

【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 6 部門第 1 区分
 【発行日】令和 2 年 7 月 27 日 (2020.7.27)

【公開番号】特開 2020-12850 (P2020-12850A)
 【公開日】令和 2 年 1 月 23 日 (2020.1.23)
 【年通号数】公開・登録公報 2020-003
 【出願番号】特願 2019-188457 (P2019-188457)
 【国際特許分類】

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

C 0 7 K 14/00 (2006.01)

C 1 2 N 11/00 (2006.01)

【F I】

G 0 1 N 33/53 D

C 1 2 Q 1/02 Z N A

G 0 1 N 33/53 Y

C 0 7 K 14/00

C 1 2 N 11/00

【手続補正書】

【提出日】令和 2 年 6 月 5 日 (2020.6.5)

【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】

化学療法剤に対するがん細胞集団の感受性を予測する方法であって、

a) がん細胞集団由来の細胞を透過化するステップ；

b) 該透過化した細胞を B H 3 ドメインペプチドと接触させるステップ；

c) 該 B H 3 ドメインペプチドと接触させた該透過化した細胞を固定するステップ；

d) 該固定した細胞を、ミトコンドリア膜間スペースからの分子について染色するステップ；および

e) 該染色して固定した細胞における該分子の量を測定するためにミトコンドリア膜間スペースからの該分子についての該染色を検出するステップ
を含み、

該細胞において測定した該分子の量の、該 B H 3 ドメインペプチドと接触させなかった透過化した細胞において測定した該分子の量と比較した減少は、該がん細胞集団が化学療法剤に感受性であることを示す、方法。

【請求項 2】

前記がん細胞集団由来の細胞が、細胞の単細胞懸濁物を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

組織試料または細胞培養物由来の細胞の前記単細胞懸濁物を取得するステップをさらに含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記検出するステップが、蛍光活性化セルソーティング (F A C S) によってミトコンドリア膜間スペースからの前記分子についての前記染色を検出することを含む、請求項 2 または 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記固定した細胞を染色するステップが、前記固定した細胞を細胞表面マーカーについて染色して、該細胞表面マーカーの発現に基づいて前記細胞の細胞亜集団間の区別を可能とすることを含む、請求項 2 から 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記検出するステップが、FACSによって前記細胞表面マーカーについての前記染色を検出することを含む、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記細胞が、固体表面上に固定される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

前記固定した細胞を染色するステップが、前記固定した細胞を細胞内マーカーについて染色することを含み、前記検出するステップが、顕微鏡により該染色を検出して、前記固定した細胞のがん細胞において該細胞内マーカーに対してミトコンドリア膜間スペースからの前記分子を位置特定し、該がん細胞における該細胞内マーカーに対する該分子の位置特定の喪失は、該がん細胞における該分子の量を示す、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記細胞内マーカーについて染色することが、前記固定した細胞を、ミトコンドリアマーカーまたは核マーカーの一方または両方について染色することを含む、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記ミトコンドリアマーカーが、マンガンスーパーオキシドディスムターゼ (MnSOD) である、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記核マーカーについて染色することが、前記固定した細胞をDAPI (2 - (4 - アミジノフェニル) - 1H - インドール - 6 - カルボキサミジン) で染色することを含む、請求項 9 または 10 に記載の方法。

【請求項 12】

前記固体表面が、ポリアミン被覆表面またはポリリシン被覆表面を含む、請求項 7 から 11 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

ミトコンドリア膜間スペースからの前記分子が、チトクロムc、SMAC/Diablo、Omi、アデニル酸キナーゼ2またはアポトーシス誘導因子である、請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

前記BH3ドメインペプチドが、BID、BIM、BAD、BIK、NOXA、PUMA、BMF、またはHRKポリペプチドのBH3ドメインに由来する、請求項 1 から 13 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

前記細胞をジギトニン、メタノールまたはトリトンx-100 (2 - [4 - (2, 4, 4 - トリメチルペンタン - 2 - イル)フェノキシ]エタノール) と接触させることによって前記細胞が透過化される、請求項 1 から 14 のいずれか一項に記載の方法。