

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2015-529077

(P2015-529077A)

(43) 公表日 平成27年10月5日(2015.10.5)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C12Q 1/68 (2006.01)	C12Q 1/68	Z 2G045
GO1N 33/50 (2006.01)	GO1N 33/50	P 4B063
GO1N 33/48 (2006.01)	GO1N 33/48	B

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 12 頁)

(21) 出願番号	特願2015-530497 (P2015-530497)	(71) 出願人	511060076 ユニバーシティー オブ ブラッドフォード UNIVERSITY OF BRADFORD イギリス国 ヨークシャー ビーディー7 1ディービー ウェスト ヨークシャー ブラッドフォード リッチモンド ロード
(86) (22) 出願日	平成25年9月10日 (2013. 9. 10)	(74) 代理人	100147485 弁理士 杉村 憲司
(85) 翻訳文提出日	平成27年5月7日 (2015. 5. 7)	(74) 代理人	100165951 弁理士 吉田 憲悟
(86) 国際出願番号	PCT/GB2013/052365	(74) 代理人	100181272 弁理士 神 絃一郎
(87) 国際公開番号	W02014/041340		
(87) 国際公開日	平成26年3月20日 (2014. 3. 20)		
(31) 優先権主張番号	1216174.1		
(32) 優先日	平成24年9月11日 (2012. 9. 11)		
(33) 優先権主張国	英国 (GB)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 フリーラジカルに誘発されるDNA損傷を特徴とする病態に対する被験者の素因を決定する方法及びアッセイ製品

(57) 【要約】

本発明は、COPDやぜんそく等、フリーラジカルに誘発されるDNA損傷を特徴とするがんや他の病態に対する被験者の素因を決定し、未診断のがん患者を特定する方法に関する。当該方法は、被験者からの全血を利用することができ、好ましくは放射源とサンプルとの間の距離を変更することによって、サンプルを異なるレベル又は強度の電磁放射にさらすことに基づく。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

DNA損傷を特徴とする1つ以上の病気の素因又は存在について被験者をスクリーニングする方法であって、
被験者から全血を採取するステップと、
1つ以上の基板上に、該全血の1つ以上のサンプルを載置するステップと、
該サンプルを異なるレベル又は強度の電磁放射にさらすステップと、
各サンプルにおける遺伝子損傷レベルを検出するステップと、
該損傷レベルを、所定値又は所定値パターンと比較するステップと、を含む方法。

【請求項 2】

前記サンプルを異なるレベルの電磁放射にさらすステップは、血液サンプルごとに電磁放射の強度を変更することによって行われる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

放射源との間の距離を変更することによって、電磁放射のレベルを変更する、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

第一のサンプルは約1.20mW/cm²の光強度にさらされ、第二のサンプルは約0.80mW/cm²の光強度にさらされ、第三のサンプルは約0.50mW/cm²の光強度にさらされ、第四のサンプルは約0.20mW/cm²の光強度にさらされる、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 5】

前記複数のサンプルは、検査用に複数のサンプルに分けることができるという条件で、ある被験者から単一サンプルとして採取し得る、請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の方法。

【請求項 6】

サンプルは、10分間から30分間、電磁放射にさらされる、請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の方法。

【請求項 7】

サンプルは、15分間、電磁放射にさらされる、請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載の方法。

【請求項 8】

前記サンプルを異なるレベルの電磁放射にさらすステップは、発する電磁放射のレベルを変えることによって行われる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

前記サンプルと電磁放射源との間に追加の障壁物質層を配置しない、請求項 1 ~ 8 のいずれかに記載の方法。

【請求項 10】

前記サンプルの上に追加の障壁物質層を直接配置しない、請求項 1 ~ 9 のいずれかに記載の方法。

【請求項 11】

前記全血は、末梢全血を含む、請求項 1 ~ 10 のいずれかに記載の方法。

【請求項 12】

サンプルを異なるレベルの電磁放射にさらす前に、基板上に全血を載置するステップを含む、請求項 1 ~ 11 のいずれかに記載の方法。

【請求項 13】

前記全血は、0.5%の低融点アガロース (< 40) を含む封入媒体中に配置される、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記電磁放射は、紫外線放射である、請求項 1 ~ 13 のいずれかに記載の方法。

【請求項 15】

皮膚がん、肺がん、乳がん、腸がん、前立腺がん、又は大腸がんの素因について被験者をスクリーニングするために使用される、請求項 1 ~ 14 のいずれかに記載の方法。

【請求項 16】

10

20

30

40

50

がんでないこと、前がん細胞を有すること、又はがんであることについて、被験者をスクリーニングするために使用される方法であって、該がんは、皮膚がん、肺がん、乳がん、腸がん、前立腺がん、大腸がんを含むがこれに限定されるものではない、請求項 1 ~ 15 のいずれかに記載の方法。

【請求項 17】

COPD、ぜんそく、気腫、又は大腸ポリポシスの素因について被験者をスクリーニングするために使用される、請求項 1 ~ 14 のいずれかに記載の方法。

【請求項 18】

アッセイ製品であって、
全血サンプルを載置可能な基板と、
該全血サンプルが載置される基板の表面が電磁放射にさらされるように位置する電磁放射源と、を備え、
該サンプルがさらされる放射の強度が可変であることを特徴とする、アッセイ製品。

10

【請求項 19】

前記サンプルと前記電磁放射源との間の距離が可変である、請求項 18 に記載のアッセイ製品。

【請求項 20】

前記サンプルの上に追加の障壁物質層が直接配置されていない、請求項 18 又は 19 に記載のアッセイ製品。

20

【請求項 21】

前記複数のサンプルの上に追加の障壁物質層が直接配置されていない、請求項 18 又は 19 に記載のアッセイ製品。

【請求項 22】

前記全血は、末梢全血を含む、請求項 18 ~ 21 のいずれかに記載のアッセイ製品。

【請求項 23】

前記全血は、0.5%の低融点アガロース (< 40) を含む封入媒体中に配置される、請求項 18 ~ 22 のいずれかに記載のアッセイ製品。

【請求項 24】

前記電磁放射は、紫外線放射である、請求項 18 ~ 23 のいずれかに記載のアッセイ製品。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、フリーラジカルに誘発されるDNA損傷を決定する方法に関し、特に、COPDやぜんそく等、フリーラジカルに誘発されるDNA損傷を特徴とするがんや他の病態に対する被験者の素因を決定する方法に関する。

【0002】

また、本発明は、特定のがんに関連して被験者の現状を決定する方法に関する。

40

【0003】

また、本発明は、電磁 (EM) 放射線に誘発される細胞損傷に対する被験者の感受性を決定する方法に関し、特に、紫外線 (UV) 放射に誘発される細胞損傷に対する被験者の感受性を決定する方法に関する。

【0004】

また、本発明は、発明の方法を行う際に使用されるアッセイ製品や関連キットに関する。

【背景技術】

【0005】

50

細胞の酸化的DNA損傷は、細胞代謝の不可避の結果であるが、発がん性化合物、酸化還元サイクリング薬、電離及び紫外線放射等の外生源との相互作用も酸化的損傷に寄与する。

【0006】

紫外線は、生体外でDNA損傷を誘発する物理的な汎用の突然変異原として用いることができる。化学的遺伝毒性物質と比べて、UVA光を使用する利点は、露光時間を正確に設定できることである。化学的遺伝毒性物質は、遠心分離及び洗浄処理によって除去する必要がある。

【0007】

UVAは、可視部分（56%）及び赤外線部分（39%）だけでなく紫外線（UV）光（5%）も含む海面（290～5000nm）レベルの電磁スペクトルを有する太陽光の一部である。主にUVA（320～400 nm）と、大気吸収のためより少ない程度ではあるがUVB（290～320 nm）とは、地表に到達する一方、殺菌作用のあるUVC部分は、完全に遮られる。UVA/B光は、環境中のヒト発がん性物質として一般に知られており、紅斑（日光皮膚炎）、日焼け、光老化、免疫抑制の原因にもなる。しかし、主にUVAを発する人工紫外線源は、日焼けサロンや、乾癬の治療用にも見られる。UVAが組織に吸収されることにより、活性酸素種、窒素種及び不安定鉄が産生され、これらによってDNA等の他の生体分子が損傷する。紫外線照射後のDNA損傷として最も多いタイプは、シクロブタン型ピリミジンダイマー（CPD）であり、主に微量のUVBによってもたらされる一方、8-oxo10グアニン等の、UVAに誘発される酸化的DNA損傷は、細胞に存在する非DNA発色団に依存する。

【0008】

紫外線吸収によって、さまざまな光分解生成物の生成を介してDNA損傷を誘発する酸素フリーラジカルが発生する。このプロセスは、正常なDNAの塩基対合能力を変え、突然変異を引き起こし得る。これら突然変異が、P53やINK4Aといった腫瘍抑制遺伝子を妨害することから、がんにつながる可能性がある。フリーラジカルは、多くの種類のがんに関与する。ATM（Ataxia-telangiectasia mutated）及びATR（Rad3-related）遺伝子のフリーラジカルに関連する突然変異が、リンパ腫発生の一因であるということが証明されている。

【0009】

過去20年程にわたって、コメットアッセイ又は単一細胞ゲル電気泳動アッセイは、細胞内のDNA鎖切断を測定することによってDNA損傷を評価する標準方法の一つとなっている。顕微鏡スライド上のアガロースに埋め込まれた細胞を、洗剤及び高塩濃度で溶解して、核マトリックスに結合したDNAのスーパーコイルループを含む核様体を形成する。

【0010】

高pHでの電気泳動によって、蛍光顕微鏡検査法で観察すると彗星（コメット）に似た構造が得られる。ここで、彗星の頭部に対する尾部の強さが、DNA鎖切断及びアルカリ不安定部位の数を反映している。切断を含むループは、そのスーパーコイル構造を失い、陽極に向かって自由に移動する。このように、コメットアッセイは、ゲノム損傷を決定する手段を提供する。

【0011】

DNA損傷の程度を決定するための蛍光の計算は、画像ソフトウェアを用いた手動採点によって行うことができる。

【0012】

がん自体や、恐らくはその前がん状態が、生体全体にストレスを引き起こし得るということが最近明らかになっている。この事実は、がんに関係のない細胞における、外因性遺伝毒性障害への感受性の違いにつながる可能性がある。環境的ストレスや生活要因による障害は、感受性細胞におけるより大きな損傷の原因になり得る。

【0013】

以前より、本発明者らは、紫外線損傷から細胞を保護するための日焼け止め等の被験物質の能力を決定する肌モデルとして、従来のコメット試験及びその新規の変形（例えば、WO2008/050134参照）を用いてきた。しかし、この方法では、サンプルをリンパ球の形にす

10

20

30

40

50

るべく随時多くの前処理ステップが必要である。さらに、リンパ球サンプル層は、サンプルを内部に保持するサンドイッチ効果を得るべく、1つ(従来のコメットアッセイの場合)またはそれ以上(新規の3Dアッセイの場合)の追加の障壁層と重ね合わせられる。これは、かなり手間のかかるプロセスとなる。

【発明の概要】

【0014】

電磁放射への細胞の感受性を決定する改良法を提供することが望ましい。また、被験者が、DNA損傷を特徴とするがんや他の病気の素因を有するかどうかを決定することが望ましい。

【0015】

本発明の一形態によると、DNA損傷を特徴とする病気の素因について被験者をスクリーニングする方法であって、被験者から全血を採取するステップと、基板上に、前記全血の複数のサンプルを載置するステップと、前記サンプルを異なるレベル又は強度の電磁放射にさらすステップと、各サンプルにおける遺伝子損傷レベルを検出するステップと、前記損傷レベルを、所定値又は所定値パターンと比較するステップと、を含む方法が提供される。

【0016】

好ましくは、スクリーニング方法は、前記比較から妥当な診断結果を決定する最終ステップを含む。

【0017】

本発明は、先行技術方法よりも明確なグループ間区別を示す。また、本発明は、より高い結果再現性を可能にする。

【0018】

好ましくは、各サンプルを異なるレベルの電磁放射にさらすステップは、サンプルごとに正確な強度を得るために放射源とサンプルとの間の距離を変更することによって行われる。

【0019】

前記複数のサンプルは、検査用に複数のサンプルに分けることができるという条件で、ある被験者から単一サンプルとして採取し得る。

【0020】

好ましくは、サンプルは、10分間から30分間、電磁放射にさらされる。

【0021】

最も好ましくは、サンプルは、15分間、電磁放射にさらされる。

【0022】

随時、前記サンプルを異なるレベルの電磁放射にさらすステップは、高さを調整することで発する電磁放射のレベルを変えることによって行われる。

【0023】

最も好ましくは、前記サンプルと電磁放射源との間に追加の障壁物質層を配置しない。

【0024】

最も好ましくは、前記サンプルの上に追加の障壁物質層を直接配置しない。

【0025】

好ましくは、前記全血は、末梢全血を含む。

【0026】

多くの前処理ステップを必要とせずに全血を使用することができることは、特に有利である。

【0027】

好ましくは、前記方法は、サンプルを異なるレベルの電磁放射にさらす前に、基板上に全血を載置するステップを含む。

【0028】

全血サンプルを基板上に載置するために、通常、40 μ lの希釈全血が同量の細胞培地(R

10

20

30

40

50

PMI)及び10%のDMSO(保管冷凍媒体)と混合され、さらに100 μ lの0.5%低融点アガロース(<40)と混合されて、乾燥アガロース被覆スライドに塗布される。

【0029】

35 μ l、40 μ l、又は45 μ lの血液が好ましい量であると想定される。この場合における細胞数は、血液量に応じて、それぞれ7~10、10~15、20~25である。細胞密度は、血液量に応じて、それぞれ0.0015、0.0020、0.0030である。

【0030】

最も好ましくは、封入媒体は、0.5%の低融点アガロース(<40)である。

【0031】

好ましくは、前記電磁放射は、紫外線放射である。

10

【0032】

追加の障壁層を上に乗せることなくサンプルが基板上に配されるため、全血細胞を、電磁放射にさらされた後に溶解することが可能である。したがって、手間のかかる前処理ステップは不要となる。

【0033】

前記方法は、さらに、溶解後に、赤血球と残屑とを含有する溶解溶液を除去するステップを含んでもよい。

【0034】

前記方法は、がんの素因について被験者をスクリーニングするために使用することができ、前記がんは、皮膚がん、肺がん、乳がん、腸がん、前立腺がん、大腸がんを含むがこれに限定されるものではない。

20

【0035】

前記方法は、COPD、ぜんそく、気腫、又は大腸ポリポシスの素因について被験者をスクリーニングするために使用することもできる。

【図面の簡単な説明】

【0036】

本発明のより良い理解のために、以下の図面を参照しながら実施形態を説明する。

【図1】発明の方法を用いて例から得られるデータのグラフ表示であり、紫外線光のさまざまな高さ(サンプルと紫外光源との間のさまざまな距離によって生じるさまざまな強度)での細胞のオリブテールモーメントを示すとともに、健常対照群、前がん状態、及びがんの間の特性の違いを示す。

30

【図2】紫外線光のさまざまな高さを使用して、文献に記載されている標準的な通常(従来)のコメットアッセイプロトコルを用いて得られるデータのグラフ表示であり、特に、ここでの特性は、新たな方法を用いて得られる特性と異なる。

【発明を実施するための形態】

【0037】

本発明者らは、物理的な汎用の突然変異原としての紫外線への細胞の反応差が、被験者のがんの素因の正確な指針となることを見出した。本発明は、サンプルにおける細胞の紫外線感受性についてサンプルを検査して、その結果を用いて被験者のがんの素因の正確な指針を表す、簡単で正確な方法を提供する。

40

【0038】

最初のステップで、患者から1つ以上のサンプルを採取する。例えば、静脈穿刺によって、患者から末梢全血サンプルを容易に採取することができる。(適切に分割されたある被験者からの単一の血液サンプルに由来し得る)これらサンプルは、(一般にアッセイ製品や関連キットを用いる)以下のアッセイ方法で使用することができる。

【0039】

[好適なプロトコル(UVA、全血、及び改良された標準コメットアッセイ方法、即ち、新アッセイに基づく)]

【0040】

使用されるBDH(スーパーフロスト(商標))のスライドガラスには、1%のアガロース

50

(標準融点アガロース)が塗布される。他の全ての化学試薬は、イギリスのVWR インターナショナルラボラトリーサプライヤから得られる。

【0041】

40 μ lの希釈全血は同量のRPMI及び10%のDMSO(保管冷凍媒体)と共に、100 μ lの0.5%低融点アガロース(<40)と混合されて、乾燥アガロース被覆スライドに塗布される。

【0042】

標準コメットアッセイにおける「サンドイッチ」を形成する三層と異なり、LMPアガロースの第二の層は不要である。スライドは、5分間だけ氷の上に放置されてから、UVA処理に供される。

【0043】

UVA照射には、2つの15WのPUVAチューブを収納する卓上ランプ(ドイツ、フィリンゲンシュウェニンゲンのWaldmann、イギリスのAthrodax Healthcare International Ltd.から購入)が使用される。PUVAチューブのスペクトルは、320~410nmの範囲で、351nmに極大を持つ。紫外線処理されるスライドに対して、ランプはスライドから異なる距離に配置されることで、適切な強度を生じる。処理グループにおける第一のスライドは、陽性対照であり、強度が約1.20mW/cm²であるのに対し、残りのスライドは、異なる強度になる。第二のスライドは、約0.80mW/cm²、第三のスライドは、約0.50mW/cm²、第四のスライドは、約0.20mW/cm²の強度となる。

【0044】

この新アッセイでは、細胞は、スライド上の0.5%のLMPアガロースに埋め込まれて照射される。

【0045】

ここでは、二組のスライドを用いる。

【0046】

[グループ1]

スライドNo.1は、UVA処理なしで100 μ lのLMP0.5%アガロースに覆われる(陰性対照)。

【0047】

[グループ2]

スライドNo.2は、100 μ lのLMP0.5%アガロースに覆われ、UVA強度は約1.20mW/cm²(UVAランプからの距離は15cm)である(陽性対照)。

スライドNo.3は、100 μ lのLMP0.5%アガロースに覆われ、UVA強度は約0.80 mW/cm²(UVAランプからの距離は20cm)である。

スライドNo.4は、100 μ lのLMP0.5%アガロースに覆われ、UVA強度は約0.50 mW/cm²(UVAランプからの距離は25cm)である。

スライドNo.5は、100 μ lのLMP0.5%アガロースに覆われ、UVA強度は約0.20 mW/cm²である。

【0048】

スライドは、処理後、冷溶解溶液(2.5MのNaCl、100mMのEDTA、10mMのTris、10%のDMSO、1%のTriton X-100、pH10)を含む容器に横向きに浸漬される。スライドは、4 で1時間又は一晚培養される。

【0049】

溶解後、スライドは、冷電気泳動緩衝液(300mMのNaOH、1mMのEDTA、pH<13)で満たされた電気泳動槽のトレイに水平方向に置かれる。スライドは、暗闇の中4 で30分間培養されることで、DNAの巻き戻し、及び、一本鎖切断(SSB)や二本鎖切断(DSB)アルカリ不安定損傷の発現が可能になる。電気泳動は、25V及び調整電流300mAで(緩衝液レベルを上下することにより)、同温度で30分間行われる。

【0050】

電気泳動後、スライドは槽から取り出されて、それぞれ三回、中和緩衝液(400mMのTris、pH7.5)に5分間浸漬される(Tice, Agurell et al. 2000、Anderson, Schmid et al. 2003)。

10

20

30

40

50

【 0 0 5 1 】

細胞は、20 µg/mlのエチジウムブロマイド又は適切な代替物（例えば、SYBR Green）で染色され、モノクロCCDカメラを備える蛍光顕微鏡で検査される。

【 0 0 5 2 】

各複製スライドで、50個のセルが採点される（全100個、実験点毎に1000回観察することにより、効果を検出する統計的検出力を十分得ることができる）。

【 0 0 5 3 】

コンピュータ画像解析システムKomet6.0（Andor Ltd、ベルファスト）を使用して、コメットパラメータを測定する。そして、中間オリブテールモーメント及びパーセントテールDNAを用いて統計解析を行う。

10

【 0 0 5 4 】

図1に、プロトコルを用いて、前がん状態とされた者、がんとされた者、及び健常対照群を含む被験者30人から採取されたサンプルに行った実験結果を示す。

【 0 0 5 5 】

オリブテールモーメントはDNA損傷を表すことから、全ての細胞において、紫外線変異原にさらされる強度が増加するにつれて（即ち、紫外線ランプの高さが減少するにつれて）細胞のオリブテールモーメントが増加することが予期される。発明の方法を使用した図1は、明らかにこのケースに当てはまる。一方、サンプル上部に追加の障壁層を配してランプ高さを変更する標準的な通常（従来）のサンプルコメットアッセイを使用した場合、結果はこの原則と一致しない（図2）。

20

【 0 0 5 6 】

また、図1には、がんもしくは前がん状態の個人の細胞は類似の特性をたどり、これは、健常な個人の細胞で観察される特性と大きく異なる。健常対照群は、がん細胞や前がん細胞と大きく異なる特性を示す。これにより、がんの素因を表すサンプルの被験者を明確に特定することができる。標準的な通常（従来）のコメットアッセイを使用した図2に示される特性は、明白で正確な結果を与えるほど健常対照群との区別が十分でないため、上記のように利用することは不可能である。

【 0 0 5 7 】

注目すべきは、従来のコメットアッセイ（図2にその結果を示す）を使用する場合、全血からスライドを準備してUVAで処理するのに大きな技術的困難と問題とがあるということである。

30

【 0 0 5 8 】

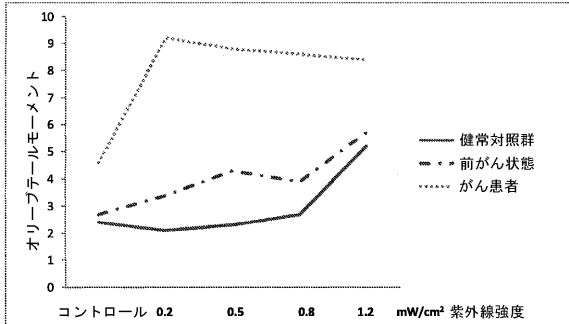
- 1．全血を1% LMPアガロースと混合してスライド上に広げる際、スライド上で容易に広がらない。
- 2．100 µlの0.5%LMPの第二の寒天層が、塗布の際にスライド全体を覆うことができない。
- 3．溶解溶液を用いた後、寒天ゲルに付着した赤血球全てを洗い流すことができない。

【 0 0 5 9 】

本発明は、これらの問題を緩和することを目的とする。

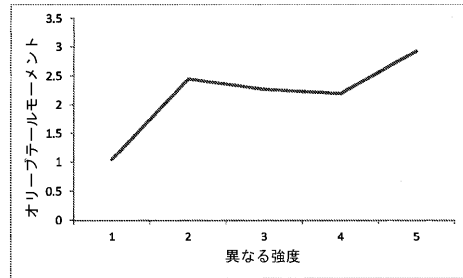
40

【 図 1 】



健康対照群： 10人
 前がん： 合計10人中、前立腺がんの疑い7人、
 ポリープ症1人、COPD（慢性閉塞性肺疾患）2人
 がん： 合計10人中、肺がん3人、乳がん1人、大腸がん4人、前立腺がん2人

【 図 2 】



1. 通常のコメットアッセイを使用した、UVA処理前の健康対照群（冷凍全血）のリンパ球のDNA損傷
2. 通常のコメットアッセイを使用した、約1.20mW/cm²のUVA強度による、健康対照群（冷凍全血）のリンパ球のDNA損傷
3. 通常のコメットアッセイを使用した、約0.80mW/cm²のUVA強度による、健康対照群（冷凍全血）のリンパ球のDNA損傷
4. 通常のコメットアッセイを使用した、約0.50mW/cm²のUVA強度による、健康対照群（冷凍全血）のリンパ球のDNA損傷
5. 通常のコメットアッセイを使用した、約0.20mW/cm²のUVA強度による、健康対照群（冷凍全血）のリンパ球のDNA損傷

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/GB2013/052365

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N33/49 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, INSPEC, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	SAHA ET AL: "Quantification of DNA repair capacity in whole blood of patients with head and neck cancer and healthy donors by comet assay", MUTATION RESEARCH. GENETIC TOXICOLOGY AND ENVIRONMENTAL MUTAGENESIS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 650, no. 1, 18 October 2007 (2007-10-18), pages 55-62, XP022420767, ISSN: 1383-5718, DOI: 10.1016/J.MRGENTOX.2007.10.004 the whole document In particular: Title; Abstract; Materials and Methods section. ----- -/--	1-24
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
18 October 2013		30/10/2013
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer C.F. Angioni

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/GB2013/052365

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FRANCESCA MARCON ET AL: "Assessment of individual sensitivity to ionizing radiation and DNA repair efficiency in a healthy population", MUTATION RESEARCH/GENETIC TOXICOLOGY AND ENVIRONMENTAL MUTAGENESIS, vol. 541, no. 1-2, 1 November 2003 (2003-11-01), pages 1-8, XP55084279, ISSN: 1383-5718, DOI: 10.1016/S1383-5718(03)00171-2 the whole document In particular: Abstract; Materials and methods section.	1-24
X	----- VERA GARAJ-VRHOVAC, DAVOR ZELJEZIC: "Comet assay in the assessment of the human genome damage induced by [gamma]-radiation in vitro", RADIOLOGY AND ONCOLOGY, vol. 38, no. 1, 1 January 2004 (2004-01-01), pages 43-47, XP55084277, ISSN: 1318-2099 the whole document In particular: Abstract; Materials and methods section.	1-24
X	----- IAN D LOGAN ET AL: "A comparison between the application of the comet assay and an immunochemical DNA damage assay on the level of DNA damage within X-ray irradiated human whole blood", S86 BIOCHEMICAL SOCIETY TRANSACTIONS, 1 January 1998 (1998-01-01), page 26, XP55084284, the whole document -----	1-24

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ

(72)発明者 ダイアナ アンダーソン
イギリス国 ヨークシャー ビーディー4 6イーピー ウェスト ヨークシャー ビアリー メ
ドークロフト ライズ 8

(72)発明者 モジガン ナジャフザデー
イギリス国 ウェスト ヨークシャー エイチディー2 2ジーエイ ハダースフィールド ロー
ズ ヒル ドライブ 3

(72)発明者 モーガン クライヴ トーマス デンヤー
イギリス国 ウェスト ヨークシャー ビーディー13 3キューユー ブラッドフォード ソー
ントン バック レーン 85

Fターム(参考) 2G045 AA01 AA26 BA13 BA14 BB60 CA02 CA25 DA13 FA16 FA27
4B063 QA17 QA18 QA19 QQ03 QQ42 QR32 QR66 QR72 QR77 QS16
QS28 QS36 QS39 QX02