

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】令和2年1月30日(2020.1.30)

【公表番号】特表2019-505185(P2019-505185A)

【公表日】平成31年2月28日(2019.2.28)

【年通号数】公開・登録公報2019-008

【出願番号】特願2018-531159(P2018-531159)

【国際特許分類】

C 12 Q 1/37 (2006.01)

G 01 N 33/68 (2006.01)

G 01 N 27/62 (2006.01)

【F I】

C 12 Q 1/37 Z N A

G 01 N 33/68

G 01 N 27/62 V

G 01 N 27/62 X

【手続補正書】

【提出日】令和1年12月13日(2019.12.13)

【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】

試料において、切断された高分子量キニノーゲン(HMWK)を検出するための方法であって、

(i) HMWKを含む疑いのある試料を準備するステップと、

(ii) 前記試料をプロテアーゼと接触させて、複数の消化されたペプチドを產生させるステップと、

(iii) 前記複数の消化されたペプチドにおいてシグネチャーペプチドのレベルを測定するステップであって、前記シグネチャーペプチドが、切断されたHMWKを表す、ステップと、

を含む方法。

【請求項2】

前記シグネチャーペプチドが、切断されたHMWKの46kDaの軽鎖を表し、任意選択で、前記切断されたHMWKの46kDaの軽鎖を表すシグネチャーペプチドは、KHNLGHGH (配列番号1)、KHNLGHGHKHE (配列番号2)；KHNLGHGHK (配列番号3)；またはKHNLGHGHKHER (配列番号4)であってもよい、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記シグネチャーペプチドが、切断されたHMWKの56kDaの軽鎖を表し、任意選択で、前記切断されたHMWKの56kDaの軽鎖を表すシグネチャーペプチドは、SSRIGE (配列番号5)であってもよい、請求項1に記載の方法。

【請求項4】

前記プロテアーゼが、キモトリプシン、エンドプロテイナーゼGlu-C、エンドプロテイナーゼAsp-N、カテーテルG、およびエンドプロテイナーゼLys-Cからなる群から選択される、請求項1～3のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 5】

完全長のHMWKを表すシグネチャーペプチドのレベルを測定するステップをさらに含み、任意選択で、前記完全長のHMWKを表すシグネチャーペプチドは、

G H E K Q R K H (配列番号6) ;

K Q R K H N L G H G H K H E (配列番号7) ;

D W G H K Q R K H N L G H G H K H E R (配列番号8) ;

H N L G H G H K (配列番号9) ; または

S Y Y F D L T D G L S (配列番号10) ;

であってもよい、請求項1～4のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 6】

前記切断されたHMWKを表すシグネチャーペプチドのレベル、前記完全長のHMWKを表すシグネチャーペプチドのレベル、またはこれら両方のレベルを、液体クロマトグラフィー・質量分析（LC-MS）により測定する、請求項1～5のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 7】

前記試料が、ヒトの対象から得られた生体試料である、請求項1～6のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 8】

前記生体試料が、血液試料または血漿試料であり、任意選択で、前記生体試料は、正常な血漿試料、FXIaにより活性化された血漿試料、または活性化されていない血漿試料であってもよい、請求項7に記載の方法。

【請求項 9】

前記ヒトの対象が、遺伝性血管性浮腫（HAE）を有する、または有する疑いがある；および／または前記生体試料が、プロテアーゼ阻害剤の混合物を含む液体製剤を含む、真空採血管に回収された血漿試料であり、任意選択で、前記真空採血管は、SCATチューブであってもよい、請求項7または8に記載の方法。

【請求項 10】

ステップ（i i）が、

(a)還元剤の存在下で行われ、任意選択で、前記生体試料は、90で1時間、前記還元剤と共にインキュベートされてもよい；および／または

(b)プロテアーゼ阻害剤、抗凝固剤、またはプロテアーゼ阻害剤と抗凝固剤の両方の非存在下で行われる。

請求項1～9のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 11】

(i v)前記ヒトの対象がHAEを有するかどうかを決定するステップであって、規定の参照値と比較して、前記ヒトの対象から得られた生体試料における上昇したレベルの切断されたHMWKが、前記ヒトの対象がHAEを有することを表す、ステップ；または

(v)前記ヒトの対象にHAEの発作のリスクがあるかどうかを決定するステップであって、規定の参照値と比較して、前記ヒトの対象から得られた生体試料における上昇したレベルの切断されたHMWKが、前記ヒトの対象にHAEの発作のリスクがあることを表す、ステップ；

をさらに含む、請求項7～10のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 12】

試料において完全長の高分子量キニノーゲン（HMWK）と切断されたHMWKとを区別するための方法であって、

(i)完全長のHMWKおよび／または切断されたHMWKを含む疑いのある試料を準備するステップと、

(i i)前記試料をプロテアーゼと接触させて、複数の消化されたペプチドを產生させるステップと、

(i i i)ステップ（i i）から得た第1の消化されたペプチドのレベルを測定するス

ステップであって、前記第1の消化されたペプチドが完全長のHMWKと比較して切断されたHMWKに固有である、ステップと、

(iv) ステップ(iii)から得た第2の消化されたペプチドのレベルを測定するステップであって、前記第2の消化されたペプチドが、低分子量キニノーゲン(LMWK)と比較してHMWKに固有である、ステップと、

(v) 前記第1の消化されたペプチドと前記第2の消化されたペプチドとの間の比率を決定するステップと、

(vi) ステップ(v)で決定した比率に基づき、前記試料において、切断されたHMWKを完全長のHMWKと区別するステップと、
を含む方法。

【請求項13】

前記プロテアーゼが、グルタミン酸残基の後ろを切断し、任意選択で、前記プロテアーゼは、エンドプロテイナーゼGlu-CまたはカテブシンGであってもよい、請求項12に記載の方法。

【請求項14】

前記プロテアーゼが、エンドプロテイナーゼGlu-Cであり、任意選択で、前記第1の消化されたペプチドはSSRIGE(配列番号5)であってもよく、前記第2の消化されたペプチドはSYYFDLTDGLS(配列番号10)であってもよい、請求項13に記載の方法。

【請求項15】

前記第1の消化されたペプチドおよび前記第2の消化されたペプチドを、LC-MSにより測定する、請求項12～14のいずれか1項に記載の方法。

【請求項16】

前記試料が、ヒトの対象から得られた生体試料である、請求項12～15のいずれか1項に記載の方法。

【請求項17】

前記生体試料が、血液試料または血漿試料であり、任意選択で、前記生体試料は、正常な血漿試料、FXIIaにより活性化された血漿試料、または活性化されていない血漿試料であってもよい、請求項16に記載の方法。

【請求項18】

前記ヒトの対象が、遺伝性血管性浮腫(HAE)を有する、または有する疑いがある、請求項16または17に記載の方法。

【請求項19】

前記生体試料が、プロテアーゼ阻害剤の混合物を含む液体製剤を含む、真空採血管に回収された血漿試料であり、任意選択で、前記真空採血管はSCATチューブであってもよい、請求項16～18のいずれか1項に記載の方法。

【請求項20】

ステップ(iii)が還元剤の存在下で行われ、任意選択で、前記生体試料は、90度1時間、前記還元剤と共にインキュベートされる、請求項12～19のいずれか1項に記載の方法。

【請求項21】

ステップ(iii)が、プロテアーゼ阻害剤、抗凝固剤、またはプロテアーゼ阻害剤と抗凝固剤の両方、の非存在下で行われる、および/または

ステップ(iii)において、プロテアーゼ/タンパク質の比率が約1：20である、請求項12～20のいずれか1項に記載の方法。

【請求項22】

前記対象が、ヒトの対象であり、

前記方法が、

(viii) 前記ヒトの対象がHAEを有するかどうかを決定するステップであって、規定の参照値と比較して、前記ヒトの対象から得られた生体試料における上昇したレベル

の切断されたHMWKが、前記ヒトの対象がHAEを有することを表す、ステップ；または

(viii) 前記ヒトの対象にHAEの発作のリスクがあるかどうかを決定するステップであって、規定の参考値と比較して、前記ヒトの対象から得た生体試料における上昇したレベルの切断されたHMWKが、前記ヒトの対象にHAEの発作のリスクがあることを表す、ステップ；

をさらに含む、請求項12～21のいずれか1項に記載の方法。

【請求項23】

遺伝性血管性浮腫(HAE)を有する、またはHAEのリスクがある、対象を同定するための方法であって、

(i) 対象の生体試料を準備するステップと、

(ii) 前記試料をプロテアーゼと接触させて複数の消化されたペプチドを産生させるステップと、

(iii) 前記複数の消化されたペプチドにおいて第1のシグネチャーペプチドのレベルを測定するステップであって、前記第1のシグネチャーペプチドが、切断されたHMWKを表す、ステップと、

(iv) 前記切断されたHMWKのレベルに基づき、前記対象がHAEを有する、またはHAEの発作のリスクがあるかどうかを決定するステップであって、規定の参考値と比較して、前記生体試料における上昇したレベルの切断されたHMWKが、前記対象がHAEを有する、またはHAEの発作のリスクがあることを表す、ステップと、
を含む方法。

【請求項24】

前記プロテアーゼが、キモトリプシンであり、任意選択で、前記第1のシグネチャーペプチドはKHN LGHGH(配列番号1)であってもよい、請求項23に記載の方法。

【請求項25】

前記複数の消化されたペプチドにおいて第2のシグネチャーペプチドのレベルを測定するステップであって、前記第2のシグネチャーペプチドがHMWKを表す、ステップをさらに含む、請求項23に記載の方法。

【請求項26】

前記第1のシグネチャーペプチドと前記第2のシグネチャーペプチドとの間の比率を決定するステップであって、HAEを有する対象またはHAEの発作のリスクがある対象が、前記第1のシグネチャーペプチドと前記第2のシグネチャーペプチドとの間の比率に基づいて同定される、ステップをさらに含み、任意選択で、前記プロテアーゼはエンドプロテイナーゼGlu-Cまたはカテプシンであってもよい、請求項23に記載の方法。

【請求項27】

前記プロテアーゼが、エンドプロテイナーゼGlu-Cまたはカテプシンであり、任意選択で、前記第1のシグネチャーペプチドはSSRIGE(配列番号5)であってもよく、前記第2のシグネチャーペプチドはSYYFDLTDGLS(配列番号10)であってもよい、請求項23に記載の方法。

【請求項28】

(i) 前記第1のシグネチャーペプチド、前記第2のシグネチャーペプチド、またはその両方を、LC-MSにより測定する；および/または

(ii) 前記生体試料が血液試料または血漿試料である、
請求項23～27のいずれか1項に記載の方法。