【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9月17日(2020.9.17)

【公表番号】特表2019-525175(P2019-525175A)
【公表日】令和1年9月5日(2019.9.5)
【年通号数】公開・登録公報2019-036
【出願番号】特願2019-504123(P2019-504123)
【国際特許分類】
Ｇ０１Ｎ　33/53　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/115　(2010.01)
Ｃ１２Ｑ　1/04　(2006.01)
Ｃ１２Ｑ　1/6837　(2018.01)
【ＦＩ】
Ｇ０１Ｎ　33/53　Ｄ
Ｃ１２Ｎ　15/115　Ｚ
Ｃ１２Ｑ　1/04
Ｃ１２Ｑ　1/6837　Ｚ

【手続補正書】
【提出日】令和2年7月29日(2020.7.29)
【手続補正１】
【補正対象書類名】手続補正書
【補正対象項目名】手続補正３
【補正方法】変更
【補正の内容】
【手続補正３】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０２１３
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０２１３】
本開示の広範な一般的範囲から逸脱することなく、上記の実施形態に対して多数の変形及び／または修正を行うことができることが、当業者に理解されよう。したがって、本実施形態は、すべての点で例示的であり、限定的でないと見なされるべきである。
参考文献
１．Ｊａｗａｄ，Ｉ．，Ｌｕｋｓｉｃ，Ｉ．＆Ｒａｆｎｓｓｏｎ，Ｓ．Ｂ．Ａｓｓｅｓｓｉｎｇ ａｖａｉｌａｂｌｅ ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ ｏｎ ｔｈｅ ｂｕｒｄｅｎ ｏｆ ｓｅｐｓｉｓ：ｇｌｏｂａｌ ｅｓｔｉｍａｔｅｓ ｏｆ ｉｎｃｉｄｅｎｃｅ，ｐｒｅｖａｌｅｎｃｅ ａｎｄ ｍｏｒｔａｌｉｔｙ．Ｊ．Ｇｌｏｂ．Ｈｅａｌｔｈ ２，０１０４０４（２０１２）．
２．Ｍａｎｃｉｎｉ，Ｎ．ｅｔ ａｌ．Ｔｈｅ ｅｒａ ｏｆ ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ａｎｄ ｏｔｈｅｒ ｎｏｎ－ｃｕｌｔｕｒｅ－ｂａｓｅｄ ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ ｄｉａｇｎｏｓｉｓ ｏｆ ｓｅｐｓｉｓ．Ｃｌｉｎ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．Ｒｅｖ．２３，２３５－５１（２０１０）．
３．Ｗａｇｎｅｒ，Ｔ．Ａ．ｅｔａｌ．Ｅｍｅｒｇｉｎｇ ｂｉｏｍａｒｋｅｒｓ ｆｏｒ ｔｈｅ ｄｉａｇｎｏｓｉｓ ｏｆ ｓｅｖｅｒｅ ｎｅｏｎａｔａｌ ｉｎｆｅｃｔｉｏｎｓ ａｐｐｌｉｃａｂｌｅ ｔｏ ｌｏｗ ｒｅｓｏｕｒｃｅ ｓｅｔｔｉｎｇｓ．Ｊ．Ｇｌｏｂ．Ｈｅａｌｔｈ １，２１０－２３（２０１１）．
４．Ｍａｓｕｄａ，Ｍ．＆Ｒｏｏｓ，Ｄ．Ａｓｓｏｃｉａｔｉｏｎ ｏｆ ａｌｌ

three types of Fc gamma R(CD64, CD32, and CD16)with a gamma-chain homodimer in cultured human monocytes. J. Immunol. 151, 7188-95(1993).
5. Hoffmann, J. J. M. L. Neutrophil CD64:a diagnostic marker for infection and sepsis. Clin. Chem. Lab. Med. 47, 903-16(2009).
6. van Vugt, M. J. et al. The FcgammaRIa(CD64)ligand binding chain triggers major histocompatibility complex class II antigen presentation independently of its associated FcR gamma-chain. Blood 94, 808-17(1999).
7. Davis, B. H., Olsen, S. H., Ahmad, E. & Bigelow, N. C. Neutrophil CD64 is an improved indicator of infection or sepsis in emergency department patients. Arch. Pathol. Lab. Med. 130, 654-61(2006).
8. Cid, J., Aguinaco, R., Sanchez, R., Garcia-Pardo, G. & Llorente, A. Neutrophil CD64 expression as marker of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis. J. Infect. 60, 313-9(2010).
9. Li, S. etal. Neutrophil CD64 expression as a biomarker in the early diagnosis of bacterial infection:a meta-analysis. Int. J. Infect. Dis. 17, e12-23(2013).
10. Du, J. et al. Diagnostic utility of neutrophil CD64 as a marker for early-onset sepsis in preterm neonates. PLoS One9, e102647(2014).
11. Aikaterini, Dimoula;OlivierPradier;Zaina, Kassengera;Dyanne, Dalcomune;Turkan, Hulya;Vincent, J.-L. Serial Determinations of Neutrophil CD64 Expression for the Diagnosis and Monitoring of Sepsis in Critically Ill Patients. CID(2014). cid. oxfordjournals. org/content/58/6/820. full.
12. Rundstrom, G et al. Lateral Flow Immunoassay Using Europium(III)Chelate Microparticles and Time-Resolved Fluorescence for Eosinophils and Neutrophils in Whole Blood. Clinical Chemistry 53, 342-348(2007).
13. Singer, M. et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock(Sepsis-3). JAMA 315, 801(2016).
14. Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons Inc,

Ｃｈａｐｔｅｒｓ １０ ａｎｄ １６，１９９４．
１５．Ａｕｓｕｂｅｌ ｅｔ ａｌ．，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｓｕｐｐｌｅｍｅｎｔ ４７，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９９９．
１６．Ｒｏｓｅ ｅｔ ａｌ．，Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｃｏｕｒｓｅ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｂａｔｅ，Ｃ．Ａ．Ｗ．，ａｎｄ Ｋｗｉａｔｋｏｗｓｋｉ，Ｄ．（１９９４）Ｉｎｆｅｃｔｉｏｎ ａｎｄ Ｉｍｍｕｎｉｔｙ ６２：５２６１－５２６６．
１７．Ｂａｔｅ，Ｃ．Ａ．Ｗ．，Ｔａｖｅｒｎｅ，Ｊ．，Ｋｗｉａｔｋｏｗｓｋｉ，Ｄ．，ａｎｄ Ｐｌａｙｆａｉｒ，Ｊ．Ｈ．Ｌ．（１９９３）Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ７９：１３８－１４５．
１８．Ｂａｔｅ，Ｃ．Ａ．Ｗ．，Ｔａｖｅｒｎｅ，Ｊ．，Ｂｏｏｔｓｍａ，Ｈ．Ｊ．，Ｍａｓｏｎ，Ｒ．Ｃ．Ｓ．Ｈ．，Ｓｋａｌｋｏ，Ｎ．，Ｇｒｅｇｏｒｉａｄｉｓ，Ｇ．，ａｎｄ Ｐｌａｙｆａｉｒ，Ｊ．Ｈ．Ｌ．（１９９２ｂ）Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ７６：３５－４１．
１８．Ｈａｓｓａｎ ｅｔ．ａｌ．Ａ ｍｉｃｒｏｆｌｕｉｄｉｃ ｂｉｏｃｈｉｐ ｆｏｒ ｃｏｍｐｌｅｔｅ ｂｌｏｏｄ ｃｅｌｌ ｃｏｕｎｔｓ ａｔ ｔｈｅ ｐｏｉｎｔ ｏｆ ｃａｒｅ．Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ３，２０１－２１３（２０１５）．１９．
１９．ｖａｎ ｄｅｒ Ｐｏｅｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１８６（５）：２６９９－７０４，２０１１．

本発明は次の実施態様を含む。
［１］
敗血症または重症の感染症の診断を補助するのに適した、検査試料の好中球活性化を評価するためのイムノアッセイであって、
（ｉ）場合により、好中球を透過処理するまたは可溶化する薬剤と前記試料を接触させるステップ、
（ｉｉ）（ｉ）と同時にまたは連続して、前記試料中のＣＤ６４に特異的に結合し、ＣＤ６４－結合剤複合体ａを形成する結合剤と前記試料を接触させるステップ、
（ｉｉｉ）（ｉ）及び／または（ｉｉ）と同時にまたは連続して、前記試料中の好中球数マーカー（ＮＮＭ）に特異的に結合し、好中球マーカー－結合剤複合体ｂを形成する第２の結合剤と前記試料を接触させるステップ、
（ｉｖ）複合体ａ及び複合体ｂの量を用いて、前記試料中のＣＤ４６の相対レベル及びＮＮＭの相対レベルを決定するステップ、ならびに
（ｖ）コントロール（例えば、健常）または超正常レベルの好中球ＣＤ６４／活性化を含むとして、前記試料を直接的または間接的にスコア化するステップ
を含む、前記アッセイ。
［２］
患者／対象における敗血症または重症の感染症の診断を補助するためのイムノアッセイであって、
（ｉ）場合により、前記患者由来の好中球を含む検査試料を、好中球を透過処理するまたは可溶化する薬剤と接触させるステップ、
（ｉｉ）（ｉ）と同時にまたは連続して、前記試料中のＣＤ６４に特異的に結合し、ＣＤ６４－結合剤複合体ａを形成する結合剤と前記試料を接触させるステップ、
（ｉｉｉ）（ｉ）及び／または（ｉｉ）と同時にまたは連続して、前記試料中の好中球数マーカー（ＮＮＭ）に特異的に結合し、好中球マーカー－結合剤複合体ｂを形成する第２の結合剤と前記試料を接触させるステップ、
（ｉｖ）複合体ａ及び複合体ｂの量を用いて、前記試料中のＣＤ４６の相対レベル及びＮＮＭの相対レベルを決定するステップ、ならびに

（ｖ）前記試料を直接的または間接的にスコア化し、それにより、敗血症もしくは重症の感染症について示されていないとして、または敗血症または重症の感染症について示されるとして、前記患者をスコア化するステップ
を含む、前記アッセイ。
［３］
ステップ（ｉ）が、ＣＤ６４の全体の（すなわち、内部及び外部の）量が決定されるように、好中球を透過処理するまたは可溶化する薬剤と前記試料を接触させることを含む、上記［１］または［２］に記載のアッセイ。
［４］
前記試料が全血液細胞試料である、上記［１］または［２］または［３］に記載のアッセイ。
［５］
前記試料が、単球またはマクロファージなどの１種または複数の白血球が除かれるか、除かれている、上記［１］または［２］に記載のアッセイ。
［６］
ステップ（ｖ）が、前記検査試料中のＣＤ６４及び／またはＮＮＭのレベルを、コントロールの健常試料からあらかじめ決定されたそれぞれのＣＤ６４及び／またはＮＮＭレベルと比較することを含む、上記［１］から［５］のいずれかに記載のアッセイ。
［７］
ステップ（ｖ）が、前記検査試料からＣＤ６４とＮＮＭの比（ＣＤ６４：ＮＮＭ）を決定することを含む、上記［１］から［６］のいずれかに記載のアッセイ。
［８］
ステップ（ｖ）が、ＣＤ６４レベルが健常コントロール集団のあらかじめ決定された平均＋２またはそれ以上の標準偏差を超える場合、好中球活性化または敗血症もしくは重症の感染症をスコア化することを含む、上記［１］から［７］のいずれかに記載のアッセイ。
［９］
ステップ（ｖ）が、ＮＮＭレベルが健常コントロール集団のあらかじめ決定された平均ＮＮＭレベル＋３またはそれ以上の標準偏差を超える場合、好中球活性化または敗血症をスコア化することを含む、上記［１］から［７］のいずれかに記載のアッセイ。
［１０］
ステップ（ｖ）が、選択されたコントロール集団のＣＤ６４対ＮＮＭに対する最良適合線のあらかじめ決定された倍数と比較して、前記検査試料由来のＮＮＭレベルに対してＣＤ６４が上昇している場合、好中球活性化または敗血症もしくは重症の感染症をスコア化することを含む、上記［１］から［８］のいずれかに記載のアッセイ。
［１１］
患者／対象における敗血症または重症の感染症の診断または予後を補助するためのイムノアッセイであって、
（ｉ）場合により、前記患者由来の好中球を含む検査試料を、好中球を透過処理するまたは可溶化する薬剤と接触させるステップ、
（ｉｉ）（ｉ）と同時にまたは連続して、前記試料中のＣＤ６４に特異的に結合し、ＣＤ６４－結合剤複合体ａを形成する結合剤と前記試料を接触させるステップ、
（ｉｉｉ）（ｉ）及び／または（ｉｉ）と同時にまたは連続して、前記試料中の好中球数マーカー（ＮＮＭ）に特異的に結合し、好中球マーカー－結合剤複合体ｂを形成する第２の結合剤と前記試料を接触させるステップ、
（ｉｖ）複合体ａ及び複合体ｂの量を用いて、前記試料中のＣＤ４６及びＮＮＭの（相対）レベルを決定するステップ、ならびに
（ｖ）前記試料を直接的または間接的にスコア化し、それにより、敗血症もしくは重症の感染症について示されていないとして、または敗血症または重症の感染症について示されるとして患者をスコア化するステップであって、（ｉ）コントロール集団に対して平均

＋２またはそれ以上の標準偏差を超えるＣＤ６４の上昇、（ｉｉ）コントロール集団に対して平均＋３またはそれ以上の標準偏差を超えるＮＮＭの上昇、及び（ｉｉｉ）ＮＮＭに対するＣＤ６４の上昇の１つまたは２つまたは３つを含むとして、前記検査試料をスコア化することを含む、ステップ
を含む、前記アッセイ。
［１２］
ステップ（ｉ）が、ＣＤ６４の全体の（すなわち、内部及び外部の）量が決定されるように、好中球を透過処理するまたは可溶化する薬剤と前記試料を接触させることを含む、上記［１１］に記載のアッセイ。
［１３］
前記選択されたコントロール集団が新生児対象の集団である、上記［１１］または［１２］に記載のアッセイ。
［１４］
ＣＤ６４／ＮＮＭ比が、前記検査試料中の前記ＮＮＭの量の関数としてあらかじめ決定されたカットオフレベル（好中球数に対して内部補正される）を超える場合、超正常量の好中球ＣＤ６４／活性化を有するとして前記対象を診断することを含む、上記［１］に記載のアッセイ。
［１５］
前記試料中のＣＤ６４対ＮＮＭの比が、前記試料中のＮＮＭのレベルを使用して決定された試料中の好中球の数に対して内部補正される、上記［７］に記載のアッセイ。
［１６］
前記ＮＮＭが、好中球エラスターゼ（ＮＥ）、ラクトフェリン、ミエロペルオキシダーゼ及びヒト好中球リポカリンから選択される、上記［１］から［１５］のいずれかに記載のアッセイ。
［１７］
ポイントオブケアアッセイである、上記［１］から［１６］のいずれかに記載のアッセイ。
［１８］
酵素結合免疫吸着（ＥＬＩＳＡ）型、フローサイトメトリー、ビーズアレイ、ラテラルフロー、カートリッジ、マイクロ流体またはイムノクロマトグラフィーベースの方法などである、上記［１］から［１７］のいずれかに記載のアッセイ。
［１９］
前記結合剤が、抗体またはそれらの抗原結合性断片もしくは誘導体、抗原結合コンストラクト、例えば、アフィマー、アプタマーまたはリガンドまたはそれらの結合部分である、上記［１］から［１８］のいずれかに記載のアッセイ。
［２０］
前記結合剤が支持体上に固定化される、上記［１］から［１９］のいずれかに記載のアッセイ。
［２１］
ステップ（ｉｉ）において、イムノアッセイデバイスの試料部に前記試料を加えることによって、前記試料をステップ（ｉｉ）及び（ｉｉｉ）の前記結合剤と接触させ、ここで、前記デバイスの試料部が、前記デバイスの間隔をおいて配置された捕獲部に作動可能に連結され、これによって、前記試料の成分が前記デバイスの試料部から前記デバイスの捕獲部へ流れ、及び前記デバイスの捕獲部を通って流れ、ここで、１つの捕獲部が、前記試料中のＣＤ６４に特異的に結合する前記結合剤を含み、その結果、前記ＣＤ６４が前記結合剤によって捕獲されて、前記捕獲部で結合剤－ＣＤ６４複合体が形成され、第２の捕獲部が、前記試料中のＮＮＭに特異的に結合する前記結合剤を含み、その結果、前記ＮＮＭが前記結合剤によって捕獲されて、前記捕獲部で結合剤－好中球数マーカー複合体が形成される、上記［１］から［２０］のいずれかに記載のアッセイ。
［２２］

ＣＤ６４複合体の量及びＮＮＭ結合剤複合体の量が、それぞれＣＤ６４またはＮＮＭに結合し、視覚的にまたは機器によって定量化することができる検出可能なシグナルを直接的または間接的に発生する、抗体もしくは抗原結合性断片、リガンド、アプタマーまたはアフィマーなどの結合剤を使用して検出される、上記［１］から［２１］のいずれかに記載のアッセイ。

［２３］

ＣＤ６４及びＮＮＭの観察される量／レベルに基づくデータを入力する、及び場合により、先行請求項で定義されたものなどの本明細書に開示する診断アルゴリズムに従って、コントロール対象／集団由来のデータを含むデータベースに対して前記データを管理する／処理するために、ソフトウェアを含む前記機器が使用される、上記［２２］に記載のアッセイ。

［２４］

前記結合剤が、検出可能なシグナルを発生する、検出可能なマーカーまたは検出可能なマーカーを含むマイクロ粒子にコンジュゲートしている、上記［１］から［２３］のいずれかに記載のアッセイ。

［２５］

前記捕獲部が検査ラインである、上記［２１］～［２４］のいずれかに記載のアッセイ。

［２６］

前記敗血症が新生児敗血症である、上記［１］～［２５］のいずれかに記載のアッセイ。

［２７］

（ｉ）試料部に作動可能に連結されたマイクロチャネルまたは多孔性膜、２つ以上の捕獲（検査）部、ならびに場合により、以下；コンジュゲート（検出マーカー）部、吸着部、適切なコントロール部及び細胞溶解、希釈、可溶化剤部の１つまたは複数を含むイムノアッセイ（例えば、ＰＯＣ）デバイス、ならびに（ｉｉ）前記試料中のＣＤ６４に特異的に結合し、ＣＤ６４－結合剤複合体を形成する結合剤、及び前記試料中のＮＮＭに特異的に結合し、ＮＮＭ－結合剤複合体を形成する第２の結合剤（ここで、前記結合剤は別々の捕獲部に固定化される、及び／またはコンジュゲート部内に含まれる）、ならびに（ｉｉｉ）場合により、敗血症または重症の感染症の診断を補助するのに適した好中球活性化について検査試料を評価するためにキットまたは構成物を使用するための指示書を含む、診断のキットまたは構成物。

［２８］

前記試料部が好中球溶解薬剤／溶液を含むか使用時に含む、上記［２７］に記載のキットまたは診断。

［２９］

前記結合剤が、抗原結合コンストラクト、例えば、アフィマー、アプタマー、リガンド、あるいは抗体またはそれらの抗原結合性断片もしくは誘導体である、上記［２７］または［２８］に記載のキットまたは診断。

［３０］

上記［１］～［２６］のいずれかに記載のアッセイで使用するための、上記［２７］～［２９］に記載のキットまたは診断。

［３１］

上記［２７］または［２８］に記載の診断の構成物を含む、ポイントオブケアデバイス。

［３２］

試料中の好中球（白血球）の表面上の細胞表面ＣＤ６４のレベルを測定することによって、試料の好中球（白血球）活性化を評価するアッセイの感度及び／または特異性を増強するためのアッセイステップであって、ＣＤ６４結合剤を使用して前記試料中の細胞内及び表面のＣＤ６４（全ＣＤ６４）の検出を可能にするために、好中球（白血球）を透過処

理する／可溶化することによって、前記試料中のＣＤ６４の全レベルを測定することを含む、前記アッセイステップ。

［３３］

試料中の好中球（白血球）の表面上の細胞表面ＣＤ６４のレベルを測定することによって、試料の好中球（白血球）活性化を評価するアッセイの感度及び／または特異性を増強するためのアッセイステップであって、前記試料中の細胞内及び表面のＣＤ６４及びＮＮＭの検出を可能にするために、好中球（白血球）を透過処理する／可溶化することによって、前記試料中のＣＤ６４及びＮＮＭの全レベルを測定することを含む、アッセイステップ。

［３４］

前記アッセイステップが、フローサイトメトリー定量化技法、マイクロ流体、カートリッジ、ＩＦＡ、ＥＬＩＳＡ型及びラテラルフローデバイスの１つまたは複数を、場合により、好中球活性化を評価するためのリーダー機器及び／または関連するソフトウェアとともに用いるアッセイのものである、上記［３２］または［３３］に記載のアッセイ。