

【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24年3月1日(2012.3.1)

【公表番号】特表2010-508042(P2010-508042A)

【公表日】平成22年3月18日(2010.3.18)

【年通号数】公開・登録公報2010-011

【出願番号】特願2009-535366(P2009-535366)

【国際特許分類】

C 12 Q	1/68	(2006.01)
C 12 N	15/09	(2006.01)
C 12 M	1/00	(2006.01)
C 12 M	1/34	(2006.01)
G 01 N	33/53	(2006.01)
G 01 N	33/574	(2006.01)
G 01 N	37/00	(2006.01)
G 01 N	33/576	(2006.01)

【F I】

C 12 Q	1/68	Z N A A
C 12 N	15/00	A
C 12 M	1/00	A
C 12 N	15/00	F
C 12 M	1/34	Z
G 01 N	33/53	M
G 01 N	33/574	Z
G 01 N	37/00	1 0 2
G 01 N	33/576	B

【手続補正書】

【提出日】平成24年1月16日(2012.1.16)

【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】

対象における肝細胞癌(HCC)またはHCCを発症するリスクを検出する方法であつて、以下：

対象からの試験試料中のmiRサインのレベルを測定し、

miRサインが以下：miR-30c、miR-124a、miR-207及びmiR-219、の少なくとも1つまたはそれより多くを含み、

miR遺伝子産物がmiR-219である場合、miRサインはmiR-30c、miR-124a、及びmiR-207の1つまたはそれより多くを含む、

ここで、試験試料中のmiR遺伝子産物のレベルの、対照試料中の対応するmiR遺伝子産物のレベルと比較した変化が、対象におけるHCCまたはHCCを発症するリスクの指標である、前記方法。

【請求項2】

miR遺伝子産物サインがmiR-30c[SEQ ID NO:6]、mir-124a[SEQ ID NO:4]、miR-207[SEQ ID NO:18]および

miR 219 [SEQ ID NO: 20] である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

miR 219 [SEQ ID NO: 20] および miR 207 [SEQ ID NO: 18] の少なくとも 1 つのレベルが予め定められた標準レベルより多く、および / または miR 30c [SEQ ID NO: 6] および miR 124a [SEQ ID NO: 4] の少なくとも 1 つのレベルが予め定められた標準レベルより少ない、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

対象における HCC、または HCC を発症するリスクを検出する方法であって、以下：  
(1) 対象から得られた試験試料から RNA を逆転写して、1 組の標的オリゴデオキシヌクレオチドを提供すること；

(2) miRNA 特有プローブオリゴヌクレオチドを含むマイクロアレイに標的オリゴデオキシヌクレオチドをハイブリダイズし、試験試料のハイブリダイゼーションプロファイルを提供すること、ここで当該マイクロアレイは、miR-30c、miR-124a、miR-207 および miR-219 の少なくとも 1 つまたはそれより多くの miR 遺伝子産物を含む miR 遺伝子産物サインについての miRNA - 特異的プローブオリゴヌクレオチドを含み、そして、miR 遺伝子産物が miR-219 である場合、miR サインは miR-30c、miR-124a、および miR-207 の 1 つまたはそれより多くを含む；および

(3) 試験試料ハイブリダイゼーションプロファイルを対照試料から生み出されたハイブリダイゼーションプロファイルに比較すること；  
を含み、ここで、少なくとも 1 つの miRNA のシグナルにおける変化が、対象における HCC または HCC を発症するリスクの指標である、前記方法。

【請求項 5】

マイクロアレイが miR 30c [SEQ ID NO: 6]、miR 124a [SEQ ID NO: 4]、miR 207 [SEQ ID NO: 18] および miR 219 [SEQ ID NO: 20] に対する miRNA 特有プローブオリゴヌクレオチドを含む、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

対象における 1 つ以上の有害な予後予測マーカーに関連する HCC、または当該疾患を発症するリスクを検出する方法であって、以下：

(1) 対象から得られた試験試料から RNA を逆転写して、1 組の標的オリゴデオキシヌクレオチドを提供すること；

(2) miRNA 特有プローブオリゴヌクレオチドを含むマイクロアレイに標的オリゴデオキシヌクレオチドをハイブリダイズし、試験試料のハイブリダイゼーションプロファイルを提供すること、ここで当該マイクロアレイは、miR-30c、miR-124a、miR-207 および miR-219 の少なくとも 1 つまたはそれより多くの miR 遺伝子産物を含む miR 遺伝子産物サインについての miRNA - 特異的プローブオリゴヌクレオチドを含み、そして、miR 遺伝子産物が miR-219 である場合、miR サインは miR-30c、miR-124a、および miR-207 の 1 つまたはそれより多くを含む；および

(3) 試験試料ハイブリダイゼーションプロファイルを対照試料から生み出されたハイブリダイゼーションプロファイルに比較すること；  
を含み、シグナルにおける変化が、対象における HCC または HCC を発症するリスクの指標である、前記方法。

【請求項 7】

マイクロアレイが miR 30c [SEQ ID NO: 6]、miR 124a [SEQ ID NO: 4]、miR 207 [SEQ ID NO: 18] および miR 219 [SEQ ID NO: 20] に対する少なくとも 1 つの miRNA 特有プローブオリゴヌクレオチドを含む、請求項 6 に記載の方法。

**【請求項 8】**

非転移 HCC から HCC 静脈転移を識別することをさらに含む、請求項 1ないし 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 9】**

初期ステージ疾患の患者を含む、多結節性または孤発性腫瘍を有する HCC 患者の生存および再発を予測することを含む、請求項 1ないし 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 10】**

非転移 HCC から HCC 静脈転移を識別することをさらに含む、請求項 4 または 5 に記載の方法。

**【請求項 11】**

初期ステージ疾患の患者を含む、多結節性または孤発性腫瘍を有する HCC 患者の生存および再発を予測することを含む、請求項 4 または 5 に記載の方法。

**【請求項 12】**

非転移 HCC から HCC 静脈転移を識別することをさらに含む、請求項 6 または 7 に記載の方法。

**【請求項 13】**

初期ステージ疾患の患者を含む、多結節性または孤発性腫瘍を有する HCC 患者の生存および再発を予測することを含む、請求項 6 または 7 に記載の方法。

**【請求項 14】**

HCC を治療するための医薬組成物であって、少なくとも 1 つの単離された miR 遺伝子産物および薬剤的に受容できるキャリアを含み、ここで当該単離された miR 遺伝子産物は以下：miR\_30c [SEQ ID NO: 6]、miR\_124A [SEQ ID NO: 4]、miR\_207 [SEQ ID NO: 18] および miR\_219 [SEQ ID NO: 20] の 1 またはそれより多くから選択される、前記医薬組成物。

**【請求項 15】**

少なくとも 1 つの単離された miR 遺伝子産物が、適切な対照細胞に比較して HCC 細胞においてアップレギュレーションされているか、またはダウンレギュレーションされている miR 遺伝子産物に対応する、請求項 14 に記載の医薬組成物。

**【請求項 16】**

少なくとも 1 つの単離された miR 遺伝子産物が、適切な対照細胞に比較して HCC 細胞においてダウンレギュレーションされている miR 遺伝子産物に対応しており、ここで当該組成物は、miR-30c [SEQ ID NO: 6] および miR-124a [SEQ ID NO: 4] の 1 またはそれより多くから選択される少なくとも 1 つの miR 遺伝子産物を含む、請求項 14 に記載の医薬組成物。

**【請求項 17】**

HCC を治療するための医薬組成物であって、少なくとも 1 つの miR 発現阻害化合物および薬剤的に受容できるキャリアを含み、ここで当該 miR 発現阻害剤は、以下：miR\_30c [SEQ ID NO: 6]、miR\_124A [SEQ ID NO: 4]、miR\_207 [SEQ ID NO: 18] および miR\_219 [SEQ ID NO: 20] の 1 またはそれより多くから選択される miR 遺伝子産物に特異的である、前記医薬組成物。

**【請求項 18】**

少なくとも 1 つの miR 発現阻害化合物が、適切な対照細胞に比較して HCC 細胞においてアップレギュレーションされている miR 遺伝子産物に特異的である、請求項 17 に記載の医薬組成物。

**【請求項 19】**

少なくとも 1 つの miR 発現阻害化合物が、適切な対照細胞に比較して HCC 細胞においてアップレギュレーションされている miR 遺伝子産物に特異的であり、そしてここで当該組成物は、miR-219 [SEQ ID NO: 20] および miR-207 [SEQ ID NO: 4] の 1 またはそれより多くから選択される miR 遺伝子産物に特異的である、前記医薬組成物。

EQ ID NO : 18] の 1 またはそれより多くから選択される miR 遺伝子産物に特異的である少なくとも 1 つの miR 発現阻害化合物を含む、請求項 17 に記載の医薬組成物。

【請求項 20】

抗-HCC 剤を同定する方法であって：以下

- 細胞に試験薬剤を提供すること；および
- HCC 細胞において減少した発現レベルに関連した少なくとも 1 つの miR 遺伝子産物のレベルを測定すること；

を含み、ここで当該少なくとも 1 つの miR 遺伝子産物は、以下：miR 30c [SEQ ID NO : 6]、mir 124A [SEQ ID NO : 4]、miR 207 [SEQ ID NO : 18] および miR 219 [SEQ ID NO : 20]、ならびにそれらの組み合わせ、の 1 またはそれより多くから選択され、そしてここで適切な対照細胞に比較した該細胞における該 miR 遺伝子産物のレベルの増加が、試験薬剤が抗 HCC 剤であることの指標である、前記方法。

【請求項 21】

miR 遺伝子産物が、miR 30c [SEQ ID NO : 6]、および mir 124A [SEQ ID NO : 4] の 1 またはそれより多くから選択される、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】

抗-HCC 剤を同定する方法であって、以下：

- 細胞に試験薬剤を提供すること；および
- HCC 細胞において増加した発現レベルに関連した少なくとも 1 つの miR 遺伝子産物のレベルを測定すること；

を含み、ここで当該少なくとも 1 つの miR 遺伝子産物は、以下：miR 30c [SEQ ID NO : 6]、mir 124A [SEQ ID NO : 4]、miR 207 [SEQ ID NO : 18] および miR 219 [SEQ ID NO : 20]、ならびにそれらの組み合わせ、の 1 またはそれより多くから選択され、そしてここで適切な対照細胞に比較した該細胞における miR 遺伝子産物のレベルの減少が、試験薬剤が抗 HCC 剤であることの指標である、前記方法。

【請求項 23】

miR 遺伝子産物が、miR 207 [SEQ ID NO : 18]、および mir 219 [SEQ ID NO : 20] の 1 またはそれより多くから選択される、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 24】

固体支持物上に固定された 1 つ以上の miRNA プローブを含む miRNA アレイであって、プローブが a) miRNA コーディング配列； b) プローブの 5' または 3' 末端に結合したアミンを含み、プローブが miR 30c [SEQ ID NO : 6]、mir 124A [SEQ ID NO : 4]、miR 207 [SEQ ID NO : 18] および miR 219 [SEQ ID NO : 20]、ならびにその組み合わせの 1 つ以上からなる 1 つ以上の miRNA コーディング配列を有する、miRNA アレイ。

【請求項 25】

miRNA アレイが、プロセッシングされた miRNA 配列のすべてを含む miRNA コーディング配列を有する miRNA プローブを含む、請求項 24 に記載の miRNA アレイ。

【請求項 26】

miRNA コーディング配列がプロセッシングされた miRNA 配列の上流および / または下流の、少なくとも 2 ~ 5 ヌクレオチドのコーディング配列をさらに含む、請求項 25 に記載の miRNA アレイ。

【請求項 27】

miRNA コーディング配列がプロセッシングされた miRNA 配列の上流および下流

の、4ヌクレオチドのコーディング配列をさらに含む、請求項26に記載のm i R N Aアレイ。

【請求項28】

m i R N Aアレイが、c)m i R N Aコーディング配列に隣接する少なくとも第1のリンクマー配列をさらに含むm i R N Aプローブを含む、請求項24～27のいずれか1項に記載のm i R N Aアレイ。

【請求項29】

適切な容器手段中に2以上のm i R N Aプローブを含む、試料のm i R N Aプロファイルを生み出すためのキットであって、プローブがm i R 30c[SEQ ID NO:6]、mir 124A[SEQ ID NO:4]、mir 207[SEQ ID NO:18]およびmir 219[SEQ ID NO:20]、ならびにその組み合わせの1つ以上のm i R N Aコーディング配列を有する、キット。

【請求項30】

試料中のm i R N Aを標識するための試薬をさらに含む、請求項29に記載のキット。