

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02014/098135

発行日 平成29年1月12日(2017.1.12)

(43) 国際公開日 平成26年6月26日(2014.6.26)

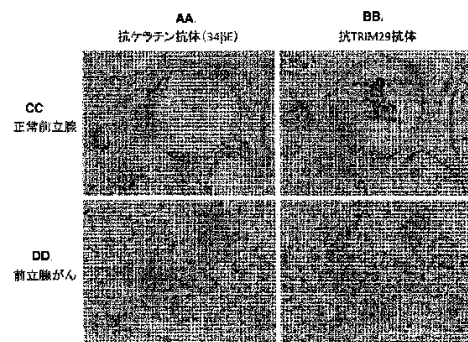
(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/574 (2006.01)	GO 1 N 33/574 Z N A D	2 G O 4 5
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 D	4 H O 4 5
GO 1 N 33/48 (2006.01)	GO 1 N 33/53 Y	
CO 7 K 16/28 (2006.01)	GO 1 N 33/574 A	
	GO 1 N 33/48 P	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 21 頁) 最終頁に続く		

出願番号	特願2014-553182 (P2014-553182)	(71) 出願人	504173471
(21) 国際出願番号	PCT/JP2013/083915		国立大学法人北海道大学
(22) 国際出願日	平成25年12月18日(2013.12.18)		北海道札幌市北区北8条西5丁目
(31) 優先権主張番号	特願2012-277980 (P2012-277980)	(71) 出願人	511031618
(32) 優先日	平成24年12月20日(2012.12.20)		L S I Pフアンド運営合同会社
(33) 優先権主張国	日本国(JP)		東京都千代田区丸の内一丁目7番12号
		(74) 代理人	100081422
			弁理士 田中 光雄
		(74) 代理人	100084146
			弁理士 山崎 宏
		(74) 代理人	100122301
			弁理士 富田 憲史
		(72) 発明者	畠山 鎮次
			北海道札幌市北区北8条西5丁目 国立大 学法人北海道大学内
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 前立腺基底細胞の検出方法

(57) 【要約】

本発明の目的は、前立腺の基底細胞に特異的に発現している分子を探索し、その分子を解析することにより前立腺基底細胞の検出方法を提供することである。前記課題は、前立腺の基底細胞における T R I M 2 9 (Tripartite motif-containing protein 29) タンパク質の発現を免疫組織染色により可視化することを特徴とする前立腺基底細胞の検出方法により、解決することができる。



AA Anti-keratin antibody (340E)
BB Anti-TRIM 29 antibody
CC Normal prostate
DD Prostate cancer

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

前立腺の基底細胞における T R I M 2 9 (Tripartite motif-containing protein 29) タンパク質の発現を免疫組織染色により可視化することを特徴とする前立腺基底細胞の検出方法。

【請求項 2】

前立腺の腺組織構造の形態及び可視化された T R I M 2 9 (Tripartite motif-containing protein 29) タンパク質の発現を解析する、請求項 1 に記載の前立腺基底細胞の検出方法。

【請求項 3】

更にサイトケラチン及び / 又は p 6 3 タンパク質の発現を免疫組織染色により可視化する、請求項 1 又は 2 に記載の前立腺基底細胞の検出方法。

【請求項 4】

前立腺の腺組織構造の形態、並びに可視化されたサイトケラチンタンパク質の発現及び / 又は可視化された p 6 3 タンパク質の発現を解析する、請求項 3 に記載の前立腺基底細胞の検出方法。

【請求項 5】

前記請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の前立腺基底細胞の検出方法を用いることを特徴とする前立腺基底細胞の存在、減少又は消失の確認方法。

【請求項 6】

抗 T R I M 2 9 抗体またはその抗原結合断片を用いる免疫組織染色により、対象から採取された前立腺組織における前立腺基底細胞を検出する工程を含む、前立腺がんの診断方法。

【請求項 7】

正常な前立腺組織との比較における前立腺基底細胞の減少又は消失が前立腺がんの存在を示す、請求項 6 に記載の診断方法。

【請求項 8】

前立腺がんの診断において使用するための、抗 T R I M 2 9 抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 9】

前立腺がんの診断のための、抗 T R I M 2 9 抗体またはその抗原結合断片を含む診断組成物。

【請求項 10】

前立腺がんの診断のための診断組成物の製造における、抗 T R I M 2 9 抗体またはその抗原結合断片の使用。

【請求項 11】

抗 T R I M 2 9 抗体またはその抗原結合断片を含む、前立腺基底細胞の検出用免疫組織染色キット。

【請求項 12】

抗サイトケラチン抗体もしくはその抗原結合断片及び / 又は抗 p 6 3 抗体もしくはその抗原結合断片を更に含む、請求項 11 に記載の前立腺基底細胞の検出用免疫組織染色キット。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、前立腺基底細胞の検出方法、前立腺基底細胞の存在、減少又は消失の確認方法及び前立腺基底細胞の検出用免疫組織染色キットに関する。本発明によれば、前立腺基底細胞を確実に検出することができる。また、前立腺がんの確定診断を確実に行うことができる。

【背景技術】

【 0 0 0 2 】

正常な前立腺は、腺細胞及び基底細胞からなっており、腺細胞の周囲に基底細胞が存在する組織像が観察される。

腺細胞には、アンドロゲン受容体 (Androgen receptor)、サイトケラチン 8 (cytokeratin 8)、及びサイトケラチン 18 (cytokeratin 18) が特異的に発現しているが、前立腺がんの多くは、これらの腺細胞のマーカーであるアンドロゲン受容体、サイトケラチン 8、又はサイトケラチン 18 を発現しており、従って前立腺がんは腺細胞に由来すると考えられている。

【 0 0 0 3 】

一方、基底細胞は前立腺がんにおいて、消失することが知られている。そのため、正常な基底細胞に発現している p 6 3 又はサイトケラチンに対する抗体を用いて、前立腺の免疫組織染色を行い、そして基底細胞の消失を確認することによって、前立腺がんの確定診断が行われている。

【 先行技術文献 】

【 特許文献 】

【 0 0 0 4 】

【 特許文献 1 】 国際公開第 2 0 0 8 / 1 5 0 5 1 2 号公報

【 特許文献 2 】 国際公開第 2 0 0 5 / 0 1 4 7 8 1 号公報

【 特許文献 3 】 国際公開第 2 0 0 4 / 0 1 8 7 1 1 号公報

【 特許文献 4 】 国際公開第 2 0 0 6 / 0 8 0 5 9 7 号公報

【 特許文献 5 】 国際公開第 2 0 0 4 / 0 1 8 7 1 1 号公報

【 発明の概要 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 0 5 】

しかしながら、前記の基底細胞の免疫組織染色において、抗 p 6 3 抗体、又は抗サイトケラチン抗体を用いた免疫組織染色のみでは、基底細胞が消失しているか否かの判断が困難な場合があった。

従って、本発明の目的は、前立腺の基底細胞に特異的に発現している分子を探索し、その分子を解析することにより前立腺基底細胞の検出方法を提供することである。

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 0 6 】

本発明者は、正常前立腺組織の基底細胞に特異的に発現している分子について、鋭意研究した結果、驚くべきことに、正常前立腺組織の基底細胞に T R I M 2 9 (Tripartite motif-containing protein 29) が特異的に発現していることを見出した。そして、T R I M 2 9 の前立腺組織における発現を免疫組織染色により可視化することにより、基底細胞を検出できることがわかった。

本発明は、こうした知見に基づくものである。

【 0 0 0 7 】

従って、本発明は、

[1] 前立腺の基底細胞における T R I M 2 9 (Tripartite motif-containing protein 29) タンパク質の発現を免疫組織染色により可視化することの特徴とする前立腺基底細胞の検出方法、

[2] 前立腺の腺組織構造の形態及び可視化された T R I M 2 9 (Tripartite motif-containing protein 29) タンパク質の発現を解析する、[1] に記載の前立腺基底細胞の検出方法、

[3] 更にサイトケラチン及び / 又は p 6 3 タンパク質の発現を免疫組織染色により可視化する、[1] 又は [2] に記載の前立腺基底細胞の検出方法、

[4] 前立腺の腺組織構造の形態、並びに可視化されたサイトケラチンタンパク質の発現及び / 又は可視化された p 6 3 タンパク質の発現を解析する、[3] に記載の前立腺基底細胞の検出方法、

10

20

30

40

50

[5] 前記 [1] ~ [4] のいずれかに記載の前立腺基底細胞の検出方法を用いることを特徴とする前立腺基底細胞の存在、減少又は消失の確認方法、

[6] 抗 T R I M 2 9 抗体またはその抗原結合断片を用いる免疫組織染色により、対象から採取された前立腺組織における前立腺基底細胞を検出する工程を含む、前立腺がんの診断方法、

[7] 正常な前立腺組織との比較における前立腺基底細胞の減少又は消失が前立腺がんの存在を示す、[6] に記載の診断方法、

[8] 前立腺がんの診断において使用するための、抗 T R I M 2 9 抗体またはその抗原結合断片、

[9] 前立腺がんの診断のための、抗 T R I M 2 9 抗体またはその抗原結合断片を含む診断組成物、

[1 0] 前立腺がんの診断のための診断組成物の製造における、抗 T R I M 2 9 抗体またはその抗原結合断片の使用、

[1 1] 抗 T R I M 2 9 抗体またはその抗原結合断片を含む、前立腺基底細胞の検出用免疫組織染色キット、及び

[1 2] 抗サイトケラチン抗体もしくはその抗原結合断片及び / 又は抗 p 6 3 抗体もしくはその抗原結合断片を更に含む、[1 1] に記載の前立腺基底細胞の検出用免疫組織染色キット、

に関する。

【 0 0 0 8 】

なお、前記 T R I M 2 9 の遺伝子は、肺癌、卵巣漿液性乳頭状腺癌、及び子宮頸部上皮内腫瘍との関連が報告されている（特許文献 1 ~ 4）。また、T R I M 2 9 を含む 8 0 の m R N A を調べることにより、前立腺がんの予後を予測する方法が開示されている（特許文献 5）。しかしながら、正常前立腺の基底細胞において T R I M 2 9 が発現していることは、報告されていなかった。

【発明の効果】

【 0 0 0 9 】

本発明の前立腺基底細胞の検出方法によれば、正常な前立腺基底細胞を確実に検出することができ、前立腺の組織学的な研究に有用である。また、サイトケラチン及び / 又は p 6 3 の発現の免疫組織染色を併用することにより、更に正確に前立腺基底細胞を検出することが可能である。

また、本発明の前立腺基底細胞の検出方法、及び本発明の前立腺基底細胞の存在、減少又は消失の確認方法によれば、前立腺がんの確定診断を行うことができる。また、サイトケラチン及び / 又は p 6 3 の発現の免疫組織染色を併用することにより、更に正確に前立腺がんの確定診断を行うことができる。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 1 0 】

【図 1】正常前立腺又は前立腺がんのそれぞれの組織を、抗 T R I M 2 9 ポリクローナル抗体又は抗サイトケラチンモノクローナル抗体（3 4 β E 1 2）によって免疫組織染色を行った顕微鏡写真である。

【図 2】正常前立腺の組織を、抗 T R I M 2 9 モノクローナル抗体によって免疫組織染色を行った顕微鏡写真である。

【図 3】正常前立腺組織を、抗 T R I M 2 9 モノクローナル抗体又は抗サイトケラチンモノクローナル抗体（3 4 β E 1 2）によって免疫組織染色した顕微鏡写真である。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 1 1 】

[1] 前立腺基底細胞の検出方法

本発明の前立腺基底細胞の検出方法は、前立腺の基底細胞における T R I M 2 9（Trip artite motif-containing protein 29）タンパク質の発現を免疫組織染色により可視化することを特徴とするものである。すなわち、前立腺由来の T R I M 2 9 が発現している細

10

20

30

40

50

胞をその形態及びタンパク質の発現から基底細胞と判断することができるものである。更に、前立腺の腺組織構造の形態及び可視化されたT R I M 2 9タンパク質の発現を確認することにより腺組織構造の一部を構成する基底細胞を検出することができるものである。

本発明の検出方法によって検出される前立腺基底細胞を有する動物種は、前立腺に基底細胞を有する限りにおいて限定されるものではなく、哺乳動物、例えばヒト、サル、イヌ、ネコ、フェレット、ウシ、ウマ、ヤギ、ヒツジ、モルモット、ハムスター、スナネズミ、マウス、又はラットを挙げることができる。また、本発明の検出方法は、分離された細胞に用いることもできる。例えば、前記の哺乳動物の分離された基底細胞を含む初代培養細胞、又は継代細胞に使用することもできる。

【0012】

《前立腺》

前立腺は、男性（雄）生殖器系の腺であって、膀胱に下で直腸の前にある。基底細胞と腺細胞との2種類の細胞によって構成されている。組織学的には、前立腺腺細胞の周囲に前立腺基底細胞が存在している。

【0013】

（前立腺腺細胞）

前立腺腺細胞は、アンドロゲン受容体（Androgen receptor）、サイトケラチン8（cytokeratin8）、及びサイトケラチン18（cytokeratin18）を特異的に発現しており、多くの前立腺がんは前立腺腺細胞由来である。

【0014】

（前立腺基底細胞）

本発明の検出方法によって検出することのできる前立腺基底細胞は、T R I M 2 9が発現している限りにおいて限定されない。しかしながら、T R I M 2 9が発現していない前立腺基底細胞の存在を否定するものではない。

基底細胞には、T R I M 2 9以外に、p63、サイトケラチン5（cytokeratin5）、及びサイトケラチン14（cytokeratin14）が特異的に発現している。p63は前立腺の発達に重要な役割を果たすと考えられており、抗p63モノクローナル抗体である4A4を用いた免疫組織染色では基底細胞の核が染色される。また、サイトケラチン5及びサイトケラチン14は細胞質に存在し、抗サイトケラチンモノクローナル抗体である34βE12による免疫組織染色で染色される。なお、モノクローナル抗体34βE12は、サイトケラチン5及びサイトケラチン14以外にも、サイトケラチン1及びサイトケラチン10にも陽性反応を示す抗体である。

【0015】

《T R I M 2 9》

T R I M 2 9（Tripartite motif-containing protein 29）は、T R I M遺伝子ファミリーに属し、ヒトでは588アミノ酸からなるタンパク質であり、別名をA T D C（ataxia-telangiectasia group D-associated protein）という。T R I M 2 9は、複数のジンクフィンガーモチーフ（zinc finger motifs）及びロイシンジッパーモチーフ（leucine zipper motif）を有しており、DNAに結合し、分化において転写制御因子として働く可能性が考えられている。また、毛細血管拡張性運動失調（ataxia-telangiectasia）に關

連することが知られており、放射線感受性の抑制機能との関連が指摘されている。

本発明において、分析することのできるヒトのT R I M 2 9タンパク質をコードする核酸（以下、ヒトT R I M 2 9遺伝子とも称する）の塩基配列を配列番号1に、該ヒトT R I M 2 9タンパク質のアミノ酸配列を配列番号2に示す。しかしながら、分析対象の遺伝子は、前立腺基底細胞に発現し、且つ配列番号1の塩基配列のT R I M 2 9遺伝子に結合することのできるプローブ又はプライマーとハイブリダイズできる限りにおいて、配列番号1に記載の塩基配列を有するT R I M 2 9遺伝子に限定されない。また、分析対象のタンパク質は、前立腺基底細胞に発現し、配列番号2のアミノ酸配列を有するタンパク質と結合することのできる抗体と結合できる限りにおいて、配列番号2に記載のアミノ酸配列を有するT R I M 2 9タンパク質に限定されない。すなわち、本発明において、分析され

10

20

30

40

50

る T R I M 2 9 は、前立腺基底細胞に発現する限りにおいて、変異を有する T R I M 2 9 でもよい。また、ヒトの T R I M 2 9 に限定されるものではなく、哺乳動物の T R I M 2 9 でもよく、例えばヒト、サル、イヌ、ネコ、フェレット、ウシ、ウマ、ヤギ、ヒツジ、モルモット、ハムスター、スナネズミ、マウス、又はラットの T R I M 2 9 を挙げることができる。変異を有する T R I M 2 9 タンパク質の例としては、ヒト T R I M 2 9 を例にとると、配列番号 2 のアミノ酸配列において、1 個から数個、例えば 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個または 9 個のアミノ酸が置換、欠失、挿入または付加されたアミノ酸配列からなるタンパク質；配列番号 2 のアミノ酸配列と 80 % 以上の配列同一性、例えば 80 % 以上、85 % 以上、90 % 以上、95 % 以上、または 98 % 以上の配列同一性を有するアミノ酸配列からなるタンパク質等が挙げられる。

10

【0016】

《T R I M 2 9 タンパク質発現解析》

本発明の検出方法における免疫組織染色による T R I M 2 9 発現解析は、限定されるものではないが、T R I M 2 9 タンパク質の発現を可視化するものである。T R I M 2 9 タンパク質の発現を可視化することにより、同一の基底細胞において、前立腺基底細胞を形態的に確認することができ、更に前立腺基底細胞及び前立腺の腺組織構造の形態を T R I M 2 9 タンパク質の発現により確認することができる。すなわち、本発明の検出方法は、好ましくは前立腺の腺組織構造の形態及び前記可視化された T R I M 2 9 タンパク質の発現を、腺組織構造の一部を構成する基底細胞において解析するものである。

20

【0017】

なお、本明細書において「可視化」とは、免疫組織染色による発色又は蛍光を光学顕微鏡又は蛍光顕微鏡を介して、肉眼により確認することのみを意味するものではなく、例えば発色、蛍光、発光、又は放射線（すなわち、シグナル）を機械的に検出し、そのシグナルをイメージ化した映像等を確認することを含むものである。

【0018】

また、本明細書において、「前立腺の腺組織構造の形態及び前記可視化された T R I M 2 9 (Tripartite motif-containing protein 29) タンパク質の発現を解析する」とは、前立腺の腺組織構造の形態と、T R I M 2 9 タンパク質の発現を同時に観察することのみではなく、例えば、前立腺の腺組織構造の形態と、前記のシグナルをイメージ化した映像等とを比較して観察することを含むものである。

30

【0019】

前立腺基底細胞における T R I M 2 9 タンパク質の解析は、免疫組織染色によって行う。前立腺組織における基底細胞の位置、又は基底細胞の形態を確認することができるからである。

【0020】

(免疫組織染色)

免疫組織染色は、確立された技術であり、T R I M 2 9 に特異的な抗体を使用することを除いては、公知の方法に基づいて行うことが可能である。すなわち、免疫組織染色とは、組織切片の細胞に発現している特定の抗原を、その抗原を特異的に認識する抗体によって検出する手法である。

40

具体的には、免疫組織染色は、例えば以下のように行うことができる。前立腺組織を凍結切片として薄切、又は固定後パラフィン包埋したブロックから薄切し、組織切片を作製する。組織切片上に T R I M 2 9 を認識する抗体を反応させる。この抗 T R I M 2 9 抗体を、シグナルを発する物質で標識しておくことにより、T R I M 2 9 タンパク質を組織切片上において検出することができる。また、抗 T R I M 2 9 抗体を標識せずに、抗 T R I M 2 9 抗体に対する第 2 抗体を、シグナルを発する物質で標識してもよい。更に、抗 T R I M 2 9 抗体、又は第 2 抗体にビオチンを結合させ、ビオチンに特異的に結合するアビジンをシグナルを発する物質で標識してもよい。

抗体の標識に用いられる物質も限定されるものではないが、蛍光色素（例えば、ローダミン、フルオレセインイソシアネート (F I T C)、希土類金属キレート）、放射性物質

50

(例えば、 ^3H 、 ^{14}C 、又は ^{125}I)、酵素(例えば、ペルオキシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、又は β -D-ガラクトシダーゼ)などを用いることができる。また、シグナルの検出も限定されるものではないが、蛍光、放射線(オートラジオグラフィー)、発光、又は発色などによって検出することが可能である。蛍光色素として、ローダミン又はFITC等を用いた場合は、蛍光顕微鏡を用いてシグナルを検出できる。また、アルカリフォスファターゼを用い、NBT/BCIP等で発色した場合は、光学顕微鏡下でシグナルを検出することができ、細胞の形態も同時に観察することが可能である。

具体的な方法としては、ペルオキシダーゼ抗ペルオキシダーゼ法(PAP法)、ストレプトアビジン-ビオチン複合法(sABC法)、二次抗体と標識酵素とのポリマーへ結合させたポリマー試薬法、又はFITCで標識した一次抗体を用いるか又は二次抗体としてHRP標識抗FITC抗体を用いる方法などが、一般的に用いられている。

10

【0021】

(抗TRIM29抗体)

本発明における免疫組織染色に用いる抗TRIM29抗体は、免疫原としてTRIM29タンパク質又はその部分ペプチドを用いること以外は、公知の方法によって作成することが可能である。抗TRIM29抗体は、ポリクローナル抗体であってもモノクローナル抗体であってもよいが、モノクローナル抗体が好ましい。モノクローナル抗体の方が、他のタンパク質との交差反応が少ないことが多いからである。既存又は市販の抗体を用いることもできる。

例えば、モノクローナル抗体は、Koe h l e rとM i l s t e i nの方法(N a t u r e 256:495-497、1975)に従って作製することができる。また、ポリクローナル抗体は、例えばウサギの皮内に、NKG2Dリガンドを単独もしくはBSA、KLHなどと結合させた抗原として、フロイント完全アジュバント等のアジュバントと混合して定期的に免疫し、血中の抗体価が上昇した時点で採血してそのまま抗血清とするか、又は抗体を公知の方法で精製して使用することができる。

20

【0022】

また、免疫学的分析方法に用いる抗体として、TRIM29タンパク質に対する抗原結合部位を含む抗体断片(抗原結合断片)を用いることも可能である。かかる抗体断片としては、例えば、 F(ab')_2 、Fab'、Fab、又はFv等を挙げることができる。これらの抗体断片は、例えば、抗体を常法によりタンパク質分解酵素(例えば、ペプシン又はパイン等)によって消化し、続いて、常法のタンパク質の分離精製の方法により精製することにより、得ることができる。

30

【0023】

本発明の前立腺基底細胞の検出方法においては、前記TRIM29タンパク質発現分析に加えて、サイトケラチンタンパク質の発現分析及び/又はp63タンパク質の発現分析を行うことが好ましい。すなわち、TRIM29タンパク質及びサイトケラチンタンパク質を解析してもよく、TRIM29タンパク質及びp63タンパク質を解析してもよく、又は3つのタンパク質を解析してもよい。

本実施態様においては、同一対象(患者)の同一組織切片において、2つ以上のタンパク質を解析してもよい。また、同一対象(患者)の異なる組織切片において、2つ以上のタンパク質を、それぞれ個別に解析してもよい。

40

【0024】

《サイトケラチンタンパク質発現解析》

本発明の検出方法における免疫組織染色によるサイトケラチン発現解析は、限定されるものではないが、サイトケラチンタンパク質の発現を可視化するものである。サイトケラチンタンパク質の発現を可視化することにより、同一の基底細胞において、前立腺基底細胞を形態的に確認することができ、更に前立腺基底細胞及び前立腺の腺組織構造の形態をサイトケラチンタンパク質の発現により確認することができる。すなわち、本発明の検出方法は、好ましくは前立腺の腺組織構造の形態及び前記可視化されたサイトケラチンタンパク質の発現を、腺組織構造の一部を構成する基底細胞において解析することを含むもの

50

である。

【 0 0 2 5 】

サイトケラチンのタンパク質の発現解析は、サイトケラチンに特異的な抗体を使用することを除いては、公知の方法に基づいて行うことが可能である。すなわち、サイトケラチンに特異的な抗体を使用することを除いては、前記「T R I M 2 9 タンパク質発現解析」に記載の方法に従って、実施することができる。サイトケラチン 5 のアミノ酸配列を配列番号 4 に、そしてサイトケラチン 1 4 のアミノ酸配列を配列番号 6 に示す。サイトケラチン 5 をコードする塩基配列を配列番号 3 に、サイトケラチン 1 4 をコードする塩基配列を配列番号 5 に示す。

サイトケラチンに特異的な抗体は、ポリクローナル抗体であってもモノクローナル抗体であてもよいが、モノクローナル抗体が好ましい。モノクローナル抗体の方が、他のタンパク質との交差反応が少ないことが多いからである。既存又は市販の抗体を用いることもできる。例えば、市販の抗サイトケラチンモノクローナル抗体である 3 4 β E 1 2 モノクローナル抗体を用いることができるが、この抗体はサイトケラチン 1、5、10、及び 14 を認識する抗体である。

【 0 0 2 6 】

《 p 6 3 タンパク質発現解析 》

本発明の検出方法における p 6 3 タンパク質発現解析は、限定されるものではないが、p 6 3 タンパク質の発現を可視化するものである。p 6 3 タンパク質の発現を可視化することにより、同一の基底細胞において、前立腺基底細胞を形態的に確認することができ、更に前立腺基底細胞及び前立腺の腺組織構造の形態を p 6 3 タンパク質の発現により確認することができる。すなわち、本発明の検出方法は、好ましくは前立腺の腺組織構造の形態及び前記可視化された p 6 3 タンパク質の発現を、腺組織構造の一部を構成する基底細胞において解析することを含むものである。

【 0 0 2 7 】

p 6 3 タンパク質の発現分析は、p 6 3 に特異的な抗体を使用することを除いては、公知の方法に基づいて行うことが可能である。すなわち、p 6 3 に特異的な抗体を使用することを除いては、前記「T R I M 2 9 タンパク質発現解析」に記載の方法に従って、実施することができる。p 6 3 のアミノ酸配列を配列番号 8 に示し、p 6 3 をコードする塩基配列を配列番号 7 に示す。

p 6 3 に特異的な抗体は、ポリクローナル抗体であってもモノクローナル抗体であてもよいが、モノクローナル抗体が好ましい。モノクローナル抗体の方が、他のタンパク質との交差反応が少ないことが多いからである。既存又は市販の抗体を用いることもできる。例えば、市販の抗 p 6 3 モノクローナル抗体である 4 A 4 モノクローナル抗体を用いることができる。

【 0 0 2 8 】

[2] 前立腺基底細胞の存在、減少又は消失の確認方法

本発明の前立腺基底細胞の存在、減少又は消失の確認方法は、本発明の前立腺基底細胞の検出方法を用いて、前立腺組織における T R I M 2 9 (Tripartite motif-containing protein 29) タンパク質の発現を免疫組織染色により可視化することを特徴とするものである。前記確認方法において、T R I M 2 9 タンパク質の発現を検出する。この T R I M 2 9 タンパク質発現の検出は、前記本発明の前立腺基底細胞の検出方法における「T R I M 2 9 タンパク質発現解析」と同じように実施することができる。そして、前記前立腺基底細胞の検出の後に、前立腺基底細胞の存在、減少又は消失を確認する。

本発明の前立腺基底細胞の存在、減少又は消失の確認方法においては、T R I M 2 9 タンパク質の発現を免疫組織染色により可視化することにより、基底細胞の形態及び前立腺の腺組織構造の形態と、T R I M 2 9 タンパク質の発現との関係を観察することが可能であり、確実に腺組織構造の一部を構成する前立腺基底細胞の存在、減少又は消失を確認することが可能である。

【 0 0 2 9 】

例えば、組織切片上において、前立腺基底細胞の存在、減少又は消失を確認する場合、正常前立腺組織の基底細胞におけるTRIM29タンパク質の発現量と比較して、被検試料のTRIM29タンパク質の「存在」、「減少」又は「消失」を蛍光顕微鏡下、又は光学顕微鏡下における可視化したTRIM29タンパク質の発現量を目視によって判定することができる。また、カメラ等で撮影したイメージ中の発色、発光、蛍光、又は放射線などのシグナルを、機械的に可視化し、そのTRIM29タンパク質の発現量を解析することができる。かかる方法によれば、被検試料のTRIM29タンパク質の「存在」、「減少」、又は「消失」を、イメージを肉眼で見ることによって判断することもでき、また上記シグナルを機械的に数値化して判断することも可能である。

例えば、正常前立腺組織の基底細胞におけるTRIM29タンパク質の発現量と比較して、被検試料のTRIM29タンパク質の量が同等の場合、該被検試料において前立腺基底細胞が「存在」していると判断することができる。また被検試料のTRIM29タンパク質の量がほとんど検出できない場合、前立腺基底細胞は「消失」していると判断できる。また、被検試料のTRIM29タンパク質の量が「存在」と「消失」の中間の量の場合、前立腺基底細胞が「減少」していると判断することができる。

【0030】

《前立腺がん》

前立腺がんの場合、前立腺基底細胞が完全に消失したり、一部を残して減少している。従って、本発明の前立腺基底細胞の検出方法、及び前立腺基底細胞の存在、減少又は消失の確認方法によって、前立腺がんの診断、又は確定診断を行うことが可能である。

【0031】

[3] 免疫組織染色キット

本発明の前立腺基底細胞の検出用免疫組織染色キットは、抗TRIM29抗体を含むものである。本発明の免疫組織染色キットは、前記前立腺基底細胞の検出方法、前立腺基底細胞の存在、減少又は消失の確認方法、および前立腺がんの診断方法に用いることができる。

本発明の免疫組織染色キットは、TRIM29に特異的に結合する抗体もしくはその抗原結合部位を有する断片（抗原結合断片）が、所望の形態で含まれていることが好ましい。抗TRIM29抗体としては、「[1] 前立腺基底細胞の検出方法」に記載の抗TRIM29抗体を用いることができる。すなわち、モノクローナル抗体及びポリクローナル抗体のいずれであってもよい。抗体断片としては、TRIM29への特異的結合能を有するもの、すなわち抗原結合部位を有するもの（抗原結合断片）であれば特に限定されるものではない。かかる抗体断片としては、例えば、Fab、Fab'、F(ab')₂、又はFvを用いることができる。

【0032】

更に、本発明の前立腺基底細胞の検出用免疫組織染色キットは、抗サイトケラチン抗体及び/又は抗p63抗体を含むことが好ましい。抗サイトケラチン抗体及び抗p63抗体も、「[1] 前立腺基底細胞の検出方法」に記載の抗サイトケラチン抗体及び抗p63抗体、又はその抗原結合部位を有する断片（抗原結合断片）を用いることができる。

更に本発明の前立腺基底細胞の検出用免疫組織染色キットは、酵素としては、ペルオキシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、β-D-ガラクトシダーゼ、又はグルコースオキシダーゼ等を含んでもよい。また、蛍光物質として、フルオレセインイソシアネート又は希土類金属キレート等を含んでもよい。また、放射性同位体として、³H、¹⁴C、又は¹²⁵I等を含んでもよい。なお、本発明に係るキットでは、その他の標識物質として、ビオチン、アビジン、又は化学発光物質等を用いてもよい。また、本発明のキットは、酵素又は化学発光物質に対する適当な基質等を含んでもよい。

【0033】

また、本発明のキットは、前立腺基底細胞の検出用であることを明記した使用説明書を含んでもよい。前立腺基底細胞の検出用である旨の記載は、キットの容器に付されていてもよい。また、前立腺がんの診断、又は確定診断に用いることが記載されていてもよ

い。

【 0 0 3 4 】

前記抗 T R I M 2 9 抗体は、前立腺基底細胞の検出用免疫組織染色キットの製造のために使用することができる。また、前記抗サイトケラチン抗体は、前立腺基底細胞の検出用免疫組織染色キットの製造のために使用することができる。更に、抗 p 6 3 抗体は前立腺基底細胞の検出用免疫組織染色キットの製造のために使用することができる。

【実施例】

【 0 0 3 5 】

以下、実施例によって本発明を具体的に説明するが、これらは本発明の範囲を限定するものではない。

【 0 0 3 6 】

《実施例 1》

本実施例では、抗 T R I M 2 9 抗体を使用した前立腺組織（正常及びがん）の免疫組織染色を行った。北海道大学大学院医学研究科病理学講座腫瘍病理学分野に保管及び管理されている 1 6 検体の前立腺標本を用いて、免疫組織染色を行った。解析に供した前立腺標本の概要を表 1 に示す。前立腺癌を有する 1 5 検体および前立腺上皮内腫瘍（Prostatic Intraepithelial Neoplasia: PIN）を有する 1 検体を解析した。

【 0 0 3 7 】

【表 1】

表1. 前立腺癌を有する 15 の症例についての臨床病理学的所見

	<i>n</i> (%)	
年齢 (歳)		
<65	2 (13.3)	
65–75	7 (46.7)	10
>75	6 (40)	
PSA (ng/ml)		
4<PSA<6	5 (33.3)	
6≤PSA<10	8 (53.3)	
10<	2 (13.3)	
T (原発性腫瘍の程度)		20
T1c	12(80)	
T2a	2 (13.3)	
T2b	0 (0)	
T2c	1 (6.7)	
N (リンパ節転移)		
N0	15(100.0)	30
N1<	0 (0)	
M (遠隔転移)		
M0	15 (100)	
M1<	0 (0)	
TNM ステージ		
I	0 (0)	40
II	15 (100)	
III	0 (0)	
IV	0 (0)	

【 0 0 3 8 】

(1) 抗 T R I M 2 9 ウサギポリクローナル抗体による染色

1 次抗体として抗 T R I M 2 9 ウサギポリクローナル抗体 (サンタクルーズ社製 A T D 50

C (H - 3 0 0) S C - 3 3 1 5 1) を、希釈液 (1 % B S A を含んだ P B S) で 2 0 0 倍に希釈し、それぞれの組織切片に添加した。1 次反応は、3 7 、3 0 分で行った。洗浄液 (P B S) で、3 回洗浄後、2 次抗体として、ペルオキシダーゼ標識された抗ウサギ抗体を含む試薬 (D a k o R E A L T M E n v i s i o n T M D e t e c t i o n R e a g e n t p e r o x i d a s e r a b b i t / m o u s e) を組織切片に添加した。2 次反応は、室温、3 0 分で行った。洗浄液で 3 回洗浄後、発色液 (D a k o 社 R E A L T M D A B + C H R O M O G E N) で発色反応を行った。

【 0 0 3 9 】

(2) 抗サイトケラチンモノクローナル抗体による染色

更に 1 次抗体として、抗サイトケラチンモノクローナル抗体である 3 4 β E 1 2 を用いて、前立腺組織 (正常及びがん) の免疫組織染色を行った。2 0 0 倍に希釈した抗 T R I M 2 9 ウサギポリクローナル抗体に代えて、1 % B S A にて 2 倍希釈した 3 4 β E 1 2 (H 1 2 0 5 ニチレイ抗高分子サイトケラチンモノクローナル抗体) を用いたことを除いては、前記 (1) の操作を繰り返した。

10

【 0 0 4 0 】

上記 (1) 及び (2) の免疫組織染色の結果の一部を図 1 に示す。抗 T R I M 2 9 抗体は正常前立腺組織の腺細胞の周囲に存在する基底細胞を特異的に染色することが判明した。前立腺がん組織において、抗 T R I M 2 9 抗体によって染色される細胞及び組織が減少もしくは消失することが判明した。これらの結果は、3 4 β E 1 2 を用いて免疫組織染色を行った場合と同等であった。また、3 4 β E 1 2 及び抗 T R I M 2 9 抗体を重複して使用することで前立腺がんの診断の信頼度を高めることができる。

20

【 0 0 4 1 】

《 実施例 2 》

本実施例では、1 次抗体として抗 T R I M 2 9 マウスモノクローナル抗体 (抗 A T D C (A - 5) 抗体) (s c - 1 6 6 7 1 8) を用いて、正常前立腺の免疫組織染色を行った。

1 次抗体として、抗 T R I M 2 9 マウスモノクローナル抗体 A 5 を用い、2 次抗体として、抗マウス I g G 二次抗体を用いたこと、並びに検体として正常前立腺組織のみを用いたことを除いては、実施例 1 (1) の操作を繰り返した。

図 2 に示すように、非特異的な染色が無く、基底細胞が明瞭に染色された。

30

【 0 0 4 2 】

《 実施例 3 》

本実施例では、抗 T R I M 2 9 マウスモノクローナル抗体 (抗 A T D C (A - 5) 抗体) (s c - 1 6 6 7 1 8) 及び抗サイトケラチンモノクローナル抗体を用いて、正常前立腺の免疫組織染色を行った。

抗 T R I M 2 9 マウスモノクローナル抗体については、実施例 2 の操作を、抗サイトケラチンモノクローナル抗体については、正常前立腺組織のみを用いたことを除いては、実施例 1 (2) の操作を繰り返した。

図 3 に示すように、抗 T R I M 2 9 マウスモノクローナル抗体と抗サイトケラチンモノクローナル抗体とによる染色は、非常に似たものであるが、2 つの免疫染色を組み合わせることにより、確実に前立腺基底細胞を確認することができた。

40

【 0 0 4 3 】

また、実施例 1 ~ 3 の免疫組織染色の結果を解析したところ、前立腺癌の全例に関して、癌組織部分においては T R I M 2 9 の発現が消失していた。一方、前立腺上皮内腫瘍に関しては、正常前立腺と同じように基底細胞部分で T R I M 2 9 の発現が認められた。これらの結果を表 2 に示す。

【 0 0 4 4 】

【表 2】

表 2. 前立腺癌における TRIM29 染色の程度

グリーソンスコア	全腺房に対するTRIM29陽性腺房 のパーセンテージ (%)			
	0	0-30	30-60	60-100
グリーソンスコア 3 + 3 = 6 (n=8)	8	0	0	0
グリーソンスコア 3 + 4 = 7 (n=3)	3	0	0	0
グリーソンスコア 4 + 3 = 7 (n=1)	1	0	0	0
グリーソンスコア 4 + 4 = 8 (n=2)	2	0	0	0
グリーソンスコア 4 + 5 = 9 (n=1)	1	0	0	0
PIN (n=1)	0	0	0	1
正常部位 (n=15)	0	0	0	15

10

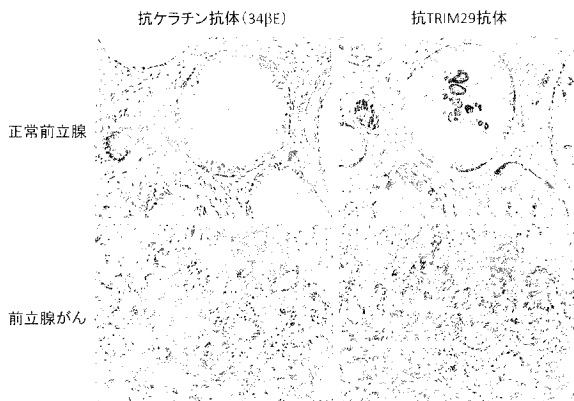
【産業上の利用可能性】

【0045】

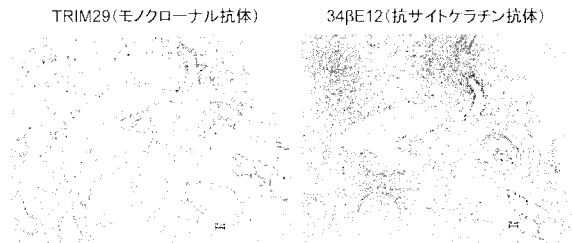
20

本発明の前立腺基底細胞の検出方法は、前立腺の組織学的な研究に用いることができる。本発明の前立腺基底細胞の存在、減少又は消失の確認方法によれば、前立腺がんの確定診断を行うことができる。また、サイトケラチンの発現の分析を併用することにより、更に正確に前立腺がんの確定診断を行うことができる。

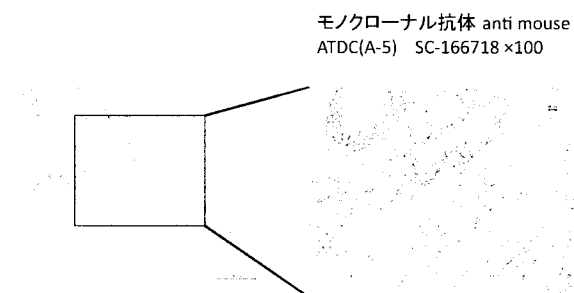
【図 1】



【図 3】



【図 2】



【配列表】

2014098135000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/083915

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N33/53(2006.01)i, G01N33/48(2006.01)i

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)

G01N33/53, G01N33/48

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2014
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2014	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2014

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN), JSTplus/JMEDplus/JST7580 (JDreamIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Schlomm T et al., Extraction and processing of high quality RNA from impalpable and macroscopically invisible prostate cancer for microarray gene expression analysis., Int J Oncol., 2005.09, Vol.27, No.3, Page.713-720	1-5, 8-12
A	Schlomm T et al., Marked gene transcript level alterations occur early during radical prostatectomy., Eur Urol., 2008.02, Vol.53, No.2, Page.333-346	1-5, 8-12

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ 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

17 March, 2014 (17.03.14)

Date of mailing of the international search report

01 April, 2014 (01.04.14)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/083915

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2012-525404 A (The Henry M. Jackson Foundation for the Advancement of Military Medicine, Inc.), 22 October 2012 (22.10.2012), entire text; particularly, paragraph [0004] & US 2012/0135018 A1 & EP 2424891 A & WO 2010/126972 A1 & CA 2757638 A & AU 2010241706 A	1-5, 8-12
A	JP 2012-502283 A (Dako Denmark A/S), 26 January 2012 (26.01.2012), entire text; all drawings; particularly, paragraphs [0033], [0037] to [0043] & US 2011/0236910 A1 & EP 2329261 A & WO 2010/028646 A1 & CA 2735716 A	1-5, 8-12
A/X	JP 2008-528024 A (Digital Genomics Inc.), 31 July 2008 (31.07.2008), entire text; particularly, claims; paragraph [0016] & US 2010/0047771 A1 & WO 2006/080597 A1 & KR 10-2006-0087977 A	1-5, 12/8-11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/083915

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 6, 7

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

The inventions set forth in said claims pertain to diagnostic methods practiced on the human body and thus relate to a subject matter on which this International Searching Authority is not required to carry out a search under the provisions of PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).

2. ☐ Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2013/083915	
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N33/53(2006.01)i, G01N33/48(2006.01)i			
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N33/53, G01N33/48			
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2014年 日本国実用新案登録公報 1996-2014年 日本国登録実用新案公報 1994-2014年			
国際調査で利用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)			
C. 関連すると認められる文献			
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	
A	Schloim T et al., Extraction and processing of high quality RNA from impalpable and macroscopically invisible prostate cancer for microarray gene expression analysis., Int J Oncol., 2005.09, Vol. 27, No. 3, Page. 713-720	1-5, 8-12	
A	Schloim T et al., Marked gene transcript level alterations occur early during radical prostatectomy., Eur Urol., 2008.02, Vol. 53, No. 2, Page. 333-346	1-5, 8-12	
☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。			
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献			
国際調査を完了した日 10.04.2014		国際調査報告の発送日 01.04.2014	
国際調査機関の名称及び先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 草川 貴史 電話番号 03-3581-1101 内線 3252	2 J 4075

国際調査報告

国際出願番号 PCT/J P 2013/083915

C (続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	JP 2012-525404 A (ザ・ヘンリー・エム・ジャクソン・ファンデーション・フォー・ジ・アドヴァンスメント・オブ・ミリタリー・メディシン、インコーポレイテッド) 2012.10.22, 全文、特に、段落【0004】等参照 & US 2012/0135018 A1 & EP 2424891 A & WO 2010/126972 A1 & CA 2757638 A & AU 2010241706 A	1-5, 8-12
A	JP 2012-502283 A (ダコ・デンマーク・エー/エス) 2012.01.26, 全文・全図、特に、段落【0033】、【0037】－【0043】等参照 & US 2011/0236910 A1 & EP 2329261 A & WO 2010/028646 A1 & CA 2735716 A	1-5, 8-12
A/X	JP 2008-528024 A (デジタルジェノミクスインコーポレーション) 2008.07.31, 全文、特に【特許請求の範囲】、段落【0016】 & US 2010/0047771 A1 & WO 2006/080597 A1 & KR 10-2006-0087977 A	1-5, 12/ 8-11

国際調査報告

国際出願番号 PCT/J P 2013/083915

第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求項 6,7 は、この国際調査機関が調査することを要しない対象に係るものである。つまり、当該請求の範囲に記載された発明は、ヒトの身体の診断方法に係るものであるから、PCT17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定により、この国際調査機関が調査することを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求項 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求項 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- ☐ 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。

様式PCT/ISA/210 (第1ページの続葉(2)) (2009年7月)

フロントページの続き

(51) Int.Cl.

F I

テーマコード (参考)

C 0 7 K 16/28

(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, IR, 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

(出願人による申告) 平成 23 年度、文部科学省、科学技術試験研究委託事業、産業技術力強化法第 19 条の適用を受ける特許出願

(72) 発明者 田中 伸哉

北海道札幌市北区北 8 条西 5 丁目 国立大学法人北海道大学内

F ターム(参考) 2G045 AA24 AA26 AA29 BA13 BA14 BB25 CB01 CB02 DA36 FA16

FA18 FA19 FB01 FB03 FB08 FB12 FB13 GC12 GC15

4H045 AA11 AA30 BA10 CA40 DA76 EA54 FA72 FA74

(注) この公表は、国際事務局 (WIPO) により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願 (日本語実用新案登録出願) の国際公開の効果は、特許法第 184 条の 10 第 1 項 (実用新案法第 48 条の 13 第 2 項) により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。

专利名称(译)	检测前列腺基底细胞的方法		
公开(公告)号	JPWO2014098135A1	公开(公告)日	2017-01-12
申请号	JP2014553182	申请日	2013-12-18
[标]申请(专利权)人(译)	国立大学法人北海道大学 LSIP基金运营联合公司		
申请(专利权)人(译)	国立大学法人北海道大学 LSIP基金管理公司联合		
[标]发明人	畠山 鎮次 田中 伸哉		
发明人	畠山 鎮次 田中 伸哉		
IPC分类号	G01N33/574 G01N33/53 G01N33/48 C07K16/28		
CPC分类号	G01N33/57434 C07K16/18 G01N2333/435 G01N2333/4703 G01N2333/4742 G01N2333/4748		
FI分类号	G01N33/574.ZNA.D G01N33/53.D G01N33/53.Y G01N33/574.A G01N33/48.P C07K16/28		
F-TERM分类号	2G045/AA24 2G045/AA26 2G045/AA29 2G045/BA13 2G045/BA14 2G045/BB25 2G045/CB01 2G045/CB02 2G045/DA36 2G045/FA16 2G045/FA18 2G045/FA19 2G045/FB01 2G045/FB03 2G045/FB08 2G045/FB12 2G045/FB13 2G045/GC12 2G045/GC15 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA54 4H045/FA72 4H045/FA74		
代理人(译)	田中，三夫 山崎 宏 富田健二		
优先权	2012277980 2012-12-20 JP		
其他公开文献	JP6381034B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明的一个目的是提供一种通过搜索在前列腺基底细胞中特异性表达的分子并分析该分子来检测前列腺基底细胞的方法。上述问题可以通过检测前列腺基底细胞的方法来解决，该方法包括通过免疫组织染色使TRIM29（含三方基序的蛋白质29）蛋白在前列腺基底细胞中的表达可视化。

