

(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2020-515287

(P2020-515287A)

(43) 公表日 令和2年5月28日(2020.5.28)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 5/07 (2010.01)	C 1 2 N 5/07	2 G 0 4 5
C 1 2 N 5/09 (2010.01)	C 1 2 N 5/09	4 B 0 6 3
C 1 2 Q 1/04 (2006.01)	C 1 2 Q 1/04	4 B 0 6 5
C 1 2 Q 1/00 (2006.01)	C 1 2 Q 1/00	C
G 0 1 N 33/48 (2006.01)	G 0 1 N 33/48	P
審査請求 未請求 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2020-501427 (P2020-501427)
 (86) (22) 出願日 平成30年3月22日 (2018. 3. 22)
 (85) 翻訳文提出日 令和1年10月29日 (2019. 10. 29)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2018/023840
 (87) 国際公開番号 W02018/175774
 (87) 国際公開日 平成30年9月27日 (2018. 9. 27)
 (31) 優先権主張番号 15/466, 421
 (32) 優先日 平成29年3月22日 (2017. 3. 22)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)

(71) 出願人 519344062
 エスエルエムピー、エルエルシー
 アメリカ合衆国、75071 テキサス州
 、マッキニー、2090 コマース ドラ
 イブ
 (74) 代理人 100104411
 弁理士 矢口 太郎
 (72) 発明者 イمام、サイド、アシュラフ
 アメリカ合衆国、91605 カリフォル
 ニア州、ノース ハリウッド、7936
 ティーズデール アベニュー
 (72) 発明者 リース、マーク、リー、
 アメリカ合衆国、11743 ニューヨー
 ク州、ハンティントン、9 グリーンヒル
 レーン

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 合成組織対照及び合成組織マイクロアレイ対照の細胞収率

(57) 【要約】

病理検査及び臨床検査室検査は、現代の診断及び予後診療の重要な態様である。対照試料は、免疫組織化学 (IHC) 染色、in situハイブリダイゼーション (ISH)、及び他の分子分析方法により、検査結果の再現性についての品質管理 (QC) を維持するためによく使用される。腫瘍組織及び他の疾患組織の IHC 染色及び ISH 染色に利用可能な対照のいくつかは、がん組織由来の対照である。しかしながら、そのようなタイプの対照はごく限られた数量でしか利用できず、また、そのような対照を使い果たすと、同じ特徴を有する代替の対照を利用できない場合がある。他のタイプの利用可能な対照は、がん細胞株由来の対照である。しかしながら、そのようなタイプの対照は、所定のマーカーの細胞発現の一貫したパターン及びレベル、または腫瘍組織に遍在する前記発現の不均一性を示さない。そのため、これらの対照は、実際の腫瘍組織と形態学的にほとんどまたはまったく類似していない。さらに、対照を形成する従来の技術は、収率が低いプロセスを伴うため、そのような対照を形成するためにかなりの量の培養細胞を必要とし

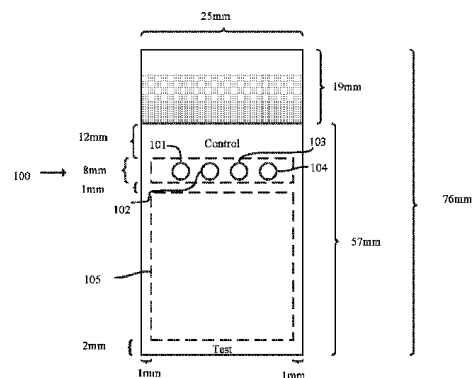


FIG. 1

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

合成組織対照の共培養細胞の収率の増加方法であって、前記方法が：

流動性ゲルを固化させて固形細胞保持体を形成し；

前記細胞保持体に空洞を形成して共培養細胞を保持することを含み、前記空洞が、複数の共培養細胞の細胞培養バッグを保持するように動作可能であり、前記共培養細胞が、少なくとも1つの細胞培養因子に基づいて共培養した正常細胞及びあるがんタイプのがん細胞を含み、前記少なくとも1つの共培養因子が、共培養する前記がん細胞のタイプ、共培養する前記正常細胞に対する前記がん細胞の比、共培養する前記正常細胞と前記がん細胞の播種濃度、前記正常細胞と前記がん細胞の共培養を促進するために使用する細胞増殖サ
プリメント、及び前記正常細胞と前記がん細胞の共培養を促進するために使用する前記細胞増殖サプリメントのタイプの濃度を含み；前記方法がまた、

前記複数の共培養細胞の細胞培養バッグのうちの少なくとも2つに由来する共培養細胞を、前記細胞保持体の前記空洞内に堆積させ；ならびに

前記共培養細胞を処理して、前記合成組織対照を形成することを含む、前記増加方法。

【請求項 2】

前記共培養細胞の前記処理中に一定量の色素を前記空洞に加え、前記空洞内に堆積した前記共培養細胞を特定することをさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記空洞に堆積した前記共培養細胞の数に基づいて、前記空洞に加える前記色素の量を決定することをさらに含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記細胞保持体に前記空洞を形成することが：

前記流動性ゲルが固化している間に物体を前記流動性ゲルに挿入することを含み、前記物体の一部が前記空洞を画定する形状を有し；及び

前記流動性ゲルが固化して前記空洞を形成した後、前記物体を除去することを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

さらに、前記合成組織対照をパラフィンブロックに包埋し、合成組織マイクロアレイを形成することを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記空洞上に濾材を加え；及び

前記細胞保持体を病理カセットに移し、前記病理カセットを処理して前記合成組織対照を形成することをさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

がんの存在の判定に使用するための合成組織対照の形成方法であって、前記方法が：

正常細胞及びあるがんタイプのがん細胞を含む複数の細胞の細胞培養バッグを少なくとも1つの細胞培養因子に基づいて共培養することを含み、前記少なくとも1つの細胞培養因子が、培養する前記がん細胞のタイプ、培養する前記正常細胞に対する前記がん細胞の比率、及び培養する前記正常細胞及び前記がん細胞の播種濃度を含み；前記方法がまた、

前記複数の共培養細胞の細胞培養バッグのうちの少なくとも2つの共培養細胞の細胞培養バッグを細胞保持体の空洞に堆積させ；

前記空洞に堆積した前記少なくとも2つの共培養細胞の細胞培養バッグ由来の共培養細胞を処理し；一定量の色素を前記空洞に加え、前記共培養細胞の前記処理中に前記空洞に堆積した前記共培養細胞を特定し；及び

前記空洞に堆積した前記共培養細胞から前記合成組織対照を形成することを含む、前記形成方法。

【請求項 8】

前記複数の細胞の細胞培養バッグを共培養することが、細胞培養チャンバー内のCO₂濃度及び温度を前記少なくとも1つの細胞培養因子に基づいたレベルに維持するように構

10

20

30

40

50

成された前記細胞培養チャンバー内で、前記正常細胞及び前記がん細胞を共培養することを含む、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記複数の細胞の細胞培養バッグを共培養することが、前記細胞培養チャンバーを：
前記合成組織対照を保持し；及び

前記少なくとも 1 つの細胞培養因子に基づいた速度で前記細胞培養チャンバーを回転させるように動作可能な電動回転装置内に維持することをさらに含む、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記複数の細胞の細胞培養バッグを共培養することが、前記共培養細胞を培養して、治療応答の診断マーカーとして、及び予測マーカーとして、IHC において使用するマーカーの発現を提供することをさらに含む、請求項 8 に記載の方法。

10

【請求項 11】

前記複数の細胞の細胞培養バッグを共培養することが、前記共培養細胞を培養して、治療応答の診断マーカーとして、または予測マーカーとして、IHC において使用するマーカーの発現を提供することをさらに含む、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 12】

前記複数の細胞の細胞培養バッグを共培養することが、前記共培養細胞を培養して、FISH 技術で観察する場合に RNA マーカー及び DNA マーカーの一貫した発現レベルを提供することをさらに含む、請求項 8 に記載の方法。

20

【請求項 13】

前記複数の細胞の細胞培養バッグを共培養することが、前記共培養細胞を培養して、CISH 技術で観察する場合に RNA マーカー及び DNA マーカーの一貫した発現レベルを提供することをさらに含む、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 14】

DNAse を加えて、前記正常細胞及び前記がん細胞の非凝集を促進することをさらに含む、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 15】

非凝集の正常細胞を有する均質なコアを形成し；及び

前記均質なコアに前記がん細胞の非凝集細胞を侵入させることをさらに含む、請求項 14 に記載の方法。

30

【請求項 16】

フィブロネクチンを加えて、前記正常細胞及び前記がん細胞の非凝集を促進することをさらに含む、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 17】

複数の合成組織対照を含む合成組織マイクロアレイであって、前記複数の合成組織対照の各合成組織対照が：

正常細胞；及び

あるがんタイプのがん細胞を含み、

前記正常細胞及び前記がん細胞を、複数の共培養する正常細胞及びがん細胞の細胞培養バッグのうちの少なくとも 2 つの細胞培養バッグにおいて共培養し、

40

前記複数の共培養した正常細胞及び前記がん細胞の細胞培養バッグを、培養する前記がん細胞のタイプ、培養する前記正常細胞に対する前記がん細胞の比率、培養する前記正常細胞及び前記がん細胞の播種濃度、ならびに前記正常細胞及びがん細胞の培養を促進するために使用する細胞増殖サプリメントのタイプを含む、少なくとも 1 つの細胞培養因子に基づいて共培養する、前記合成組織マイクロアレイ。

【請求項 18】

前記正常細胞及びがん細胞を共培養して、IHC または ISH 染色で使用するマーカーの高発現を提供する、請求項 17 に記載の合成組織マイクロアレイ。

【請求項 19】

50

前記正常細胞及びがん細胞を共培養して、IHCまたはISH染色で使用するマーカーの中等度の発現を提供する、請求項17に記載の合成組織マイクロアレイ。

【請求項20】

前記正常細胞及びがん細胞を共培養して、IHCまたはISH染色で使用するマーカーの低発現を提供する、請求項17に記載の合成組織マイクロアレイ。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

病理検査及び臨床検査室検査は、現代の診断及び予後診療の重要な態様である。対照試料は、免疫組織化学(IHC)染色、in situハイブリダイゼーション(ISH)及び他の分子分析方法により、検査結果の再現性についての品質管理(QC)を維持するためによく使用される。

10

【0002】

腫瘍組織及び他の疾患組織のIHC染色及びISH染色に利用可能な対照のいくつかは、がん組織由来の対照である。しかしながら、そのようなタイプの対照はごく限られた数量でしか利用できず、また、そのような対照を使い果たすと、同じ特徴を有する取り替えの対照を利用できない場合がある。他のタイプの利用可能な対照は、がん細胞株由来の対照である。しかしながら、そのようなタイプの対照は、所定のマーカーの細胞発現の一貫したパターン及びレベル、または腫瘍組織に遍在する前記発現の不均一性を示さない。そのため、これらの対照は、実際の腫瘍組織と形態学的にほとんどまたはまったく類似していない。さらに、対照を形成する従来技術は、収率が低いプロセスを伴うため、そのような対照を形成するためにかなりの量の培養細胞を必要とし、それによって生産コストが増加し、生産効率が低下する。

20

【発明の概要】

【0003】

開示する実施形態は、がんの診断及び予後診断のためのIHC及びISH検査のための合成組織対照及び合成組織マイクロアレイ対照を形成する方法、ならびに1つ以上のタイプのがんの存在の判定方法を提供する。

【0004】

例示的な実施形態により、少なくとも1つのタイプのがんの存在の判定方法を提供する。この方法は、合成組織対照(STC)の一部を染色することを含む。STCには、少なくとも1つの細胞培養因子に基づいて共培養した正常細胞及びあるがんタイプのがん細胞が含まれる。少なくとも1つの共培養因子には、以下の因子が含まれる：培養するがん細胞のタイプ、正常細胞と共培養するがん細胞の比、培養する細胞の播種濃度、細胞の共培養を促進するために使用する細胞増殖サプリメントのタイプ、及び細胞の共培養を促進するために使用する細胞増殖サプリメントの濃度。この方法は、STCの染色部分を観察して、1つ以上のバイオマーカータイプの存在を判定することをさらに含み、1つ以上のバイオマーカータイプはがん細胞の存在を示す。

30

【0005】

例示的な実施形態により、がんの存在の判定に使用するための合成組織対照の形成方法を提供する。この方法は、正常細胞、及びあるがんタイプのがん細胞を含む細胞を、少なくとも1つの細胞培養因子に基づいて培養することを含む。少なくとも1つの細胞培養因子には、培養するがん細胞のタイプ、培養する正常細胞に対するがん細胞の比率、及び培養する細胞の播種濃度が含まれる。

40

【0006】

別の例示的な実施形態により、合成組織マイクロアレイを提供する。合成組織マイクロアレイは、複数のSTCを含み、複数のSTCの各STCは、正常細胞及びあるがんタイプのがん細胞を含む。正常細胞及びがん細胞を、少なくとも1つの細胞培養因子に基づいて培養する。少なくとも1つの細胞培養因子には、培養するがん細胞のタイプ、培養する正常細胞に対するがん細胞の比率、培養する正常細胞及びがん細胞の播種濃度、ならびに

50

正常細胞とがん細胞の培養及び増殖を促進するための、使用する細胞増殖サプリメントのタイプが含まれる。

【0007】

開示する実施形態のさらなる詳細を、以下の詳細な説明及び対応する図面において提供する。

【0008】

本発明の例示的な実施形態を、参照として本明細書に援用する添付の図面を参照して、以下で詳細に説明する。

【図面の簡単な説明】

【0009】

【図1】一実施形態による、4つの対照を含む合成組織マイクロアレイの図である。

【図2A】一実施形態による、固化されて細胞保持体を形成する流動性ゲルの側面図を示す。

【図2B】一実施形態による、細胞保持体内に空洞を有する図2Aの細胞保持体の側面図を示す。

【図2C】一実施形態による、図2Aの細胞保持体の上面図を示す。

【図2D】一実施形態による、空洞内に堆積した共培養細胞に加えた色素を有する図2Aの細胞保持体の別の上面図を示す。

【図3A】一実施形態による、HER-2/neu発現の存在を示すために、HER-2/neuに対する特異的抗体で染色した乳癌細胞を含む合成組織の画像を示す。

【図3B】一実施形態による、HER-2/neu発現の存在を示すために、HER-2/neuに対する特異的抗体で染色した乳房腫瘍組織の画像を示す。

【図3C】一実施形態による、染色の特異性の検査として、事前に吸収させた抗体HER-2/neuで染色した図3Aの合成組織の画像を示す。

【図3D】一実施形態による、染色の特異性の検査として、事前に吸収させた抗体HER-2/neuで染色した図3Bの乳房腫瘍組織の画像を示す。

【図4A】一実施形態による、Eカドヘリンマーカの存在を示すために染色した合成組織の画像を示す。

【図4B】一実施形態による、Eカドヘリンマーカの存在を示すために染色した乳房腫瘍組織の画像を示す。

【図4C】一実施形態による、エストロゲン受容体マーカの存在を示すために染色した合成組織の画像を示す。

【図4D】一実施形態による、エストロゲン受容体マーカの存在を示すために染色した乳房腫瘍組織の画像を示す。

【図4E】一実施形態による、細胞増殖(Ki-67)マーカの存在を示すために染色した合成組織の画像を示す。

【図4F】一実施形態による、細胞増殖(Ki-67)マーカの存在を示すために染色した乳房腫瘍組織の画像を示す。

【図5】一実施形態による、本明細書に記載の合成組織対照及び合成組織マイクロアレイによってカバーされる、異なるタイプのがんを検出するための抗体の例を示す。

【0010】

示した図は単に例示に過ぎず、異なる実施形態が実装され得る環境、アーキテクチャ、設計、またはプロセスに関して、限定することを主張または暗示することを意図するものではない。

【発明を実施するための形態】

【0011】

詳細な説明

3-D合成組織対照(STC)は、規定され制御された条件下で正常細胞とある種のがん細胞を懸濁液中で共培養することにより生成される。本明細書において定義するように、「正常」細胞には、非腫瘍細胞が含まれる。正常細胞は、間質細胞及び他の適切な細胞

10

20

30

40

50

型から形成され得る。

【0012】

S T C は、腫瘍組織に非常に類似した、細胞及び細胞外 (E C M) マーカー及びアーキテクチャに関連する腫瘍組織の予想されるパターン及びレベルを再現可能に示す。S T C と腫瘍組織との間の密接な類似の例を、図 3 A ~ 3 D 及び図 4 A ~ 4 E に示す。3 - D 合成組織マイクロアレイ対照 (S T M C) は、複数の S T C から構成される。好ましい実施形態では、S T C 及び S T M C を、ホルマリン固定及びパラフィン包埋 (F F P E) ブロックとして調製するか、病理学検査室で使用する様々なマーカーの切片に事前にカットする。互換性のあるマーカーの例には、以下の記載で詳細に説明し、図に示す様々なマーカーが含まれる。S T C 及び S T M C ブロック及び切片は、腫瘍組織及び他の病変組織の I H C 染色及び I S H 染色の陽性対照及び陰性対照の両方として使用することができる。S T C 及び S T M C を形成し、S T C 及び S T M C を使用してがんの存在を検出するプロセスを、以下の段落で詳細に示す。

10

【0013】

S T C 及び S T M C の細胞培養

【0014】

S T C は、通常、ホルマリン固定及びパラフィン包埋 (F F P E) 細胞ブロックの形態で、ほぼ無重力培養で培養され、各 S T C は、ある種のがん細胞及び間質細胞を含む。いくつかの実施形態では、がん細胞及び正常間質細胞を、細胞培養フラスコで別々に培養する。そのような実施形態の 1 つでは、細胞培養培地 1 ミリリットルあたりおよそ 5 マイクログラムの D N a s e を、がん細胞または正常間質細胞のいずれかを含む各細胞培養フラスコに加える。D N a s e の添加により、細胞培養フラスコから採取したがん細胞または正常間質細胞の凝集が防止される。結果として、がん細胞及び / または正常間質細胞の細胞数を正確に測定し得、非凝集のがん細胞及び正常間質細胞を採取し得る。

20

【0015】

いくつかの実施形態では、2 つ以上の細胞型 (すなわち、がん細胞及び正常間質細胞) を、厳密に定義された条件下、及び制御された環境内で共培養する。いくつかの実施形態では、がん細胞と間質細胞を、細胞の複数の細胞培養バッグにおいて共培養する。本明細書中で定義するように、細胞培養バッグは、細胞を追加及び除去するための組み込みポートを有する容器である。いくつかの実施形態では、細胞培養バッグは無菌である。さらなる実施形態では、細胞培養バッグの組み込みポートは気密キャップを含む。バッグは、共培養の産生段階において、がん細胞及び間質細胞を保持する。いくつかの実施形態では、およそ 10 日間の共培養後に、各細胞培養バッグからおよそ 8000 万の間質細胞及び / またはがん細胞を採取し得る。他の実施形態では、およそ 2 週間の共培養後に、各細胞培養バッグからおよそ 3000 万 ~ 1 億 2000 万の間質細胞及び / またはがん細胞を採取してもよい。細胞培養バッグの寸法は、共培養する細胞のタイプ、及びそのような細胞を共培養するのに最適な栄養素のタイプに基づいて異なり得る。そのような実施形態の 1 つでは、細胞培養培地 1 ミリリットルあたりおよそ 5 マイクログラムの D N a s e をがん細胞及び正常間質細胞を含む各細胞培養バッグに加え、共培養プロセス中、細胞培養バッグを C O ₂ インキュベーター内のバイオリクターに取り付ける。D N a s e の添加により、共培養中に細胞が懸濁状態で非凝集の状態を維持しやすくなる。より具体的には、D N a s e の添加により、正常間質細胞の非凝集の維持が促進され、したがって正常間質細胞が均質なコアを形成することが可能になる。さらに、D N a s e の添加により、がん細胞の非凝集の維持が促進され、非凝集のがん細胞が均質なコアへ侵入しやすくなる。そのような別の 1 実施形態では、細胞培養培地 1 ミリリットルあたりおよそ 1 マイクログラムのフィブロネクチンを初日に加え、がん細胞及び正常間質細胞を含む各細胞培養バッグで共培養する。そのような実施形態では、フィブロネクチンの添加は、共培養細胞の増殖の初期段階において基底膜様構造の形成を促進する。さらに、フィブロネクチンの添加は、共培養するがん細胞と正常間質細胞との間の接触の向上を促進する。基底膜様構造の形成により、共培養細胞が実際の腫瘍組織に類似することが促進される。

30

40

50

【0016】

好ましい実施形態では、がん細胞と間質細胞を、8～12日間、ほぼ無重力環境で共培養する。さらに、チャンバーの内外のCO₂濃度と温度を少なくとも1つの細胞培養因子に基づくレベルに維持するように構成された細胞培養チャンバー内ではがん細胞と間質細胞を共培養して、実際の腫瘍組織と類似または同一の特徴を細胞に生じさせる。電動回転装置は、少なくとも1つの細胞培養因子に基づく速度で細胞培養チャンバーを保持してゆっくり回転させ、実際の腫瘍組織の特徴と類似または同一の特徴を細胞に生じさせる。

【0017】

細胞培養因子には、培養するがん細胞のタイプ、間質細胞に対するがん細胞の比率、培養する細胞の播種濃度、及び使用する細胞増殖サプリメントの濃度及びタイプが含まれるが、これらに限定されない。細胞の培養を促進して、実際の腫瘍組織と類似または同一の特徴を生じさせる。例示的な一実施形態では、STCを生成するための、正常間質細胞（線維芽細胞）に対する乳癌細胞株（MCF-7）のがん細胞の比率はそれぞれ99.8に対して1である。さらに、10マイクログラムのインスリンをMCF-7の増殖を促進する成長因子サプリメントとして使用する。さらに、MCF-7がん細胞の播種濃度は1ミリリットルあたり18,750個であり、一方、線維芽細胞の播種濃度は1ミリリットルあたり187,876個である。同様に、STMも上記のプロセスに基づいて培養する。一実施形態では、STC及びSTMを、上記で特定した因子の1つに基づいて培養する。別の実施形態では、STC及びSTMを、上記で特定した因子のうち2つに基づいて培養する。さらなる実施形態では、STC及びSTMを、上記で特定した因子のうち3つに基づいて培養する。さらなる実施形態では、STC及びSTMを、上記で特定した因子のすべてに基づいて培養する。

【0018】

前述の細胞培養因子の少なくとも1つに基づいてSTC及びSTMを培養し、特定の特異的/標的療法のための診断、予後、及び患者の選択のための、目的のタンパク質、RNA、DNA及び他の成分を含む、既知の発現パターン及び発現レベルの様々なマーカーを有する対照「偽」組織を提供する。上皮増殖因子受容体-2（HER-2/neu）、エストロゲン受容体（ER）、プロゲステロン受容体（PR）、Ki-67、及び他のタイプの治療応答のための適切な診断及び予測マーカーの検査により例示される、治療応答の診断及び予測マーカーとしてIHCにおいて使用するマーカーの標準的な発現のために、STC及びSTMを培養してもよい。さらに、HER-2/neu、Met4、及び他のタイプの治療応答のための適切な予測マーカーの検査により例示される、治療応答に対する予測マーカーとしてIHCにおいて使用するマーカーの標準的な発現のために、STC及びSTMを培養してもよい。さらに、免疫蛍光法で使用するマーカーの標準的な発現のためにSTC及びSTMを培養してもよい。

【0019】

また、RNA及び/またはDNAマーカーのための蛍光in situハイブリダイゼーション（FISH）ベースの技術を介して観察する場合、一貫した発現レベルを提供するためにSTC及びSTMを培養してもよい。特定の実施形態では、発現には、RNAトランスクリプションの発現レベルが含まれ得る。他の実施形態では、発現には、DNA変異の発現レベルが含まれ得る。また、RNA及び/またはDNAマーカーのための発色性in situハイブリダイゼーション（CISH）ベースの技術を介して観察する場合、一貫した発現レベルを提供するためにSTC及びSTMを培養してもよい。特定の実施形態では、発現には、RNAトランスクリプション及び/またはDNA変異の発現レベルが含まれ得る。そのため、STCまたはSTMの作成に用いる細胞株の選択により、ほぼ無限の範囲のバイオマーカーを提供し得る。

【0020】

前述の細胞培養因子の少なくとも1つに基づいてSTC及びSTMを培養することにより、IHC及びISH染色で使用するバイオマーカーの様々な発現レベルを一貫して提供し得る。いくつかの実施形態では、STC及びSTMを培養して、IHC及びISH

10

20

30

40

50

染色で用いる高発現（H Eまたは3+）のバイオマーカーを提供する。他の実施形態では、I H C及びI S H染色で用いる中程度の発現（M Eまたは2+）のバイオマーカーを有するように、S T C及びS T M Cを培養する。さらなる実施形態では、I H C及びI S H染色で用いる低発現（L Eまたは1+）のバイオマーカーを有するように、S T C及びS T M Cを培養する。いくつかの実施形態では、複数の細胞培養バッグ由来の共培養細胞を遠心管に沈殿させ、共培養細胞を混合し、処理及び包埋のために共培養細胞を組み合わせる。本明細書に記載するように、共培養した細胞産物に、生検濾紙をしっかりと巻き付け、本明細書に記載の組織処理装置、例えば、遠心分離機または別の処理装置に配置する。

【0021】

S T C及びS T M Cの処理及び包埋

10

【0022】

培養したS T Cを処理し、次いで包埋する。少なくとも2つの細胞培養バッグ由来の共培養細胞を保持するために利用する空洞を備えた細胞保持体を利用して、共培養細胞の処理及び包埋時に共培養細胞を保持する。いくつかの実施形態では、細胞保持体を、室温で固化する流動性ゲルから形成する。いくつかの実施形態では、一度流動性ゲルを固化させてから、流動性ゲルの所望の形状と同様の形状を有するリザーバーに流動性ゲルを配置する。流動性ゲルの固化中に物体を流動性ゲルに挿入し、次いで、流動性ゲルが固化して空洞を形成した後、流動性ゲルから物体を取り除く。空洞のサイズと形状は、物体の外部形状及び外形サイズによって画定される。いくつかの実施形態では、処理する共培養細胞の所望の量、処理するがん細胞のタイプ、所望のS T Cの量、及び本明細書に記載する他の因子に基づいて、異なる外形サイズ及び外部形状を有する異なる物体を利用して、異なるサイズ及び形状を有する空洞を形成させる。空洞は、共培養細胞をしっかりと保持して、本明細書に記載の処理及び包埋プロセス中に共培養細胞が周囲の培地に散逸するのを防止する。

20

【0023】

本明細書に記載するように、空洞は、2つの細胞培養バッグから回収した共培養細胞を保持するように動作可能である。いくつかの実施形態では、空洞は、追加の細胞培養バッグ由来の共培養細胞を貯蔵するように動作可能であり、それにより、所望の細胞コアの収率がさらに増加する。いくつかの実施形態では、回収した共培養細胞産物を細胞保持体の空洞に移す際に、回収した共培養細胞産物に着色色素を加える。より具体的には、回収した共培養細胞産物に、所望の色を有する色素を、そのような産物に触れることなく添加し、それにより、色素を空洞内に閉じ込めたままにすることができる。回収した共培養細胞産物をパラフィンに包埋する前に、回収した共培養細胞産物に着色色素を加えることにより、回収した共培養細胞産物を特定する正確な手段が促進される。いくつかの実施形態では、次いで、その空洞内に回収した共培養細胞産物及び色素を含む細胞保持体の周りに生検濾紙などの濾材を巻き付ける。次いで、細胞保持体を組織学的カセットに入れ、組織処理トレイに移す。次いで、真空浸透プロセス及びパラフィン包埋プロセスなどの追加のプロセスを、回収した共培養細胞産物に対してブロックとして実行してもよい。いくつかの実施形態では、回収した共培養細胞産物を、後続の処理及び包埋のためにホルマリンで固定する。他の実施形態では、回収した共培養細胞産物を、後続の処理及び包埋のために、ブアン（b o u s i n）液または別の固定液で固定する。本明細書に記載するように、空洞は、少なくとも2つの細胞培養バッグから回収した共培養細胞を保持するように動作可能である。細胞保持体、細胞保持体の形成、及び細胞保持体の空洞への共培養細胞の堆積の追加の説明を、以下の段落に提供するとともに、少なくとも図2 A ~ 2 Dに示す。

30

40

【0024】

一実施形態では、培養S T Cの直径は、およそ0.04 cmである。別の実施形態では、培養S T Cの直径は、0.01 ~ 0.04 cmの範囲内であってもよい。S T Cとは異なり、組織標本の直径は2 ~ 4 cmであり得る。培養S T Cのサイズを考慮して、孔径がおよそ0.001 cmのメッシュを有する処理及び包埋装置を使用して、包埋プロセス中に組織標本を保持する。別の実施形態では、包埋装置の孔径は、0.001 ~ 0.004

50

C mの範囲内である。所望のバイオマーカーの所望の発現レベルを提供する複数の培養S T Cを包埋し、S T M Cを形成する。

【0025】

S T C及びS T M Cの染色

【0026】

包埋したS T Cの各ブロック由来の切片をI H C染色技術により評価して、個々の構築物を特定する。いくつかの実施形態では、包埋したS T C内の個々の構築物は、合計およそ500の個々の構築物の50~60%を占め、がん細胞と正常間質細胞の所望の組み合わせ、及びがん細胞による正常間質細胞コアの浸潤を伴う。他の実施形態では、包埋したS T C内の個々の構築物は、合計500~600の個々の構築物の80%を占め、がん細胞と正常間質細胞の所望の組み合わせ、及びがん細胞による正常間質細胞コアの浸潤を伴う。いくつかの実施形態では、実際の腫瘍組織と類似または同一の特徴を有する構築物のみをS T Cとして選択する。

10

【0027】

実際の腫瘍組織と類似または同一の特徴を有する共培養細胞のタイプの特定の組み合わせを含む各ブロック由来の個々の構築物を、元のブロックから機械的に除去し、S T M Cを構築するために使用する。目的のマーカーの様々な発現レベル及び発現パターンを有する複数のタイプのがん細胞を含むように、S T M Cを構築する。実験室のオペレーターは、様々な装置、例えば、顕微鏡、whole slide imaging (WSI) 装置、及びバイオマーカーの発現を観察するための他の適切な装置を介してS T C及びS T M Cを見てもよい。

20

【0028】

図1は、一実施形態による、4つのS T C 101、102、103、及び104を含む合成組織マイクロアレイ100の図である。図1に示す実施形態では、対照101、102、103、及び104を、同じ組織学的スライド上の検査組織105に近接して配置する。対照101、102、103、及び104ならびに検査組織105を、異なるタイプのバイオマーカーに対する1つ以上の染色剤で染色する。

【0029】

いくつかの実施形態では、合成組織マイクロアレイ100を染色して、治療応答の診断マーカー及び予測マーカーとしてI H Cにおいて使用するマーカーの発現を観察する。他の実施形態では、合成組織マイクロアレイ100を染色して、治療応答の予測マーカーとしてI H Cにおいて使用するマーカーの発現を観察する。さらなる実施形態では、合成組織マイクロアレイ100を染色し、RNA及びDNAマーカーの発現レベルについて、F I S H技術により観察する。さらなる実施形態では、合成組織マイクロアレイ100を染色し、RNA及びDNAマーカーの発現レベルについて、C I S H技術により観察する。

30

【0030】

いくつかの実施形態では、合成組織マイクロアレイ100は、少なくとも1つのタイプのがんの陽性対照を提供する。他の実施形態では、合成組織マイクロアレイ100のいくつかの対照は陽性対照を提供し、合成組織マイクロアレイ100の他の対照は陰性対照を提供する。合成組織マイクロアレイ100を培養して、マーカーの高発現、中発現、または低発現を提供してもよい。図1に示す実施形態は、4つの対照101、102、103、及び104を含むが、異なる数の対照から合成組織マイクロアレイ100を形成してもよい。実験室のオペレーターは、顕微鏡及びWSI装置などの様々な装置の下で合成組織マイクロアレイ100を調べ、染色対照を染色検査組織と比較して、検査腫瘍組織のマーカーの発現の有無を判定してもよい。

40

【0031】

図2Aは、一実施形態による、固化されて細胞保持体200を形成する流動性ゲル201の側面図を示す。流動性ゲル201を冷却物体220に近接して堆積させ、流動性ゲル201の温度を冷却し、それにより流動性ゲル201を固化して細胞保持体200を形成する。いくつかの実施形態では、流動性ゲル201は室温で固体であり、流動性ゲル20

50

1が流体状態になるように最初に加熱する。いくつかの実施形態では、流動性ゲル201を、凝固プロセス中にリザーバー内に配置し、リザーバーの内部表面によってほぼ画定される形状をとらせる。いくつかの実施形態では、冷却物体220は、流動性ゲル201の冷却を促進する氷である。流動性ゲル201が固化する間に物体210を流動性ゲル201に挿入し、流動性ゲル201が固化して細胞保持体200の空洞(図2B~2Dに示す)を形成した後に流動性ゲル201から除去する。いくつかの実施形態では、物体201は、空洞の所望の形状及び寸法に近い形状及び寸法を有する管である。本明細書に記載するように、空洞は、本明細書に記載する少なくとも2つの細胞培養バッグ由来の共培養細胞を保持するように動作可能である。

【0032】

図2Bは、一実施形態による、細胞保持体200に空洞202を有する図2Aの細胞保持体200の側面図を示す。図2Cは、一実施形態による、空洞202を有する図2Aの細胞保持体200の別の画像を示す。図2B及び2Cは、細胞保持体200に形成された1つの空洞202を示しているが、少なくとも2つの細胞培養バッグ由来の共培養細胞を各々が動作可能に保持する複数の空洞を細胞保持体200に形成してもよい。さらに、図2Cの空洞は、細胞保持体200の反対の表面を貫通するが、他の空洞は、細胞保持体200を貫通しない場合がある。本明細書に記載するように、空洞202は、図2B及び2Cに示す形状を含む様々な形状及び寸法を取り得る。

【0033】

図2Dは、一実施形態による、空洞に堆積させた共培養細胞204に色素を加えた、図2Aの細胞保持体200の別の上面図を示す。図2Dの実施形態では、空洞202に堆積させた共培養細胞204に青色の色素を加える。加える色素の量は、空洞202に堆積させた共培養細胞の数、空洞202に堆積させたがん細胞のタイプ、空洞202のサイズ及び寸法、及び本明細書に記載する他の因子を含む、様々な因子に基づき得る。いくつかの実施形態では、事前に選択した着色色素を空洞202内の共培養細胞産物に注意深く加えて、着色色素が空洞202内に確実に閉じ込められたままにする。図2Dは、空洞202に加えた青色の色素を示しているが、異なる色の色素を加えて、共培養細胞を特定しやすくしてもよい。いくつかの実施形態では、濾紙などの濾材を空洞の上に加える。いくつかの実施形態では、次いで、細胞保持体200を病理カセット(図示せず)に移し、病理カセットを処理してSTCを形成する。いくつかの実施形態では、次いでSTCをパラフィンブロックに包埋し、STMAを形成する。

【0034】

図3Aは、一実施形態による乳癌細胞を含む合成組織の画像を示す。図3Bは、一実施形態による乳房腫瘍組織の画像を示す。図3Aに示す合成組織を、本明細書に記載の条件下で培養した。図3A及び3Bに示すように、乳癌細胞を含む合成組織及び実際の乳房腫瘍組織は、極めて類似した特徴を示す。

【0035】

図3Cは、一実施形態による、HER-2/neuに対して予め吸収させた抗体で合成組織を染色した後の図3Aの合成組織の画像を示し、HER-2/neuマーカーに対する染色の特異性を示す。図3Dは、一実施形態による、HER-2/neuに対して予め吸収させた抗体で腫瘍組織を染色した後の図3Bの乳房腫瘍組織の画像を示し、HER-2/neuマーカーに対する染色の特異性を示す。図3C及び3Dに示すように、染色した合成組織と染色した腫瘍組織は極めて類似した特徴を示すため、HER-2/neuなどの治療応答の診断マーカーとして、または予測マーカーとしてIHCにおいて使用するマーカーの標準的な発現の対照として、合成組織を使用することができる。IHCにおいて治療応答の予測マーカーとして使用するマーカーの発現の他の例には、Met4、及び治療応答の他の適切な診断マーカーまたは予測マーカーが含まれる。さらなる実施形態では、図3A及び3Cに示す合成組織は、FISH技術を介して観察する場合、RNA及びDNAマーカーの発現レベルも提供し得る。さらなる実施形態では、図3A及び3Cに示す合成組織はまた、CISH技術を介して観察する場合、RNA及びDNAマーカーの発

10

20

30

40

50

現レベルを提供し得る。

【0036】

図4Aは、一実施形態による、Eカドヘリンマーカ-の存在を示すために染色した合成組織の画像を示す。図4Bは、一実施形態による、Eカドヘリンマーカ-の存在を示すために染色した乳房腫瘍組織の画像を示す。図4Cは、一実施形態による、エストロゲン受容体マーカ-の存在を示すために染色した合成組織の画像を示す。図4Dは、一実施形態による、エストロゲン受容体マーカ-の存在を示すために染色した乳房腫瘍組織の画像を示す。図4Eは、一実施形態による、増殖(Ki-67)マーカ-の存在を示すために染色した合成組織の画像を示す。図4Fは、一実施形態による、増殖(Ki-67)マーカ-の存在を示すために染色した乳房腫瘍組織の画像を示す。

10

【0037】

図4A、4C、及び4Eに示す合成組織を、本明細書に記載の条件下で培養した。図4A~4Fに示すように、合成組織と染色した腫瘍組織は極めて類似した特徴を示し、これにより、Eカドヘリン、ER、プロゲステロン受容体、及びKi-67の検査、ならびに他の適切なタイプの治療応答の診断マーカ-及び予測マーカ-の検査を例とする、治療応答の診断マーカ-及び予測マーカ-として、合成組織をIHCにおいて使用することができる。他の実施形態では、図4A、4C、及び4Eに示す合成組織を使用して、治療応答の予測マーカ-としてIHCにおいて使用するバイオマーカ-の発現を提供してもよい。さらなる実施形態では、図4A、4C、及び4Eに示す合成組織は、FISH技術を介して観察する場合、RNA及びDNAマーカ-の発現レベルも提供し得る。さらなる実施形態では、図4A、4C、及び4Eに示す合成組織は、CISH技術を介して観察する場合、RNA及びDNAマーカ-の発現レベルも提供し得る。

20

【0038】

図5は、一実施形態による、本明細書に記載の合成組織対照及び合成組織マイクロアレイ対照によってカバーされる異なるタイプのがんを検出するための抗体の例を示す。図5に示すように、STC及びSTMCは、乳癌、肺癌、肝癌、甲状腺癌、前立腺癌、結腸癌、子宮頸癌、腎臓癌、卵巣癌、黒色腫瘍、脳癌、白血病、リンパ腫、及び他のタイプのがんを含むがこれらに限定されない、様々なタイプのがんを検査するために使用することができる。

30

【0039】

上記の開示した実施形態は、例示を目的として、また、開示した実施形態を当業者が実施できるように提示するものであるが、それが網羅的であること、または開示した形態に限定することを意図するものではない。本開示の範囲及び精神から逸脱することのない、多くの実質的でない改変及び変形が当業者には明らかであろう。例えば、フローチャートはシリアルなプロセスを示してはいるが、いくつかの工程/ブロックを、並列またはシーケンス外で実行するか、単一の工程/ブロックに結合してもよい。特許請求の範囲は、開示した実施形態及び任意のそのような改変を広くカバーすることを意図している。さらに、以下の条項は、本開示の追加の実施形態を表し、本開示の範囲内で考慮されるべきである：

【0040】

条項1、合成組織対照の共培養細胞の収率の増加方法であって、前記方法が、流動性ゲルを固化させて固形細胞保持体を形成し；前記細胞保持体に空洞を形成して共培養細胞を保持することを含み、前記空洞が、複数の共培養細胞の細胞培養バッグを保持するように動作可能であり、前記共培養細胞が、少なくとも1つの細胞培養因子に基づいて共培養した正常細胞及びあるがんタイプのがん細胞を含み、前記少なくとも1つの共培養因子が、共培養する前記がん細胞のタイプ、共培養する前記正常細胞に対する前記がん細胞の比、共培養する前記正常細胞と前記がん細胞の播種濃度、前記正常細胞と前記がん細胞の共培養を促進するために使用する細胞増殖サプリメント、及び前記正常細胞と前記がん細胞の共培養を促進するために使用する前記細胞増殖サプリメントの濃度を含み；前記方法がまた、前記複数の前記共培養細胞の細胞培養バッグのうちの少なくとも2つに由来する共培

40

50

養細胞を、前記細胞保持体の前記空洞内に堆積させ；ならびに前記共培養細胞を処理して、前記合成組織対照を形成することを含む、前記増加方法。

【0041】

条項2、前記共培養細胞の前記処理中に一定量の色素を前記空洞に加え、前記空洞内に堆積した前記共培養細胞を特定することをさらに含む、条項1に記載の方法。

【0042】

条項3、前記空洞に堆積した前記共培養細胞の数に基づいて、前記空洞に加える前記色素の量を決定することをさらに含む、条項1または2に記載の方法。

【0043】

条項4、前記細胞保持体に前記空洞を形成することが：前記流動性ゲルが固化している間に物体を前記流動性ゲルに挿入することを含み、前記物体の一部が前記空洞を画定する形状を有し；及び前記流動性ゲルが固化して前記空洞を形成した後、前記物体を除去することを含む、条項1～3の少なくとも一項に記載の方法。

10

【0044】

条項5、さらに、前記合成組織対照をパラフィンブロックに包埋し、合成組織マイクロアレイを形成することを含む、条項1～4の少なくとも一項に記載の方法。

【0045】

条項6、前記空洞上に濾材を加え；及び前記細胞保持体を病理カセットに移し、前記病理カセットを処理して前記合成組織対照を形成することをさらに含む、条項1～5のうちの少なくとも一項に記載の方法。

20

【0046】

条項7、がんの存在の判定に使用するための合成組織対照の形成方法であって、前記方法が：正常細胞及びあるがんタイプのがん細胞を含む複数の細胞の細胞培養バッグを少なくとも1つの細胞培養因子に基づいて共培養することを含み、前記少なくとも1つの細胞培養因子が、培養する前記がん細胞のタイプ、培養する前記正常細胞に対する前記がん細胞の比率、及び培養する前記正常細胞及び前記がん細胞の播種濃度を含み；前記方法がまた、前記複数の共培養細胞の細胞培養バッグのうちの少なくとも2つの共培養細胞の細胞培養バッグを細胞保持体の空洞に堆積させ；前記空洞に堆積した前記少なくとも2つの共培養細胞の細胞培養バッグ由来の共培養細胞を処理し；一定量の色素を前記空洞に加え、前記共培養細胞の前記処理中に前記空洞に堆積した前記共培養細胞を特定し；及び前記空洞に堆積した前記共培養細胞から前記合成組織対照を形成することを含む、前記形成方法。

30

【0047】

条項8、前記複数の細胞の細胞培養バッグを共培養することが、細胞培養チャンバー内のCO₂濃度及び温度を前記少なくとも1つの細胞培養因子に基づいたレベルに維持するように構成された前記細胞培養チャンバー内で、前記正常細胞及び前記がん細胞を共培養することを含む、条項7に記載の方法。

【0048】

条項9、前記複数の細胞の細胞培養バッグを共培養することが、前記細胞培養チャンバーを：前記合成組織対照を保持し；及び前記少なくとも1つの細胞培養因子に基づいた速度で前記細胞培養チャンバーを回転させるように動作可能な電動回転装置内に維持することをさらに含む、条項7または8に記載の方法。

40

【0049】

条項10、前記複数の細胞の細胞培養バッグを共培養することが、前記共培養細胞を培養して、治療応答の診断マーカーとして、及び予測マーカーとして、IHCにおいて使用するマーカーの発現を提供することをさらに含む、条項7～9の少なくとも一項に記載の方法。

【0050】

条項11、前記複数の細胞の細胞培養バッグを共培養することが、前記共培養細胞を培養して、治療応答の診断マーカーとして、または予測マーカーとして、IHCにおいて使

50

用するマーカーの発現を提供することをさらに含む、条項 7 ~ 9 の少なくとも一項に記載の方法。

【 0 0 5 1 】

条項 1 2、前記複数の細胞の細胞培養バッグを共培養することが、前記共培養細胞を培養して、FISH 技術で観察する場合に RNA マーカー及び DNA マーカーの一貫した発現レベルを提供することをさらに含む、条項 7 ~ 9 の少なくとも一項に記載の方法。

【 0 0 5 2 】

条項 1 3、前記複数の細胞の細胞培養バッグを共培養することが、前記共培養細胞を培養して、CISH 技術で観察する場合に RNA マーカー及び DNA マーカーの一貫した発現レベルを提供することをさらに含む、条項 7 ~ 9 の少なくとも一項に記載の方法。

10

【 0 0 5 3 】

条項 1 4、DNase を加えて、前記正常細胞及び前記がん細胞の非凝集を促進することをさらに含む、条項 7 ~ 1 3 の少なくとも一項に記載の方法。

【 0 0 5 4 】

条項 1 5、非凝集の正常細胞を有する均質なコアを形成し；及び前記均質なコアに前記がん細胞の非凝集細胞を侵入させることをさらに含む、条項 7 ~ 1 4 のうちの少なくとも一項に記載の方法。

【 0 0 5 5 】

条項 1 6、フィブロネクチンを加えて、前記正常細胞及び前記がん細胞の非凝集を促進することをさらに含む、条項 7 ~ 1 5 の少なくとも一項に記載の方法。

20

【 0 0 5 6 】

条項 1 7、複数の合成組織対照を含む合成組織マイクロアレイであって、前記複数の合成組織対照の各合成組織対照が：正常細胞；及びあるがんタイプのがん細胞を含み、前記正常細胞及び前記がん細胞を、複数の共培養する正常細胞及びがん細胞の細胞培養バッグのうちの少なくとも 2 つの細胞培養バッグにおいて共培養し、前記複数の共培養した正常細胞及び前記がん細胞の細胞培養バッグを、培養する前記がん細胞のタイプ、培養する前記正常細胞に対する前記がん細胞の比率、培養する前記正常細胞及び前記がん細胞の播種濃度、ならびに前記正常細胞及びがん細胞の培養を促進するために使用する細胞増殖サプリメントのタイプを含む、少なくとも 1 つの細胞培養因子に基づいて共培養することを含む、前記合成組織マイクロアレイ。

30

【 0 0 5 7 】

条項 1 8、前記正常細胞及びがん細胞を共培養して、IHC または ISH 染色で使用するマーカーの高発現を提供する、条項 1 7 に記載の合成組織マイクロアレイ。

【 0 0 5 8 】

条項 1 9、前記正常細胞及びがん細胞を共培養して、IHC または ISH 染色で使用するマーカーの中程度の発現を提供する、条項 1 7 または 1 8 に記載の合成組織マイクロアレイ。

【 0 0 5 9 】

条項 2 0、前記正常細胞及びがん細胞を共培養して、IHC または ISH 染色で使用するマーカーの低発現を提供する、条項 1 7 ~ 1 9 のうちの少なくとも一項に記載の合成組織マイクロアレイ。

40

【 0 0 6 0 】

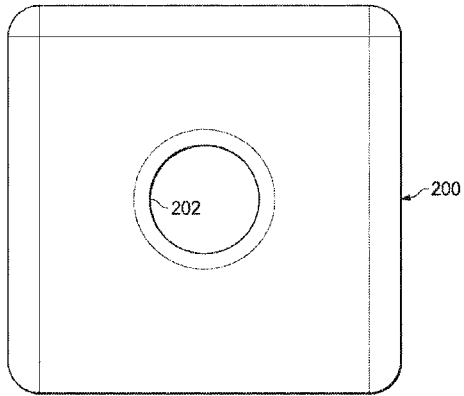
本明細書中で使用する場合、「ほぼゼロ重力環境」とは、ゼロ重力環境を含むものとして定義される。

【 0 0 6 1 】

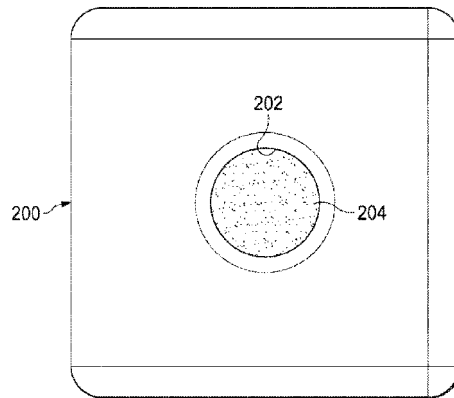
本明細書中で使用する単数形「a」、「an」及び「the」は、文脈からそうでないことが明確に示されない限り、複数形も含むことを意図している。さらに、本明細書及び/または特許請求の範囲において使用する場合、用語「含む (comprise)」及び/または「含む (comprising)」は、述べられた特性、工程、操作、要素、及び/または成分の存在を指定するが、1 つ以上の他の特性、工程、操作、要素、成分、及

50

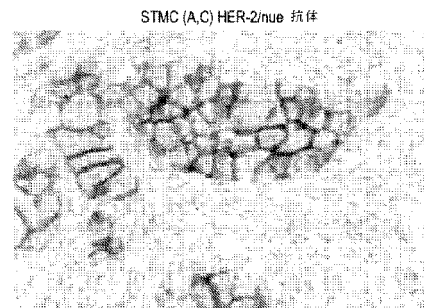
【図 2 C】



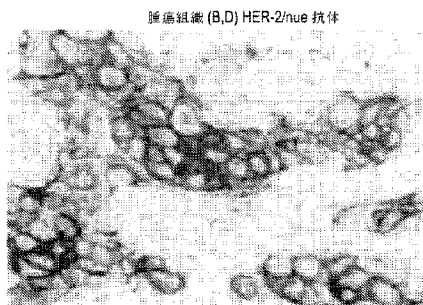
【図 2 D】



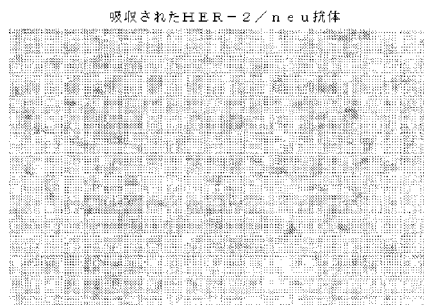
【図 3 A】



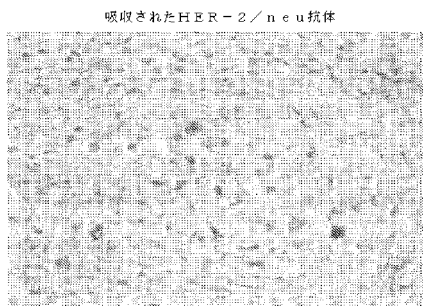
【図 3 B】



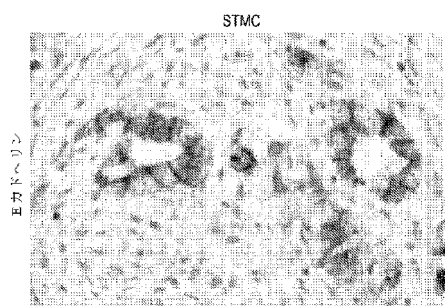
【図 3 D】



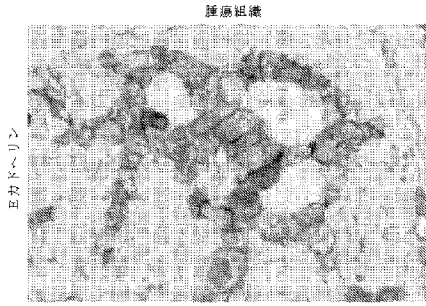
【図 3 C】



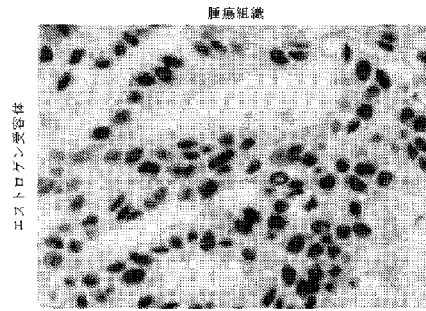
【図 4 A】



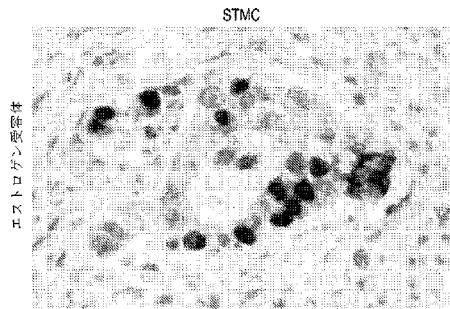
【 図 4 B 】



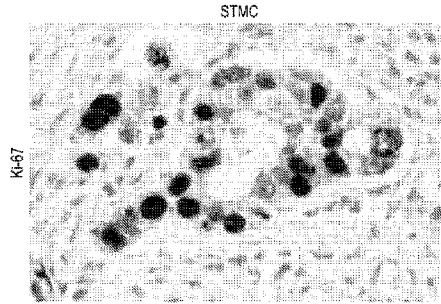
【 図 4 D 】



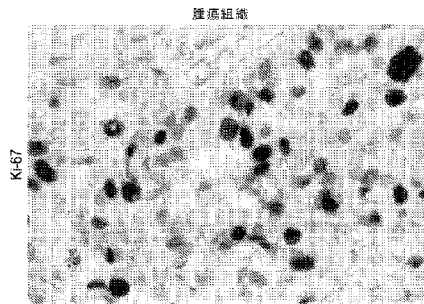
【 図 4 C 】



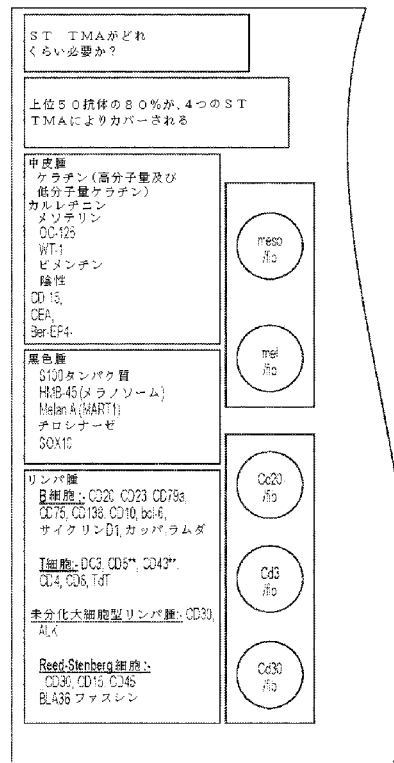
【 図 4 E 】



【 図 4 F 】



【 図 5 - 1 】



【図 5 - 2】

上位 100 抗体の 60% が、4 つの sT TMA によりカバーされる	
<p>上皮性腫瘍 / 癌腫 (ケラチン+)</p> <p>乳房 EMA Ere2 (GCDFP-16) E6PR Her2/neu (cetb B-2) CK7 Lug 界面活性物質 acc4 TTF1 p80 p40</p> <p>肝臓 肝細胞 - AFP HepPar1 低分子量ケラチン (cam 5.2, 35oh11)</p> <p>胆管 ビリル 高分子量ケラチン (34oh12)*</p> <p>胃腸管 CD117 (結腸 - 卵巣癌腫抗原) CEA CK 20 ミスマッチ修復</p> <p>甲状腺 TGB カルシトニン TTF-1</p> <p>前立腺 PSA PSMA ラセマーゼ</p> <p>腎臓 RCC, 腎尿管癌腫 (gp200) CD113 PAX8</p> <p>膵臓 ウロプラキニン II</p> <p>卵巣 OC-152 WT-1 (漿液) メソテリン (漿液) 神経内分泌腫瘍 (5) NSE, シナプトフィジン, ホイシン, アロモグラニン</p>	<p>間質腫 (ビタミン+) (特記しない限り、通常はケラチン陰性)</p> <p>横紋筋肉腫 筋特異的アクチン (HF-35) 筋筋アクチン (ar-1) デスミン ミオグニン MyoD1 ミオグロビン</p> <p>平滑筋肉腫 筋特異的アクチン (HF-35) 平滑筋アクチン (A4) デスミン</p> <p>胃腸管間質腫瘍 (Cis. 10, 12) CD117 (ckit) CD34 DOG1</p> <p>内皮系腫瘍 第 VIIc 因子 (またはフォン・ビルブランド因子) CD34 CD31 Ulex 凝集素</p> <p>脂肪肉腫 I 型コラーゲンのみ** 隆起性皮膚線維肉腫 CD34 線維組織性結核黄肉腫 リゾチーム、第 X I I a 因子, CD68</p> <p>滑膜及び類上皮肉腫 ケラチン, EMA</p> <p>組織球性・CD68 リゾチーム</p> <p>小円形青色細胞腫瘍 CD45 (リンパ球) CD99, ミオグニン, WT-1 NF (神経フィラメント) F, L, S</p>

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 18/23840
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - C40B 40/02, C40B 50/18, C40B 60/14 (2018.01) CPC - G01N 1/286, G01N 1/36, G01N 2001/368		
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) See Search History Document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History Document		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History Document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2001/0055804 A1 (Shekhar et al.) 27 December 2001 (27.12.2001) para [0004]; [0035]-[0036]; [0072]; [0138]; [0171]; [0226]	7-8, 10-20 ----- 1-6, 9
Y	US 2014/0142370 A1 (The Johns Hopkins University) 22 May 2014 (22.05.2014) para [0100]	1-6
Y	US 5,153,132 A (Goodwin et al.) 06 October 1992 (06.10.1992) col 1, ln 22-28; Claim 1.	9
A	Abcam "ab115347 - Live/Dead Cell Assay" 2012. pg 7	3
A	Roche Diagnostics GmbH "DNase I" December 2010. Application section	14-15
A	US 2006/0148074 A1 (Gortfen et al.) 06 July 2006 (06.07.2006) para [0031]; [0166]	16
A	US 2011/0306110 A1 (Takeuchi et al.) 15 December 2011 (15.12.2011) whole document	1-20
A	US 5,851,816 A (Goodwin et al.) 22 December 1998 (22.12.1998) whole document	1-20
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "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 "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "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 "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "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 "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 "&" document member of the same patent family "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 17 May 2018		Date of mailing of the international search report 11 JUN 2018
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I		テーマコード(参考)
G 0 1 N 33/53 (2006.01)		G 0 1 N 33/53		Y
C 1 2 Q 1/6813 (2018.01)		C 1 2 Q 1/6813		Z

(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

Fターム(参考) 2G045 AA24 BB20 CB01 DA13 DA14
 4B063 QA01 QA19 QQ02 QQ08 QQ42 QQ52 QR32 QR55 QR72 QR77
 QR82 QS32 QX02
 4B065 AA90X AA93X BB40 BD25 BD35 BD39 CA46

【要約の続き】

、それによって生産コストが増加し、生産効率が低下する。

【選択図】図1

专利名称(译)	合成组织对照和合成组织微阵列对照的细胞产量		
公开(公告)号	JP2020515287A	公开(公告)日	2020-05-28
申请号	JP2020501427	申请日	2018-03-22
发明人	イマム、サイド、アシュラフ リース、マーク、リー.		
IPC分类号	C12N5/07 C12N5/09 C12Q1/04 C12Q1/00 G01N33/48 G01N33/53 C12Q1/6813		
CPC分类号	C12N5/0697 C12N2502/30 C12N2503/00 C12N2535/00 C12Q1/6886 G01N1/36 G01N33/574 G01N33/96 G01N2001/2893 G01N2001/368 C12N5/0693		
FI分类号	C12N5/07 C12N5/09 C12Q1/04 C12Q1/00.C G01N33/48.P G01N33/53.Y C12Q1/6813.Z		
F-TERM分类号	2G045/AA24 2G045/BB20 2G045/CB01 2G045/DA13 2G045/DA14 4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ08 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B063/QR32 4B063/QR55 4B063/QR72 4B063/QR77 4B063/QR82 4B063/QS32 4B063/QX02 4B065/AA90X 4B065/AA93X 4B065/BB40 4B065/BD25 4B065/BD35 4B065/BD39 4B065/CA46		
代理人(译)	矢口太郎		
优先权	15/466421 2017-03-22 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

病理和临床实验室检查是现代诊断和预后护理的重要方面。对照样品通常通过免疫组化 (IHC) 染色，原位杂交 (ISH) 和其他分子分析方法来使用，以维持质量控制 (QC) ，以确保测试结果的可重复性。可用于肿瘤和其他患病组织的IHC和ISH染色的一些对照是癌症组织的对照。但是，这类控件的数量非常有限，并且当这些控件用尽时，可能无法使用具有相同特性的替代控件。可用的另一种对照是来自癌细胞系的对照。然而，此类对照类型没有显示出给定标记的细胞表达的一致模式和水平，或所述表达在肿瘤组织中普遍存在的异质性。因此，这些对照与实际肿瘤组织几乎没有形态相似。而且，用于形成对照的常规技术需要大量的培养细胞来形成这种对照，这涉及低产率的过程，这增加了生产成本并提高了生产效率。下降。[选择图]图1

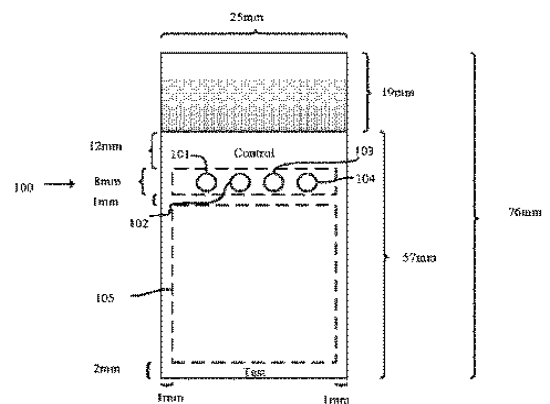


FIG. 1