

【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1月18日 (2018.1.18)

【公表番号】特表2017-522890(P2017-522890A)

【公表日】平成29年8月17日 (2017.8.17)

【年通号数】公開・登録公報2017-031

【出願番号】特願2017-504814(P2017-504814)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 14/71 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2018.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 A

C 0 7 K 14/71 Z N A

C 1 2 Q 1/68 A

A 6 1 K 39/395 N

A 6 1 K 39/395 T

A 6 1 P 35/00

【手続補正書】

【提出日】平成29年12月4日 (2017.12.4)

【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】

17～100 アミノ酸長を有し、以下の配列番号 13 の配列を含む、ペプチド配列：

$$X^1 S L K E I S D G D V I I X^4 X^5 N X^2$$

式中、

$X^1$  は R 及び C から選択され；

$X^4$  は S 及び L から選択され；

$X^5$  は G 及び R から選択され；

$X^2$  は K 及び T から選択され；並びに

$X^1$ 、 $X^4$ 、 $X^5$ 、及び  $X^2$  の少なくとも 1 つは、それぞれ C、L、R、又は T である。

【請求項 2】

17～100 アミノ酸長を有し、以下の配列番号 1 の配列を含む、請求項 1 に記載のペプチド配列：

$$X^1 S L K E I S D G D V I I S G N X^2$$

式中、

$X^1$  は R 及び C から選択され；

$X^2$  は K 及び T から選択され；並びに

$X^1$  が C である場合、 $X^2$  は、K 及び T から独立して選択され、 $X^1$  が R である場合、 $X^2$  は T である。

【請求項 3】

前記ペプチドが、更に以下の配列番号 4 の配列を含む、請求項 1 又は 2 に記載のペプチド：

N L C Y A N T I N W K K L F G T S G G K T K I I  $X^3$

式中、

$X^3$  は S 及び R から選択される。

【請求項 4】

以下の配列番号 5 の配列を含む、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載のペプチド配列：

$X^1$  S L K E I S D G D V I I S G N  $X^2$  N L C Y A N T I N W K K L F G T S G G K T K I I  $X^3$

式中、

$X^1$ 、 $X^2$ 、及び  $X^3$  は請求項 1 及び 2 と同じ意味であり、

$X^1$  が C である場合、 $X^2$  は K 及び T から独立して選択され、 $X^1$  が R である場合、 $X^2$  は T である。

【請求項 5】

以下の配列番号 1 4 の配列を含む、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載のペプチド配列：

$X^1$  S L K E I S D G D V I I  $X^4$   $X^5$  N  $X^2$  N L C Y A N T I N W K K L F G T S G G K T K I I  $X^3$

式中、

$X^1$ 、 $X^2$  及び  $X^3$ 、 $X^4$  及び  $X^5$  は請求項 1、2 及び 3 と同じ意味であり、

$X^1$ 、 $X^4$ 、 $X^5$ 、及び  $X^2$  の少なくとも 1 つは、それぞれ C、L、R、又は T である。

【請求項 6】

配列番号 1 又は配列番号 1 3 をコードする配列を含むオリゴヌクレオチド。

【請求項 7】

配列番号 4 を更にコードする、請求項 6 に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項 8】

配列番号 5 又は配列番号 1 4 をコードする配列を含む、請求項 6 又は 7 に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項 9】

配列番号 6 ( C A A A G T T T T C A G G G A T A C A T T G T T T T T ) 及び配列番号 7 ( T T A A A T G G G A A T A G C C C T T C A A T A T T ) からなるプライマーセット。

【請求項 10】

請求項 9 に記載のプライマーセット及び / 又は請求項 6 ～ 8 のいずれか 1 項に記載のオリゴヌクレオチドを含むキット。

【請求項 11】

更に、K R A S 及び / 又は P I K 3 C A、及び / 又は B R A F 遺伝子の変異、及び / 又は E G F R 遺伝子内の追加の変異を検出するための試薬を含む、請求項 10 に記載のキット。

**【請求項 12】**

抗 - E G F R モノクローナル抗体を含む治療レジメンに対する対象の応答性の予測に使用するための、請求項 10 又は 11 に記載のキット。

**【請求項 13】**

前記治療レジメンがセツキシマブ及び / 又はパニツムマブを含む、請求項 12 に記載の使用のためのキット。

**【請求項 14】**

インビトロで、セツキシマブ及び / 又はパニツムマブを含む治療レジメンに対する対象の応答性を予測する方法であって、

( i ) 遺伝子型法、及び / 又はタンパク質シーケンシング法からなる群から選択される手段によって、対象から得た試料において、配列番号 2 のヒト E G F R のコンセンサス野生型アミノ酸配列のアミノ酸 450 からアミノ酸 470 の断片である、配列番号 12 で定義される断片中に変異が存在するか存在しないかを決定し、

( i i ) 工程 ( i ) において同定された任意の変異の存在を、セツキシマブを含む治療レジメンに対する対象の耐性と関連付けるか、又は工程 ( i ) における変異の非存在を、パニツムマブを含む治療レジメンに対する対象の応答性と関連付けることを含む、方法。

**【請求項 15】**

工程 ( i ) において、配列番号 12 中に以下の変異の少なくとも 1 つが存在するか存在しないかを決定する、請求項 14 に記載のインビトロでの方法：

配列番号 2 の 451 位におけるアルギニンのシステインへの変化；

配列番号 2 の 464 位におけるセリンのロイシンへの変異；

配列番号 2 の 465 位におけるグリシンのアルギニンへの変異；及び

配列番号 2 の 467 位におけるリシンのスレオニンへの変異。

**【請求項 16】**

工程 ( i ) を、請求項 9 に記載のプライマーセット又は請求項 10 若しくは 11 に記載のキットを用いて実施する、請求項 14 又は 15 に記載のインビトロでの方法。

**【請求項 17】**

工程 ( i ) が配列番号 2 に対応するアミノ酸配列の 492 位におけるアルギニンの存在又は非存在を決定することを更に含み、工程 ( i i ) において、工程 ( i ) において同定されたアルギニンの更なる存在を、セツキシマブを含む治療レジメンに対する対象の耐性と関連付ける、請求項 14 ~ 16 のいずれか 1 項に記載のインビトロでの方法。

**【請求項 18】**

対象から得た試料中、配列番号 2 に対応するアミノ酸配列の 451 位におけるシステインの存在又は非存在；及び / 又は配列番号 2 に対応するアミノ酸配列の 464 位におけるロイシンの存在又は非存在；及び / 又は配列番号 2 に対応するアミノ酸配列の 465 位におけるアルギニンの存在又は非存在；及び / 又は配列番号 2 に対応するアミノ酸配列の 467 位におけるスレオニンの存在又は非存在を同定するインビトロでの方法であって、配列番号 2 の少なくとも 450 位から 470 位の配列を決定することを含む、方法。

**【請求項 19】**

対象から得た試料中、配列番号 2 に対応するアミノ酸配列の 451 位におけるシステインの存在又は非存在；及び / 又は配列番号 2 に対応するアミノ酸配列の 464 位におけるロイシンの存在又は非存在；及び / 又は配列番号 2 に対応するアミノ酸配列の 465 位におけるアルギニンの存在又は非存在；及び / 又は配列番号 2 に対応するアミノ酸配列の 467 位におけるスレオニンの存在又は非存在を同定するインビトロでの方法であって、

遺伝子型法及び / 又はタンパク質シーケンシング法からなる群から選択される手段により、451 位及び / 又は 464 位及び / 又は 465 位及び / 又は 467 位におけるアミノ酸を決定することを含む、方法。

**【手続補正 2】**

**【補正対象書類名】** 明細書

**【補正対象項目名】** 0055

## 【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0055】

【図1】従来のサンガー配列決定（プロットA）、及び454 GS Junior platform（Roche Applied Science、Mannheim、Germany）における、次世代配列決定（NGS）によって得られた配列決定の結果の2つの表示のプロット（plot B）である。図1は、2つの試料においてセツキシマブで治療した後のEGFR外部ドメインにおける突然変異の獲得を示す。（A）患者#31では、治療後の腫瘍試料において、治療前生検では存在しなかったEGFR遺伝子のヌクレオチド1400でA→C置換が得られ、アミノ酸467でリシンのスレオニンへの置換が起こった（K467T）。（B）患者#35では、治療後の腫瘍試料において、EGFR遺伝子のヌクレオチド1351でC→T置換が検出され、アミノ酸451でアルギニンのシステインへの置換が起こった（R451C）。

【図2】一次抗体としてセツキシマブ（図2A）又はパニツムマブ（図2B）と共にインキュベートし、ヒトIgGに対するフィコエリトリンと結合した二次抗体を使用した、トリプシン処理されたNIH3T3過剰発現野生型EGFR（wtEGFR）及びK467T EGFR変異体のフローサイトメトリー結合分析である。Cは計数を意味し、FL2Hは、フィコエリトリン（PE）蛍光を検出するために使用される $585 \pm 21$ の帯域通過を有する蛍光検出の第2のチャンネルにおける最大シグナル強度を示し、Eは陰性対照を意味する。

【図3】一次抗体としてセツキシマブ（図3A）又はパニツムマブ（図3B）と共にインキュベートし、ヒトIgGに対するフィコエリトリンと結合した二次抗体を使用した、トリプシン処理されたNIH3T3過剰発現野生型EGFR（wtEGFR）及びS464L EGFR変異体のフローサイトメトリー結合分析である。Cは計数を意味し、FL2Hは、フィコエリトリン（PE）蛍光を検出するために使用される $585 \pm 21$ の帯域通過を有する蛍光検出の第2のチャンネルにおける最大シグナル強度を示し、Eは陰性対照を意味する。

【図4】一次抗体としてセツキシマブ（図4A）又はパニツムマブ（図4B）と共にインキュベートし、ヒトIgGに対するフィコエリトリンと結合した二次抗体を使用した、トリプシン処理されたNIH3T3過剰発現野生型EGFR（wtEGFR）及びG465R EGFR変異体のフローサイトメトリー結合分析を示す。Cは計数を意味し、FL2Hは、フィコエリトリン（PE）蛍光を検出するために使用される $585 \pm 21$ の帯域通過を有する蛍光検出の第2のチャンネルにおける最大シグナル強度を示し、Eは陰性対照を意味する。