

【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18年5月18日(2006.5.18)

【公表番号】特表2004-500895(P2004-500895A)

【公表日】平成16年1月15日(2004.1.15)

【年通号数】公開・登録公報2004-002

【出願番号】特願2002-504687(P2002-504687)

【国際特許分類】

C 12 N 15/09 (2006.01)

C 12 Q 1/68 (2006.01)

G 01 N 33/574 (2006.01)

【F I】

C 12 N 15/00 Z N A A

C 12 Q 1/68 A

G 01 N 33/574 A

【手続補正書】

【提出日】平成18年3月22日(2006.3.22)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

肺癌の鑑別方法であって、

患者から血液または非肺組織を単離すること、

シンデカン1、コラーゲン1 2、7013および7018からなる群から選択される少なくとも1つのマーカーの存在を判別すること、を含む方法。

【請求項2】

マーカーであるサイトケラチン-19の存在を判別することをさらに含む、請求項1記載の方法。

【請求項3】

少なくとも2つのマーカーを判別する、請求項1記載の方法。

【請求項4】

3つ以上のマーカーが判別される、請求項2記載の方法。

【請求項5】

前記判別が、RT-PCRによる、請求項1記載の方法。

【請求項6】

前記判別が、抗体結合による、請求項1記載の方法。

【請求項7】

前記患者が、哺乳動物である、請求項1記載の方法。

【請求項8】

前記哺乳動物が、ヒト、イヌまたはネコである、請求項7記載の方法。

【請求項9】

転移性癌細胞を単離または除去する方法であって、

癌細胞を含む細胞または非肺組織をシンデカン1、コラーゲン1 2、7013および7018からなる群から選択される少なくとも1つのマーカーに特異的な抗体で処理すること、を含む方法。

【請求項 10】

マーカーサイトケラチン - 18 に特異的な抗体をさらに含む、請求項 9 記載の方法。

【請求項 11】

前記抗体が、金属粒子、蛍光粒子、クロマトグラフィービーズ、クロマトグラフィーゲルおよび固体支持体からなる群から選択される部分に結合される、請求項 9 記載の方法。

【請求項 12】

2つのマーカーを用いる、請求項 9 記載の方法。

【請求項 13】

3つ以上のマーカーを用いる、請求項 9 記載の方法。

【請求項 14】

配列番号 16 (p 7 0 1 3)の少なくとも 17 個のヌクレオチドを含むポリヌクレオチド。

【請求項 15】

配列番号 17 (p 7 0 1 8)の少なくとも 17 個のヌクレオチドを含むポリヌクレオチド。

【請求項 16】

患者における固形腫瘍の転移の鑑別方法であって、

前記患者から血液または骨髄を単離すること、および

シンデカン 1、コラーゲン 1 ～ 2、7013 および 7018 からなる群から選択される少なくとも 1 つのマーカーの存在を判別すること、を含む方法。

【請求項 17】

前記固形腫瘍が、胆管、結腸、乳房、子宮、食道および喉頭からなる群から選択される、請求項 16 記載の方法。

【請求項 18】

癌腫の鑑別方法であって、

癌細胞を得ること、および

7013、7018 およびその両方からなる群から選択されるマーカーの存在を判別すること、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】0008

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0008】

さらなる実施形態は、マーカー 7013 として本明細書中でも同定される配列番号 16 の少なくとも 17 個のヌクレオチドを含むポリヌクレオチドである。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0009

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0009】

さらなる実施形態は、マーカー 7018 として本明細書中でも同定される配列番号 17 の少なくとも 17 個のヌクレオチドを含むポリヌクレオチドである。

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0037

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0037】

実施例 2

候補遺伝子

候補マーカーを表1に示す。見出された第1の候補マーカーをシンデカン1遺伝子(ヌクレオチド配列P u b M e d アクセッション番号B C 0 0 8 7 6 5、タンパク質配列アクセッション番号A A H 0 8 7 6 5)と同定した。図6は、s-A F L Pによりもたらされた断片の配列を提示する(配列番号18)。この配列のb l a s t検索は、シンデカン1遺伝子(g e n b a n k アクセッション番号Z 4 8 1 9 9)のエキソン2~6に相当した。シンデカン1は、細胞外マトリックスおよび成長因子と結合するプロテオグリカンのファミリーからの細胞表面膜貫通ヘパラン硫酸プロテオグリカンである。いくつかの癌において、この遺伝子の調節の不全が明らかにされた。

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 3 8

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 3 8】

次の候補は、コラーゲン1 2と同定した(ヌクレオチド配列P u b M e d アクセッション番号J 0 0 1 1 4、タンパク質配列アクセッション番号A A A 5 1 9 9 6)。図7は、s-A F L Pにより提供された旧断片(配列番号20)ならびに新規断片(配列番号19)の配列を提供する。この配列のb l a s t検索は、コラーゲンプロ-2(1)遺伝子(g e n b a n k アクセッション番号J 0 3 4 6 4)のエキソン1に相当した。これは、特に肺における広範発現遺伝子である。当該遺伝子が脂肪芽細胞腫におけるP L A G 1(多形腺腫遺伝子1)との融合タンパク質として関わることは興味深い。

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 3 9

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 3 9】

第3の候補は、7 0 1 3(配列番号16)と呼ばれ、E S T データベースに対して検索した場合、新規遺伝子と同定された。図8は、s-A F L Pから得られる断片の配列(配列番号21)を示す。この断片を用いて、プライマー伸長法により大型断片を同定した(配列番号16)。この大型断片をp C R I I中にクローニングし、その結果生じたプラスミドp 7 0 1 3は、ブダペスト条約下で、8 2 2 0 8 0 4 3 7 7 7 8のラベルを付したF E D E X発送により2 0 0 1年6月2 1日にA T C C(B e t h e s d a, M a r y l a n d, U S A)に寄託され、A T C Cアクセッション番号を割り当てられた。c D N Aライブラリーから大型クローンを単離し、プラスミドp 7 0 1 3 / 1 2は、ブダペスト条約下で、8 2 2 0 8 0 4 3 7 7 7 8のラベルを付したF E D E X発送により2 0 0 1年6月2 1日にA T C C(B e t h e s d a, M a r y l a n d, U S A)に寄託され、A T C Cアクセッション番号を割り当てられた。プラスミドは、p C M V 6 - X L 4中に約2 2 0 0 塩基の挿入物を有する。B L A S T検索の実行に際して、最高の相同性を示すE S T(G e n B a n k アクセッション番号A K 0 0 2 2 0 8)、およびゲノムクローン(G e n B a n k アクセッション番号A L 0 3 5 4 0 8)を同定した。配列は任意の既知の遺伝子とのいかなる相同性も示さないが、いくつかの上皮癌において増幅を受けると報告されている領域である染色体1のq 3 2領域に局在した。

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 4 0

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0040】

次の候補は7018（配列番号17）と呼ばれ、これも新規の遺伝子である。図9は、s-AFLPから得られる断片の配列を提示する（配列番号22）。この配列を用いて、cDNAにプライマー伸長して、大型断片を得た（配列番号17）。この大型断片をプラスミドpCRII中でクローニングし、その結果生じたプラスミドp7018は、ブダペスト条約下で、822080437778のラベルを付したFEDEX発送により2001年6月21日にATCC（Bethesda, Maryland, USA）に寄託され、ATCCアクセッション番号を割り当てられた。BLAST検索の実行に際して、最高の相同性を示したが、既知の遺伝子とのいかなる相同性も示さない2つのEST（GenBankアクセッション番号AW956727およびAW452795）を同定した。さらにそれは、今までのところいかなる染色体領域にも局在化されていない。

【手続補正8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】追加

【補正の内容】

【配列表】

2004500895000001.app