

【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7月4日(2019.7.4)

【公表番号】特表2018-514210(P2018-514210A)

【公表日】平成30年6月7日(2018.6.7)

【年通号数】公開・登録公報2018-021

【出願番号】特願2017-555780(P2017-555780)

【国際特許分類】

C 12 Q 1/04 (2006.01)

C 12 M 1/34 (2006.01)

【F I】

C 12 Q 1/04 Z N A

C 12 M 1/34 B

【手続補正書】

【提出日】令和1年5月29日(2019.5.29)

【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】

試験作用因子に対する細胞の感受性を予測する方法であつて、

a) 血清を有する培養培地中、試験作用因子の存在下および非存在下で、接着性固体表面上にて細胞を培養するステップ；

b) 培養された前記細胞を、B H 3 プロファイリング緩衝液およびアポトーシス促進性B H 3 ドメインペプチドと接触させるステップ；

c) 前記細胞におけるB H 3 ドメインペプチド誘導型ミトコンドリア外膜透過化(M O M P)の量を測定するステップ；および

d) 前記試験作用因子の存在下で培養された前記細胞におけるB H 3 ドメインペプチド誘導型M O M Pの量を、前記試験作用因子の非存在下で培養された前記細胞におけるB H 3 ドメインペプチド誘導型M O M Pの量と比較するステップ

を含み、

前記試験作用因子の非存在下で培養された前記細胞におけるB H 3 ドメインペプチド誘導型M O M Pの量と比較した、前記試験作用因子の存在下で培養された前記細胞におけるM O M Pの増加が、前記細胞が前記試験作用因子に対して感受性であることを示す、方法。

【請求項2】

前記細胞を前記B H 3 プロファイリング緩衝液および前記アポトーシス促進性B H 3 ドメインペプチドと接触させる前に、前記細胞から前記培養培地を洗浄するステップをさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記B H 3 プロファイリング緩衝液が、2×、3×または4×の濃度で添加される、請求項1に記載の方法。

【請求項4】

前記B H 3 プロファイリング緩衝液が、2×の濃度で添加され、B H 3 ドメインペプチド誘導型M O M Pの量が、顕微鏡法によって測定される、請求項1に記載の方法。

【請求項5】

前記B H 3 プロファイリング緩衝液が、3×または4×の濃度で添加され、B H 3 ドメ

インペプチド誘導型MOMPの量が、蛍光活性化セルソーティング（FACS）によって測定される、請求項1に記載の方法。

【請求項6】

前記接着性固体表面が、1種または複数の接着促進化合物でコーティングされている、請求項1から5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項7】

前記1種または複数の接着促進化合物が、細胞外マトリックス（ECM）タンパク質である、請求項6に記載の方法。

【請求項8】

前記ECMタンパク質が、コラーゲン1、ラミニン、コラーゲン4およびフィプロネクチンからなる群より選択される、請求項7に記載の方法。

【請求項9】

前記ECMタンパク質が、動物組織に由来するECMタンパク質混合物である、請求項7に記載の方法。

【請求項10】

前記1種または複数の接着促進化合物が抗体である、請求項6に記載の方法。

【請求項11】

前記1種または複数の接着促進化合物が、ストレプトアビジンまたはニュートラアビジョンである、請求項6に記載の方法。

【請求項12】

前記BHK3プロファイリング緩衝液が、トレハロース由来実験緩衝液（DTEB）またはマンニトール実験緩衝液（MEB）である、請求項1から11のいずれか一項に記載の方法。

【請求項13】

前記BHK3ドメインペプチドとの接触の後、その前、またはそれと同時に前記細胞が透過化される、請求項1から12のいずれか一項に記載の方法。

【請求項14】

前記BHK3プロファイリング緩衝液に透過化剤が補充される、請求項13に記載の方法。

【請求項15】

前記透過化剤が、ジギトニンまたはサポニンである、請求項14に記載の方法。

【請求項16】

BHK3ドメインペプチド誘導型MOMPの量が、i)電位差測定用色素と接触した細胞における前記電位差測定用色素の発光、またはii)ミトコンドリア膜間腔からの分子の放出を決定することによって測定される、請求項1から15のいずれか一項に記載の方法。

【請求項17】

BHK3ドメインペプチド誘導型MOMPの量が、FACS、プレート蛍光定量法、蛍光イメージングまたは自動画像解析によって測定される、請求項1から15のいずれか一項に記載の方法。

【請求項18】

MOMPを測定する前に前記細胞を固定するステップをさらに含む、請求項1から17のいずれか一項に記載の方法。

【請求項19】

固定された前記細胞が、電位差測定用色素と接触する、請求項18に記載の方法。

【請求項20】

前記電位差測定用色素が、5, 5', 6, 6' - テトラクロロ - 1, 1', 3, 3' - テトラエチルベンゾイミダゾリルカルボシアニヨージド（JCB-1）、ジヒドロローダミン123、テトラメチルローダミンメチルエステル（TMRM）またはテトラメチルローダミンエチルエステル（TMR-E）である、請求項19に記載の方法。

【請求項 2 1】

固定された前記細胞が、チトクロームC、S M A C / D i a b l o 、O m i 、アデニル酸キナーゼ - 2 またはアポトーシス誘導因子に対する抗体と接触する、請求項 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 2】

固定された前記細胞が、T o m 2 0 またはV D A C に対する抗体と接触する、請求項 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記B H 3 ドメインペプチドが、B I D 、B I M 、B A D 、N O X A 、P U M A 、B M F 、またはH R K ポリペプチドのB H 3 ドメインに由来する、請求項 1 から 2 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記B H 3 ドメインペプチドが、配列番号 1 ~ 1 5 からなる群より選択される、請求項 1 から 2 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記試験作用因子が治療剤である、請求項 1 から 2 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 6】

試験治療剤が化学療法剤である、請求項 2 5 に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記細胞が初代ヒト腫瘍細胞である、請求項 1 から 2 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 8】

前記細胞が、患者由来異種移植片 (P D X) から得られる、請求項 1 から 2 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 9】

前記細胞が培養ヒト細胞である、請求項 1 から 2 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 0】

前記細胞が、初代動物腫瘍細胞である、請求項 1 から 2 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 1】

前記細胞が、ヒトまたは動物組織に由来する健康な細胞である、請求項 1 から 2 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 2】

複数の試験作用因子を用いて繰り返される、請求項 1 から 3 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 3】

各ウェルが接着性作用因子でコーティングされている、試験治療剤およびB H 3 ドメインペプチドを含むマルチウェルプレート。

【請求項 3 4】

前記B H 3 ドメインペプチドが、B I D 、B I M 、B A D 、N O X A 、P U M A 、B M F 、またはH R K ポリペプチドのB H 3 ドメインに由来する、請求項 3 3 に記載のマルチウェルプレート。

【請求項 3 5】

前記B H 3 ドメインペプチドが、配列番号 1 ~ 1 5 からなる群より選択される、請求項 3 3 に記載のマルチウェルプレート。

【請求項 3 6】

前記試験治療剤が化学療法剤である、請求項 3 3 から 3 5 のいずれか一項に記載のマルチウェルプレート。

【請求項 3 7】

前記接着性作用因子が細胞外マトリックス (E C M) タンパク質である、請求項 3 3 から 3 6 のいずれか一項に記載のマルチウェルプレート。

【請求項 3 8】

前記 E C M タンパク質が、コラーゲン 1、ラミニン、コラーゲン 4 およびフィブロネクチンからなる群より選択される、請求項 3 7 に記載のマルチウェルプレート。

【請求項 3 9】

前記接着性作用因子が抗体である、請求項 3 3 から 3 6 のいずれか一項に記載のマルチウェルプレート。

【請求項 4 0】

請求項 3 3 から 3 9 のいずれか一項に記載のマルチウェルプレートを含むキットであつて、B H 3 プロファイリング緩衝液を収容するバイアルおよび治療剤に対する細胞の感受性を予測するために前記キットを使用するための指示をさらに含む、キット。