(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATIONEN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle
Bureau international

(43) Date de la publication internationale
6 août 2009 (06.08.2009)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2009/095596 A3

(51) Classification internationale des brevets :
C12Q 1/68 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2009/050101

(22) Date de dépôt international :
23 janvier 2009 (23.01.2009)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
0800543 31 janvier 2008 (31.01.2008) FR

(71) Déposant *(pour tous les États désignés sauf US)* :
ASSISTANCE PUBLIQUE HOPITAUX DE PARIS [FR/FR]; 3 Avenue Victoria, F-75001 Paris (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants *(pour US seulement)* : **SOBHANI, Iradj** [FR/FR]; 13 Avenue du Nord, F-94100 Saint Maur (FR). **MANSOUR, Hicham** [FR/FR]; 25 rue du général Facq, F92350 Le Plessis Robinson (FR).

(74) Mandataire : **WAGRET, Frédéric**; 19 rue de Milan, F-75009 Paris (FR).

(81) États désignés *(sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible)* : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés *(sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible)* : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— *avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))*

— *avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues (règle 48.2.h))*

— *avec la partie de la description réservée au listage des séquences (règle 5.2.a))*

(88) Date de publication du rapport de recherche internationale :
26 novembre 2009

(54) **Title** : METHOD, PROCESS, AND KIT FOR DIAGNOSIS OR PROGNOSIS OF COLORECTAL CANCER

(54) **Titre** : METHODE, PROCEDE, ET KIT DE DIAGNOSTIC, PRONOSTIC DU CANCER COLORECTAL

(57) **Abstract** : The invention relates to a method or a process and a kit for the diagnosis/prognosis of colorectal cancer, that comprises the following steps: a. extracting a nucleic material of a biological sample; b. using at least one pair of amplification primers for obtaining amplicons of at least one target sequence; c. using at least one detection probe for detecting the presence of said amplicons; characterised in that said method includes a modification step between steps a) and b). Advantageously, steps b) and c) are carried out simultaneously. More precisely, the target sequence is included in gene WIF1, and said primer pair includes at least one amplification primer including at least 15 nucleotide patterns of a nucleotide sequence selected from SEQ ID n° 1 to 10 and/or said detection probe includes at least 15 nucleotide patterns of a nucleotide sequence selected from SEQ ID n° 1 to 10.

(57) **Abrégé** : Procédé ou méthode et kit pour le diagnostic/pronostic et le suivi du cancer colorectal, comprenant les étapes suivantes a. l'extraction d'un matériel nucléique d'un échantillon biologique; b. l'utilisation d'au moins une paire d'amorces d'amplification en vue d'obtenir des amplicons d'au moins une séquence cible; c. l'utilisation d'au moins une sonde de détection pour détecter la présence desdits amplicons; caractérisé en ce qu'il comprend une étape de modification entre les étapes a) et b). Avantageusement les étapes b) et c) sont réalisées en même temps. Plus précisément, ladite séquence cible est comprise dans le gène WIF1 et ladite paire d'amorces comprend au moins une amorce d'amplification comprenant au moins 15 motifs nucléotidiques d'une séquence nucléotidique choisie parmi les SEQ ID n° 1 à 10 et/ou ladite sonde de détection comprend au moins 15 motifs nucléotidiques d'une séquence nucléotidique choisie parmi SEQ ID n° 1 à 10.

WO 2009/095596 A3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/FR2009/050101

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C12Q1/68

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C12Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, Sequence Search, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE Geneseq [Online] 21 March 2000 (2000-03-21), "Neisseria species ORF cloning PCR primer #263." XP002485842 retrieved from EBI accession no. GSN:AAZ54878 Database accession no. AAZ54878 Sequence --- DATABASE Geneseq [Online] 26 August 2004 (2004-08-26), "Human soft tissue sarcoma-upregulated DNA - SEQ ID 4235." XP002485843 retrieved from EBI accession no. GSN:ADQ21415 Database accession no. ADQ21415 Sequence --- -/--	6-8,10 6-8,10

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
23 septembre 2009	08/10/2009

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31–70) 340–2040, Fax: (+31–70) 340–3016	Hennard, Christophe

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/FR2009/050101

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	NOSHO KATSUHIKO ET AL: "Genetic and epigenetic profiling in early colorectal tumors and prediction of invasive potential in pT1 (early invasive) colorectal cancers" CARCINOGENESIS, IRL PRESS, LONDON, GB, vol. 28, no. 6, 1 June 2007 (2007-06-01), pages 1364-1370, XP002458487 ISSN: 0143-3334 page 1365, colonne de droite ; page 1367, colonne gauche	1-5,9
Y	URAKAMI SHINJI ET AL: "Wnt antagonist family genes as biomarkers for diagnosis, staging, and prognosis of renal cell carcinoma using tumor and serum DNA." CLINICAL CANCER RESEARCH : AN OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH 1 DEC 2006, vol. 12, no. 23, 1 December 2006 (2006-12-01), pages 6989-6997, XP002547094 ISSN: 1078-0432 pages 6990-6991, "Materials and methods"; page 6992, figure 1; page 6993, colonne gauche; page 6997	1-5,9
Y	URAKAMI S ET AL: "COMBINATION ANALYSIS OF HYPERMETHYLATED WNT-ANTAGONIST FAMILY GENES AS A NOVEL EPIGENETIC BIOMARKER PANEL FOR BLADDER CANCER DETECTION" CLINICAL CANCER RESEARCH, THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, US, vol. 12, no. 7, 1 April 2006 (2006-04-01), pages 2109-2116, XP003015934 ISSN: 1078-0432 page 2111, tableau 1; pages 2113-2116, "Discussion"	1-5,9
Y	LENHARD ET AL: "Analysis of promoter methylation in stool: A novel method for the detection of colorectal cancer" CLINICAL GASTROENTEROLOGY AND HEPATOLOGY, AMERICAN GASTROENTEROLOGICAL ASSOCIATION, US, vol. 3, no. 2, 1 February 2005 (2005-02-01), pages 142-149, XP005120680 ISSN: 1542-3565 pages 143 - 146, "Materials and methods"	1-5,9

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/FR2009/050101

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EBERT ET AL: "Aristaless-like Homeobox-4 Gene Methylation Is a Potential Marker for Colorectal Adenocarcinomas" GASTROENTEROLOGY, ELSEVIER, PHILADELPHIA, PA, vol. 131, no. 5, 11 November 2006 (2006-11-11), pages 1418-1430, XP005725528 ISSN: 0016-5085 page 1418, dernier paragraphe ; page 1419, colonne droite	1-4
X	KOHONEN-CORISH M R J ET AL: "Promoter methylation of the mutated in colorectal cancer gene is a frequent early event in colorectal cancer" ONCOGENE, BASINGSTOKE, HANTS, GB, vol. 26, no. 30, 1 June 2007 (2007-06-01), pages 4435-4441, XP002477017 ISSN: 0950-9232 [retrieved on 2007-01-29] page 4440, colonne gauche ; pages 4436-4437	1-4
A	ZOU HONGZHI ET AL: "Highly methylated genes in colorectal neoplasia: implications for screening." CANCER EPIDEMIOLOGY, BIOMARKERS & PREVENTION : A PUBLICATION OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, COSPONSORED BY THE AMERICAN SOCIETY OF PREVENTIVE ONCOLOGY DEC 2007, vol. 16, no. 12, December 2007 (2007-12), pages 2686-2696, XP002485840 ISSN: 1055-9965 page 2687, colonne gauche ; page 2688, tableau 2	1-4
A	TANIGUCHI HIROAKI ET AL: "Frequent epigenetic inactivation of Wnt inhibitory factor-1 in human gastrointestinal cancers" ONCOGENE, vol. 24, no. 53, November 2005 (2005-11), pages 7946-7952, XP002485841 ISSN: 0950-9232 Introduction ; page 7949, colonne gauche	1-10
A	US 2005/288226 A1 (YOU LIANG [US] ET AL) 29 December 2005 (2005-12-29) page 2, [10] - [19] ; exemples	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/FR2009/050101

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2005288226 A1	29-12-2005	NONE	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°
PCT/FR2009/050101

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
INV. C12Q1/68

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
C12Q

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)
EPO-Internal, Sequence Search, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	DATABASE Geneseq [Online] 21 mars 2000 (2000-03-21), "Neisseria species ORF cloning PCR primer #263." XP002485842 extrait de EBI accession no. GSN:AAZ54878 Database accession no. AAZ54878 Sequence _____	6-8,10
X	DATABASE Geneseq [Online] 26 août 2004 (2004-08-26), "Human soft tissue sarcoma-upregulated DNA - SEQ ID 4235." XP002485843 extrait de EBI accession no. GSN:ADQ21415 Database accession no. ADQ21415 Sequence _____ -/--	6-8,10

[X] Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

[X] Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée
"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale
23 septembre 2009	08/10/2009

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale	Fonctionnaire autorisé
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31–70) 340–2040, Fax: (+31–70) 340–3016	Hennard, Christophe

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°
PCT/FR2009/050101

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	NOSHO KATSUHIKO ET AL: "Genetic and epigenetic profiling in early colorectal tumors and prediction of invasive potential in pT1 (early invasive) colorectal cancers" CARCINOGENESIS, IRL PRESS, LONDON, GB, vol. 28, no. 6, 1 juin 2007 (2007-06-01), pages 1364-1370, XP002458487 ISSN: 0143-3334 page 1365, colonne de droite ; page 1367, colonne gauche	1-5,9
Y	URAKAMI SHINJI ET AL: "Wnt antagonist family genes as biomarkers for diagnosis, staging, and prognosis of renal cell carcinoma using tumor and serum DNA." CLINICAL CANCER RESEARCH : AN OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH 1 DEC 2006, vol. 12, no. 23, 1 décembre 2006 (2006-12-01), pages 6989-6997, XP002547094 ISSN: 1078-0432 pages 6990-6991, "Materials and methods"; page 6992, figure 1; page 6993, colonne gauche; page 6997	1-5,9
Y	URAKAMI S ET AL: "COMBINATION ANALYSIS OF HYPERMETHYLATED WNT-ANTAGONIST FAMILY GENES AS A NOVEL EPIGENETIC BIOMARKER PANEL FOR BLADDER CANCER DETECTION" CLINICAL CANCER RESEARCH, THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, US, vol. 12, no. 7, 1 avril 2006 (2006-04-01), pages 2109-2116, XP003015934 ISSN: 1078-0432 page 2111, tableau 1; pages 2113-2116, "Discussion"	1-5,9
Y	LENHARD ET AL: "Analysis of promoter methylation in stool: A novel method for the detection of colorectal cancer" CLINICAL GASTROENTEROLOGY AND HEPATOLOGY, AMERICAN GASTROENTEROLOGICAL ASSOCIATION, US, vol. 3, no. 2, 1 février 2005 (2005-02-01), pages 142-149, XP005120680 ISSN: 1542-3565 pages 143 - 146, "Materials and methods"	1-5,9

-/--

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°
PCT/FR2009/050101

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	EBERT ET AL: "Aristaless-like Homeobox-4 Gene Methylation Is a Potential Marker for Colorectal Adenocarcinomas" GASTROENTEROLOGY, ELSEVIER, PHILADELPHIA, PA, vol. 131, no. 5, 11 novembre 2006 (2006-11-11), pages 1418-1430, XP005725528 ISSN: 0016-5085 page 1418, dernier paragraphe ; page 1419, colonne droite	1-4
X	KOHONEN-CORISH M R J ET AL: "Promoter methylation of the mutated in colorectal cancer gene is a frequent early event in colorectal cancer" ONCOGENE, BASINGSTOKE, HANTS, GB, vol. 26, no. 30, 1 juin 2007 (2007-06-01), pages 4435-4441, XP002477017 ISSN: 0950-9232 [extrait le 2007-01-29] page 4440, colonne gauche ; pages 4436-4437	1-4
A	ZOU HONGZHI ET AL: "Highly methylated genes in colorectal neoplasia: implications for screening." CANCER EPIDEMIOLOGY, BIOMARKERS & PREVENTION : A PUBLICATION OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, COSPONSORED BY THE AMERICAN SOCIETY OF PREVENTIVE ONCOLOGY DEC 2007, vol. 16, no. 12, décembre 2007 (2007-12), pages 2686-2696, XP002485840 ISSN: 1055-9965 page 2687, colonne gauche ; page 2688, tableau 2	1-4
A	TANIGUCHI HIROAKI ET AL: "Frequent epigenetic inactivation of Wnt inhibitory factor-1 in human gastrointestinal cancers" ONCOGENE, vol. 24, no. 53, novembre 2005 (2005-11), pages 7946-7952, XP002485841 ISSN: 0950-9232 Introduction ; page 7949, colonne gauche	1-10
A	US 2005/288226 A1 (YOU LIANG [US] ET AL) 29 décembre 2005 (2005-12-29) page 2, [10] - [19] ; exemples	1-10

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°
PCT/FR2009/050101

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 2005288226 A1	29-12-2005	AUCUN	