

【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7月5日(2018.7.5)

【公表番号】特表2017-529094(P2017-529094A)

【公表日】平成29年10月5日(2017.10.5)

【年通号数】公開・登録公報2017-038

【出願番号】特願2017-522732(P2017-522732)

【国際特許分類】

|         |        |           |
|---------|--------|-----------|
| C 1 2 N | 15/09  | (2006.01) |
| C 1 2 Q | 1/68   | (2018.01) |
| C 1 2 M | 1/34   | (2006.01) |
| C 1 2 N | 15/113 | (2010.01) |
| G 0 1 N | 33/53  | (2006.01) |
| G 0 1 N | 33/574 | (2006.01) |
| A 6 1 P | 35/00  | (2006.01) |
| A 6 1 P | 43/00  | (2006.01) |
| A 6 1 K | 45/00  | (2006.01) |

【F I】

|         |        |         |
|---------|--------|---------|
| C 1 2 N | 15/00  | Z N A A |
| C 1 2 Q | 1/68   | A       |
| C 1 2 M | 1/34   | B       |
| C 1 2 N | 15/00  | G       |
| G 0 1 N | 33/53  | M       |
| G 0 1 N | 33/574 | Z       |
| A 6 1 P | 35/00  |         |
| A 6 1 P | 43/00  | 1 1 1   |
| A 6 1 K | 45/00  |         |

【手続補正書】

【提出日】平成30年5月23日(2018.5.23)

【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】

単一細胞クローンに由来する細胞集団を含むB R A F陽性癌に罹患している対象が、B R A F阻害剤に対する非レスポンダーであるか否か、及び/又はM A P K / E R K阻害剤に対するレスポンダーであるかを同定する方法であって、以下のステップ：

(a) 該対象のサンプル中の少なくともN R A S遺伝子内の少なくとも1つの突然変異の存在又は不存在を特定し；そして

(b) N R A S遺伝子内の少なくとも1つの突然変異が特定された場合、該対象がB R A F阻害剤に対する非レスポンダー及びM A P K / E R K阻害剤に対するレスポンダーであると同定すること、

を含む方法。

【請求項2】

前記方法が、B R A F遺伝子内の少なくとも1つの突然変異の存在又は不存在を特定し、それによって、前述の少なくとも1つの突然変異の存在が、対象がB R A F阻害剤に対

する非レスポンダーであり、且つ、MAPK / ERK 阻害剤に対するレスポンダーであると更に同定することを更に含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記 BRAF 陽性癌が黒色腫瘍である、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記単一細胞クローニング由来する細胞集団の細胞が、BRAF 遺伝子内の少なくとも 1 つの突然変異及び NRAS 遺伝子内の少なくとも 1 つの突然変異をそれらのゲノム内に含んでいる、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 5】

前記 BRAF 阻害剤が BRAF 活性の小分子阻害剤であり、好ましくは、LGX818、PLX4032、及び / 又は GSK2118436 である、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

前記 MAPK / ERK 阻害剤が MEK 又は ERK 活性の小分子阻害剤であり、そして好ましくは、GSK1120212、MEK162 であり、そして前記 ERK 活性の阻害剤が SCH772984 である、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

前記 NRAS 遺伝子の突然変異が、ヒト NRAS タンパク質のエクソン 2 のアミノ酸 61 に相当する位置におけるアミノ酸置換をもたらす、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

前記アミノ酸置換が、グルタミンからリジンへの置換 (Q61K)、グルタミンからアルギニンへの置換 (Q61R)、又はグルタミンからロイシンへの置換 (Q61L) である、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記 BRAF 遺伝子の突然変異が、ヒト BRAF タンパク質のエクソン 15 のアミノ酸 600 に相当する位置におけるアミノ酸置換をもたらす、請求項 2 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 10】

前記アミノ酸置換が、バリンからグルタマートへの置換 (V600E)、バリンからリジンへの置換 (V600K)、バリンからアルギニンへの置換 (V600R)、又はバリンからアスパラギン酸への置換 (V600D) である、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

NRAS 核酸の触媒サブユニットのエクソン 2 内の少なくとも 1 つの突然変異の存在を、以下のステップ :

a ) 対象からのサンプル中の核酸を、以下の :

GGTGAAACCTGTTGTTGGACAT (配列番号 7) ;

TGTATTGGTCCTCATGGCAC TGT (配列番号 8) ;

GATAGGCCAGAAATGGGC TTGA (配列番号 9) ; 及び

ATC ATCC T T CAGAGAAAATAATGC (配列番号 10) ;

から成る群から選択される遺伝子座特異的オリゴヌクレオチドの 1 以上と接触させ ;

b ) NRAS 核酸内のその標的配列へのオリゴヌクレオチドの特異的なハイブリダイゼーションを可能にする条件下でサンプルをインキュベートし ;

c ) 前記ハイブリダイゼーションを検出し ; そして

d ) ステップ c ) で検出された前記ハイブリダイゼーションに基づいて少なくとも 1 つの突然変異を特定すること、

によって特定する、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 12】

前記ステップ b ) が、次のオリゴヌクレオチドプライマー : 配列番号 11 を有するフォワードオリゴヌクレオチドプライマー及び配列番号 12 を有するリバースオリゴヌクレオ

チドプライマー、のうちの一方又はその両方を用いてサンプル中のN R A S核酸を増幅することによって、N R A S核酸内の標的配列を含む増幅産物を作り出すステップを更に含む、請求項11に記載の方法。

#### 【請求項13】

前記B R A F核酸の触媒サブユニットのエクソン15内の少なくとも1つの突然変異の存在を、以下のステップ：

a) 対象からのサンプルの核酸を、以下の：

C T A A G A G G G A A A G A T G A A G T A C T A T G (配列番号1)；

C T A G T A A C T C A G C A G C A T C T C A G (配列番号2)；

C T A C T G T T T C C T T A C T T A C T A C A C C T C A G A (配列番号3)；

及び

A T C C A G A C A A C T G T T C A A A C T G A T (配列番号4)；

から成る群から選択される遺伝子座特異的オリゴヌクレオチドの1以上と接触させ；

b) B R A F核酸内のその標的配列へのオリゴヌクレオチドの特異的なハイブリダイゼーションを可能にする条件下でサンプルをインキュベートし；

c) 前記ハイブリダイゼーションを検出し；そして

d) ステップc)で検出された前記ハイブリダイゼーションに基づいて少なくとも1つの突然変異を特定すること、

によって特定する、請求項2～12のいずれか1項に記載の方法。

#### 【請求項14】

前記ステップb)が、次のオリゴヌクレオチドプライマー：配列番号5を有するフォワードオリゴヌクレオチドプライマー及び配列番号6を有するリバースオリゴヌクレオチドプライマー、の一方又はその両方を用いてサンプル中のN R A S核酸を増幅することによって、B R A F核酸内の標的配列を含む増幅産物を作り出すステップを更に含む、請求項13に記載の方法。

#### 【請求項15】

前記方法が、対象がB R A F阻害剤に対するレスポンダーであるとして、且つ、M A P K / E R K阻害剤に対するレスポンダーであるとして同定された場合に、M A P K / E R K阻害剤の投与を対象に推奨することを更に含む、請求項1～14のいずれか1項に記載の方法。

#### 【請求項16】

単一細胞クローニングに由来する細胞集団を含むB R A F陽性癌に罹患している対象を処置するのに使用するM A P K / E R K阻害剤であって、それによって、前述の癌が、(i) N R A S遺伝子内に少なくとも1つの突然変異を少なくとも有するか、又は(ii) N R A S遺伝子内の少なくとも1つの突然変異及びB R A F遺伝子内の少なくとも1つの突然変異を少なくとも有することがわかっているM A P K / E R K阻害剤。

#### 【請求項17】

単一細胞クローニングに由来する癌に罹患していることが疑われた対象のサンプルにおいて癌を診断する方法であって、以下のステップ：

a) 2つの以下のプライマーオリゴヌクレオチド：

C T A A G A G G G A A A G A T G A A G T A C T A T G (配列番号1)；

C T A G T A A C T C A G C A G C A T C T C A G (配列番号2)；

C T A C T G T T T C C T T A C T T A C T A C A C C T C A G A (配列番号3)；

及び／又は

A T C C A G A C A A C T G T T C A A A C T G A T (配列番号4)、

並びに2つの以下のプライマーオリゴヌクレオチド：

G G T G A A A C C T G T T G T T G G A C A T (配列番号7)；

T G T A T T G G T C T C T C A T G G C A C T G T (配列番号8)；

G A T A G G C A G A A A T G G G C T T G A (配列番号9)；及び／又は

A T C A T C C T T C A G A G A A A T A A T G C (配列番号10)；

を用いてサンプル中の核酸を増幅することによって、B R A F 核酸及びN R A S 核酸内の標的配列を含む 1 若しくは複数の増幅産物を作り出し：

b ) 以下の突然変異特異的 B R A F オリゴヌクレオチド：

C T A A G A G G A A A G A T G A A G T A C T A T G ( 配列番号 1 ) ;

C T A G T A A C T C A G C A G C A T C T C A G ( 配列番号 2 ) ;

C T A C T G T T T C C T T A C T T A C T A C A C C T C A G A ( 配列番号 3 ) ;

及び / 又は

A T C C A G A C A A C T G T T C A A A C T G A T ( 配列番号 4 ) ;

の 1 以上、並びに以下の位置特異的 N R A S オリゴヌクレオチド：

G G T G A A A C C T G T T G T T G G A C A T ( 配列番号 7 ) ;

T G T A T T G G T C T C T C A T G G C A C T G T ( 配列番号 8 ) ;

G A T A G G C A G A A A T G G G C T T G A ( 配列番号 9 ) ; 及び / 又は

A T C A T C C T T C A G A G A A A A T A A T G C ( 配列番号 10 ) ;

の 1 以上と、核酸サンプルを接触させ；

c ) B R A F 核酸及びN R A S 核酸内のそれらのそれぞれの標的配列へのオリゴヌクレオチドの特異的なハイブリダイゼーションを可能にする条件下でサンプルをインキュベートし；

d ) 前記ハイブリダイゼーションを検出し、それによって、癌が診断されること、を含む方法。

#### 【請求項 1 8】

单一細胞クローニングに由来する癌を診断するためのキットの使用であって、前記キットが

次のオリゴヌクレオチド：

C T A A G A G G A A A G A T G A A G T A C T A T G ( 配列番号 1 ) ;

C T A G T A A C T C A G C A G C A T C T C A G ( 配列番号 2 ) ;

C T A C T G T T T C C T T A C T T A C T A C A C C T C A G A ( 配列番号 3 ) ;

A T C C A G A C A A C T G T T C A A A C T G A T ( 配列番号 4 ) ;

G G T G A A A C C T G T T G T T G G A C A T ( 配列番号 7 ) ;

T G T A T T G G T C T C T C A T G G C A C T G T ( 配列番号 8 ) ;

G A T A G G C A G A A A T G G G C T T G A ( 配列番号 9 ) ; 及び

A T C A T C C T T C A G A G A A A A T A A T G C ( 配列番号 10 ) ;

を含む、使用。

#### 【請求項 1 9】

单一細胞クローニングに由来する癌に罹患していることが疑われる対象のサンプルにおいて癌を診断するため、及び / 又は单一細胞クローニングに由来する細胞集団を含む B R A F 陽性癌に罹患している対象が、B R A F 阻害剤に対する非レスポンダーであるか否か、及び / 又は M A P K / E R K 阻害剤に対するレスポンダーであるかどうか同定するためのデバイスの使用であって、前記デバイスが、以下の：

( i ) 以下の突然変異特異的 B R A F オリゴヌクレオチド：

C T A A G A G G A A A G A T G A A G T A C T A T G ( 配列番号 1 ) ;

C T A G T A A C T C A G C A G C A T C T C A G ( 配列番号 2 ) ;

C T A C T G T T T C C T T A C T T A C T A C A C C T C A G A ( 配列番号 3 ) ;

及び / 又は

A T C C A G A C A A C T G T T C A A A C T G A T ( 配列番号 4 ) 、

のうちの 1 以上、並びに以下の位置特異的 N R A S オリゴヌクレオチド：

G G T G A A A C C T G T T G T T G G A C A T ( 配列番号 7 ) ;

T G T A T T G G T C T C T C A T G G C A C T G T ( 配列番号 8 ) ;

G A T A G G C A G A A A T G G G C T T G A ( 配列番号 9 ) ; 及び / 又は

A T C A T C C T T C A G A G A A A A T A A T G C ( 配列番号 10 ) 、

のうちの 1 以上を含む分析ユニット；及び

( i i ) B R A F 及び N R A S 核酸の前記オリゴヌクレオチドへの特異的なハイブリダイゼーションを検出することができる検出装置、  
を含む、使用。

【請求項 20】

対象において標的療法に対して応答性を評価する方法であって、以下ステップ：

- a ) 対象から単一細胞クローニングに由来するサンプルを調製し；
- b ) B R A F 及び N R A S 遺伝子内の突然変異の存在についてサンプルを試験し、ここで、該試験は、選択的増幅、プローブハイブリダイゼーション又は核酸シークエンシングから成る群から選択される方法のうちの 1 つによって実施され；
- c ) N R A S 及び B R A F 遺伝子内に突然変異が検出された場合、M A P K / E R K 阻害剤に対して応答性及び B R A F 阻害剤に対して非応答性を特定すること、  
を含む方法。

【請求項 21】

対象において癌を評価する方法であって、以下のステップ：

- a ) 核酸を含んでいる対象からの単一細胞クローニングに由来するサンプルを調製し；
- b ) サンプル中の核酸を、B R A F 及び N R A S 遺伝子内の突然変異に特異的な核酸プローブと接触させ；
- c ) N R A S 及び B R A F 遺伝子内に突然変異が検出された場合、M A P K / E R K 阻害剤に対して応答性であり、且つ、B R A F 阻害剤に対して非応答性であるとして癌を評価すること、  
を含む方法。