

【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29年2月23日(2017.2.23)

【公表番号】特表2016-514950(P2016-514950A)

【公表日】平成28年5月26日(2016.5.26)

【年通号数】公開・登録公報2016-032

【出願番号】特願2015-555362(P2015-555362)

【国際特許分類】

C 1 2 N 5/071 (2010.01)

C 1 2 N 5/095 (2010.01)

C 1 2 N 5/09 (2010.01)

C 1 2 N 5/0793 (2010.01)

C 1 2 N 5/0789 (2010.01)

C 1 2 N 5/073 (2010.01)

C 1 2 Q 1/04 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

C 1 2 M 3/00 (2006.01)

C 1 2 M 1/00 (2006.01)

C 1 2 M 1/34 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/04 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 5/071 Z N A

C 1 2 N 5/095

C 1 2 N 5/09

C 1 2 N 5/0793

C 1 2 N 5/0789

C 1 2 N 5/073

C 1 2 Q 1/04

C 1 2 Q 1/68 Z

C 1 2 M 3/00 A

C 1 2 M 3/00 B

C 1 2 M 1/00 C

C 1 2 M 1/34 B

C 1 2 M 1/00 A

A 6 1 P 35/00

A 6 1 K 45/00

A 6 1 P 35/04

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成29年1月23日(2017.1.23)

【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】**

生体試料に由来する不均一細胞集団からの標的細胞亜集団の選択的富化のための方法であって、

前記標的細胞集団の成長を可能とするのに十分な条件下で前記不均一細胞集団をインキュベートする工程であって、前記条件は、陽圧条件及び／又は低酸素条件下で前記不均一細胞集団をインキュベートすることを含み、前記インキュベートが結果として前記標的細胞亜集団の選択的富化を生じる工程、を含む前記方法。

【請求項 2】

前記標的細胞亜集団の前記メンバーの 1 又は複数の形態学的特徴及び／又は動態学的特性が表示される際に、前記標的細胞亜集団のメンバーを同定する工程を更に含み、前記 1 又は複数の形態学的特徴及び／又は動態学的特性がコロニー形成、増殖、非標的細胞の表面積と比べて大きな表面積、非標的細胞の基材に対する付着と比べて増加した基材への付着、急速な細胞分裂、及び多核細胞化からなる群から選択される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記標的細胞亜集団が初代細胞を含む、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記標的細胞亜集団が、循環腫瘍細胞（C T C s）、癌幹細胞（C S C s）、固形腫瘍に由来する細胞、造血幹細胞（H S C s）、初代神経細胞、胎児細胞、初代肝細胞、初代心筋細胞、血管内皮前駆細胞（E P C s）、及び上皮前駆細胞からなる群から選択される細胞を含む、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記同定が抗体又はポリヌクレオチドマーカの使用を含まない、請求項 1 ～ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記生体試料が体液、又はその派生物を含む、請求項 1 ～ 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記生体試料が固体組織試料を含む、請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記不均一細胞集団と基材とを接触させる工程を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

前記基材がコーティングを含み、前記コーティングが G O L 基材、G E L 基材、1 又は複数の層のフィーダー細胞、及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記基材の構成が、単層構成、二層構成、中間層構成（複数の場合がある）、及び逆位構成からなる群から選択される、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 11】

前記標的細胞亜集団の前記メンバーを個別に単離及び培養することを更に含む、請求項 1 ～ 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

前記標的細胞亜集団の前記メンバーを 2 週間を超えて細胞培養物として培養することを含む、請求項 1 ～ 11 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

前記低酸素条件が 10 % 未満の O₂ レベルの下で培養することを含む、請求項 1 ～ 12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

前記陽圧条件が、14 . 7 P S I A を超える加圧条件下で前記メンバーを培養すること

を含む、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 5】

前記条件が、細胞の表面張力を調節する化合物を含む細胞培養培地中で前記メンバーを培養することを含む、請求項 1 ~ 1 4 のいずれか一項に記載の方法。

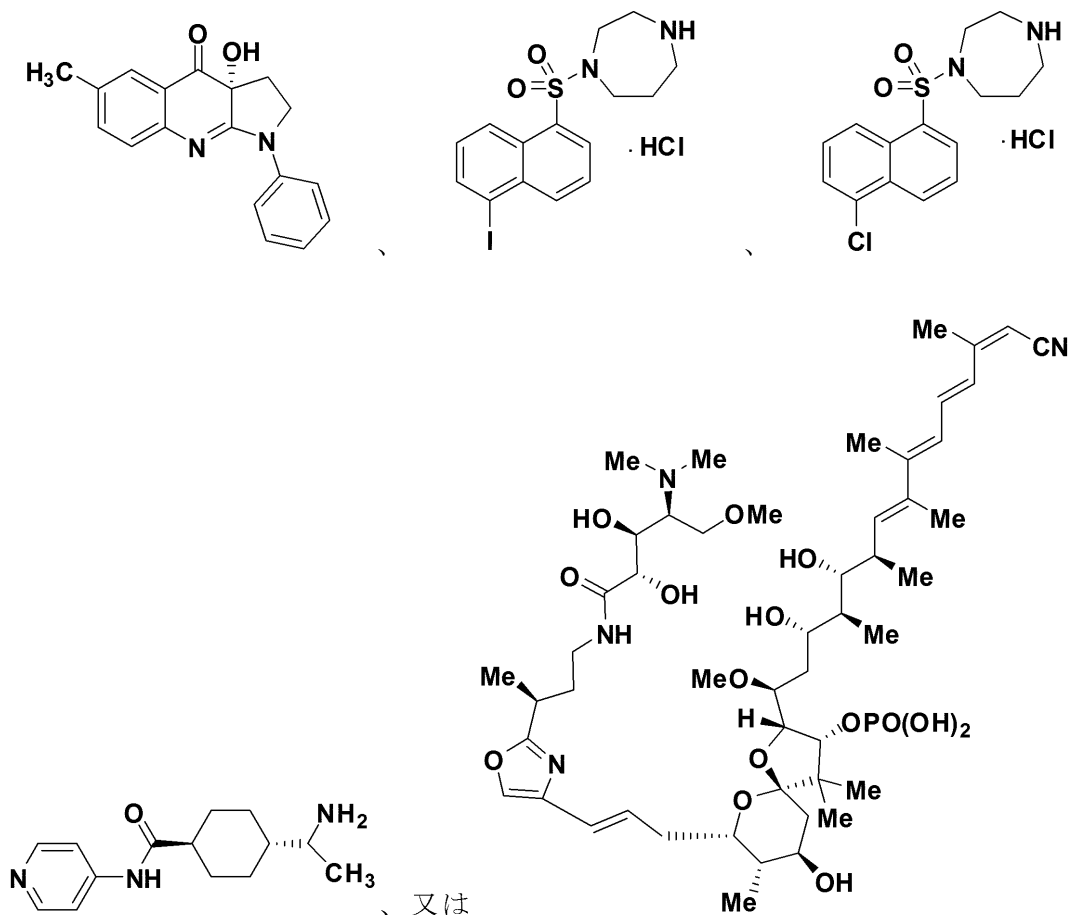
【請求項 1 6】

前記化合物が R h o キナーゼ阻害剤である、請求項 1 5 に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記化合物が

【化 1】



からなる群から選択される、請求項 1 5 に記載の方法。

【請求項 1 8】

前記条件が、前記メンバーにおいて低酸素誘導因子の発現を増加する薬剤と共に前記メンバーを培養することを含む、請求項 1 ~ 1 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 9】

前記低酸素誘導因子が、低酸素誘導因子 - 1 (H I F - 1)、低酸素誘導因子 - 1 (H I F - 1)、低酸素誘導因子 - 2 (H I F - 2)、低酸素誘導因子 - 2 (H I F - 2)、低酸素誘導因子 - 3 (H I F - 3)、低酸素誘導因子 - 3 (H I F - 3)、又はそれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 0】

前記低酸素誘導因子の発現を増加する薬剤がベクターを含み、前記ベクターが前記低酸素誘導因子をコードするポリヌクレオチドを含む、請求項 1 8 ~ 1 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記低酸素誘導因子が配列番号 1 に対して少なくとも 7 0 % 以上の相同性を含むアミノ酸配列を含む、請求項 2 0 に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記ポリヌクレオチドが配列番号 2 に対して少なくとも 70 % 以上の相同性又は相補性を含む、請求項 2 0 に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記同定が、

- (a) 前記メンバーの画像を得ること、及び
- (b) コンピュータ可読媒体を使用して前記メンバーが前記標的細胞亜集団に属すると自動的に分類すること、を含む、請求項 1 ~ 2 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記コンピュータ可読媒体が前記標的亜集団の細胞の物理的特性に基づいたパラメーターを統合するように構成され、前記パラメーターが細胞の外形サイズ、細胞形状、細胞運動、細胞核サイズ、及び細胞分裂からなる群から選択される、請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記コンピュータ可読媒体が細胞の蛍光標識を検出するように構成される、請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 6】

抗癌治療法を開発する方法であって、

- (a) 請求項 1 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の方法を用いて、標的細胞亜集団を培養すること、
- (b) 標的細胞亜集団と試験薬剤を接触させること、
- (c) 標的細胞亜集団の生存能及び / 又は成長をアッセイすること、および
- (d) 標的細胞亜集団の生存能及び / 又は成長が、試験薬剤と接触していない標的細胞亜集団と比較して減少される場合に、試験薬剤を抗癌治療法として選択することを含む方法。