

【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】令和1年5月9日(2019.5.9)

【公表番号】特表2018-513679(P2018-513679A)

【公表日】平成30年5月31日(2018.5.31)

【年通号数】公開・登録公報2018-020

【出願番号】特願2017-549623(P2017-549623)

【国際特許分類】

C 12 Q 1/68 (2018.01)

G 01 N 33/574 (2006.01)

C 12 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 12 Q 1/68 Z N A A

G 01 N 33/574 D

C 12 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成31年3月25日(2019.3.25)

【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】

被験体において極めて高い感度および特異性を有する、癌の検出方法であって、

前記被験体の血液試料から循環腫瘍細胞(CTC)を単離することと、

CTC由来のRNAをcDNAに変換することと、

前記cDNAを個々の液滴中にカプセル化することと、

CTC由来のcDNAには特異的に結合するが血中のその他の細胞に由来するcDNAには結合しないように構成されたレポーター基の存在下、各液滴内で前記cDNA分子を増幅させることと、

レポーター基に陽性である液滴の総数を決定して、被験体における癌の存在を指示示すCTCの存在を判定することと

を含む、方法。

【請求項2】

血液試料中の循環腫瘍細胞(CTC)を分析する方法であって、

前記血液試料から、血中に存在するCTCおよびその他の細胞を含む産物を単離することと、

前記産物からリボ核酸(RNA)分子を単離することと、

溶液中で単離RNAからcDNA分子を生成させることと、

cDNA分子を個々の液滴中にカプセル化することと、

CTC由来のcDNAには特異的に結合するがその他の細胞に由来するcDNAには結合しないように構成された1つ以上のレポーター基の存在下、各液滴内でcDNA分子を増幅させることと、

前記レポーター基を含有する液滴を液滴中のCTC由来のcDNA分子の存在の指標として検出することと、

検出された液滴中のCTCを分析することと

を含む、方法。

【請求項 3】

R N A を単離する前に前記産物の体積を減らすことをさらに含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記 c D N A 分子をカプセル化する前に c D N A 含有溶液から混入物を除去することをさらに含む、請求項 2 または請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記単離 R N A から c D N A 分子を生成させることが、前記単離 R N A 分子の逆転写 (R T) ポリメラーゼ連鎖反応 (P C R) を行うこととを含む、請求項 2 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

各液滴内で c D N A または c D N A 分子を増幅させることができ、各液滴の中で P C R を行うことを含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

個々の c D N A 分子をカプセル化することができさらに、c D N A 分子と共に P C R 試薬を個々の液滴中にカプセル化することと、非水性液体の少なくとも 1 0 0 0 個の液滴を形成することとを含む、請求項 2 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

前記レポーター基が蛍光標識を含む、請求項 2 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9】

前記 c D N A 含有溶液から混入物を除去することができ、固相可逆固定法 (S P R I) の使用を含む、請求項 4 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 10】

前記 S P R I が、

前記溶液中の c D N A を、前記 c D N A に特異的に結合するように構成された磁気ビーズで固定することと、

前記溶液から混入物を除去すること、

精製 c D N A を溶出させることと

を含む、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記非水性液体が、1 つ以上のフッ化炭素、フッ化炭化水素、鉱油、シリコーンオイルおよび炭化水素油を含む、請求項 7 ~ 1 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 12】

各液滴内で前記 c D N A 分子を増幅させる際に使用するプローブおよびプライマーが、表 1 中に列挙される選択された癌遺伝子に関係する 1 つ以上のプローブおよびプライマーに対応する、請求項 6 ~ 1 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 13】

前記選択された癌遺伝子が、異なる 2 つ以上、3 つ以上、4 つ以上または 5 つ以上のタイプの癌に対して選択的な 1 つ以上の遺伝子を含む、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 14】

前記遺伝子が、乳癌および肺癌；乳癌、肺癌および肝臓癌；乳癌、肺癌および膵臓癌；乳癌、肺癌および前立腺癌；乳癌、肝臓癌およびメラノーマ；乳癌、肺癌およびメラノーマ；乳癌、肺癌、肝臓癌および前立腺癌；乳癌、肺癌、肝臓癌およびメラノーマ；乳癌、肺癌、肝臓癌および膵臓癌；乳癌、肺癌、前立腺癌および膵臓癌；乳癌、肺癌、肝臓癌、メラノーマおよび膵臓癌；または、乳癌、肺癌、肝臓癌、メラノーマ、膵臓癌および前立腺癌に対して選択的である、請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 15】

検出された液滴中の前記 C T C を分析することができ、既知の癌を有する患者から経時的に採取された血液試料からの C T C をモニタリングすることと、前記 C T C に対する試験、画像化、または試験と画像化との両方を行って前記患者の予後予測を提供することとを含

む、請求項 2 ~ 1 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 6】

検出された液滴中の前記 C T C を分析することが、患者の血液試料からの前記 C T C の試験、画像化、または試験と画像化とを行って治療介入に対する前記 C T C の応答の指標を提供することを含む、請求項 2 ~ 1 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 7】

検出された液滴中の前記 C T C を分析することが、患者の血液試料の単位体積当たりの C T C の数または濃度を決定して、前記患者における腫瘍負荷の度合いを提供することを含む、請求項 2 ~ 1 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 8】

前記患者における腫瘍負荷の前記度合いを用いて療法を選択することをさらに含み、第 2 時点において前記患者における腫瘍負荷の前記度合いを決定して例えば治療介入に応答した経時的な前記腫瘍負荷をモニタリングすることをさらに含む、請求項 1 7 に記載の方法。

【請求項 1 9】

血液試料中の循環腫瘍細胞 (C T C) から得られた c D N A 分子を増幅および検出するための、表 1 中に列挙される 1 つ以上の選択された癌遺伝子に関する 1 つ以上のプローブおよびプライマーの使用。

【請求項 2 0】

既知の癌を有する患者から経時的に得られた多数の血液試料において、増幅させた C T C を分析し、前記 C T C の試験、画像化、または試験と画像化との両方を行って前記患者に予後予測を提供する、請求項 1 9 に記載の使用。

【請求項 2 1】

増幅させた C T C を分析して、治療介入に対する前記 C T C の応答の指標を提供する、請求項 1 9 に記載の使用。

【請求項 2 2】

増幅させた C T C を分析して、前記血液試料の取得がなされた患者における腫瘍負荷の度合いを提供する、請求項 1 9 に記載の使用。