

【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】平成30年4月12日(2018.4.12)

【公表番号】特表2016-538545(P2016-538545A)

【公表日】平成28年12月8日(2016.12.8)

【年通号数】公開・登録公報2016-067

【出願番号】特願2016-530873(P2016-530873)

【国際特許分類】

G 01 N 33/53 (2006.01)

G 01 N 33/574 (2006.01)

C 12 Q 1/68 (2018.01)

【F I】

G 01 N 33/53 D

G 01 N 33/574 D

C 12 Q 1/68 A

【手続補正書】

【提出日】平成30年2月28日(2018.2.28)

【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】

肝臓組織試料の細胞表現型を決定する方法であって：

(1)該肝臓組織試料からマーカータンパク質を抽出すること；

(2)該肝臓組織試料における複数のマーカータンパク質の発現レベルを決定すること(ここで、該複数のマーカータンパク質は、チューブリンベータ3、及び、表1A、表2～11のうちのいずれか1つによって表されるバイオマーカーパネルから選択される少なくとも1つの他のマーカータンパク質を含む)；任意に、表1A、表2～11のうちのいずれか1つによって表されるバイオマーカーパネルから選択される異なる複数のマーカータンパク質を用いて、工程(2)を反復すること；

(3)該決定された発現レベルを既知の細胞表現型におけるチューブリンベータ3及び該少なくとも1つの他のマーカータンパク質の発現レベルの参照セットと比較し、それにより、該肝臓組織試料の細胞表現型を決定することを含む、前記方法。

【請求項2】

肝臓細胞の細胞表現型を特定する方法であって：

(1)該肝臓細胞におけるチューブリンベータ3及び少なくとも1つの他のマーカータンパク質の発現レベルを決定すること；

(2)該決定された発現レベルを、チューブリンベータ3及び該少なくとも1つの他のマーカータンパク質の発現レベルの参照セットであって、該参照レベルが細胞表現型を表す、前記参照セットと比較すること；

(3)該肝臓細胞におけるチューブリンベータ3及び該少なくとも1つの他のマーカータンパク質の発現レベルと参照発現レベルの比較に基づいて、該肝臓細胞の細胞表現型を特定すること；

を含み、

ここで、該少なくとも1つの他のマーカータンパク質が、表1A、表2～11のうちのいずれ

か1つによって表されるバイオマーカーパネルから選択される、前記方法。

【請求項3】

前記細胞表現型が、正常肝臓上皮細胞(肝細胞)、正常胆管上皮細胞(胆管細胞)、肝細胞癌細胞、末梢胆管細胞癌細胞、又は肝門部胆管細胞癌細胞から選択される、請求項1又は請求項2記載の方法。

【請求項4】

前記肝臓細胞が肝臓腫瘍細胞である、請求項2~3のいずれか一項記載の方法。

【請求項5】

個体における肝臓腫瘍の診断又は予後モニタリングの方法であって：

(a)該個体から得られる肝臓腫瘍細胞における、チューブリンベータ3、及び、表1A、表2~11のうちのいずれか1つによって表されるバイオマーカーパネルから選択される少なくとも1つの他のマーカータンパク質の存在又は発現レベルを決定すること；

(b)該肝臓腫瘍細胞の細胞表現型を特定すること；及び

(c)該肝臓腫瘍細胞の細胞表現型に基づいて診断又は予後判定を選択することを含む、前記方法。

【請求項6】

肝臓腫瘍を有する個体の治療レジメンを決定する方法であって：

(a)該個体から得られる肝臓腫瘍細胞における、チューブリンベータ3、及び、表1A、表2~11のうちのいずれか1つによって表されるバイオマーカーパネルから選択される少なくとも1つの他のマーカータンパク質の存在又は発現レベルを決定すること；

(b)該肝臓腫瘍細胞の細胞表現型を特定すること；及び

(c)該肝臓腫瘍細胞の細胞表現型に基づいて治療レジメンを選択することを含む、前記方法。

【請求項7】

前記肝臓腫瘍細胞が肝臓腫瘍生検由来のものである、請求項5又は6のいずれかに記載の方法。

【請求項8】

前記個体が、肝動脈化学塞栓療法による治療を以前に受けたことがある、請求項5~7のいずれか一項記載の方法。

【請求項9】

個体の肝臓癌を診断する方法であって、チューブリンベータ3又はその断片、及び、表1A、表2~11から選択される少なくとも1つの他のマーカータンパク質又はその断片を、該個体から得られる血液、組織、唾液、又は尿試料中で検出することを含む、前記方法。

【請求項10】

前記少なくとも1つの他のマーカータンパク質が、アルド-ケトレダクターゼファミリー1メンバーB10(AKR1B10)、コラーゲンアルファ1(XVIII)鎖、プラスチン-3、フィブロネクチン、アスボリン、14-3-3タンパク質イータ、ジヒドロピリミジナーゼ関連タンパク質3のうちのいずれか1つ、又はこれらの組合せから選択される、請求項1~9のいずれか一項記載の方法。

【請求項11】

対象の再発性又は原発性肝臓腫瘍を診断する方法であって、試料中の、チューブリンベータ3、並びに、少なくとも1つの他のマーカータンパク質、並びに、任意に、AKR1B10、コラーゲンアルファ1(XVIII)鎖、プラスチン-3、フィブロネクチン、アスボリン、14-3-3タンパク質イータ、及びジヒドロピリミジナーゼ関連タンパク質3からなる群から選択される1以上のマーカータンパク質の有無を決定することを含み、好ましくは、該試料が、血液、血漿、血清、肝臓組織、肝臓細胞のうちのいずれか1つ、又はこれらの組合せから選択される、前記方法。

【請求項12】

前記試料が、血液、血漿、血清、肝臓組織、肝臓細胞のうちのいずれか1つ、又はこれらの組合せから選択される、請求項11記載の方法。

**【請求項 1 3】**

前記少なくとも1つの他のマーカータンパク質がAKR1B10である、請求項10～12のいずれかに記載の方法。

**【請求項 1 4】**

チューブリンベータ3及び前記少なくとも1つの他のマーカータンパク質の前記発現レベルを決定する工程が：

(a)前記肝臓細胞又は前記肝臓組織試料を複数の結合メンバーと接触させること(ここで、各々の結合メンバーは、該複数のマーカータンパク質のうちの1つに選択的に結合する);並びに

(b)該特異的結合メンバー及びマーカータンパク質によって形成される複合体を検出及び/又は定量すること

を含む、請求項1～13のいずれか一項記載の方法。

**【請求項 1 5】**

前記特異的結合メンバーが、前記複数のマーカータンパク質のうちの1つに選択的に結合する抗体又は抗体断片である、請求項14記載の方法。

**【請求項 1 6】**

チューブリンベータ3及び前記少なくとも1つの他のマーカータンパク質の発現レベルを決定する前記工程が質量分析によって行われる、請求項1～13のいずれか一項記載の方法。

**【請求項 1 7】**

複数のタンパク質の発現レベルを決定する前記工程が、タンパク質由来ペプチドの1以上の遷移を用いる選択反応モニタリング;及び試験下の前記肝臓細胞又は前記肝臓組織試料中のペプチドレベルを、細胞表現型を表すことが以前に決定されたペプチドレベルと比較することによって行われる、請求項1～13のいずれか一項記載の方法。

**【請求項 1 8】**

前記ペプチドレベルを比較することが、前記肝臓細胞又は前記肝臓組織試料由来のタンパク質由来ペプチドの量を、既知の量の対応する合成ペプチドを用いて決定することを含み、ここで、該合成ペプチドは、標識を除いて、該肝臓細胞又は該肝臓組織試料から得られるペプチドと配列が同一である、請求項17記載の方法。

**【請求項 1 9】**

前記標識が、異なる質量又は重同位体のタグである、請求項18記載の方法。

**【請求項 2 0】**

チューブリンベータ3、並びに、任意に、少なくとも1つの他のマーカータンパク質鎖、及び、表1A、表2～11から選択される1以上のマーカータンパク質の、肝臓癌の診断マーカーとしての使用。

**【請求項 2 1】**

肝臓細胞の細胞表現型をインピトロで決定するのに使用するためのキットであって、使用者が、試験下の細胞における、チューブリンベータ3又はその断片、及び、表2～11によって表されるバイオマーカーパネルに提供される少なくとも1つの他のマーカータンパク質又はその断片の存在又は発現レベルを決定するのを可能にし；

(a)アッセイ互換フォーマットの参照ペプチドのセット(ここで、該セット中の各々のペプチドは、チューブリンベータ3、及び、表1A、表2～11のうちのいずれか1つに提供される少なくとも1つの他のマーカータンパク質のうちの1つを固有に表すものである);並びに任意に

(b)洗浄溶液、希釈液、及び緩衝液からなる群から選択される1以上の構成要素を含む、前記キット。

**【請求項 2 2】**

個体における肝臓腫瘍の診断若しくは予後モニタリングのための、又は、肝臓腫瘍を有する個体の治療レジメンを決定するためのキットであって：

(a)複数の結合メンバーがその上に固相化されている固体支持体(ここで、各々の結合メ

ンバーは、バイオマーカーパネルから選択されるタンパク質に選択的に結合する);

(b)標識を含む発色剤;並びに

(c)洗浄溶液、希釈液、及び緩衝液から選択される1以上の構成要素  
を含み、

該バイオマーカーパネルが、チューブリンベータ3、及び、表1A及び表2~11から選択される少なくとも1つの他のマーカータンパク質を含む、前記キット。

【請求項23】

表1A、表2~11のうちのいずれか1つから選択されるバイオマーカーパネルから選択される複数のタンパク質のうちの1つの断片と同一の配列を各々有する複数の合成ペプチドであって、該断片が、トリプシン、ArgC、AspN、又はLys-C消化による該タンパク質の消化によって生じ、ここで、1以上の該複数の合成ペプチドが標識を含み、かつ、該バイオマーカーパネルが、チューブリンベータ3、及び、表1A及び表2~11から選択される少なくとも1つの他のマーカータンパク質を含む、前記複数の合成ペプチド。

【請求項24】

前記標識が重同位体である、請求項23記載の複数の合成ペプチド。

【請求項25】

選択反応モニタリングで使用するための、請求項23又は請求項24記載の複数の合成ペプチド。

【請求項26】

前記少なくとも1つの他のマーカータンパク質が、AKR1B10、コラーゲンアルファ1(XVII)<sup>I</sup>鎖、プラスチン-3、フィブロネクチン、アスボリン、14-3-3タンパク質イータ、ジヒドロピリミジナーゼ関連タンパク質3のうちのいずれか1つ、又はこれらの組合せから選択される、請求項20記載の使用、又は、請求項21又は22のいずれかに記載のキット、又は、請求項23又は24のいずれかに記載の複数の合成ペプチド。

【請求項27】

前記少なくとも1つの他のマーカータンパク質がAKR1B10である、請求項26記載の使用又はキット又は複数の合成ペプチド。