

【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】平成30年11月15日(2018.11.15)

【公表番号】特表2017-534300(P2017-534300A)

【公表日】平成29年11月24日(2017.11.24)

【年通号数】公開・登録公報2017-045

【出願番号】特願2017-542357(P2017-542357)

【国際特許分類】

C 12 N 15/09 (2006.01)

G 01 N 33/53 (2006.01)

G 01 N 33/574 (2006.01)

C 12 Q 1/68 (2018.01)

【F I】

C 12 N 15/00 A

G 01 N 33/53 M

G 01 N 33/574 Z

G 01 N 33/53 D

C 12 Q 1/68 A

【手続補正書】

【提出日】平成30年10月2日(2018.10.2)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0067

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0067】

(参考文献)

【化2】

Crowley *et al*, Nature Reviews Clinical Oncology, 10, 472-484, 2013.

Fong *et al*, Clinical Chemistry 55(3), 587-589, 2009. Grutzmann *et al*, PLoS ONE 3(11): e3759. doi:10.1371/journal.pone.0003759, 2008.

Guerrero-Preston *et al*, Epigenetics 2(4), 223-226, 2007.

Holdenrieder *et al*, Int J Cancer 95, 114-120, 2001.

Holdenrieder and Stieber, Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences; 46(1): 1-24, 2009.

Jung *et al*, Clinica Chimica Acta, 411, 1611-1624, 2010.

Karczarski *et al*, Clinical Proteomics, 11:24, 2014.

Newman *et al*, Nature Medicine 20(5), 548-554, 2014.

Schwarzenbach *et al*, Nature Reviews Cancer, 11(6), 426-437, 2011.

Soares *et al*, Cancer 85(1), 112-118, 1999.

Zhou *et al*, Seminars in Oncology, 39(4), 440-448, 2012.

本件出願は、以下の構成の発明を提供する。

(構成1)

生体試料由来の、腫瘍を起源とする無細胞ヌクレオソーム又は循環腫瘍DNA（ctDNA）を検出し、単離し、かつ/又は精製するためのヒストンH3.1結合剤及び/又はH3.2結合剤及び/又はH3t結合剤の使用。

（構成2）

生体試料から、腫瘍を起源とする循環無細胞ヌクレオソームをアフィニティー精製により単離するための方法であって、

(i) 該試料をヒストンH3.1結合剤及び/又はH3.2結合剤及び/又はH3t結合剤と接触させる工程；

(ii) 該試料から結合したヌクレオソームを単離する工程；及び

(iii) 該単離したヌクレオソーム及び/又は結合したDNAを分析する工程、を含む、前記方法。

（構成3）

前記単離したヌクレオソーム及び/又は結合したDNAを分析する工程が免疫検定法を含む、構成2記載の方法。

（構成4）

前記単離したヌクレオソーム及び/又は結合したDNAを分析する工程がプロテオミクス法を含む、構成2記載の方法。

（構成5）

前記単離したヌクレオソーム及び/又は結合したDNAを分析する工程が質量分析を含む、構成2記載の方法。

（構成6）

生体試料から精製循環腫瘍DNA（ctDNA）を単離するための方法であって：

(i) ヒストンH3.1及び/又はH3.2及び/又はH3tを含む循環無細胞ヌクレオソームを単離する工程；

(ii) 工程(i)で生じたヌクレオソーム試料からDNAを抽出する工程；及び

(iii) 該抽出されたDNAを分析する工程、を含む、前記方法。

（構成7）

前記抽出されたDNAを分析する工程が：DNA配列決定法、メチル化DNA配列決定分析、PCR、BEAMing、NGS（標的型又は全ゲノム型）、デジタルPCR、低温PCR（低変性温度のPCRによる共増幅）、MAP（MIDI活性化ピロリン酸分解）、PARE（個人化された再配列末端の分析）、又は質量分析を含む、構成6記載の方法。

（構成8）

生体試料中の、腫瘍に由来する循環ヌクレオソームの後成的エピトープを検出するための免疫検定法であって：

(i) 該試料をヒストンH3.1結合剤及び/又はH3.2結合剤及び/又はH3t結合剤と接触させる工程；

(ii) 該ヌクレオソーム又は試料を該エピトープに結合する第二結合剤と接触させる工程；

(iii) 該第二結合剤の該エピトープへの結合を検出し、かつ/又は定量化する工程；及び

(iv) そのような結合の存在又は程度を該試料中の腫瘍に由来するヌクレオソームの特定のエピトープの存在の尺度として使用する工程、を含む、前記方法。

（構成9）

生体試料中の、腫瘍に由来する循環ヌクレオソームの後成的エピトープを検出するための免疫検定法であって：

(i) 該試料を該エピトープに結合する第一結合剤と接触させる工程；

(ii) 該ヌクレオソーム又は試料をヒストンH3.1結合剤及び/又はH3.2結合剤及び/又はH3t結合剤と接触させる工程；

(iii) 該ヒストンH3.1結合剤及び/又はH3.2結合剤及び/又はH3t結合剤の該試料中のヌクレオソームとの結合を検出し、かつ/又は定量化する工程；及び

(iv) そのような結合の存在又は程度を該試料中の腫瘍に由来するヌクレオソームの特定のエピトープの存在の尺度として使用する工程、を含む、前記方法。

(構成 10)

前記エピトープがヒストン修飾を含む、構成8又は9記載の方法。

(構成 11)

前記エピトープが修飾ヌクレオチドを含む、構成8又は9記載の方法。

(構成 12)

前記エピトープがヒストンのバリアント又はアイソフォームを含む、構成8又は9記載の方法。

(構成 13)

前記エピトープがヌクレオソーム付加物を含む、構成8又は9記載の方法。

(構成 14)

前記生体試料が血液、血清、又は血漿試料を含む、構成1~13のいずれか1記載の使用又は方法。

(構成 15)

ヒト又は動物対象から得られる生体試料中の循環無細胞ヌクレオソームと関連するヒストンバリアントH3.1及び/又はH3.2及び/又はH3tを検出する工程を含む、癌の診断方法。

(構成 16)

1以上のヒストン修飾、修飾ヌクレオチド、ヒストンのバリアント若しくはアイソフォーム、又はヌクレオソーム付加物を検出することをさらに含む、構成15記載の方法。

(構成 17)

前記ヒストン修飾がH3K27Ac及び/又は5-メチルシトシンを含む、構成16記載の方法。

(構成 18)

構成2~17のいずれか1記載の方法における、ヒストンH3.1結合剤及び/又はH3.2結合剤及び/又はH3t結合剤を含むキットの使用。

(構成 19)

前記ヒストンH3.1結合剤及び/又はH3.2結合剤及び/又はH3t結合剤が、H3.1結合剤を含む、構成1~18のいずれか1記載の使用又は方法。