

【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3部門第2区分

【発行日】平成29年6月15日(2017.6.15)

【公開番号】特開2017-61448(P2017-61448A)

【公開日】平成29年3月30日(2017.3.30)

【年通号数】公開・登録公報2017-013

【出願番号】特願2016-177434(P2016-177434)

【国際特許分類】

C 0 7 K 14/78 (2006.01)

G 0 1 N 33/574 (2006.01)

G 0 1 N 33/15 (2006.01)

C 0 7 K 14/705 (2006.01)

C 1 2 N 5/09 (2010.01)

C 1 2 N 1/00 (2006.01)

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

【 F I 】

C 0 7 K 14/78 Z N A

G 0 1 N 33/574

G 0 1 N 33/15 Z

C 0 7 K 14/705

C 1 2 N 5/09

C 1 2 N 1/00 B

C 1 2 Q 1/02

C 1 2 Q 1/68 A

【手続補正書】

【提出日】平成29年5月1日(2017.5.1)

【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】

成分：サイトケラチン1型、サイトケラチン2型、ヒストン、コラーゲンa1、コラーゲンa2、コラーゲンa3、ヘモグロビン、アクチン、グロビン、ミオシン、フィブロネクチン、ダームシジン、およびビメンチンを含む、細胞外基質[ECM]組成物。

【請求項2】

請求項1に記載の細胞外基質[ECM]組成物を得るための方法であって、該方法が、以下の行為：

a. 腫瘍組織を生化学的アッセイに供して、ECMの成分を同定すること；および

b. ECMの成分：サイトケラチン1型、サイトケラチン2型、ヒストン、コラーゲンa1、コラーゲンa2、コラーゲンa3、ヘモグロビン、アクチン、グロビン、ミオシン、フィブロネクチン、ダームシジン、およびビメンチンを組み合わせて、ECM組成物を得ること；

を含む、前記方法。

【請求項3】

腫瘍組織を培養するための腫瘍微小環境プラットフォームであって、該微小環境が、請

求項 1 に記載の ECM 組成物、培養培地を、任意に血清、血漿または P B M C および薬物と共に含む、前記腫瘍微小環境プラットフォーム。

【請求項 4】

腫瘍組織を培養するための、腫瘍微小環境プラットフォームを得るための方法であって、該方法が、プラットフォームを請求項 1 に記載の ECM 組成物でコーティングすること、および培養培地を任意に血清、血漿または P B M C および薬物と共にプラットフォームに加えて、腫瘍微小環境プラットフォームを得ること、の行為を含む、前記方法。

【請求項 5】

腫瘍組織を器官培養する方法であって、腫瘍組織を請求項 3 に記載の腫瘍微小環境プラットフォーム上で培養して器官培養物を得る行為を含む、前記方法。

【請求項 6】

腫瘍対象の、1 または 2 以上の薬物に対する反応を予測する方法であって、該方法が、以下の行為：

- a . 対象の腫瘍組織を請求項 3 に記載の腫瘍微小環境プラットフォーム上で培養して、培養された腫瘍組織を得ること；
 - b . 培養された腫瘍組織を 1 または 2 以上の薬物で処理し、アッセイを行うこと；
 - c . アッセイの読み取りを数値メトリックに変換して感受性指数を取得し、これにより、対象の 1 または 2 以上の薬物に対する反応を予測すること；および
 - d . 任意に、感受性指数と、前記 1 または 2 以上の薬物に対する対象の臨床反応との相関をとること、
- を含む、前記方法。

【請求項 7】

腫瘍対象の、1 または 2 以上の薬物に対する反応を予測する方法であって、該方法が、以下の行為：

- a . 対象の腫瘍組織を請求項 3 に記載の腫瘍微小環境プラットフォーム上で培養して、培養された腫瘍組織を得ること；
 - b . 培養された腫瘍組織を 1 または 2 以上の薬物で処理すること；
 - c . 薬物に対する腫瘍の反応を複数のアッセイにより評価して、複数のアッセイの各々についての評価スコアを得ること；
 - d . 複数のアッセイの各々に対して重みスコアを割り当てること；
 - e . 複数のアッセイの各々の評価スコアに、複数のアッセイの対応するアッセイの重みスコアを乗じて、複数のアッセイの各々についての独立アッセイスコアを得ること；
 - f . 複数のアッセイの各々の独立アッセイスコアを組み合わせることで感受性指数を取得し、これにより、対象の 1 または 2 以上の薬物に対する反応を予測すること；および
 - g . 任意に、感受性指数と、対象の 1 または 2 以上の薬物に対する臨床反応との相関をとること、
- を含む、前記方法。

【請求項 8】

抗癌剤をスクリーニングまたは開発する方法であって、該方法が、以下の行為：

- a . 対象の腫瘍組織を請求項 3 に記載の腫瘍微小環境プラットフォーム上で培養して、培養された腫瘍組織を得ること；および
 - b . 培養された腫瘍組織を剤で処理し、剤に対する腫瘍の反応をアッセイにより評価して、前記剤の腫瘍細胞に対する効果を決定すること；
- を含む、前記方法。

【請求項 9】

腫瘍細胞を特定のマーカーについてスクリーニングするための方法であって、該方法が、以下の行為：

- a . 対象の腫瘍組織を請求項 3 に記載の腫瘍微小環境プラットフォーム上で培養して、培養された腫瘍組織を得ること；
- b . 培養された腫瘍組織を 1 または 2 以上の薬物で処理し、薬物に対する腫瘍の反応をア

ッセイにより評価すること；および

c. マイクロアレイおよび核酸解析を行って、バイオマーカーについてスクリーニングすること；

を含む、前記方法。

【請求項 10】

腫瘍組織が、中枢神経系、骨髄、血液、脾臓、胸腺、心臓、乳腺、肝臓、膵臓、甲状腺、骨格筋、腎臓、肺、腸、胃、食道、卵巣、膀胱、精巣、子宮、間質組織および結合組織、またはそれらの任意の組み合わせを含む群から選択されるソースから得られ；ならびに腫瘍または腫瘍組織が、外科的にもしくは生検により、または異種移植片としてまたはそれらの任意の組み合わせで得られ；および前記腫瘍または腫瘍組織が、約 100 μm から約 3000 μm の切片の小さな断片に分割されている、請求項 3 に記載の腫瘍微小環境プラットフォーム。

【請求項 11】

腫瘍組織が、中枢神経系、骨髄、血液、脾臓、胸腺、心臓、乳腺、肝臓、膵臓、甲状腺、骨格筋、腎臓、肺、腸、胃、食道、卵巣、膀胱、精巣、子宮、間質組織および結合組織、またはそれらの任意の組み合わせを含む群から選択されるソースから得られ；ならびに腫瘍または腫瘍組織が、外科的にもしくは生検により、または異種移植片としてまたはそれらの任意の組み合わせで得られ；および前記腫瘍または腫瘍組織が、約 100 μm から約 3000 μm の切片の小さな断片に分割されている、請求項 2 および 4 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

腫瘍組織の培養が、約 30 から約 40 の範囲の温度、好ましくは約 37 で；約 2 ~ 10 日の間、好ましくは約 3 ~ 7 日；および約 5 % の CO_2 で実施され；および腫瘍微小環境プラットフォームが、プレート、ベース、フラスコ、ディッシュ、ペトリプレートおよびペトリ皿を含む群から選択される、請求項 3 に記載の腫瘍微小環境プラットフォーム。

【請求項 13】

腫瘍組織の培養が、約 30 から約 40 の範囲の温度、好ましくは約 37 で；約 2 ~ 10 日の間、好ましくは約 3 ~ 7 日；および約 5 % の CO_2 で実施され；および腫瘍微小環境プラットフォームが、プレート、ベース、フラスコ、ディッシュ、ペトリプレートおよびペトリ皿を含む群から選択される、請求項 4 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

腫瘍細胞のシグナリングネットワーク、無傷の組織の微小環境、細胞構造、および腫瘍-間質相互作用の完全性を維持するためのものである、請求項 3 に記載の腫瘍微小環境プラットフォーム。

【請求項 15】

腫瘍細胞のシグナリングネットワーク、無傷の組織の微小環境、細胞構造、および腫瘍-間質相互作用の完全性を維持するためのものである、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 16】

培養培地が、約 60 % ~ 約 100 % の範囲の濃度、好ましくは約 80 % で 2 ml のダルベッコ改変イーグル培地 [DMEM] または RPMI 1640 [Roswell Park Memorial Institute Medium]；約 0.1 % ~ 約 40 % の範囲の濃度、好ましくは約 2 % (重量/重量) の熱不活性化ウシ胎児血清 (FBS)；約 1 % ~ 約 2 % の範囲の濃度、好ましくは約 1 % (重量/重量) のペニシリン-ストレプトマイシン；約 10 mM ~ 約 500 mM の範囲の濃度、好ましくは約 100 mM のピルビン酸ナトリウム；約 1 mM ~ 約 10 mM の範囲の濃度、好ましくは約 5 mM の L-グルタミンである非必須アミノ酸；および約 1 mM ~ 約 20 mM の範囲の濃度、好ましくは約 10 mM の HEPES (4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジニエタンサルホン酸) またはそれらの任意の組み合わせを含む群から選択され；ならびに培養培地における血清が、約 0.1 % ~ 約 10 % の範囲の濃度、

好ましくは約 2 % である、請求項 3 に記載の腫瘍微小環境プラットフォーム。

【請求項 17】

培養培地が、約 60 % ~ 約 100 % の範囲の濃度、好ましくは約 80 % で 2 ml のダルベッコ改変イーグル培地 [DMEM] または RPMI 1640 [Roswell Park Memorial Institute Medium] ; 約 0.1 % ~ 約 40 % の範囲の濃度、好ましくは約 2 % (重量 / 重量) の熱不活性化ウシ胎児血清 (FBS) ; 約 1 % ~ 約 2 % の範囲の濃度、好ましくは約 1 % (重量 / 重量) のペニシリン - ストレプトマイシン ; 約 10 mM ~ 約 500 mM の範囲の濃度、好ましくは約 100 mM のピルビン酸ナトリウム ; 約 1 mM ~ 約 10 mM の範囲の濃度、好ましくは約 5 mM の L - グルタミンである非必須アミノ酸 ; および約 1 mM ~ 約 20 mM の範囲の濃度、好ましくは約 10 mM の HEPES (4 - (2 - ヒドロキシエチル) - 1 - ピペラジニエタンスルホン酸) またはそれらの任意の組み合わせを含む群から選択され ; ならびに培養培地における血清が、約 0.1 % ~ 約 10 % の範囲の濃度、好ましくは約 2 % である、請求項 4 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

腫瘍が、胃癌、結腸癌、頭頸部癌、脳の癌、口腔癌、乳癌、胃癌、胃腸の癌、食道癌、大腸癌、膵臓癌、肺癌、肝臓癌、腎臓癌、卵巣癌、子宮癌、骨の癌、前立腺癌、精巣癌、神経膠芽腫、星状細胞腫、黒色腫、甲状腺癌、膀胱癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、ならびに AML [急性骨髄性白血病]、CML [慢性骨髄性白血病]、ALL [急性リンパ性白血病]、TALL [T細胞急性リンパ芽球性白血病]、NHL [非ホジキンリンパ腫]、DBCL [びまん性B細胞性リンパ腫]、CLL [慢性リンパ性白血病]、および多発性骨髄腫を含む血液の癌、またはそれらの任意の組み合わせを含む群から選択される、請求項 2 および 4 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 19】

アッセイが、細胞生存率、細胞死、細胞増殖、腫瘍の形態、腫瘍間質含量、細胞代謝、老化またはそれらの任意の組み合わせについてのアッセイを含む群から選択され ; および細胞生存率および細胞代謝についてのアッセイが、WSTアッセイ、ATP取り込みアッセイ、およびグルコース取り込みアッセイを含む群から選択され ; 細胞死についてのアッセイが、LDHアッセイ、活性化カスパーゼ3アッセイ、活性化カスパーゼ8アッセイ、および酸化窒素合成酵素アッセイ、TUNELを含む群から選択され ; 細胞増殖についてのアッセイが、Ki67アッセイ、ATP / ADP比アッセイおよびグルコース取り込みアッセイを含む群から選択され ; ならびに腫瘍の形態および腫瘍間質についてのアッセイが、H & E [ヘマトキシリン & エオシン染色] であるか ; またはそれらの任意の組み合わせである、請求項 6 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 20】

方法が、対象のための処置を、化学療法、標的療法、外科手術、放射線またはそれらの任意の組み合わせを含む群から決定するために使用され ; および感受性指数が 60 より大、20 と 60 の間、および 20 より小の場合に、感受性指数がそれぞれ、完全臨床反応、部分的臨床反応、および臨床反応なしと相関する、請求項 6 または 7 に記載の方法。

【請求項 21】

生化学的アッセイが、ELISA、プロッティング技術、LCMS、ビーズベースアッセイ、免疫除去、クロマトグラフィーアッセイまたはそれらの任意の組み合わせを含む群から選択される定量的アッセイまたは定性的アッセイである、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 22】

複数アッセイの各々に対する重みスコアの割り当てが、用いる薬物の性質に基づく、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 23】

DNA、RNA またはマイクロRNA のマイクロアレイおよび核酸分析を実施して、薬物処置の前後の経路の調節を検出し ; および

マイクロアレイおよび核酸分析を、リアルタイムPCR (RT-PCR)、免疫組織化学 (IHC) 分析、およびホスホプロテオミクスプロファイリングを含む群から選択されるアッセイを用いて確認する、
請求項 9 に記載の方法。