

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2021-520843

(P2021-520843A)

(43) 公表日 令和3年8月26日 (2021.8.26)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/68 (2018.01)	C 1 2 Q 1/68	4 B 0 6 3
G O 1 N 33/53 (2006.01)	G O 1 N 33/53 M	4 C 0 8 4
G O 1 N 33/574 (2006.01)	G O 1 N 33/574 Z	
C 1 2 Q 1/6869 (2018.01)	C 1 2 Q 1/6869 Z	
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	
審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 19 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2020-562686 (P2020-562686)	(71) 出願人	591003013
(86) (22) 出願日	令和1年5月8日 (2019.5.8)		エフ・ホフマン-ラ ロシュ アーゲー
(85) 翻訳文提出日	令和2年11月6日 (2020.11.6)		F. HOFFMANN-LA ROCH
(86) 国際出願番号	PCT/EP2019/061810		E AKTIENGESELLSCHAFT
(87) 国際公開番号	W02019/215223		T
(87) 国際公開日	令和1年11月14日 (2019.11.14)		スイス・シーエイチー4070バーゼル・
(31) 優先権主張番号	62/668,684		グレンツァーヘルストラッセ124
(32) 優先日	平成30年5月8日 (2018.5.8)	(74) 代理人	100099759
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		弁理士 青木 篤
		(74) 代理人	100123582
			弁理士 三橋 真二
		(74) 代理人	100117019
			弁理士 渡辺 陽一
		(74) 代理人	100141977
			弁理士 中島 勝
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 多様度指数を確立することで腫瘍バリエーション多様度を評価することによるがん予後診断の方法

(57) 【要約】

本発明は、結腸直腸がん患者における治療法に対する応答を予測する方法であって、該方法は、患者の試料由来の循環腫瘍DNAの分析によって腫瘍の遺伝的異質性を測定することを含む。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

がん患者の予後を同定する方法であって、次の工程：

(a) 前記患者から得られた無細胞血液試料から核酸を単離すること；

(b) 表 1 に列挙された各バイオマーカの少なくとも一部の配列を前記試料中で決定すること；

(c) 前記患者における腫瘍バリエーション (tumor variant) 多様度指数を決定すること；

(d) 腫瘍バリエーション多様度が、良好なアウトカムを得た関連集団における患者の前記腫瘍バリエーション多様度と同分位数である場合、前記患者は予後が良好であると同定すること；又は、

(e) 腫瘍バリエーション多様度が、不良なアウトカムを得た前記関連集団における患者の前記腫瘍バリエーション多様度と同分位数である場合、前記患者は予後が不良であると同定すること；を含む、方法。

10

【請求項 2】

前記腫瘍バリエーション多様度が、Shannon 多様度指数、Simpson 多様度指数、Simpson 多様度の逆数、及び Gini - Simpson 多様度指数から選択される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記がんが、非小細胞肺癌 (non - small cell lung cancer : NSCLC)、小細胞肺癌 (small cell lung cancer : SCLC) から選択される、請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 4】

前記多様度指数が、式 I に従って決定された集団における種の比率を用いて決定される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記 Shannon 多様度指数が、式 II 又は式 III に従って決定される、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 6】

前記 Simpson 多様度の逆数が、式 IV に従って決定される、請求項 2 に記載の方法。

30

【請求項 7】

前記 Gini - Simpson 多様度指数が、式 V に従って決定される、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 8】

前記関連集団が、同タイプのがんを有する患者の前記集団である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

前記配列を決定することが、ターゲットエンリッチメントの工程を含む、請求項 1 に記載の方法。

40

【請求項 10】

前記配列を決定することが、アダプタライゲーションの工程を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 11】

前記配列を決定することが、分子バーコードを利用する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 12】

前記配列を決定することが、配列アラインメントの工程を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 13】

前記配列を決定することが、エラー訂正の工程を含む、請求項 1 に記載の方法。

50

【請求項 14】

非小細胞肺癌（NSCLC）患者を治療する方法であって、次の工程：

- （a）前記患者から得られた無細胞血液試料から核酸を単離すること；
 - （b）表 1 に列挙された各バイオマーカの少なくとも一部の配列を前記試料中で決定すること；
 - （c）前記患者における腫瘍バリエーション多様度指数を決定すること；
 - （d）腫瘍バリエーション多様度が低い場合、前記患者を化学療法レジメンに陽性反応を示す可能性が高いと判定し、前記化学療法レジメンを与えること；又は、
 - （e）腫瘍バリエーション多様度が高い場合、前記患者を前記化学療法レジメンに陽性反応を示す可能性が低いと判定し、前記化学療法レジメンを与えないこと；
- を含む、方法。

10

【請求項 15】

小細胞肺癌（SCLC）患者を治療する方法であって、次の工程：

- （a）前記患者から得られた無細胞血液試料から核酸を単離すること；
 - （b）表 1 に列挙された各バイオマーカの少なくとも一部の配列を前記試料中で決定すること；
 - （c）前記患者における腫瘍バリエーション多様度指数を決定すること；
 - （d）腫瘍バリエーション多様度が低い場合、前記患者を化学療法レジメンに陽性反応を示す可能性が高いと判定し、前記化学療法レジメンを与えること；又は、
 - （e）腫瘍バリエーション多様度が高い場合、前記患者を前記化学療法レジメンに陽性反応を示す可能性が低いと判定し、前記化学療法レジメンを与えないこと；
- を含む、方法。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、腫瘍学の分野に関する。より具体的には、本発明は、がん患者の核酸に基づく検査の分野に関する。

【背景技術】

【0002】

多くのがん患者は、転移段階で診断されるか、又はより初期段階の疾患から転移へと進行する。その時点だと予後は不良であり、効果的な治療法の最適な選択が重要である。最新の診断アプローチは、腫瘍耐性及び再発を予測するために循環腫瘍 DNA（circulating tumor DNA：ctDNA）に見出される突然変異に依存している（米国特許出願第 14/774,518 号、及び「Identification and Use of Circulating Tumor Markers」と題された国際出願第 PCT/US2015/049838 号を参照されたい）。例えば、耐性変異の変異アリル頻度（allele frequency：AF）の増加は、特定の標的治療法に対する耐性の発生を示す。しかしながら、適切な治療法を選択するためには、治療前から治療後までの腫瘍進化（tumor evolution）のより一般的な評価が必要となる。

30

40

【0003】

循環腫瘍 DNA のプロファイリングからの突然変異データには、最先端技術のツールでは容易に解釈できない情報が含まれることがある。ある時点での各患者は、循環血液内に DNA を放出した原発性及び転移性腫瘍由来の循環腫瘍バリエーションのコレクションを有する。特定の突然変異又は突然変異負荷（mutation burden）の存在又は不在は、最先端技術を用いて検出することができるが、患者ケアにおいて使用するために容易に解釈することはできない。この変異データを解釈し、臨床的に有用な情報に変換する必要がある。

【発明の概要】

【0004】

50

一実施形態では、本発明は、がん患者の予後を同定する方法であって、次の工程：患者から得られた無細胞血液試料から核酸を単離すること；表 1 に列挙された各バイオマーカの少なくとも一部の配列を該試料中で決定すること；患者における腫瘍バリエーション (t u m o r v a r i a n t) 多様度指数を決定すること；腫瘍バリエーション多様度が、良好なアウトカムを得た関連集団における患者の該腫瘍バリエーション多様度と同分位数である場合、該患者は予後が良好であると同定すること；又は、腫瘍バリエーション多様度が、不良なアウトカムを得た該関連集団における患者の該腫瘍バリエーション多様度と同分位数である場合、該患者は予後が不良であると同定すること；を含む、方法である。該腫瘍バリエーション多様度は、Shannon 多様度指数、Simpson 多様度指数、Simpson 多様度の逆数、及び Gini - Simpson 多様度指数から選択される。いくつかの実施形態では、該がんは、非小細胞肺癌 (n o n - s m a l l c e l l l u n g c a n c e r : N S C L C)、小細胞肺癌 (s m a l l c e l l l u n g c a n c e r : S C L C) から選択される。予後は、全生存期間 (o v e r a l l s u r v i v a l : O S) であってもよい。

10

【0005】

いくつかの実施形態では、該多様度指数は、式 I に従って決定された集団における種の比率を用いて決定される。Shannon 多様度指数は、式 II に従って決定することができる。Simpson 多様度指数は、式 III に従って決定することができる。Simpson 多様度の逆数は、式 IV に従って決定することができる。Gini - Simpson 多様度指数は、式 V に従って決定することができる。

20

【0006】

いくつかの実施形態では、該関連集団は、同タイプのがんを有する患者の該集団である。

【0007】

配列を決定する工程は、ターゲットエンリッチメント、アダプタライゲーション、分子バーコード、配列アラインメント、エラー訂正、及び DNA 増幅のうちの 1 つ以上を含み得る。

【0008】

別の実施形態では、本発明は、非小細胞肺癌 (N S C L C) 患者を治療する方法であって、次の工程：該患者から得られた無細胞血液試料から核酸を単離すること；表 1 に列挙された各バイオマーカの少なくとも一部の配列を該試料中で決定すること；該患者における腫瘍バリエーション多様度指数を決定すること；腫瘍バリエーション多様度が低い場合、該患者を化学療法レジメンに陽性反応を示す可能性が高いと同定し、該化学療法レジメンを与えること；又は、腫瘍バリエーション多様度が高い場合、該患者を該化学療法レジメンに陽性反応を示す可能性が低いと同定し、該化学療法レジメンを与えないこと；を含む、方法である。いくつかの実施形態では、腫瘍バリエーション多様度は、関連集団における腫瘍バリエーション多様度指数の第 1 の三分位値未満まで低下する場合は低く、そして腫瘍バリエーション多様度は、関連集団における腫瘍バリエーション多様度指数の第 1 の三分位値以上に低下する場合は高い。

30

【0009】

別の実施形態では、本発明は、小細胞肺癌 (S C L C) 患者を治療する方法であって、次の工程：該患者から得られた無細胞血液試料から核酸を単離すること；表 1 に列挙された各バイオマーカの少なくとも一部の配列を該試料中で決定すること；該患者における腫瘍バリエーション多様度指数を決定すること；腫瘍バリエーション多様度が低い場合、該患者を化学療法レジメンに陽性反応を示す可能性が高いと同定し、該化学療法レジメンを与えること；又は、腫瘍バリエーション多様度が高い場合、該患者を該化学療法レジメンに陽性反応を示す可能性が低いと同定し、該化学療法レジメンを与えないこと；を含む、方法である。いくつかの実施形態では、腫瘍バリエーション多様度は、関連集団における腫瘍バリエーション多様度指数の第 1 の三分位値未満まで低下する場合は低く、そして腫瘍バリエーション多様度は、関連集団における腫瘍バリエーション多様度指数の第 1 の三分位値以上に低下する場合は

40

50

高い。

【0010】

別の実施形態では、本発明は、プロセッサと、該プロセッサに連結された非一時的コンピュータ可読媒体と、を含む、患者における腫瘍バリエーション多様度を検出するように設計されたコンピュータシステムであって、該媒体は、表1からのバイオマーカに関するシーケンシングデータを分析し、配列比較及び突然変異検出を行い、エラー訂正を行い、式ⅠⅠ、式ⅠⅠⅠ、式ⅠⅤ、及び式Ⅴのうちの1つ以上に従って腫瘍バリエーション多様度指数を決定し、並びに試料中の腫瘍バリエーション多様度が所定の閾値を上回るか又は下回るかを判断する工程を含む方法を実施するための、該プロセッサによって実行可能なコードを含む。

10

【図面の簡単な説明】

【0011】

【図1】図1は、ステージⅣの小細胞肺癌（SCLC）患者における、全生存期間（OS）とShannon多様度指数との関係を図示している。

【図2】図2は、ステージⅣの小細胞肺癌（SCLC）患者における、全生存期間（OS）とGini-Simpson多様度指数との関係を図示している。

【図3】図3は、ステージⅣの肺腺がん（非小細胞肺癌、NSCLC）患者における、全生存期間（OS）とGini-Simpson多様度指数との関係を図示している。

【発明を実施するための形態】

【0012】

20

定義

以下の定義は、本開示を限定するものではなく、単に理解する助けとなるものである。

【0013】

用語「PFS」とは、本明細書では、患者の無増悪生存期間を記載するために使用される。

【0014】

用語「OS」とは、本明細書では、患者の全生存期間を記載するために使用される。

【0015】

用語「循環腫瘍DNA（ctDNA）」とは、本明細書では、腫瘍に由来するヒト血漿又は血清中に見出される無細胞DNA（cfDNA）の一部を記載するために使用される。循環腫瘍DNAは、腫瘍の突然変異特性によって非腫瘍DNAと区別される。

30

【0016】

用語「バイオマーカ」とは、本明細書では、生物学的又は臨床的現象に関連する情報を含むヌクレオチド配列を記載するために使用される。例えば、情報は、ヌクレオチド配列の突然変異状態であってもよい。バイオマーカは、遺伝子（コード配列、制御配列、イントロン、若しくはスプライス部位を含む）、又は遺伝子間領域であり得る。臨床現象は、悪性細胞、例えば、患者の試料中における腫瘍細胞の存在であり得る。

【0017】

用語「多様度指数」とは、本明細書では、データセット内にいくつの異なる種が存在するかを反映する定量的尺度を記述するために使用され、同時に、基本的実体がそれらの種の間でどの程度均等に分布しているかを考慮する。Magurran, A. E., 「Measuring Biological Diversity」（2003年）、Wiley-Blackwellを参照されたい。用語「腫瘍多様度指数」及び「腫瘍バリエーション多様度指数」とは、互換的に使用され、腫瘍中に見出される突然変異配列バリエーション（種）に適用される多様度指数を指す。

40

【0018】

本発明は、患者の循環腫瘍DNA（ctDNA）の突然変異内容に基づいて、腫瘍患者の予後を評価する方法である。具体的には、突然変異内容を評価して、患者における腫瘍細胞の多様度を決定する。

【0019】

50

循環腫瘍DNAのプロファイリング結果には、最先端のツールで評価できる以上の情報が含まれている可能性がある。ある時点での各患者は、循環血液内にDNAを放出した原発性及び転移性腫瘍の両方を含有する循環腫瘍バリエーションのコレクションを有する。腫瘍の異なるサブクローンが循環腫瘍DNAに寄与するので、循環腫瘍バリエーションは、典型的な組織アッセイから生成できるものよりも多くを提供する可能性がある。更に、元の腫瘍細胞のサブクローンは時間とともに進化し、患者の血液中で検出可能な突然変異プロファイルを変化させる。本発明は、患者の医師に使える結果を提供するために、患者における腫瘍細胞の集団の豊富さ及び存在量を分析するための生態学的多様度指数を利用する新規な方法である。

【0020】

生態学的多様度指数は以前に腫瘍へ適用されている。Maleyら(「Genetic clonal diversity predicts progression to esophageal adenocarcinoma」、Nat. Genet.、第38巻、第468～473頁(2006年))は、複数の組織生検、細胞選別、並びにTP53及び染色体17のセントロメアへのFISHプローブを用いて、試料当たりの遺伝的に異なるクローンを測定するための、食道腺がんにおけるShannon多様度を適用実証した。Shannon多様度指数の上位四分位値の患者は、Barrett食道として知られる前がん性状態から食道腺がんを発症する確率が高いことがわかった。Almendo Vら(「Inference of tumor evolution during chemotherapy by computation modeling and in situ analysis of genetic and phenotypic cellular diversity」、Cell Reports.、第6巻、第514～527頁(2014年))は、乳がんにおける多様度を特徴づけるために同様のアプローチを用いたが、Merlo LMFら(「A comprehensive survey of clonal diversity measures in Barrett's esophagus as biomarkers of progression to esophageal adenocarcinoma」、Cancer Prevention Research、11月号、第3巻、第11号、第1388～97頁(2010年))は、Shannon及びSimpsonが食道腺がんにおいて類似していることを示した。

【0021】

本発明は、患者のctDNAにおいて検出された突然変異に生態学的多様度指数を適用する、包括的アプローチである。いくつかの実施形態では、指数は、Shannon指数、Simpson指数、又はそれらの組合せである。いくつかの実施形態では、突然変異は、患者のctDNAに適用される次世代シーケンシングデータによって評価される。生態学的多様度の評価により、患者の予後が予測され、治療法を提案される。

【0022】

いくつかの実施形態では、本発明は、バイオマーカパネルを使用して、次世代シーケンシング(next-generation sequencing: NGS)によってがん関連遺伝子における体細胞突然変異及び突然変異負荷を同定する。いくつかの実施形態では、本発明は、患者由来の血液、又は血液由来試料を利用した。試料は、循環腫瘍DNA(cfDNA又はctDNA)を含む無細胞DNAを含有する、任意の血液画分、例えば、血清又は血漿を含んでもよい。いくつかの実施形態では、試料は、治療中の様々な時間、例えば、手術の前及び後、又は化学療法レジメンの前、後、及び最中に、連続して採取される。いくつかの実施形態では、固形腫瘍試料などの腫瘍試料は、血液試料との比較のために使用される。固形組織又は血液試料は、ホルマリン固定パラフィン包埋(formalin-fix paraffin-embedding: FFPE)、新鮮凍結組織、又は保存培地中で収集された血液組織を含む、中にDNAを保存する好適な手段によって収集することができる。

【0023】

いくつかの実施形態では、本発明は、遺伝子パネル又は突然変異パネル又は体細胞バリエーションパネルを含む、バイオマーカーパネルを利用する。ゲノムの小部分（例えば、１メガベース、２００キロベース、１００キロベース以下）を含むパネルの使用は、全ゲノムシーケンシング（whole genome sequencing：WGS）及び全エクソームシーケンシング（whole exome sequencing：WES）のような既存の方法よりも効率が改善している。パネルで評価される突然変異には、それらが遺伝子のコード領域に生じる場合、ナンセンス・ミスセンス突然変異及びフレームシフト突然変異に対応する一塩基多様性（single-nucleotide variation：SNV）、欠失、及び挿入（インデル）が含まれ得る。他のタイプの突然変異には、遺伝子融合及び転位置が含まれる。このようなパネルの選択、サイズ、及び内容は、例えば、米国特許出願第１４／７７４，５１８号、及び国際出願第PCT/US2015/049838号「Identification and Use of Circulating Tumor Markers」に記載されている。いくつかの実施形態では、本発明は、パネル中のバイオマーカー、例えば表１に列挙された遺伝子の配列を決定することを含む。いくつかの実施形態では、遺伝子の全配列を決定する。他の実施形態では、遺伝子の全コード配列を決定する。他の実施形態では、がんにおいて変異誘発を受けることが知られている遺伝子の一部の配列のみが決定される。更に他の実施形態では、バイオマーカーはコード配列と関連しないが、制御配列、又はヒト腫瘍において変異することが知られている未知の機能の配列と関連する。

10

20

30

40

【００２４】

本発明の文脈において、バイオマーカーの配列は、当該技術分野で公知である任意の好適な方法によって決定することができる。好適な方法は、低いエラー率でまれな配列を検出するのに十分な精度、例えば、感受性及び特異性を有する。いくつかの実施形態では、シーケンシング方法は、例えば、上記の特許出願「Identification and Use of Circulating Tumor Markers」に記載されているような、分子バーコード、エラーステレオタイピング（error stereotyping）、及びエラー抑制の他の化学的方法又は計算方法の使用といった、エラー訂正工程を含む。シーケンシング方法には、アレイに基づくシーケンシング（Illumina、カリフォルニア州サンディエゴ）、エマルジョンに基づくシーケンシング（ThermoFisher、マサチューセッツ州ウォルサム）、光学的測定に基づくシーケンシング（Pacific Biosciences、カリフォルニア州メンローパーク）、若しくはナノポアに基づくシーケンシング（Roche Sequencing Solutions、カリフォルニア州サンタクララ）若しくはOxford Nanopore（オックスフォード、英国）、又は利用可能な任意の他の単一分子に基づくシーケンシング方法を含む、超並列シーケンシング方法を挙げることができる。

【００２５】

いくつかの実施形態では、本発明は、試料中の腫瘍特異的突然変異を同定及び定量化するために、患者の組織及び血液を分析することができるA VENIO（登録商標）ctDNA Analysis Kit（Roche Sequencing Solutions, Inc.、カリフォルニア州プレザントン）などのバイオマーカーパネルを利用する。バイオマーカーパネルの構成は、表１に示すA VENIO（登録商標）ctDNA Analysis Kit監視パネルである。

【表 1】

表 1. 監視バイオマーカパネルの構成

ABCC5	CSMD1	FAT1	HTR1E	MAP7D3	PIK3CA	SV2A
ABCG2	CSMD3	FBN2	HTR2C	MKRN3	PIK3CG	T
ACTN2	CTNNB1	FBXL7	IFI16	MMP16	PKHD1L1	THSD7A
ADAMTS12	CTNND2	FBXW7	IL7R	MTX1	POLE	TIAM1
ADAMTS16	CYBB	FCRL5	INSL3	MYH7	POM121L12	TMEM200A
ARFGEF1	DCAF12L1	FOXG1	ITGA10	MYT1L	PREX1	TNFRSF21
ASTN1	DCAF12L2	FRYL	ITSN1	NAV3	PTPLA	TNN
ASTN2	DCAF4L2	GBA3	KCNA5	NEUROD4	RALYL	TNR
AVPR1A	DCLK1	GBP7	KCNB2	NFE2L2	RFX5	TRHDE
BCHE	DCSTAMP	GJA8	KCNC2	NLGN4X	RIN3	TRIM58
BPIFB4	DDI1	GPR139	KCNJ3	NLRP3	RNASE3	TRPS1
C6	DLGAP2	GRIA2	KCTD8	NMUR1	ROBO2	UGT3A2
C6orf118	DMD	GRIK3	KEAP1	NOL4	SEMA5B	USH2A
CA10	DNTTIP1	GRIN2B	KIAA1211	NPAP1	SLC18A3	USP29
CACNA1E	DOCK3	GRIN3B	KIF17	NR0B1	SLC39A12	VPS13B
CDH12	DSC3	GRM1	KIF19	NRXN1	SLC6A5	WBSCR17
CDH18	DSCAM	GRM5	KLHL31	NXPH4	SLC8A1	WIPF1
CDH8	EGFLAM	GRM8	KPRP	NYAP2	SLITRK1	WSCD2
CDH9	EPHA5	GSX1	LPPR4	OPRD1	SLITRK4	ZC3H12A
CDKN2A	EPHA6	HCN1	LRFN5	P2RY10	SLITRK5	ZFPM2
CHRM2	EYS	HCRTR2	LRP1B	PAX6	SLPI	ZIC1
CNTN5	FAM135B	HEBP1	LRRC7	PCDH15	SMAD4	ZIC4
CNTNAP2	FAM151A	HECW1	LRRTM1	PDYN	SOX9	ZNF521
CPXCR1	FAM5B	HS3ST4	LRRTM4	PDZRN3	SPTA1	ZSCAN1
CPZ	FAM5C	HS3ST5	LTBP4	PGK2	ST6GALNAC3	KIT
CRMP1	FAM71B	HTR1A	MAP2	PHACTR1	STK11	NRAS
APC	KRAS	ALK	PDGFRA	MET	BRAF	RET
BRCA1	BRCA2	TP53	DPYD	EGFR	ERBB2	UGT1A1

10

20

30

40

50

【0026】

いくつかの実施形態では、表 1 に列挙された 197 の遺伝子のパネルが使用される。いくつかの実施形態では、本発明は、臨床試料から得られた結果に基づいてバイオマーカパネルを改善する工程を更に含む。いくつかの実施形態では、本発明は、統計的に有意な数の患者由来の無細胞 DNA におけるバイオマーカの存在と、治療法に応答した A) RFS、B) TTR (又は DFS)、C) OS、又は上記のいずれかとの間の相関を分析する工程を含む。予測相関を示す追加のバイオマーカは、パネルに含まれる。統計的に有意な予測相関を示さないバイオマーカは、パネルから除外される。

【0027】

いくつかの実施形態では、バイオマーカの配列を決定する工程は、ターゲットエンリッチメント工程を含む。エンリッチメントは、1つ以上の標的特異的プローブを介して標的配列を捕捉することによって行うことができる。試料中の核酸を変性させ、一本鎖標的特異的プローブと接触させてもよい。プローブは、ハイブリダイゼーション複合体が形成された後、親和性捕捉部分を提供することによってそれらが捕捉されるように、親和性捕捉部分に対するリガンドを含んでもよい。いくつかの実施形態では、親和性捕捉部分はアビジン又はストレプトアビジンであり、リガンドはビオチンである。いくつかの実施形態で

は、該部分は、固体支持体に結合される。以下に更に詳細に説明するように、固体支持体は、DYNABEADS（商標）磁気ビーズ又は磁性ガラス粒子などの超常磁性球状ポリマー粒子を含んでもよい。

【0028】

いくつかの実施形態では、バイオマーカの配列を決定する工程は、アダプタ分子が標的核酸に連結されるアダプタライゲーション工程を更に含む。ライゲーションは、平滑末端ライゲーション、又はより効率的な付着末端ライゲーションであり得る。標的核酸は、鎖充填を含む「最終修復（end repair）」、すなわち、DNAポリメラーゼによって3'末端を伸長して5'オーバーハングを除去することによって、平滑末端にすることができる。いくつかの実施形態では、平滑末端核酸は、例えばDNAポリメラーゼ又は末端トランスフェラーゼによって、アダプタの3'末端への単一ヌクレオチド及び標的核酸の3'末端への単一相補的ヌクレオチドを付加することで付着性にすることができる。更に他の実施形態では、アダプタ及び標的核酸は、制限エンドヌクレアーゼでの消化によって付着末端（オーバーハング）を獲得し得る。制限酵素認識部位は、固有のものであってもよく、又は配列に組み込まれてもよい。いくつかの実施形態では、他の酵素工程が、ライゲーションを達成するために必要とされ得る。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドキナーゼは、標的核酸分子及びアダプタ分子に5'-リン酸を加えるために使用され得る。いくつかの実施形態では、アダプタ分子は、インビトロ合成人工配列である。他の実施形態では、アダプタ分子は、インビトロ合成天然配列である。更に他の実施形態では、アダプタ分子は、天然分子から単離される。

10

20

【0029】

いくつかの実施形態では、バイオマーカの配列を決定する工程は、標的核酸を増幅する工程を更に含む。増幅は、指数関数的ポリメラーゼ連鎖反応（polymerase chain reaction：PCR）、一方の鎖のみの線形増幅、又はオリゴヌクレオチドプライマを利用する任意の他の方法によるものであってもよい。種々のPCR条件は、「PCR Strategies」（M.A. Innis、D.H. Gelfand、及びJ.J. Sninsky eds.（1995年）Academic Press、カリフォルニア州サンディエゴ）第14章；「PCR Protocols：A Guide to Methods and Applications」（M.A. Innis、D.H. Gelfand、J.J. Sninsky、及びT.J. White eds.、Academic Press、ニューヨーク州（1990年））に記載されている。増幅工程は、アダプタライゲーションの前又は後に行うことができる。したがって、増幅は、例えばアダプタライゲーションによって標的配列に導入されたユニバーサルプライマ結合部位を利用する。他の実施形態では、遺伝子特異的（標的特異的）プライマ又はプライマ対はアダプタライゲーションの前に使用され、増幅された標的核酸は、本明細書に記載されるようにアダプタにライゲーションされる。

30

【0030】

いくつかの実施形態では、本発明は、標的核酸へのバーコードの導入を含む。個々の分子のシーケンシングは、典型的には、例えば、米国特許第7,393,665号、同第8,168,385号、同第8,481,292号、同第8,685,678号、及び同第8,722,368号に記載されているような分子バーコードを必要とする。固有分子バーコードは、典型的にはインビトロ操作の最初の工程の間に患者の試料などの試料中の各分子に加えられる、短い人工配列である。バーコードは分子とその子孫を標識する。固有分子バーコード（unique molecular barcode：UID）には複数の用途がある。バーコードは、試料中の個々の核酸分子を追跡して、例えば、生検なしにがんを検出しモニタするために、患者の血液中の循環腫瘍DNA（ctDNA）分子の存在及び量を評価することを可能にする。米国特許出願第14/774,518号を参照されたい。固有分子バーコードはまた、シーケンシングのエラー訂正にも使用できる。単一の標的分子の子孫全体が同じバーコードで標識され、バーコード化されたファミリーを形成する。バーコード化されたファミリーの全メンバに共有されていない配列の変動は、人工

40

50

物として廃棄され、これは真の突然変異ではない。バーコードはまた、ファミリー全体が元の試料中の単一分子を表しているため、位置的重複排除及び標的の定量化にも使用することができる。I dを参照のこと。

【0031】

いくつかの実施形態では、アダプタは、1つ以上のバーコードを含む。他の実施形態では、増幅プライマ（例えば、アダプタライゲーションの前に増幅で使用するプライマ）は、プライマの5'部分にバーコードを含む。バーコードは、試料が混合（多重化）される試料の源を同定するために使用される多重試料ID（MID）であってもよい。バーコードはまた、各元の分子及びその子孫を同定するために使用される固有分子ID（UID）としても機能する。バーコードはまた、UIDとMIDとの組合せであってもよい。いくつかの実施形態では、単一のバーコードが、UID及びMIDの両方として使用される。いくつかの実施形態では、各バーコードは、所定の配列を含む。他の実施形態では、バーコードは、ランダム配列を含む。バーコードは1～20ヌクレオチド長であり得る。

10

【0032】

いくつかの実施形態では、バイオマーカの配列を決定する工程は、配列分析の工程を更に含む。この工程は、配列アラインメント、エラー訂正、及び配列変動（突然変異）の決定を含む。いくつかの実施形態では、アラインメントを使用して、複数の配列、例えば同じバーコード（UID）を有する複数の配列からコンセンサス配列を決定する。いくつかの実施形態では、バーコード（UID）は、全てが同一のバーコード（UID）を有する複数の配列からコンセンサスを決定するために使用される。他の実施形態では、バーコード（UID）は、を使用して、人工物、すなわち、同一のバーコード（UID）を有する一部の配列に存在するが全ての配列には存在しない変動を除去するために使用される。PCRエラー又はシーケンシングエラーから生じるこのような人工物は、除去され得る。

20

【0033】

いくつかの実施形態では、試料中の各配列の数は、試料中の各バーコード（UID）を有する配列の相対数を定量化することによって定量化することができる。各UIDは、元の試料中の単一の分子を表し、各配列バリエーションに関連する異なるUIDを計数することによって、元の試料中の各配列の画分を決定することができる。当業者は、コンセンサス配列を決定するために必要な配列読取りの数を決定することができる。いくつかの実施形態では、関連する数は、正確な定量的結果のために必要なUID（「配列深度（sequence depth）」）当たりの読取りである。いくつかの実施形態では、所望の深度はUID当たり5～50読取りである。

30

【0034】

本発明は、多様度指数を決定する工程、すなわちデータセット内にどれだけの異なる種が存在するかを反映する定量的尺度を決定することによって、患者の試料中の腫瘍バリエーション多様度を決定する工程を含み、同時に、基本的実体（個々の突然変異配列など）がそれらの種の間でどれだけ均等に分布しているかを考慮する。Magurran, A. E., 「Measuring Biological Diversity」（2003年）、Wiley - Blackwellを参照されたい。

40

【0035】

いくつかの実施形態では、多様度指数は、 $(\sum_i p_i)$ として表されるShannon多様度指数であり、ここで、 p_i は、集団における種*i*の比率である。種とは、患者の試料中に存在する配列のバリエーションである。試料中の全ての種の比率を合計すると1（すなわち、 $\sum_i p_i = 1$ ）になるので、各 p_i は、各試料の全ての p_i の合計によって標準化される。種の数、すなわちバリエーション（突然変異）配列を評価して、 p_i を決定する。いくつかの実施形態では、種数は、式Iに従ってVARDPTHとして評価される。他の実施形態では、種数は、二重鎖深度（すなわち、バリエーションを有する測定した二重鎖分子）又はアレル頻度といった、別の定量的測定として評価される。

【0036】

いくつかの実施形態では、集団中の種*i*の比率である p_i は、式Iに従って計算される

50

。

【0037】

式 I

$$p_i = \text{VARDEPTH}_i / \text{SVD}$$

VARDEPTH = 重複排除されたバリエーション深度又は分子深度、すなわち、シーケンシングの実行中に検出されたバリエーション (突然変異) を含む固有分子の数;

SVD = 検出されたバリエーション (突然変異) を有する全分子の合計に対する $\sum_i \text{VARDEPTH}_i$

【0038】

したがって、Shannon 多様度指数は式 II で表される。

10

【0039】

式 II

$$\text{Shannon} = (\text{VARDEPTH}_i / \text{SVD}) \text{ 中 } - \sum_i (\text{VARDEPTH}_i / \text{SVD})$$

【0040】

いくつかの実施形態では、多様度指数は、 $\sum_i p_i^2$ (式 III) で表される、Simpson 多様度指数である。いくつかの実施形態では、多様度指数は、 $1 / \sum_i p_i^2$ (式 IV) で表される、Simpson 逆指数である。いくつかの実施形態では、多様度指数は、 $1 - \sum_i p_i^2$ (式 V) で表される、Gini-Simpson 指数である。全実施形態では、 p_i は、上記のように (例えば、式 I に従って、又は VARDEPTH の代わりに式 I で利用される VARDEPTH に代わる定量的測定を使用して) 計算された集団における種 i の比率である。

20

【0041】

いくつかの実施形態では、本発明に従って決定される腫瘍バリエーション多様度は、高い又は低いと評価される。いくつかの実施形態では、腫瘍バリエーション多様度は、関連集団が同じタイプのがんと診断されたがん患者からなる集団レベルで評価される。例えば、腫瘍バリエーション多様度は、集団中の分位数を下回る場合は低いと定義され、腫瘍バリエーション多様度は、集団中の同じ分位数以上である場合は高いと定義される。分位数は、四分位値、三分位値、又は中央値とであり得る。いくつかの実施形態では、分位数及び腫瘍バリエーション多様度は、集団中の第 1 の三分位値を下回る場合は低いと定義され、腫瘍バリエーション多様度は、集団中の第 1 の三分位値以上である場合は高いと定義される。

30

【0042】

いくつかの実施形態では、本発明は、患者の ctDNA から得られた腫瘍バリエーション多様度指数を用いて、患者におけるがんの状態を評価する工程を含む。いくつかの実施形態では、評価は、患者が抗がん治療法に应答する可能性があるか、又は应答しない可能性があるかを同定することを含む。他の実施形態では、評価は、予測された無増悪生存期間 (PFS) 及び全生存期間 (OS) として表される患者の予後を決定することを含む。いくつかの実施形態では、治療法に対する应答は、治療法完了後の予測された無増悪生存期間 (PFS) 及び全生存期間 (OS) として評価される。いくつかの実施形態では、治療法は、第一選択化学療法又は化学放射線療法である。評価は、本明細書に記載されるように決定される腫瘍バリエーション多様度に基づく。いくつかの実施形態では、患者の予後を決定する工程を含む評価工程は、上記のような集団データを用いて行うことができる。一部の集団では、低腫瘍多様度指数は、予後不良及び治療法に対する应答不良を示す。このような集団では、四分位値、三分位値、又は中央値などの設定された分位数未満の腫瘍多様度指数を検出することは、予後不良及び治療法に対する应答不良の評価を示す。他の集団では、高腫瘍多様度指数は、良好な予後及び治療法に対する正の应答を示す。このような集団では、四分位値、三分位値、又は中央値などの設定された分位数以上の腫瘍多様度指数を検出することは、良好な予後及び治療法に対する正の应答の評価を示す。

40

【0043】

以下に示す実施例は、異なる集団、すなわち異なるタイプのがんと診断された患者にお

50

ける、腫瘍多様度指数の使用を例示する。第1の実施例では、図1に示すように、より低いShannon多様度指数を示すステージIVの小細胞肺癌（SCLC）患者は、より高いShannon多様度指数を示す患者と比較して、予後が不良であった。指数はベースライン（化学療法の前）で評価した。最初の三分位値（1.17以下）にバリエーション二重鎖深度を有する患者は、全生存期間がより短かった（ハザード比 = 1.8；95%信頼区間 1 ~ 3.3；ログランク $p = 0.034$ ；生存期間中央値の差 = 4.5ヶ月）。

【0044】

別の実施例では、図2に示すように、より低いGini-Simpson多様度指数を示すステージIVの小細胞肺癌（SCLC）患者は、より高いGini-Simpson多様度指数を示す患者と比較して、予後が不良であった。指数はベースライン（化学療法の前）で評価した。最初の三分位値（0.64以下）でバリエーション二重鎖深度を有する患者は、全生存期間がより短かった（ハザード比 = 1.8；95%信頼区間 1 ~ 3.3；ログランク $p = 0.033$ ；生存期間中央値の差 = 4.5ヶ月）。Gini-Simpson及び逆Simpson値は同じ生存分析結果を示した。

10

【0045】

異なる集団による一実施例では、より低いGini-Simpson多様度指数を示すステージIVの肺腺がん（非小細胞肺癌、NSCLC）患者は、より高いGini-Simpson多様度指数を示す患者と比較して、予後が良好であった（図3）。指数はベースライン（化学療法の前）で評価した。第1の四分位値（0.65以下）でバリエーション二重鎖深度を有する患者は、化学療法治療から6ヶ月もの長い無増悪生存期間を有した。Gini-Simpson及び逆Simpson値は同じ生存分析結果を示した。

20

【0046】

いくつかの実施形態では、本発明はまた、患者のctDNAから得られた腫瘍バリエーション多様度指数によって導かれる評価に基づいて、患者におけるがんの治療法を推奨又は投与する工程も含む。いくつかの実施形態では、本発明は、治療法完了後の無増悪生存期間（PFS）及び全生存期間（OS）を予測（本明細書に記載されるように決定される腫瘍バリエーション多様度の使用）することによって患者が治療に応答する可能性があるかどうかを決定する工程と、患者が応答すると予測される場合、患者に治療法を推奨又は投与する工程と、を含む。いくつかの実施形態では、治療法は、化学療法、化学放射線療法、又は免疫療法である。

30

【0047】

本発明の一態様は、患者における腫瘍バリエーション多様度を検出するためのシステムを含む。該システムは、プロセッサと、該プロセッサに連結された非一時的コンピュータ可読媒体と、を含み、該媒体は、表1からのバイオマーカーに関するシーケンシングデータを分析し、配列比較及び突然変異検出を行い、エラー訂正を行い、式II、式III、式IV、又は式Vに従って腫瘍バリエーション多様度指数を決定し、並びに試料中の腫瘍バリエーション多様度が所定の閾値、例えば集団に基づく閾値を上回るか又は下回るかを判断する工程を含む方法を実施するための、該プロセッサによって実行可能なコードを含む。いくつかの実施形態では、腫瘍バリエーション多様度が閾値以上である場合、システムは患者を高腫瘍腫瘍バリエーション多様度を有するものとして分類し、任意に、高腫瘍バリエーション多様度に対する予後又は治療法の推奨を出力する。同時に、腫瘍バリエーション多様度が閾値を下回る場合、システムは患者を低腫瘍腫瘍バリエーション多様度を有するものとして分類し、任意に、低腫瘍バリエーション多様度に対する予後又は治療法の推奨を出力する。

40

【0048】

いくつかの実施形態では、1つ以上の記憶装置を備えることができるコンピュータ可読媒体は、患者における腫瘍バリエーション多様度応じた利用可能な治療法のリストを含むデータベースを含む。コンピュータ可読媒体は、好適な治療を列挙するレポートを生成するための命令を有するプログラムコードを更に含む。

【0049】

システムは、デジタルデータを処理するためのプロセッサと、デジタルデータを格納す

50

るためのプロセッサに結合されたメモリと、デジタルデータを入力するためのプロセッサに結合された入力デジタイザと、メモリに格納されプロセッサによってアクセス可能なプログラムコードと、プロセッサに結合された表示装置と、デジタルデータから得られた情報を表示するためのメモリと、データネットワーキングと、1つ以上の情報データベースと、を含む、様々な機能的態様を備えることができる。データベースは、患者データ、患者試料データ、以前の治療データを含む臨床データ、治療及び治療薬のリスト、及び患者追跡データなどを含んでもよい。

【実施例】

【0050】

実施例1．小細胞肺がん（SCLC）患者における腫瘍バリエーション多様度の評価

10

本実施例では、治療前血漿試料は、ステージIVの小細胞肺がん（SCLC）である対象56人から得られた。対象は以前に第一選択化学療法又は化学放射線療法で治療されたことがある。血漿試料は、A V E N I O（登録商標）c t D N A S u r v e i l l a n c e K i t（R o c h e S e q u e n c i n g S o l u t i o n s、カリフォルニア州プレザントン）、198キロベースの標的化次世代シーケンシングパネル（表1）を用いて分析した。試料は製造業者の推奨に従って処理した。シーケンシングデータを製造業者の推奨に従って分析し、配列読取りにおけるバリエーションを決定した。

【0051】

S h a n n o n多様度指数（式I）及びS i m p s o n多様度指数（式II）を、種として各体細胞バリエーションと、その種の存在量としてその変異を伴う検出された二重鎖分子の数とを考慮することにより、バリエーションデータに適用した。試料の血漿バリエーション多様度スコアがコホートの最初の三分位値を下回った場合、試料は低腫瘍不均一性であるとしてランク付けされた。

20

【0052】

結果は、S h a n n o n多様度指数として評価した低い腫瘍バリエーション多様度を有するステージIVのSCLC対象が、より短い全生存期間であったことを示す（ハザード比 = 1.8；95%信頼区間1~3.3；ログランクp = 0.034；生存期間中央値の差 = 4.5ヶ月；図1）。同様に、G i n i - S i m p s o n指数又はS i m p s o n多様度の逆数として評価した低い腫瘍バリエーション多様度を有する対象は、より短い全生存期間であった（ハザード比 = 1.8；95%信頼区間1~3.3；ログランクp = 0.033；生存期間中央値の差 = 4.5ヶ月；図2）。

30

【0053】

実施例2．非小細胞肺がん（NSCLC）患者における腫瘍バリエーション多様度の評価

また、41のステージIV肺腺がん（非小細胞肺がん（NSCLC））の前向き観察研究から、治療前血漿試料に関するS i m p s o n多様度指数も評価した。対象は以前に第一選択化学療法又は化学放射線療法で治療されたことがある。血漿試料は、A V E N I O（登録商標）c t D N A S u r v e i l l a n c e K i t（R o c h e S e q u e n c i n g S o l u t i o n s、カリフォルニア州プレザントン）、198キロベースの標的化次世代シーケンシングパネル（表1）を用いて分析した。試料は製造業者の推奨に従って処理した。シーケンシングデータを製造業者の推奨に従って分析し、配列読取りにおけるバリエーションを決定した。

40

【0054】

S h a n n o n多様度指数（式I）及びS i m p s o n多様度指数（式II）をバリエーションデータに適用した。試料の血漿バリエーション多様度スコアがトレーニングコホートの最初の三分位値を下回った場合、試料は低腫瘍バリエーション多様度であるとして分類された。G i n i - S i m p s o n指数又はS i m p s o n多様度の逆数として評価した腫瘍バリエーション多様度が低いステージIVの腺がん対象は、化学療法治療から6ヶ月もの長い無増悪生存期間を有した（図3）。

【0055】

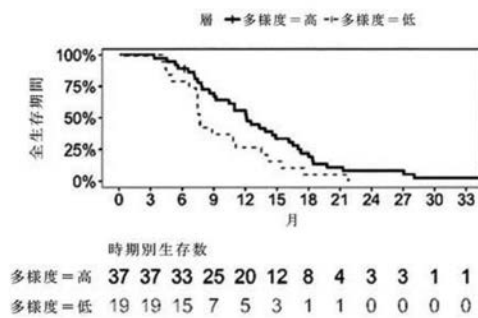
本発明を特定の実施例を参照して詳細に説明したが、本発明の範囲内で種々の変更を行

50

うことができることは、当業者には明らかであろう。したがって、本発明の範囲は、本明細書に記載される実施例によって限定されるべきではなく、以下に提示される特許請求の範囲によって限定されるべきである。

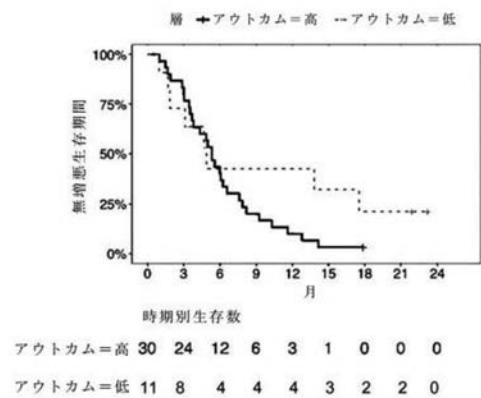
【図 1】

図 1



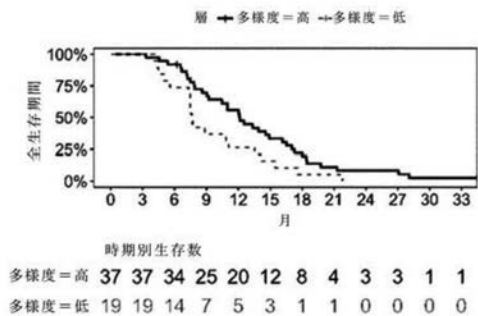
【図 3】

図 3



【図 2】

図 2



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2019/061810

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C12Q1/6886

ADD.

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)

C12Q

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

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

EPO-Internal, BIOSIS, Sequence Search, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CHRISTOPHER ABBOSH ET AL: "Phylogenetic ctDNA analysis depicts early-stage lung cancer evolution", NATURE, vol. 545, no. 7655, 26 April 2017 (2017-04-26), pages 446-451, XP055409582, London ISSN: 0028-0836, DOI: 10.1038/nature22364 the whole document ----- -/--	1-16

☒ 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

15 August 2019

Date of mailing of the international search report

27/08/2019

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Betz, Jürgen

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2019/061810

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CHUNG YUL RI ET AL: "Diversity index as a novel prognostic factor in breast cancer.", ONCOTARGET 14 NOV 2017, vol. 8, no. 57, 14 November 2017 (2017-11-14), pages 97114-97126, XP002793566, ISSN: 1949-2553 the whole document	1-16
A	----- ALEGRE E ET AL: "Total and mutated EGFR quantification in cell-free DNA from non-small cell lung cancer patients detects tumor heterogeneity and presents prognostic value", TUMOR BIOLOGY, KARGER, BASEL, CH, vol. 37, no. 10, 29 July 2016 (2016-07-29), pages 13687-13694, XP036092751, ISSN: 1010-4283, DOI: 10.1007/S13277-016-5282-9 [retrieved on 2016-07-29] the whole document	1-16
A	----- ALMENDRO V ET AL: "Inference of tumor evolution during chemotherapy by computational modeling and in situ analysis of genetic and phenotypic cellular diversity", CELL REPORTS, ELSEVIER INC, US, vol. 6, no. 3, 13 February 2014 (2014-02-13), pages 514-527, XP002743200, ISSN: 2211-1247, DOI: 10.1016/J.CELREP.2013.12.041 [retrieved on 2014-01-23] figure 7	1-16
A	----- HUI LIU ET AL: "A system for tumor heterogeneity evaluation and diagnosis based on tumor markers measured routinely in the laboratory", CLINICAL BIOCHEMISTRY, ELSEVIER INC, US, CA, vol. 48, no. 18, 26 July 2015 (2015-07-26), pages 1241-1245, XP029330623, ISSN: 0009-9120, DOI: 10.1016/J.CLINBIOCHEM.2015.07.027 the whole document	1-16
	----- -/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2019/061810

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	PENG MUYUN ET AL: "Non-blood circulating tumor DNA detection in cancer", ONCOTARGET, vol. 8, no. 40, 15 September 2017 (2017-09-15), pages 69162-69173, XP002793567, the whole document -----	1-16
A	US 2017/091527 A1 (SARACHAN BRION DARYL [US] ET AL) 30 March 2017 (2017-03-30) the whole document -----	1-16

Information on patent family members

PCT/EP2019/061810

フロントページの続き

(51) Int. Cl.		F I		テーマコード (参考)
A 6 1 P 35/00 (2006.01)		A 6 1 P 35/00		
A 6 1 K 45/00 (2006.01)		A 6 1 K 45/00		

(81) 指定国・地域 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, 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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, 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

(74) 代理人 100150810

弁理士 武居 良太郎

(74) 代理人 100197169

弁理士 柴田 潤二

(72) 発明者 シアオチュイ マー

アメリカ合衆国, カリフォルニア 9 4 5 8 8, プレザントン, ハシエンダ ドライブ 4 3 0 0
 , シーノオー ロシュ シークエンシング ソリューションズ, インコーポレイティド

(72) 発明者 ブリジット ベーンル

ドイツ連邦共和国, 8 2 3 7 7 ペンツベルク, ノンネンバルト 2, ツェーノオー ロッシュ
 ディアグノスティクス ゲゼルシャフト ミット ベシュレンクテル ハフツング

(72) 発明者 ステファニー ジェイ・ヤン

アメリカ合衆国, カリフォルニア 9 4 5 8 8, プレザントン, ハシエンダ ドライブ 4 3 0 0
 , シーノオー ロシュ シークエンシング ソリューションズ, インコーポレイティド

(72) 発明者 トーマス ミューラー

ドイツ連邦共和国, 6 9 1 2 6 ハイデルベルク, レントゲンシュトラッセ 1, ツェーノオー
 トラクスクリニック ハイデルベルク ゲゼルシャフト ミット ベシュレンクテル ハフツング

(72) 発明者 フェリクス ヘルト

ドイツ連邦共和国, 6 9 1 2 6 ハイデルベルク, レントゲンシュトラッセ 1, ツェーノオー
 トラクスクリニック ハイデルベルク ゲゼルシャフト ミット ベシュレンクテル ハフツング

(72) 発明者 アーシ バラスブラマンヤン

アメリカ合衆国, カリフォルニア 9 4 5 8 8, プレザントン, ハシエンダ ドライブ 4 3 0 0
 , シーノオー ロシュ シークエンシング ソリューションズ, インコーポレイティド

(72) 発明者 シー リョウ

アメリカ合衆国, カリフォルニア 9 4 5 8 8, プレザントン, ハシエンダ ドライブ 4 3 0 0
 , シーノオー ロシュ シークエンシング ソリューションズ, インコーポレイティド

(72) 発明者 クリスティーン チュイ

アメリカ合衆国, カリフォルニア 9 4 5 8 8, プレザントン, ハシエンダ ドライブ 4 3 0 0
 , シーノオー ロシュ シークエンシング ソリューションズ, インコーポレイティド

F ターム(参考) 4B063 QA05 QA13 QA19 QQ03 QQ08 QQ43 QR32 QR72 QR77 QS38

QX02

4C084 AA17 NA14 ZA59 ZB26