

【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 3 年 8 月 26 日 (2021.8.26)

【公表番号】特表 2020-528274 (P2020-528274A)

【公表日】令和 2 年 9 月 24 日 (2020.9.24)

【年通号数】公開・登録公報 2020-039

【出願番号】特願 2020-502711 (P2020-502711)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/686 (2018.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

C 1 2 Q 1/6886 (2018.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/686 Z N A Z

G 0 1 N 33/53 M

G 0 1 N 33/53 D

C 1 2 Q 1/6886 Z

C 1 2 N 15/09 Z

【手続補正書】

【提出日】令和 3 年 7 月 15 日 (2021.7.15)

【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】

必要とする対象において形質細胞疾患を検出する方法であって、

前記対象の試験サンプルから、前記試験サンプルを少なくとも 32 個のバイオマーカーの発現を検出するために特異的な複数の薬剤と接触させることにより、前記少なくとも 32 個のバイオマーカーの発現レベルを決定すること、前記少なくとも 32 個のバイオマーカーは、ASXL1、BHLHE40、BTG2、COPA、FBXW7、GNA13、IL8、JMJ D1C、LARS2、MALAT1、MBNL1、MCL1、NFKBIZ (2つのスプライスバリエント)、NR4A1 (2つのスプライスバリエント)、PDE4B、P1AS2、PRKAA1 (2つのスプライスバリエント)、SCYL2 (2つのスプライスバリエント)、SMARCD2、SP1 (2つのスプライスバリエント)、SRSF5、TAGAP、TANK、TLE4、TSC22D3、UBE2J1、及び少なくとも 1つのハウスキーピング遺伝子を含むこと；

ASXL1、BHLHE40、BTG2、COPA、FBXW7、GNA13、IL8、JMJ D1C、LARS2、MALAT1、MBNL1、MCL1、NFKBIZ (2つのスプライスバリエント)、NR4A1 (2つのスプライスバリエント)、PDE4B、P1AS2、PRKAA1 (2つのスプライスバリエント)、SCYL2 (2つのスプライスバリエント)、SMARCD2、SP1 (2つのスプライスバリエント)、SRSF5、TAGAP、TANK、TLE4、TSC22D3、及びUBE2J1の各発現レベルを前記少なくとも 1つのハウスキーピング遺伝子の発現レベルに対して正規化することにより、ASXL1、BHLHE40、BTG2、COPA、FBXW7、GNA13、IL8、JMJ D1C、LARS2、MALAT1、MBNL1、MCL1、NFKBIZ (2つのスプライスバリエント)、NR4A1 (2つのスプライスバリエント)、P

DE4B、P1AS2、PRKAA1（2つのスプライスバリエント）、SCYL2（2つのスプライスバリエント）、SMARCD2、SP1（2つのスプライスバリエント）、SRSF5、TAGAP、TANK、TLE4、TSC22D3、及びUBE2J1の各正規化された発現レベルを取得すること；

各正規化された発現レベルをアルゴリズムに入力してスコアを生成すること；

前記スコアを所定のカットオフ値と比較すること；及び

前記スコアが前記所定のカットオフ値以上の場合に、前記対象の形質細胞疾患の存在を特定すること、又は前記スコアが前記所定のカットオフ値未満の場合に、前記対象に形質細胞疾患が存在しないことを特定することであり、ここで前記所定のカットオフ値は0～100の段階で20であること、

を含む、前記方法。

【請求項2】

形質細胞疾患を有すると特定された前記対象は、薬物療法で治療可能である、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

対象における形質細胞疾患が安定性であるか進行性であるかを判定する方法であって、前記対象の試験サンプルから、前記試験サンプルを少なくとも32個のバイオマーカーの発現を検出するために特異的な複数の薬剤と接触させることにより、前記少なくとも32個のバイオマーカーの発現レベルを決定すること、前記少なくとも32個のバイオマーカーは、ASXL1、BHLHE40、BTG2、COPA、FBXW7、GNA13、IL8、JMJD1C、LARS2、MALAT1、MBNL1、MCL1、NFKBIZ（2つのスプライスバリエント）、NR4A1（2つのスプライスバリエント）、PDE4B、P1AS2、PRKAA1（2つのスプライスバリエント）、SCYL2（2つのスプライスバリエント）、SMARCD2、SP1（2つのスプライスバリエント）、SRSF5、TAGAP、TANK、TLE4、TSC22D3、UBE2J1、及び少なくとも1つのハウスキーピング遺伝子を含むこと；

ASXL1、BHLHE40、BTG2、COPA、FBXW7、GNA13、IL8、JMJD1C、LARS2、MALAT1、MBNL1、MCL1、NFKBIZ（2つのスプライスバリエント）、NR4A1（2つのスプライスバリエント）、PDE4B、P1AS2、PRKAA1（2つのスプライスバリエント）、SCYL2（2つのスプライスバリエント）、SMARCD2、SP1（2つのスプライスバリエント）、SRSF5、TAGAP、TANK、TLE4、TSC22D3、及びUBE2J1の各発現レベルを前記少なくとも1つのハウスキーピング遺伝子の発現レベルに対して正規化することにより、ASXL1、BHLHE40、BTG2、COPA、FBXW7、GNA13、IL8、JMJD1C、LARS2、MALAT1、MBNL1、MCL1、NFKBIZ（2つのスプライスバリエント）、NR4A1（2つのスプライスバリエント）、PDE4B、P1AS2、PRKAA1（2つのスプライスバリエント）、SCYL2（2つのスプライスバリエント）、SMARCD2、SP1（2つのスプライスバリエント）、SRSF5、TAGAP、TANK、TLE4、TSC22D3、及びUBE2J1の各正規化された発現レベルを取得すること；

各正規化された発現レベルをアルゴリズムに入力してスコアを生成すること；

前記スコアを所定のカットオフ値と比較すること；及び

前記スコアが前記所定のカットオフ値以上の場合に、前記形質細胞疾患が進行性であることを特定すること、又は前記スコアが前記所定のカットオフ値未満の場合に、前記形質細胞疾患が安定性であることを特定することであり、ここで前記所定のカットオフ値は0～100の段階で40であること、

を含む、前記方法。

【請求項4】

形質細胞疾患を有する対象の疾患再発のリスクを判定する方法であって、

治療後の前記対象の試験サンプルから、前記試験サンプルを少なくとも32個のバイオ

マーカーの発現を検出するために特異的な複数の薬剤と接触させることにより、前記少なくとも32個のバイオマーカーの発現レベルを決定すること、前記少なくとも32個のバイオマーカーは、ASXL1、BHLHE40、BTG2、COPA、FBXW7、GNA13、IL8、JMJD1C、LARS2、MALAT1、MBNL1、MCL1、NFKBIZ（2つのスプライスバリエント）、NR4A1（2つのスプライスバリエント）、PDE4B、P1AS2、PRKAA1（2つのスプライスバリエント）、SCYL2（2つのスプライスバリエント）、SMARCD2、SP1（2つのスプライスバリエント）、SRSF5、TAGAP、TANK、TLE4、TSC22D3、UBE2J1、及び少なくとも1つのハウスキーピング遺伝子を含むこと；

ASXL1、BHLHE40、BTG2、COPA、FBXW7、GNA13、IL8、JMJD1C、LARS2、MALAT1、MBNL1、MCL1、NFKBIZ（2つのスプライスバリエント）、NR4A1（2つのスプライスバリエント）、PDE4B、P1AS2、PRKAA1（2つのスプライスバリエント）、SCYL2（2つのスプライスバリエント）、SMARCD2、SP1（2つのスプライスバリエント）、SRSF5、TAGAP、TANK、TLE4、TSC22D3、及びUBE2J1の各発現レベルを前記少なくとも1つのハウスキーピング遺伝子の発現レベルに対して正規化することにより、ASXL1、BHLHE40、BTG2、COPA、FBXW7、GNA13、IL8、JMJD1C、LARS2、MALAT1、MBNL1、MCL1、NFKBIZ（2つのスプライスバリエント）、NR4A1（2つのスプライスバリエント）、PDE4B、P1AS2、PRKAA1（2つのスプライスバリエント）、SCYL2（2つのスプライスバリエント）、SMARCD2、SP1（2つのスプライスバリエント）、SRSF5、TAGAP、TANK、TLE4、TSC22D3、及びUBE2J1の各正規化された発現レベルを取得すること；

各正規化された発現レベルをアルゴリズムに入力してスコアを生成すること；

前記スコアを所定のカットオフ値と比較すること；及び

前記スコアが前記所定のカットオフ値以上の場合に、前記対象は疾患再発のリスクが高いことを特定すること、又は前記スコアが前記所定のカットオフ値未満の場合に、前記対象は疾患再発のリスクは低いことを特定することであり、ここで前記所定のカットオフ値は0～100の段階で40であること、を含む、前記方法。

【請求項5】

形質細胞疾患を有する対象による治療に対する反応を判定する方法であって、

第一の時点で前記対象の第一の試験サンプルから、前記第一の試験サンプルを少なくとも31個のバイオマーカーの発現を検出するために特異的な複数の薬剤と接触させることにより、前記少なくとも31個のバイオマーカーの第一の発現レベルを決定すること、前記少なくとも31個のバイオマーカーは、ASXL1、BHLHE40、BTG2、COPA、FBXW7、GNA13、IL8、JMJD1C、LARS2、MALAT1、MBNL1、MCL1、NFKBIZ（2つのスプライスバリエント）、NR4A1（2つのスプライスバリエント）、PDE4B、P1AS2、PRKAA1（2つのスプライスバリエント）、SCYL2（2つのスプライスバリエント）、SMARCD2、SP1（2つのスプライスバリエント）、SRSF5、TAGAP、TANK、TLE4、TSC22D3、及びUBE2J1を含むこと；

第二の時点で前記対象の第二の試験サンプルから、前記第二の試験サンプルを前記少なくとも31個のバイオマーカーの発現を検出するために特異的な複数の薬剤と接触させることにより、前記少なくとも31個のバイオマーカーの第二の発現レベルを決定すること、前記第二の時点は、前記第一の時点後であり、前記対象への前記治療の実施後であること；

前記第一の発現レベルを前記第二の発現レベルと比較すること；及び

前記第一の発現レベルと比較して前記第二の発現レベルが有意に低下した場合、前記対象が前記治療に反応性を有することを特定すること、

を含む、前記方法。

【請求項 6】

前記第一の時点が、前記対象への前記治療の実施前である、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記第一の時点が、前記対象への前記治療の実施後である、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 8】

前記治療が標的療法を含む、請求項 5 から 7 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記標的療法がプロテアソーム阻害剤を含む、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記第二の発現レベルが前記第一の発現レベルよりも少なくとも 25 % 低い場合、前記第一の発現レベルと比較して前記第二の発現レベルが有意に減少している、請求項 5 から 9 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 11】

前記形質細胞疾患が、意義不明の単クローン性 グロブリン血症 (MGUS) 又は骨髄腫である、請求項 1 から 10 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 12】

前記少なくとも 1 つのハウスキーピング遺伝子は、ALG9、SEPN、YWHAQ、VPS37A、PRRC2B、DOPEY2、NDUFB11、ND4、MRPL19、PSMC4、SF3A1、PUM1、ACTB、GAPD、GUSB、RPLP0、TFRC、MORF4L1、18S、PPIA、PGK1、RPL13A、B2M、YWHAZ、SDHA、HPRT1、TOX4、及び TPT1 からなる群から選択される、請求項 1 から 4 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 13】

前記少なくとも 1 つのハウスキーピング遺伝子は、TPT1 である、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

90 % を超える感度を有する、請求項 1 から 13 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 15】

90 % を超える特異性を有する、請求項 1 から 14 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 16】

前記少なくとも 32 個のバイオマーカーのうちの少なくとも 1 個が RNA、cDNA、又はタンパク質である、請求項 1 から 15 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 17】

前記バイオマーカーが RNA である場合、前記 RNA が逆転写されて cDNA が生成され、前記生成された cDNA の発現レベルが検出される、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

前記バイオマーカーと標識プローブ又はプライマーとの複合体を形成することにより、前記バイオマーカーの発現レベルが検出される、請求項 1 から 17 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 19】

前記バイオマーカーがタンパク質である場合、前記タンパク質と標識抗体との複合体を形成することにより、前記タンパク質が検出される、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 20】

前記バイオマーカーが RNA 又は cDNA である場合、前記 RNA 又は cDNA と標識核酸プローブ又はプライマーとの複合体を形成することにより、前記 RNA 又は cDNA が検出される、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 21】

前記 RNA 又は cDNA と前記標識核酸プローブ又はプライマーとの前記複合体がハイブリダイゼーション複合体である、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記試験サンプルが血液、血清、血漿、又は新生物組織 (neoplastic tissue) である、請求項 1 から 2 1 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記所定のカットオフ値が、腫瘍性疾患のない対象から得られた複数の参照サンプルに由来する、請求項 1 から 4 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記参照サンプルが血液、血清、血漿、又は非新生物組織である、請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 5】

治療を必要とする前記対象が、形質細胞疾患と診断された対象、少なくとも 1 つの形質細胞疾患の症状を有する対象、又は形質細胞疾患を発症する素因や家族歴を有する対象である、請求項 1 から 2 4 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 2 6】

対象がヒトである、請求項 1 から 2 5 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記アルゴリズムが、XGB、RF、glmnet、cforest、CART、treebag、knn、nnet、SVM-radial、SVM-linear、NB、NNET、mlp、又はロジスティック回帰モデリングである、請求項 1 から 4 の何れか一項に記載の方法。