

【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29年7月27日 (2017.7.27)

【公表番号】特表2016-530504(P2016-530504A)

【公表日】平成28年9月29日 (2016.9.29)

【年通号数】公開・登録公報2016-057

【出願番号】特願2016-525390(P2016-525390)

【国際特許分類】

G 0 1 N 27/62 (2006.01)

G 0 1 N 30/72 (2006.01)

G 0 1 N 30/88 (2006.01)

G 0 6 F 19/24 (2011.01)

【 F I 】

G 0 1 N 27/62 D

G 0 1 N 30/72 A

G 0 1 N 30/88 E

G 0 1 N 27/62 V

G 0 1 N 27/62 C

G 0 1 N 27/62 X

G 0 6 F 19/24

【手続補正書】

【提出日】平成29年6月15日 (2017.6.15)

【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】

自閉症に対する被験体のリスクを評価する方法であって、

1 種または複数種の低分子代謝物に関して前記被験体のバイオサンプルをアッセイする工程と、

表 6 に列挙された 179 種の低分子代謝物のうちの 1 種以上の量を定量する工程と、  
を含み、

表 6 に列挙された前記 179 種の低分子代謝物のうちの 1 種以上の、非自閉症対照と比較して統計的に有意な存在量差が、自閉症のリスク増加の指標となる、方法。

【請求項 2】

前記バイオサンプルが、ガスクロマトグラフィー質量分析 (GCMS)、正イオン極性のエレクトロスプレーイオン化と組み合わせた C8 液体クロマトグラフィー (C8 pos)、負イオン極性のエレクトロスプレーイオン化と組み合わせた C8 液体クロマトグラフィー (C8 neg)、正イオン極性のエレクトロスプレーイオン化と組み合わせた親水性相互作用液体クロマトグラフィー (HILIC pos)、および / または負イオン極性のエレクトロスプレーイオン化と組み合わせた親水性相互作用液体クロマトグラフィー (HILIC neg) から選択される 1 つ以上の手法によりアッセイされる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

表 6 に列挙された前記代謝物のうちの少なくとも 40 種の、非自閉症対照と比較して統計的に有意な存在量差が、自閉症のリスク増加の指標となり、

表 6 に列挙された前記代謝物のうちの約 80 ～ 約 160 種の、非自閉症対照と比較して統計的に有意な存在量差が、自閉症のリスク増加の指標となる、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

ホモシトルリン、2 - ヒドロキシ吉草酸、シスチン、アスパラギン酸、イソロイシン、クレアチニン、セリン、4 - ヒドロキシフェニル乳酸、クエン酸、グルタミン酸、乳酸、DHEA 硫酸、グルタル酸、5 - ヒドロキシノルバリン、ヘプタデカン酸、5 - アミノ吉草酸ラクタム、コハク酸、ミリスチン酸、2 - ヒドロキシ吉草酸、メチルヘキサデカン酸、および / または 3 - アミノイソ酪酸のうちの、任意の 1 種以上の代謝物、任意の 2 種以上の代謝物、任意の 3 種以上の代謝物、任意の 4 種以上の代謝物、任意の 5 種以上の代謝物、任意の 6 種以上の代謝物、任意の 7 種以上の代謝物、任意の 8 種以上の代謝物、任意の 9 種以上の代謝物、任意の 10 種以上の代謝物、任意の 11 種以上の代謝物、任意の 12 種以上の代謝物、任意の 13 種以上の代謝物、任意の 14 種以上の代謝物、任意の 15 種以上の代謝物、任意の 16 種以上の代謝物、任意の 17 種以上の代謝物、任意の 18 種以上の代謝物、任意の 19 種以上の代謝物、任意の 20 種以上の代謝物、または 21 種の代謝物の、非自閉症対照と比較して統計的に有意な存在量差が、自閉症のリスク増加の指標となり；

2 - アミノオクタン酸、アセスルファム、ADMA、コリン、CMPF、システイン、シスチン、DHEA 硫酸 (DHEAS)、グリシン、グリココール酸、ヒボキサンチン、インドールアクリル酸、インドキシル硫酸、LysopC (16 : 1 (9Z))、LysopE (0 : 0 / 18 : 1 (9Z))、LysopE (22 : 6 (4Z, 7Z, 10Z, 13Z, 16Z, 19Z) / 0 : 0)、LysopE (22 : 6 (4Z, 7Z, 10Z, 13Z, 16Z, 19Z) / 0 : 0)、メチオニン、p - クレゾール硫酸、フェニルアラニン、フェニル乳酸、プロリン、セロトニン、トリプトファン、尿酸、および / またはバリンのうちの、任意の 1 種以上の代謝物、任意の 2 種以上の代謝物、任意の 3 種以上の代謝物、任意の 4 種以上の代謝物、任意の 5 種以上の代謝物、任意の 6 種以上の代謝物、任意の 7 種以上の代謝物、任意の 8 種以上の代謝物、任意の 9 種以上の代謝物、任意の 10 種以上の代謝物、任意の 11 種以上の代謝物、任意の 12 種以上の代謝物、任意の 13 種以上の代謝物、任意の 14 種以上の代謝物、任意の 15 種以上の代謝物、任意の 16 種以上の代謝物、任意の 17 種以上の代謝物、任意の 18 種以上の代謝物、任意の 19 種以上の代謝物、任意の 20 種以上の代謝物、または 21 種以上の代謝物、任意の 22 種以上の代謝物、任意の 23 種以上の代謝物、任意の 24 種以上の代謝物、任意の 25 種以上の代謝物、および / または 26 種の代謝物の、非自閉症対照と比較して統計的に有意な存在量差が、自閉症のリスク増加の指標となり；または

ホモシトルリン、グルタル酸、サッカロピン、5 - アミノ吉草酸、ラクテート、スクシネート、イソシトレート、DHEAS、DHA、アンドロステロン硫酸、27 - ノルコレステロール、LysopE、PE、長鎖状 FAs、LysopC、アスパルテート、グルタメート、アセチルオルニチン、バリン、イソロイシン、ケトロイシン、セリン、ホモシステイン酸、バリン、シスチン、ヒドロキシアセトン、ホスホヒドロキシビルビン酸、インドール - 3 - 乳酸、および / または 3 - アミノイソ酪酸のうちの、任意の 1 種以上の代謝物、任意の 2 種以上の代謝物、任意の 3 種以上の代謝物、任意の 4 種以上の代謝物、任意の 5 種以上の代謝物、任意の 6 種以上の代謝物、任意の 7 種以上の代謝物、任意の 8 種以上の代謝物、任意の 9 種以上の代謝物、任意の 10 種以上の代謝物、任意の 11 種以上の代謝物、任意の 12 種以上の代謝物、任意の 13 種以上の代謝物、任意の 14 種以上の代謝物、任意の 15 種以上の代謝物、任意の 16 種以上の代謝物、任意の 17 種以上の代謝物、任意の 18 種以上の代謝物、任意の 19 種以上の代謝物、任意の 20 種以上の代謝物、または 21 種以上の代謝物、任意の 22 種以上の代謝物、任意の 23 種以上の代謝物、任意の 24 種以上の代謝物、任意の 25 種以上の代謝物、任意の 26 種の代謝物またはそれを超える代謝物、任意の 27 種の代謝物またはそれを超える代謝物、任意の 28 種の代謝物またはそれを超える代謝物、および / または 29 種の代謝物の、非自閉症対照と比

較して統計的に有意な存在量差が、自閉症のリスク増加の指標となる、請求項1～3のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

ホモシトルリンの減少、グルタル酸の増加、サッカロピンの増加、5 - アミノ吉草酸の増加、ラクテートの増加、スクシネートの増加、イソシトレートの減少、D H E A S の増加、D H A の増加、アンドロステロン硫酸の増加、27 - ノルコレステロールの増加、L y s o P E の減少、P E の減少、長鎖状 F a s の減少、L y s o P C の減少、アスパレーターの増加、グルタメートの増加、アセチルオルニチンの増加、バリンの減少、イソロイシンの減少、ケトロイシンの増加、セリンの増加、ホモシステイン酸の減少、バリンの減少、シスチンの減少、ヒドロキシアセトンの増加、ホスホヒドロキシビルビン酸の増加、インドール - 3 - 乳酸の減少、および / または 3 - アミノイソ酪酸の増加を示す、請求項1～4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

非自閉症対照と比較して統計的に有意なホモシトルリンの存在量差が自閉症のリスク増加の指標となる、請求項1～5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

2 種以上の低分子代謝物の比を決定する工程をさらに含む、請求項1～6のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記バイオサンプルが、脳脊髄液、脳組織、羊水、血液、血清、血漿、羊水、または尿である、請求項1～7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記バイオサンプルが血漿である、請求項1～8のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記被験体が 2 歳未満である、請求項1～9のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

代謝シグネチャーが自閉症被験体の表現型サブ集団の指標となる、請求項1～10のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

代謝シグネチャーが高機能自閉症 ( H F A ) および / または低機能自閉症 ( L F A ) の指標となる、請求項1～11のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

自閉症のメタボロミックシグネチャーであって、ホモシトルリン、2 - ヒドロキシ吉草酸、シスチン、アスパラギン酸、イソロイシン、クレアチニン、セリン、4 - ヒドロキシフェニル乳酸、クエン酸、グルタミン酸、乳酸、D H E A 硫酸、グルタル酸、5 - ヒドロキシノルバリン、ヘプタデカン酸、5 - アミノ吉草酸ラクタム、コハク酸、ミリスチン酸、2 - ヒドロキシ吉草酸、メチルヘキサデカン酸、および / または 3 - アミノイソ酪酸のうちの、任意の 1 個以上の特徴、2 個以上の特徴、3 個以上の特徴、4 個以上の特徴、5 個以上の特徴、6 個以上の特徴、7 個以上の特徴、8 個以上の特徴、9 個以上の特徴、10 個以上の特徴、11 個以上の特徴、12 個以上の特徴、13 個以上の特徴、14 個以上の特徴、15 個以上の特徴、16 個以上の特徴、17 個以上の特徴、18 個以上の特徴、19 個以上の特徴、20 個以上の特徴または 21 個の特徴；

2 - アミノオクタン酸、アセスルファム、A D M A、コリン、C M P F、システイン、シスチン、D H E A 硫酸 ( D H E A S )、グリシン、グリココール酸、ヒポキサンチン、インドールアクリル酸、インドキシル硫酸、L y s o P C ( 16 : 1 ( 9 Z ) )、L y s o P E ( 0 : 0 / 18 : 1 ( 9 Z ) )、L y s o P E ( 22 : 6 ( 4 Z , 7 Z , 10 Z , 13 Z , 16 Z , 19 Z ) / 0 : 0 )、L y s o P E ( 22 : 6 ( 4 Z , 7 Z , 10 Z , 13 Z , 16 Z , 19 Z ) / 0 : 0 )、メチオニン、p - クレゾール硫酸、フェニルアラニン、フェニル乳酸、プロリン、セロトニン、トリプトファン、尿酸、および / またはバリンのうちの、任意の 1 種以上の代謝物、任意の 2 種以上の代謝物、任意の 3 種以上の代

謝物、任意の 4 種以上の代謝物、任意の 5 種以上の代謝物、任意の 6 種以上の代謝物、任意の 7 種以上の代謝物、任意の 8 種以上の代謝物、任意の 9 種以上の代謝物、任意の 10 種以上の代謝物、任意の 11 種以上の代謝物、任意の 12 種以上の代謝物、任意の 13 種以上の代謝物、任意の 14 種以上の代謝物、任意の 15 種以上の代謝物、任意の 16 種以上の代謝物、任意の 17 種以上の代謝物、任意の 18 種以上の代謝物、任意の 19 種以上の代謝物、任意の 20 種以上の代謝物、または 21 種以上の代謝物、任意の 22 種以上の代謝物、任意の 23 種以上の代謝物、任意の 24 種以上の代謝物、任意の 25 種以上の代謝物、および / または 26 種の代謝物 ; または

ホモシトルリン、グルタル酸、サッカロピン、5 - アミノ吉草酸、ラクテート、スクシネート、イソシトレート、D H E A S、D H A、アンドロステロン硫酸、27 - ノルコレステロール、L y s o P E、P E、長鎖状 F a s、L y s o P C、アスパルテート、グルタメート、アセチルオルニチン、バリン、イソロイシン、ケトロイシン、セリン、ホモシステイン酸、バリン、シスチン、ヒドロキシアセトン、ホスホヒドロキシビルビン酸、インドール - 3 - 乳酸、および / または 3 - アミノイソ酪酸のうちの、任意の 1 種以上の代謝物、任意の 2 種以上の代謝物、任意の 3 種以上の代謝物、任意の 4 種以上の代謝物、任意の 5 種以上の代謝物、任意の 6 種以上の代謝物、任意の 7 種以上の代謝物、任意の 8 種以上の代謝物、任意の 9 種以上の代謝物、任意の 10 種以上の代謝物、任意の 11 種以上の代謝物、任意の 12 種以上の代謝物、任意の 13 種以上の代謝物、任意の 14 種以上の代謝物、任意の 15 種以上の代謝物、任意の 16 種以上の代謝物、任意の 17 種以上の代謝物、任意の 18 種以上の代謝物、任意の 19 種以上の代謝物、任意の 20 種以上の代謝物、または 21 種以上の代謝物、任意の 22 種以上の代謝物、任意の 23 種以上の代謝物、任意の 24 種以上の代謝物、任意の 25 種以上の代謝物、任意の 26 種の代謝物またはそれを超える代謝物、任意の 27 種の代謝物またはそれを超える代謝物、任意の 28 種の代謝物またはそれを超える代謝物、および / または 29 種の代謝物

を含む、自閉症のメタボロミックシグネチャー。

【請求項 14】

自閉症のメタボロミックシグネチャーであって、

表 6 に示される特徴のうちの 1 個以上 ;

表 6 に列挙された代謝物のうちの少なくとも 40 種 ; または

表 6 に列挙された代謝物のうちの約 80 ~ 約 160 種

を含む、自閉症のメタボロミックシグネチャー。

【請求項 15】

ホモシトルリンを含む、請求項 13 または 14 に記載の自閉症のメタボロミックシグネチャー。

【請求項 16】

ホモシトルリンの減少、グルタル酸の増加、サッカロピンの増加、5 - アミノ吉草酸の増加、ラクテートの増加、スクシネートの増加、イソシトレートの減少、D H E A S の増加、D H A の増加、アンドロステロン硫酸の増加、27 - ノルコレステロールの増加、L y s o P E の減少、P E の減少、長鎖状 F a s の減少、L y s o P C の減少、アスパレーターの増加、グルタメートの増加、アセチルオルニチンの増加、バリンの減少、イソロイシンの減少、ケトロイシンの増加、セリンの増加、ホモシステイン酸の減少、バリンの減少、シスチンの減少、ヒドロキシアセトンの増加、ホスホヒドロキシビルビン酸の増加、インドール - 3 - 乳酸の減少、および / または 3 - アミノイソ酪酸の増加を含む自閉症のメタボロミックシグネチャー。

【請求項 17】

ヒトにおいて自閉症に特有のメタボロミックシグネチャーを同定する方法であって、

ガスクロマトグラフィー質量分析 ( G C M S )、正イオン極性のエレクトロスプレーイオン化と組み合わせた C 8 液体クロマトグラフィー ( C 8 p o s )、負イオン極性のエレクトロスプレーイオン化と組み合わせた C 8 液体クロマトグラフィー ( C 8 n e g )、正イオン極性のエレクトロスプレーイオン化と組み合わせた親水性相互作用液体クロマトグ

ラフィー（H I L I C p o s）、および／または負イオン極性のエレクトロスプレーイオン化と組み合わせた親水性相互作用液体クロマトグラフィー（H I L I C n e g）から選択される2つ以上の手法により1種または複数種の低分子代謝物に関して自閉症被験体から単離されたバイオサンプル群をアッセイする工程と、

G C - M S、C 8 p o s、C 8 n e g、H I L I C p o s、および／またはH I L I C n e g から選択される同一の2つ以上の手法により1種または複数種の低分子代謝物に関して非自閉症対照被験体から単離されたバイオサンプル群をアッセイする工程と、

前記2つ以上の手法のそれぞれについて非自閉症対照被験体と比較して自閉症被験体で示差的に産生される1種または複数種の低分子代謝物を同定する工程と、

前記2つ以上の手法のそれぞれにより同定された非自閉症対照被験体と比較して自閉症被験体で示差的に産生される前記複数種の低分子代謝物を組み合わせて低分子代謝物のトレーニングセットを形成する工程と、

対照の非自閉症対照被験体から単離された前記バイオサンプルと比較して自閉症被験体から単離された前記バイオサンプルで統計的に有意な存在量差を有する低分子代謝物のサブセットを前記トレーニングセットから選択する工程と、  
を含み、

対照の非自閉症対照被験体から単離された前記バイオサンプルと比較して自閉症被験体から単離された前記バイオサンプルで統計的に有意な存在量差を有する低分子の前記サブセットが、自閉症のメタロミックシグネチャーを含む、方法。

【請求項18】

バイオサンプルが、ガスクロマトグラフィー質量分析（G C M S）、正イオン極性のエレクトロスプレーイオン化と組み合わせたC 8液体クロマトグラフィー（C 8 p o s）、負イオン極性のエレクトロスプレーイオン化と組み合わせたC 8液体クロマトグラフィー（C 8 n e g）、正イオン極性のエレクトロスプレーイオン化と組み合わせた親水性相互作用液体クロマトグラフィー（H I L I C p o s）、および／または負イオン極性のエレクトロスプレーイオン化と組み合わせた親水性相互作用液体クロマトグラフィー（H I L I C n e g）から選択される3つ以上の手法によりアッセイされる、請求項17に記載の方法。

【請求項19】

ヒトにおいて自閉症に特有のメタロミックシグネチャーを同定する方法であって、

a) ガスクロマトグラフィー質量分析（G C M S）により1種または複数種の低分子代謝物に関して自閉症被験体から単離されたバイオサンプル群をアッセイする工程と、

b) G C M Sにより1種または複数種の低分子代謝物に関して非自閉症対照被験体から単離されたバイオサンプル群をアッセイする工程と、

c) 非自閉症対照被験体と比較して自閉症被験体で示差的に産生されるG C M Sによりアッセイされた1種または複数種の低分子代謝物を同定する工程と、

d) 正イオン極性のエレクトロスプレーイオン化と組み合わせたC 8液体クロマトグラフィー（C 8 p o s）により1種または複数種の低分子代謝物に関して自閉症被験体から単離された前記バイオサンプル群をアッセイする工程と、

e) C 8 p o sにより1種または複数種の低分子代謝物に関して非自閉症対照被験体から単離された前記バイオサンプル群をアッセイする工程と、

f) 非自閉症対照被験体と比較して自閉症被験体で示差的に産生されるC 8 p o sによりアッセイされた1種または複数種の低分子代謝物を同定する工程と、

g) 負イオン極性のエレクトロスプレーイオン化と組み合わせたC 8液体クロマトグラフィー（C 8 n e g）により1種または複数種の低分子代謝物に関して自閉症被験体から単離された前記バイオサンプル群をアッセイする工程と、

h) C 8 n e gにより1種または複数種の低分子代謝物に関して非自閉症対照被験体から単離された前記バイオサンプル群をアッセイする工程と、

i) 非自閉症対照被験体と比較して自閉症被験体で示差的に産生されるC 8 n e gによりアッセイされた1種または複数種の低分子代謝物を同定する工程と、

j) 正イオン極性のエレクトロスプレーイオン化と組み合わせた親水性相互作用液体クロマトグラフィー (H I L I C p o s) により 1 種または複数種の低分子代謝物に関して自閉症被験体から単離された前記バイオサンプル群をアッセイする工程と、

k) H I L I C p o s により 1 種または複数種の低分子代謝物に関して非自閉症対照被験体から単離された前記バイオサンプル群をアッセイする工程と、

l) 非自閉症対照被験体と比較して自閉症被験体で示差的に産生される H I L I C p o s によりアッセイされた 1 種または複数種の低分子代謝物を同定する工程と、

m) 負イオン極性のエレクトロスプレーイオン化と組み合わせた親水性相互作用液体クロマトグラフィー (H I L I C n e g) により 1 種または複数種の低分子代謝物に関して自閉症被験体から単離された前記バイオサンプル群をアッセイする工程と、

n) H I L I C n e g により 1 種または複数種の低分子代謝物に関して非自閉症対照被験体から単離された前記バイオサンプル群をアッセイする工程と、

o) 非自閉症対照被験体と比較して自閉症被験体で示差的に産生される H I L I C n e g によりアッセイされた 1 種または複数種の低分子代謝物を同定する工程と、

p) 工程 c)、工程 f)、工程 I)、工程 l)、および工程 o) により同定された前記複数種の低分子代謝物を組み合わせて低分子代謝物のトレーニングセットを形成する工程と、

q) 対照の非自閉症対照被験体から単離された前記バイオサンプル群と比較して自閉症患者から単離された前記バイオサンプル群で統計的に有意な存在量差を有する低分子代謝物のサブセットを前記トレーニングセットから選択する工程と、

を含み、

工程 q) の低分子の前記サブセットが、ヒトにおいて自閉症のメタボロミックスグネチャーを含む、方法。