

【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27年9月24日(2015.9.24)

【公表番号】特表2014-527807(P2014-527807A)

【公表日】平成26年10月23日(2014.10.23)

【年通号数】公開・登録公報2014-058

【出願番号】特願2014-529090(P2014-529090)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/113 (2010.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/7105 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 G

C 1 2 N 15/00 Z N A A

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 31/7105

A 6 1 P 35/00

【手続補正書】

【提出日】平成27年8月4日(2015.8.4)

【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】

m i R - 1、m i R - 1 0 b およびm i R - 1 3 3 a から選択されるマイクロRNA(m i RNA)に特異的なアンチセンス分子を有効量含む骨肉腫の治療剤。

【請求項2】

アンチセンス分子が安定化RNAである請求項1記載の治療剤。

【請求項3】

安定化RNAがロッド状核酸(LNA)オリゴヌクレオチドである請求項2記載の治療剤。

【請求項4】

アンチセンス分子がDNAである請求項1記載の治療剤。

【請求項5】

アンチセンス分子が、20~30ヌクレオチド長であり、

5' - ACATACTTCTTTACATTCCA - 3' (配列番号4)、

5' - ACAAAATTCGGTTCTACAGGGT - 3' (配列番号5)または

5' - CAGCTGGTTGAAGGGGACCAA - 3' (配列番号6)

に少なくとも90%同一なヌクレオチド配列を含む請求項1記載の治療剤。

【請求項6】

アンチセンス分子が、21~30ヌクレオチド長であり、

5' - ACATACTTCTTTACATTCCA - 3' (配列番号4)、

5' - ACAAAATTCGGTTCTACAGGGT - 3' (配列番号5)または

5' - CAGCTGGTTGAAGGGGACCAA - 3' (配列番号6)

に少なくとも 9 5 % 同一なヌクレオチド配列を含む請求項 5 記載の治療剤。

**【請求項 7】**

アンチセンス分子の配列が、

5' - ACATACTTCTTACATTCCA - 3' (配列番号 4)、  
 5' - ACAAATTCGGTTCTACAGGGT - 3' (配列番号 5) または  
 5' - CAGCTGGTTGAAGGGGACCAA - 3' (配列番号 6)

である請求項 6 記載の治療剤。

**【請求項 8】**

アンチセンス分子が、2 0 ~ 3 0 ヌクレオチド長であり、

5' - AUACAUACUUCUUUACAUUCCA - 3' (配列番号 7)、  
 5' - CACAAAUUCGGUUCUACAGGGUA - 3' (配列番号 8)、  
 5' - CAGCUGGUUGAAGGGGACCAA - 3' (配列番号 9)、  
 5' - ATACATACTTCTTACATTCCA - 3' (配列番号 10)、  
 5' - ACAAATTCGGTTCTACAGGGTA - 3' (配列番号 11) または  
 5' - CAGCTGGTTGAAGGGGACCAA - 3' (配列番号 12)

に少なくとも 9 0 % 同一なヌクレオチド配列を含む請求項 1 記載の治療剤。

**【請求項 9】**

アンチセンス分子が、2 1 ~ 3 0 ヌクレオチド長であり、

5' - AUACAUACUUCUUUACAUUCCA - 3' (配列番号 7)、  
 5' - CACAAAUUCGGUUCUACAGGGUA - 3' (配列番号 8)、  
 5' - CAGCUGGUUGAAGGGGACCAA - 3' (配列番号 9)、  
 5' - ATACATACTTCTTACATTCCA - 3' (配列番号 10)、  
 5' - ACAAATTCGGTTCTACAGGGTA - 3' (配列番号 11) または  
 5' - CAGCTGGTTGAAGGGGACCAA - 3' (配列番号 12)

に少なくとも 9 5 % 同一なヌクレオチド配列を含む請求項 8 記載の治療剤。

**【請求項 10】**

アンチセンス分子の配列が、

5' - AUACAUACUUCUUUACAUUCCA - 3' (配列番号 7)、  
 5' - CACAAAUUCGGUUCUACAGGGUA - 3' (配列番号 8)、  
 5' - CAGCUGGUUGAAGGGGACCAA - 3' (配列番号 9)、  
 5' - ATACATACTTCTTACATTCCA - 3' (配列番号 10)、  
 5' - ACAAATTCGGTTCTACAGGGTA - 3' (配列番号 11) または  
 5' - CAGCTGGTTGAAGGGGACCAA - 3' (配列番号 12)

である請求項 9 記載の治療剤。

**【請求項 11】**

アンチセンス分子が核酸送達ビヒクルに関連付けられている請求項 1 ~ 1 0 のいずれか 1 項に記載の治療剤。

**【請求項 12】**

骨肉腫が転移性骨肉腫である請求項 1 ~ 1 1 のいずれか 1 項に記載の治療剤。

**【請求項 13】**

5' - ACATACTTCTTACATTCCA - 3' (配列番号 4)、  
 5' - ACAAATTCGGTTCTACAGGGT - 3' (配列番号 5) または  
 5' - CAGCTGGTTGAAGGGGACCAA - 3' (配列番号 6) に少なくとも 9 0 % 同一なヌクレオチド配列を含む 2 0 ~ 3 0 ヌクレオチド長の単離された核酸分子。

**【請求項 14】**

単離された核酸分子が、2 1 ~ 3 0 ヌクレオチド長であり、5' - ACATACTTCTTACATTCCA - 3' (配列番号 4)、

5' - ACAAATTCGGTTCTACAGGGT - 3' (配列番号 5) または  
 5' - CAGCTGGTTGAAGGGGACCAA - 3' (配列番号 6)

に少なくとも 9 5 % 同一なヌクレオチド配列を含む請求項 1 3 記載の単離された核酸分子

。

#### 【請求項 1 5】

単離された核酸分子の配列が、5' - ACATACTTCTTACATTCCA - 3'（配列番号4）、  
5' - ACAAATT CGGTTCTACAGGGT - 3'（配列番号5）または  
5' - CAGCTGGTTGAAGGGGACCAA - 3'（配列番号6）

である請求項14記載の単離された核酸分子。

#### 【請求項 1 6】

5' - AUACAUACUUCUUUACAUUCCA - 3'（配列番号7）、  
5' - CACAAAUUCGGUUUCUACAGGGUA - 3'（配列番号8）、  
5' - CAGCUGGUUGAAGGGGACCAA - 3'（配列番号9）、  
5' - ATACATACTTCTTACATTCCA - 3'（配列番号10）、  
5' - CACAAATT CGGTTCTACAGGGTA - 3'（配列番号11）または  
5' - CAGCTGGTTGAAGGGGACCAA - 3'（配列番号12）に少なくとも90%同一なヌクレオチド配列を含む20~30ヌクレオチド長の単離された核酸分子。

#### 【請求項 1 7】

単離された核酸分子が、21~30ヌクレオチド長であり、5' - AUACAUACUUCUUUACAUUCA - 3'（配列番号7）、  
5' - CACAAAUUCGGUUUCUACAGGGUA - 3'（配列番号8）、  
5' - CAGCUGGUUGAAGGGGACCAA - 3'（配列番号9）、  
5' - ATACATACTTCTTACATTCCA - 3'（配列番号10）、  
5' - CACAAATT CGGTTCTACAGGGTA - 3'（配列番号11）または  
5' - CAGCTGGTTGAAGGGGACCAA - 3'（配列番号12）

に少なくとも95%同一なヌクレオチド配列を含む請求項16記載の単離された核酸分子。

。

#### 【請求項 1 8】

単離された核酸分子の配列が、

5' - AUACAUACUUCUUUACAUUCCA - 3'（配列番号7）、  
5' - CACAAAUUCGGUUUCUACAGGGUA - 3'（配列番号8）、  
5' - CAGCUGGUUGAAGGGGACCAA - 3'（配列番号9）、  
5' - ATACATACTTCTTACATTCCA - 3'（配列番号10）、  
5' - CACAAATT CGGTTCTACAGGGTA - 3'（配列番号11）または  
5' - CAGCTGGTTGAAGGGGACCAA - 3'（配列番号12）

である請求項17記載の単離された核酸分子。

#### 【請求項 1 9】

核酸分子が核酸送達ビヒクルに関連付けられている請求項13~18のいずれか1項に記載の単離された核酸分子。

#### 【請求項 2 0】

抗がん治療に対する骨肉腫の抵抗性を評価する方法であって、

骨肉腫細胞を含む組織試料からCD133を発現する細胞を単離する工程；

miR-1、miR-10bおよびmiR-133aからなる群より選択される少なくとも1つのマイクロRNA（miRNA）の該CD133発現細胞による第1の発現レベルを測定する工程；

該CD133発現細胞を抗がん療法と接触させる工程；ならびに

該少なくとも1つのmiRNAの該CD133発現細胞による第2の発現レベルを測定する工程を含み、第1の発現レベルよりも高い第2の発現レベルが、その骨肉腫が抗がん療法に抵抗性であることを示す方法。

#### 【請求項 2 1】

抗がん療法が、シスプラチン、ドキソルビシン、メトトレキサートおよびそれらの任意の組み合わせからなる群より選択される請求項20記載の方法。

#### 【請求項 2 2】

骨肉腫のスクリーニング方法であって、対象由来の組織試料において、m i R - 1、m i R - 1 0 b およびm i R - 1 3 3 a からなる群より選択される少なくとも1つのマイクロRNA (m i RNA) を特異的に検出できるアッセイを行う工程を含み、アッセイによる、該少なくとも1つのm i RNA の試料中における存在の検出が、対象が骨肉腫を有する危険性があることを示す方法。

【請求項 2 3】

組織が血液である請求項 2 2 記載の方法。

【請求項 2 4】

組織が血清である請求項 2 2 記載の方法。

【請求項 2 5】

骨肉腫をモニタリングする方法であって、

( a ) 骨肉腫を有する対象または骨肉腫の治療をしている対象から得られた組織試料において、m i R - 1、m i R - 1 0 b およびm i R - 1 3 3 a からなる群より選択される少なくとも1つのマイクロRNA (m i RNA) の発現レベルを特異的に定量することができるアッセイを行う工程；ならびに

( b ) 対象由来の後に得られた組織試料において工程 ( a ) を繰り返す工程を含み、先に得られた試料におけるその少なくとも1つのm i RNA の発現レベルよりも高い後に得られた試料におけるその少なくとも1つのm i RNA の発現レベルが、その骨肉腫が進行性であることを示し、そして先に得られた試料におけるその少なくとも1つのm i RNA の発現レベルよりも低い後に得られた試料におけるその少なくとも1つのm i RNA の発現レベルが、その骨肉腫が退行性であることを示す工程

を含む骨肉腫をモニタリングする方法。

【請求項 2 6】

組織が血液である請求項 2 5 記載の方法。

【請求項 2 7】

組織が血清である請求項 2 5 記載の方法。