細胞と接触させること、および
- b) J A K 2 V 6 1 7 F の特異的な 結合および / または阻害を検出することから成る過程を含む方法。

【請求項 30】

請求項 29 に記載の複数の分子に対する一連の試験と、J A K 2 V 6 1 7 F に対して 1 μ M 未満、好ましくは 100 n M 未満の I C 50 を有する分子を選択する過程とを含む インビトロでのスクリーニング方法。

【請求項 31】

さらに、J A K 2 に対して 5 μ M 未満あるいは 1 μ M 未満の I C 50 を有する分子の負の選択を含む、請求項 30 に記載の インビトロでの方法。

【請求項 32】

J A K 2 V 6 1 7 F のリン酸化の阻害を免疫沈降によって判定する、請求項 29 ~ 31 のいずれか一つに記載の インビトロでのスクリーニング方法。

【請求項 33】

エリスロポエチン (E p o) の不在下で分化する能力を有する初代前駆細胞 C D 3 4 + J A K 2 V 6 1 7 F に対する、あるいは、J A K 2 V 6 1 7 F 変異体の導入によって独立因子となった細胞系に対する、請求項 29 ~ 32 のいずれか一つに記載の インビトロでのスクリーニング方法。

【請求項 34】

請求項 4 に記載の細胞を用いた、請求項 29 ~ 33 のいずれか一つに記載の インビトロでのスクリーニング方法。

【請求項 35】

医薬品の候補を識別するための方法であり、

- a) 真性赤血球増加症を再現している、および / または、J A K 2 V 6 1 7 F の存在に

関連する骨髄増殖症候群に冒されている、請求項 5 ～ 7 のいずれか一つで定義した J A K 2 V 6 1 7 F を発現するヒトではないトランスジェニック動物に、化合物を投与すること、

b) 化合物の効果を判定し、真性赤血球増加症の赤芽球の自然発生的な増殖および分化の減少もしくはブロック、または J A K 2 V 6 1 7 F の存在に関連する細胞増殖の減少が観察される医薬品の候補を選択すること

からなる過程を含む方法。

【請求項 3 6】

医薬品製造のための、請求項 2 9 に記載の s i R N A の利用方法。

【請求項 3 7】

悪性血液疾患、特に、真性赤血球増加症、本態性血小板増加症、骨髄性脾腫あるいは原発性骨髄線維症を含む骨髄増殖症候群の治療を目的とする医薬品を調製するための、請求項 3 6 に記載の利用方法。

【請求項 3 8】

J A K 2 V 6 1 7 F 変異に関連する骨髄増殖症候群、その他の悪性血液疾患、および J A K 2 V 6 1 7 F を発現する癌腫、黒色腫および神経芽腫のような充実性腫瘍の治療を目的とする医薬品を調製するための、請求項 3 6 に記載の利用方法。

【請求項 3 9】

請求項 2 8 のいずれか一つに記載の s i R N A と薬学的に許容可能な賦形剤を含む組成物。