

【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 6 部門第 1 区分

【発行日】平成25年12月5日(2013.12.5)

【公表番号】特表2013-508728(P2013-508728A)

【公表日】平成25年3月7日(2013.3.7)

【年通号数】公開・登録公報2013-012

【出願番号】特願2012-535336(P2012-535336)

【国際特許分類】

G 0 1 N 33/543 (2006.01)

G 0 1 N 37/00 (2006.01)

G 0 1 N 33/50 (2006.01)

G 0 1 N 33/15 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

G 0 1 N 33/566 (2006.01)

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/02 (2006.01)

A 6 1 K 31/506 (2006.01)

【F I】

G 0 1 N 33/543 5 0 1 D

G 0 1 N 37/00 1 0 2

G 0 1 N 33/50 Z

G 0 1 N 33/15 Z

G 0 1 N 33/53 D

G 0 1 N 33/566

A 6 1 K 45/00

A 6 1 P 35/02

A 6 1 K 31/506

【手続補正書】

【提出日】平成25年10月15日(2013.10.15)

【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】

発癌性融合タンパク質のレベル又は活性化状態を決定する方法であって、前記方法は、以下の工程を含む：

(a) 細胞抽出物中に存在する第 1 の全長タンパク質を、前記第 1 全長タンパク質と第 1 結合成分とを含む複合体に変換するのに適した条件下で、前記細胞抽出物を、前記第 1 全長タンパク質の第 1 ドメインに特異的な前記第 1 結合成分と接触させる工程であって、前記の第 1 全長タンパク質の第 1 ドメインは、第 2 の異なる全長タンパク質の第 1 ドメインに融合する前記第 1 全長タンパク質の第 2 の異なるドメインを含む対応する発癌性融合タンパク質に存在しない、前記工程；

(b) 前記細胞抽出物から工程 (a) からの前記複合体を除去し、前記第 1 全長タンパク質を含まない細胞抽出物を形成する工程；

(c) 前記細胞抽出物中に存在する前記発癌性融合タンパク質を、前記発癌性融合タンパク質と第 2、第 3 及び第 4 結合成分とを含む複合体に変換するのに適した条件下で、工程

(b) からの前記細胞抽出物を、第2、第3及び第4結合成分と接触させる工程であって、
 前期第2結合成分は前記第1全長タンパク質の前記第2の異なるドメインに特異的であり、
前記第2結合成分がアドレス可能なアレイにおける固体支持体上に拘束されており、前記第3結合成分が、促進成分を用いて標識化されており、そして、下記の内の1つに特異的であり：

(i) 第2の異なる全長タンパク質の第1ドメイン；

(i i) 前記第1全長タンパク質の第2の異なるドメイン；又は

(i i i) 前記第1全長タンパク質の前記第2の異なるドメインと前記第2の異なる全長タンパク質の前記第1ドメインとの間の融合部位、

前記第4結合成分が、シグナル増幅対の第1メンバーを用いて標識化されており、そして前記第2の異なる全長タンパク質の前記第1ドメインに特異的であり、そして

前記促進成分が、前記シグナル増幅対の第1メンバーへチャネリングしかつ前記シグナル増幅対の第1メンバーと反応する酸化剤を生成する、前記工程；

(d) 工程(c)からの前記複合体を、前記シグナル増幅対の第2メンバーとインキュベートして、増幅シグナルを生成する工程；及び

(e) 前記シグナル増幅対の第1及び第2メンバーから生成される増幅シグナルを検出し、それによって前記発癌性融合タンパク質のレベル又は活性化状態を決定する工程。

【請求項2】

前記細胞抽出物が、サンプルから単離される細胞の抽出物を含み、前記サンプルは、全血、血清、血漿、尿、痰、気管支洗浄液、涙液、乳頭吸引液、リンパ液、唾液、微細針吸引液(FNA)、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されてもよい、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記サンプルが癌を有する患者から得られ、前期癌が、前記癌細胞中の染色体転座による発癌性融合タンパク質の形成によって、引き起こされるものであってよく、前記癌が、血液悪性腫瘍、骨原性肉腫、又は軟部組織肉腫であってもよく、

前記血液悪性腫瘍が、白血病又はリンパ腫であってもよく、

前記白血病が、慢性骨髄性白血病(CML)であってもよい、請求項2に記載の方法。

【請求項4】

前記の単離された細胞が、循環腫瘍細胞、白血球、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されるか、

前記の単離された細胞が、インビトロで、成長因子で刺激されるか、

前記の単離された細胞が、成長因子刺激の前に抗癌剤とインキュベートされるか、

前記の単離された細胞が成長因子刺激の後に溶解され、前記細胞抽出物を生成されるか、

前記の単離された細胞が溶解の前に洗浄されずに、前記細胞抽出物を生成させる、請求項2に記載の方法。

【請求項5】

前記発癌性融合タンパク質が、BCR-ABL、DEK-CAN、E2A-PBX1、RAR α -PML、IREL-URG、CBF β -MYH11、AML1-MTG8、EWS-FLI、LYT-10-C α 1、HRX-ENL、HRX-AF4、NPM-ALK、IGH-MYC、RUNX1-ETO、TEL-TRKC、TEL-AML1、MLL-AF4、TCR-RBTN2、COL1A1-PDGF、E2A-HLF、PAX3-FKHR、ETV6-NTRK3、RET-PTC、TMRSS-ERG、TPR-MET、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項1～4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項6】

前記発癌性融合タンパク質がBCR-ABLである、請求項1～4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項7】

前記第 1 全長タンパク質が B C R であるか、

前記第 1 全長タンパク質の前記第 1 ドメインが、B C R のカルボキシル末端領域 (B C R - C) を含むか、

前記第 1 全長タンパク質の前記第 2 の異なるドメインが、B C R のアミノ末端領域 (B C R - N) を含むか、

前記第 2 の異なる全長タンパク質が A B L であるか、

前記第 2 の異なる全長タンパク質の前記第 1 ドメインが、A B L のカルボキシル末端領域 (A B L - C) を含むか、

前記第 1 全長タンパク質が A B L であるか、

前記第 2 の異なる全長タンパク質が B C R である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記活性化状態が、リン酸化状態、ユビキチン化状態、複合体形成状態、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されるか、

1 以上のシグナル伝達分子のレベル又は活性化状態を決定することを更に含み、

前記の 1 以上のシグナル伝達分子が B C R - A B L 基質であってもよく、前記 B C R - A B L 基質が、C R K L、J A K 2、S T A T 5、V A V、B A P - 1、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されてもよい、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記第 1 結合成分が第 1 抗体を含み、

前記第 1 抗体が固体支持体に結合していてもよく、前記固体支持体が、ガラス、プラスチック、チップ、ピン、フィルター、ビーズ、紙、膜、繊維束、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されてもよい、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記第 2 の結合成分が第 2 抗体を含み、

前記第 2 抗体が固体支持体に結合していてもよく、前記固体支持体が、ガラス、プラスチック、チップ、ピン、フィルター、ビーズ、紙、膜、繊維束、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されてもよい、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

工程 (c) ~ (e) が、酵素結合免疫吸着測定法 (E L I S A)、フローサイトメトリー測定法、タグ選別測定法、又は近接二重検出アッセイを含み、前記 E L I S A が、サンドイッチ E L I S A を含んでいてもよく、前記フローサイトメトリー測定法が、蛍光活性化細胞選別 (F A C S) 測定法を含んでいてもよい、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

工程 (b) からの細胞抽出物を、第 2 結合成分の希釈系列と接触させ、前記発癌性融合タンパク質と前記第 2 結合成分とを含む複数の複合体を形成し、

前記第 3 及び第 4 結合成分が、第 3 及び第 4 抗体をそれぞれ含んでいてもよく、

第 3 及び第 4 抗体が、両方とも活性化状態非依存性抗体であってもよく前記シグナル増幅対の第 1 及び第 2 メンバーから生成される前記増幅シグナルが、前記発癌性融合タンパク質の総量と相関的であってもよい、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 13】

前記第 3 抗体が活性化状態非依存性抗体であり、そして前記第 4 抗体が活性化状態依存性抗体であり、

前記シグナル増幅対の第 1 及び第 2 メンバーから生成される前記増幅シグナルが、活性化した発癌性融合タンパク質の量と相関的であってもよい、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 14】

前記第 3 結合成分を、前記促進成分を用いて直接的に標識化するか、

前記第 4 結合成分を、前記シグナル増幅対の第 1 メンバーを用いて直接的に標識化するか、

前記第 2 検出抗体にコンジュゲートされる結合対の第 1 メンバーと、前記シグナル増幅対

の第1メンバーにコンジュゲートされる前記結合対の第2メンバーとの間の結合を介して、前記第4結合成分を、前記シグナル増幅対の第1メンバーを用いて標識化する、請求項1～13のいずれか一項に記載の方法。

【請求項15】

以下の工程を更に含む：

(f) 前記細胞抽出物中に存在する第2の異なる全長タンパク質を、前記第2の異なる全長タンパク質と第5結合成分とを含む複合体に変換するのに適した条件下で、前記細胞抽出物を、前記第2の異なる全長タンパク質の第2ドメインに特異的な前記第5結合成分と接触させる工程であって、前記第2の異なる全長タンパク質の第2ドメインが、前記発癌性融合タンパク質に存在しない、前記工程；及び

(g) 前記細胞抽出物から工程(f)からの前記複合体を除去し、前記第2の異なる全長タンパク質を含まない細胞抽出物を形成する工程であって、工程(f)を、工程(a)の前、中、又は後に実施する、前記工程、
請求項1～14のいずれか一項に記載の方法。

【請求項16】

前記第5結合成分が第5抗体を含んでいてもよく、前記第5抗体が固体支持体に結合していてもよく、前記固体支持体が、ガラス、プラスチック、チップ、ピン、フィルター、ビーズ、紙、膜、繊維束、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されてもよい、請求項15に記載の方法。

【請求項17】

癌を有し、且つ癌治療のための治療過程を受ける被験者において療法を最適化するため及び／又は毒性を減少するための方法であって、前記方法が以下の工程を含む：

(a) 抗癌剤の投与後に癌細胞を単離する工程；

(b) 前記単離された細胞を溶解し、細胞抽出物を生成する工程；

(c) 請求項1～16のいずれか一項に記載の方法に従って、前記細胞抽出物中の発癌性融合タンパク質についての発現及び／又は活性化のレベルを測定する工程；及び、

(d) 測定した前記発癌性融合タンパク質についての発現及び／又は活性化のレベルを、治療過程の間の初期に測定される前記発癌性融合タンパク質についての発現及び／又は活性化のレベルと比較する工程；及び

(e) 工程(d)からの比較に基づいて、被験者のための治療過程の今後の用量を決定するか、又は異なる治療過程を被験者に施すかどうかを決定する工程。

【請求項18】

前記発癌性融合タンパク質がBCR-ABLであるか、前記被験者が、治療過程を受ける前に、前記発癌性融合タンパク質を発現する癌細胞を有することを決定され、前記被験者がBCR-ABLについて陽性であってもよい、請求項17に記載の方法。

【請求項19】

発癌性融合タンパク質についての発現のレベルと活性化のレベルとの両方を、前記細胞抽出物中で測定し、

工程(c)が、トータル発癌性融合タンパク質レベルに対する活性化の比を計算することをさらに含んでいてもよく、

工程(d)が、トータル発癌性融合タンパク質レベルに対する活性化の前記計算比を、初期に前記被験者のために計算されるトータル発癌性融合タンパク質レベルに対する活性化の比と比較することを含んでいてもよい、請求項17又は18のいずれか一項に記載の方法。

【請求項20】

トータル発癌性融合タンパク質レベルに対する活性化の前記計算比が、抗癌剤治療における前記活性化した発癌性融合タンパク質のパーセント阻害と相関するか、

トータル発癌性融合タンパク質レベルに対する活性化の前記計算比が、対照タンパク質レベルに関連しているか、

トータル発癌性融合タンパク質レベルに対する活性化の前記計算比が、ホスホ／トータル

B C R－A B L タンパク質レベルの比を含んでいる、請求項 1 9 に記載の方法。

【請求項 2 1】

対照タンパク質が、前記発癌性融合タンパク質内で見つけられる配列又はドメインを含有する天然全長タンパク質を含むか、

前記対照タンパク質が、全長 B C R、全長 A B L、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 2 0 に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記発癌性融合タンパク質の活性化の約 5 0 % より低い阻害が、治療過程の今後の用量を増加させることの必要性、又は異なる治療過程を施すことの必要性を示すか、

前記発癌性融合タンパク質の活性化レベルの約 5 0 % 未満の阻害が、治療過程への被験者によるコンプライアンスの不足、治療過程と関連した副作用若しくは毒性の可能性の存在、又はそれらの組み合わせを示すか、

前記発癌性融合タンパク質の活性化レベルの約 8 0 % を超える阻害が、被験者が正しい用量で正しい治療にあることを示す、請求項 1 7 ～ 2 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記癌が慢性骨髄性白血病（C M L）であるか、

前記抗癌剤が、モノクローナル抗体、チロシンキナーゼ阻害剤、化学療法剤、ホルモン療法剤、放射線療法剤、ワクチン、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されるか、

前記チロシンキナーゼ阻害剤が、イマチニブメシレート、ニロチニブ、ダサチニブ、ボスチニブ（S K I－6 0 6）、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 1 7 ～ 2 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記工程（c）～（e）が以下の工程を代わりに含む、請求項 1 7 ～ 2 3 のいずれか一項に記載の方法：

（c'）前記細胞抽出物中の経路において、発癌性融合タンパク質及び 1 以上のシグナル伝達分子についての発現及び／又は活性化のレベルを測定する工程；

（d'）測定した前記発癌性融合タンパク質及びシグナル伝達分子についての発現及び／又は活性化のレベルを、治療過程の間の初期に測定される前記発癌性融合タンパク質及びシグナル伝達分子についての発現及び／又は活性化のレベルと比較する工程；及び

（e'）工程（d'）からの比較に基づいて、被験者のための治療過程の今後の用量を決定するか、又は異なる治療過程を被験者に施すかどうかを決定する工程。

【請求項 2 5】

癌の治療のためか、抗癌剤を用いる治療に対する癌の応答を同定するためか、抗癌剤を用いる治療に対して、癌を有する被験者の応答を予測するためか、癌を有する被験者が、抗癌剤を用いる治療に対して耐性があるかどうかを決定するために、適した抗癌剤を選択する方法であって、前記方法が、以下の工程を含む：

（a）抗癌剤の投与後又は抗癌剤とのインキュベーションの前に、癌の細胞を単離する工程；

（b）前記単離した細胞を溶解し、細胞抽出物を生成する工程；

（c）請求項 1 ～ 1 6 のいずれか一項に記載の方法に従って、前記細胞抽出物中の発癌性融合タンパク質についての発現及び／又は活性化のレベルを測定する工程；及び、

（d）前記発癌性融合タンパク質のために検出される発現及び／又は活性化のレベルを、抗癌剤がない状態で作成した参照用の発現及び／又は活性化プロフィールと比較することによって、前記抗癌剤が、癌の治療のために適切であるか不適切であるかを決定するか、前記発癌性融合タンパク質のために検出される発現及び／又は活性化のレベルを、抗癌剤がない状態で作成した参照用の発現及び／又は活性化プロフィールと比較することによって、前記抗癌剤を用いる治療に対して、癌が応答性又は非応答性であると同定するか、前記発癌性融合タンパク質のために検出される発現及び／又は活性化のレベルを、抗癌剤がない状態で作成した参照用の発現及び／又は活性化プロフィールと比較することによって、被験者が、前記抗癌剤を用いる治療に対して応答することの可能性を予測するか、

前記発癌性融合タンパク質のために検出される発現及び／又は活性化のレベルを、初期に抗癌剤がある状態又は抗癌剤がない状態で作成した参照用の発現及び／又は活性化プロフィールと比較することによって、前記抗癌剤を用いる治療に対して、耐性があるか又は感受性があるかどうかを決定する工程。

【請求項 26】

前記癌が慢性骨髄性白血病（CML）であるか、
 前記抗癌剤が、モノクローナル抗体、チロシンキナーゼ阻害剤、化学療法剤、ホルモン療法剤、放射線療法剤、ワクチン、及びそれらの組み合わせからなる群から選択され、
 前記モノクローナル抗体が、モノクローナル抗体、トラスツズマブ、アレムツズマブ、ペバシズマブ、セツキシマブ、ゲムツズマブ、パニツムマブ、リツキシマブ、及びトシツモマブ、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されてもよく、前記チロシンキナーゼ阻害剤が、イマチニブメシレート、ニロチニブ、ダサチニブ、ボスチニブ（SKI-606）、ゲフィチニブ、スニチニブ、エルロチニブ、ラパチニブ、カネルチニブ（CI1033）、セマキシニブ（SU5416）、バタラニブ（PTK787/ZK222584）、ソラフェニブ（BAY43-9006）、レフルノミド（SU101）、バンデタニブ（ZD6474）、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されてもよく、
 前記化学療法剤が、ペメトレキセド、ゲムシタビン、シロリムス（ラパマイシン）、ラパマイシンアナログ、白金化合物、カルボプラチン、シスプラチン、サトラプラチン、パクリタキセル、ドセタキセル、テムシロリムス（CCI-779）、エベロリムス（RAD001）、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されてもよく、
 前記ホルモン療法剤が、アロマターゼ阻害剤、選択的エストロゲン受容体調節剤、ステロイド剤、フィナステリド、ゴナドトロピン放出性ホルモンアゴニスト、それらの薬学的に許容することのできる塩、それらの立体異性体、それらの誘導体、それらのアナログ、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されてもよく、
 前記放射線療法剤が、⁴⁷Sc、⁶⁴Cu、⁶⁷Cu、⁸⁹Sr、⁸⁶Y、⁸⁷Y、⁹⁰Y、¹⁰⁵Rh、¹¹¹Ag、¹¹¹In、^{117m}Sn、¹⁴⁹Pm、¹⁵³Sm、¹⁶⁶Ho、¹⁷⁷Lu、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、²¹¹At、²¹²Bi、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されてもよい、請求項 25 に記載の方法。