

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

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
29 novembre 2001 (29.11.2001)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 01/90409 A1

(51) Classification internationale des brevets⁷ : C12Q 1/68,
G01N 33/574

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/IB01/00852

(22) Date de dépôt international : 16 mai 2001 (16.05.2001)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
00111370.3 26 mai 2000 (26.05.2000) EP

(71) Déposants et

(72) Inventeurs : CHEN, Xu, Qi [CN/US]; University of
Texas, Laboratoire de Leucémie, MD Anderson/Cancer
Center, 1515 Holcombe Boulevard, Houston, TX 77030
(US). STROUN, Maurice [CH/CH]; 6, rue Pedro-Meylan,
CH-1208 Genève (CH). ANKER, Philippe [CH/CH];
Avenue Ernest-Pictet 15, CH-1203 Genève (CH).

(74) Mandataire : MICHELI & CIE; 122, rue de Genève,
Case Postale 61, CH-1226 Genève-Thônex (CH).

(81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AT
(modèle d'utilité), AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA,

CH, CN, CO, CR, CU, CZ, CZ (modèle d'utilité), DE, DE
(modèle d'utilité), DK, DK (modèle d'utilité), DM, DZ,
EC, EE, EE (modèle d'utilité), ES, FI, FI (modèle d'util-
ité), GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP,
KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA,
MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO,
RU, SD, SE, SG, SI, SK, SK (modèle d'utilité), SL, TJ, TM,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE,
LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasien
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen
(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU,
MC, NL, PT, SE, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

- avec rapport de recherche internationale
- avant l'expiration du délai prévu pour la modification des
revendications, sera republiée si des modifications sont
reçues

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de
la Gazette du PCT.

(54) Title: CANCER DIAGNOSIS METHOD

(54) Titre : METHODE POUR LE DIAGNOSTIC DE CANCERS

(57) Abstract: The invention concerns a method for diagnosing and/or monitoring the development of cancer comprising analysis
of RNA constituents of the telomerase enzyme present in plasma or blood serum.

(57) Abrégé : L'invention concerne une méthode pour le diagnostic et/ou le suivi de l'évolution de cancers comprenant l'analyse
des composants ARN de l'enzyme télomérase présents dans le plasma ou le sérum sanguin.



WO 01/90409 A1

METHODE POUR LE DIAGNOSTIC DE CANCERS

La présente invention concerne une méthode de diagnostic et/ou de suivi de l'évolution de divers types de cancers, par exemple après un traitement de chimiothérapie ou après une opération.

On sait que le diagnostic et le suivi de l'évolution des cancers sont effectués, à part l'observation et l'examen direct de tumeurs, par analyse de biopsies ou, dans le cas de cancers du sang, de la moelle osseuse, ce qui implique soit une intervention chirurgicale, soit un test invasif du type biopsie ou aspiration médullaire. Or, en plus du caractère désagréable, voire dangereux, pour les patients de telles méthodes, il a été constaté qu'elles pouvaient en outre être peu précises. En ce qui concerne le cancer du sein, de grands efforts sont faits pour développer le test de détection par mammographie. Bien que plusieurs études indiquent que la mammographie de masse peut être une stratégie utile pour réduire la mortalité due au cancer du sein, cette méthode comporte un certain nombre de désavantages. Parmi ceux-ci, il faut relever un fort taux de faux positifs, des faux négatifs fréquents et d'énormes dépenses pour l'Etat. Ainsi, lorsque les avantages et les désavantages sont comparés, il n'est pas surprenant que cette forme d'examen ait engendré des débats contradictoires animés depuis vingt ans.

Le but de cette invention consiste donc à fournir une méthode de diagnostic et/ou de suivi de l'évolution de divers types de cancers qui soit d'une part plus précise et plus fiable, et d'autre part qui soit plus facile à réaliser et n'impliquant pas de test invasif sur les patients.

La méthode de diagnostic et/ou suivi de l'évolution de cancers, objet de l'invention et visant à atteindre le but précité, comprend l'analyse du composant ribonucléique (ARN) de la ribonucléoprotéine télomérase dans le plasma ou le sérum sanguin.

La télomérase est une enzyme de nature ribonucléoprotéique qui synthétise des séquences répétées télomériques sur les terminaisons des chromosomes. Les télomères protègent les extrémités des chromosomes, et à chaque division cellulaire les télomères se raccourcissent. La télomérase utilise pour synthétiser ces télomères un ou deux segments de son composant ARN en tant que matrice.

L'activité de cette enzyme est devenue un indicateur établi pour le diagnostic et le pronostic de la plupart des tumeurs cancéreuses. L'expression de l'ARN de télomérase humaine (hTR) ou de l'enzyme de transcriptase inverse de l'ARN télomérase (hTERT) ou de la protéine associée (TEP 1) a été déterminée lors de la progression de plusieurs espèces de tumeurs, ce qui a permis d'établir une corrélation entre cette expression (la quantité d'ARN) et l'activité de la télomérase. La plupart des cancers et des lignées cellulaires immortalisées ont une forte activité télomérasique, reflet d'un mécanisme échappant aux régulations normales de vieillissement.

Or, et bien que les composants ARN de la télomérase soient des composants cellulaires, il a été constaté que, de manière surprenante, ces composants se retrouvaient également sous forme extra-cellulaire dans le plasma ou le sérum sanguin.

En effet, les présents inventeurs ont mis en évidence la présence de hTR, de hTERT et de TEP 1 dans le plasma ou le sérum sanguin de personnes souffrant notamment de cancers du sein, de l'ovaire, de l'estomac ou du colon, alors que ces produits sont absents dans le sang de personnes saines. Contrairement aux divers marqueurs d'acide désoxyribonucléique (ADN) déjà retrouvés dans le plasma ou le sérum, tels les mutations du gène ras ou p53 ou les nombreux microsatellites de la littérature, les composants ARN de la télomérase semblent pouvoir être employés pour toutes les sortes de tumeurs. Il s'agit d'un marqueur plasmatique ou séreux général pour le cancer. Ainsi pour la plupart des cancers, le taux de sérums porteurs de composants ARN de la

téломérase est plus important que celui obtenu par les autres marqueurs d'acides nucléiques employés jusqu'à maintenant.

Plus particulièrement, la méthode de diagnostic selon l'invention consiste à extraire l'ARN du plasma ou du sérum sanguin, à purifier et à amplifier cet ARN, puis à établir la présence et optionnellement la quantité de produit de réaction polymérase en chaîne reverse (RT PCR) représentant les composants hTR, hTERT ou du TEP 1 ceci de manière comparative entre le plasma ou le sérum d'une personne présumée malade et celui d'une personne en bonne santé.

Les produits d'amplification PCR des composants ARN transcrits en ADN grâce à la RT PCR sont mis en évidence et le cas échéant quantifiés par exemple en utilisant des méthodes à coloration sur gel. Cette analyse peut également se faire différemment sur d'autres gels ou sans gel par technique immunologique radioactive (RIA), par ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay ou par test microchips (gene array). Une amplification quantitative sur Taq Man (Perkin Elmer Biosystem) ou sur capillaires Light Cycler (Hofmann-La Roche) améliore la précision de la détection du hTR, du hTERT et du TEP 1.

De même, toute technique d'extraction, de purification et d'amplification de l'ARN dans le plasma ou le sérum peut être employée.

La présente invention sera maintenant illustrée de manière non limitative par l'Exemple qui suit, relatif au diagnostic des cancers du sein. Toutefois, il convient de constater que la portée de la présente invention n'est en aucune manière limitée au diagnostic de ce type de cancer. Des tests préliminaires ont en effet démontré également la présence de hTR, hTERT et TEP 1 dans le sérum de patients atteints notamment de cancers ovariens ou gastro-intestinaux. On peut en conclure d'ores et déjà que les hTR, hTERT et TEP 1 du plasma ou du sérum sont à même de constituer des marqueurs généraux de nombreux types de cancers.

Exemple

Diagnostic du cancer du sein par détection de hTR, de hTERT ou de TEP 1 dans le plasma ou le sérum sanguin.

5

Des échantillons de sang (2-3 ml) ont été prélevés préopérativement sur 18 patientes, porteuses de petites tumeurs cancéreuses du sein (T1 ou T2) encore différenciées (G1 ou G2) et en principe sans nodules cancéreux ni métastases. Les échantillons ont ensuite été centrifugés à 900 g pendant 15 minutes à

10 température ambiante et le sérum recueilli. Une seconde centrifugation à 900g pendant 15 min. a été effectuée pour se débarrasser de tous débris. Les échantillons de sérum ont été conservés à -70°C .

L'extraction de l'ARN a été effectuée en utilisant une technique usuelle et un kit commercial ("SV Total RNA Isolation System" de la société Promega WI,

15 USA), selon les instructions du fournisseur. Par rapport à ces instructions une modification a été apportée, consistant plus particulièrement en l'adjonction de 175 μl de tampon "SVRNA Lysis" directement à 100 μl de sérum ou de plasma frais (ou du moins n'ayant pas été dégelé plus d'une fois).

20 Détection de hTR, de hTERT, de TEP 1 et du rRNA (RNA de référence) au moyen de la PCR par transcriptase reverse (RT-PCR) :

Pour la détection de la présence et de la quantité de hTR et de rRNA, on a utilisé un kit Qiagen (One Step RT-PCR). 1mg d'ARN de sérum a été introduit

25 dans un mélange réactionnel de 25 μl RT-PCR contenant 400 μM de chaque dNTP, omniscryptTM reverse transcriptase, sensiscryptTM reverse transcriptase, hot-start TaqTM DNA polymerase et 0,15 μM d'amorce (primer) à savoir pour hTR (sens) GAAGGGCGTAGGCGCCGTGCTTTTGC et (antisens) GTTTGCTCTAGAATGAACGGTGAAGG. Le mélange a été incubé à 50°C

30 pendant au moins 30 min. pour la transcription reverse, puis à 95°C pendant 15 min. pour activer la "hot-start TaqTM DNA Polymerase", et 50 cycles à 94°C

pendant 30 sec., à 65°C pendant 1 min., à 72°C pendant 1 min., avec une extension finale à 72°C pendant 10 min.

Les mêmes conditions de RT-PCR ont été utilisées pour la détection de hTERT, avec toutefois une concentration d'amorce de 0,3 μ M, les amorces étant les suivantes : (sens) TGACACCTCACCTCACCCAC et (antisens) CACTGTCTTCCGCAAGTTCAC. Les mêmes conditions ont été utilisées pour la détection du TEP 1, les amorces étant les suivantes :

(sens) CACCTGCGACGATATTTCT et (antisens) CGAGGGTTGTACTTAGCCA (concentrations amorce 0,3 μ M).

En ce qui concerne le RNA de contrôle, le GAPDH et les mêmes conditions que pour hTR ont également été employées, avec une concentration d'amorce de 0,3 μ M; les séquences de l'amorce GAPDH étant les suivantes : (sens) CGGAGTCAACGGATTTGGTCGTAT et (antisens) AGCCTTCTCCATGGTGGTGAAGAC.

Toutes les séquences d'acides aminés mentionnées ci-dessus à titre d'exemples d'amorces sont connues en tant que telles, et peuvent par exemple être consultées sur le site Internet de la Genome Database (<http://www.gdb.org/>).

La PCR a donné un produit d'amplification de 111bp pour le hTR, de 95 bp pour le hTERT de 150 bp pour le TEP 1 et de 306 bp pour GAPDH du RNA de contrôle. Ce résultat a été analysé à 55°C sur gels "Elchrom Scientific S-50" (Elchrom Scientific, Cham, Suisse) , coloré au "SYBR-gold" (Molecular Probe, Eugene, OR, USA) pendant 45 min., décoloré 2 fois pendant 30 min. dans de l'eau déionisée à température ambiante et dans l'obscurité.

Résultats :

En mettant en œuvre la technique décrite ci-dessus, il en résulte qu'il est effectivement possible de détecter un produit PCR issu de l'ARN de référence dans tous les échantillons analysés. Quantitativement, tous les échantillons sont semblables, qu'ils proviennent du sérum d'une personne saine ou de celui d'une personne malade.

En ce qui concerne le produit d'amplification obtenu avec les amorces spécifiques de l'hTR, seul l'ARN provenant de patientes souffrant d'un cancer du

sein s'est révélé positif dans 25% des cas. Quant à l'autre composant ARN de l'enzyme, hTERT, il a été détecté dans 22% des sérums des patientes malades. En ce qui concerne le TEP 1, il est détectable dans 20% des cas. La combinaison des trois marqueurs a donc permis de détecter un cancer du sein dans 55% des cas; ce taux est clairement supérieur à celui que l'on peut obtenir avec les techniques actuellement connues, lequel dépasse rarement environ 30%. Par contre, les deux composants ARN de la télomérase sont absents des sérums de contrôle (personnes saines).

REVENDEICATIONS

1. Méthode pour le diagnostic et/ou le suivi de l'évolution de cancers comprenant l'analyse des composants ARN de l'enzyme télomérase présents dans le plasma ou le sérum sanguin.
5
2. Méthode selon la revendication 1, caractérisée par le fait qu'on extrait de l'ARN du plasma ou du sérum, qu'on purifie et qu'on amplifie cet ARN, puis qu'on analyse les composants ARN de la télomérase.
10
3. Méthode selon la revendication 2, dans laquelle les composants ARN de la télomérase analysés sont la matrice ARN hTR, la partie catalytique de l'enzyme hTERT ou l'ARN TEP 1 codant pour la protéine associée.
15
4. Méthode selon la revendication 2 ou la revendication 3, caractérisée par le fait que l'ARN est amplifié par la technique de transcriptase reverse en chaîne (RT-PCR).
20
5. Méthode selon la revendication 4, caractérisée par le fait que les composants analysés sont hTR, hTERT, TEP 1, et un RNA de référence correspondant à l'expression d'un gène codant.
25
6. Méthode selon la revendication 5, caractérisée par le fait que lesdits composants sont analysés par coloration sur gels, par technique immunologique radioactive (RIA), par test enzyme linked immounosorbent (ELISA) ou par test microchips (gene array), et éventuellement soumis à une quantification.
30
7. Méthode selon la revendication 6, caractérisée par le fait que la quantification des composants est effectuée sur "Taq Man" ou sur capillaires "Light Cycler".

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/IB 01/00852

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C12Q1/68 G01N33/574

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)

IPC 7 C12Q G01N

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)

BIOSIS, EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 99 41406 A (UNIV MARYLAND) 19 August 1999 (1999-08-19) page 13, line 20 -page 14, line 6; claims 1,6-9	1-7
Y	EP 0 926 245 A (ROCHE DIAGNOSTICS GMBH) 30 June 1999 (1999-06-30) claims 1-16	1-7
Y	WO 97 18322 A (DAHME MICHAEL W) 22 May 1997 (1997-05-22) claims 1,5,6,9-15	1-7
Y	WO 98 28442 A (GERON CORP) 2 July 1998 (1998-07-02) page 43, line 10 - line 27	1-7
	-/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in 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

4 September 2001

Date of mailing of the international search report

19/09/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Osborne, H

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Patent Application No.

PCT/IB 01/00852

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	YAJIMA T ET AL: "Establishment of quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction assays for human telomerase-associated genes " CLINICA CHIMICA ACTA, vol. 290, January 2000 (2000-01), pages 117-127, XP001016319 the whole document ----	1-7
Y	KOK J ET AL: "Real-time quantification of human telomerase reverse transcriptase mRNA in tumors and healthy tissues" CLINICAL CHEMISTRY, vol. 46, no. 3, March 2000 (2000-03), pages 313-18, XP002176598 see abstract ----	1-7
Y	EP 0 990 701 A (KYOWA HAKKO KOGYO KK) 5 April 2000 (2000-04-05) page 2, line 40 -page 3, line 1 ----	5
A	ANKER P: "Quantitative aspects of plasma/serum DNA in cancer patients" ANNALS OF THE NEW YORK ACADEMY OF SCIENCES, vol. 906, April 2000 (2000-04), pages 5-7, XP001016322 the whole document -----	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/IB 01/00852

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9941406 A	19-08-1999	AU 2682299 A EP 1071808 A	30-08-1999 31-01-2001
EP 0926245 A	30-06-1999	DE 19757300 A JP 11243995 A	24-06-1999 14-09-1999
WO 9718322 A	22-05-1997	AU 1867397 A CA 2237589 A CN 1202206 A DE 19681033 D EP 0861334 A JP 2000512126 T	05-06-1997 22-05-1997 16-12-1998 18-03-1999 02-09-1998 19-09-2000
WO 9828442 A	02-07-1998	US 5846723 A AU 733610 B AU 5614898 A EP 0951568 A JP 2001507229 T	08-12-1998 17-05-2001 17-07-1998 27-10-1999 05-06-2001
EP 0990701 A	05-04-2000	AU 2958599 A WO 9950407 A	18-10-1999 07-10-1999

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

De Internationale No
PCT/IB 01/00852

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 C12Q1/68 G01N33/574

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)
CIB 7 C12Q G01N

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 réalisable, termes de recherche utilisés)
BIOSIS, EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 99 41406 A (UNIV MARYLAND) 19 août 1999 (1999-08-19) page 13, ligne 20 - page 14, ligne 6; revendications 1,6-9 ---	1-7
Y	EP 0 926 245 A (ROCHE DIAGNOSTICS GMBH) 30 juin 1999 (1999-06-30) revendications 1-16 ---	1-7
Y	WO 97 18322 A (DAHM MICHAEL W) 22 mai 1997 (1997-05-22) revendications 1,5,6,9-15 ---	1-7
Y	WO 98 28442 A (GERON CORP) 2 juillet 1998 (1998-07-02) page 43, ligne 10 - ligne 27 ---	1-7
	-/--	

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ 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'appartenant 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

4 septembre 2001

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

19/09/2001

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Osborne, H

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Der a Internationale No

PCT/IB 01/00852

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	YAJIMA T ET AL: "Establishment of quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction assays for human telomerase-associated genes " CLINICA CHIMICA ACTA, vol. 290, janvier 2000 (2000-01), pages 117-127, XP001016319 le document en entier ----	1-7
Y	KOK J ET AL: "Real-time quantification of human telomerase reverse transcriptase mRNA in tumors and healthy tissues" CLINICAL CHEMISTRY, vol. 46, no. 3, mars 2000 (2000-03), pages 313-18, XP002176598 voir l'abrége ----	1-7
Y	EP 0 990 701 A (KYOWA HAKKO KOGYO KK) 5 avril 2000 (2000-04-05) page 2, ligne 40 -page 3, ligne 1 ----	5
A	ANKER P: "Quantitative aspects of plasma/serum DNA in cancer patients" ANNALS OF THE NEW YORK ACADEMY OF SCIENCES, vol. 906, avril 2000 (2000-04), pages 5-7, XP001016322 le document en entier -----	1

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

De Internationale No

PCT/IB 01/00852

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9941406 A	19-08-1999	AU 2682299 A EP 1071808 A	30-08-1999 31-01-2001
EP 0926245 A	30-06-1999	DE 19757300 A JP 11243995 A	24-06-1999 14-09-1999
WO 9718322 A	22-05-1997	AU 1867397 A CA 2237589 A CN 1202206 A DE 19681033 D EP 0861334 A JP 2000512126 T	05-06-1997 22-05-1997 16-12-1998 18-03-1999 02-09-1998 19-09-2000
WO 9828442 A	02-07-1998	US 5846723 A AU 733610 B AU 5614898 A EP 0951568 A JP 2001507229 T	08-12-1998 17-05-2001 17-07-1998 27-10-1999 05-06-2001
EP 0990701 A	05-04-2000	AU 2958599 A WO 9950407 A	18-10-1999 07-10-1999