

【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 1 2 Q 1/37 (2006.01)

G 0 1 N 33/68 (2006.01)

G 0 1 N 27/62 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 Q 1/37 Z N A

G 0 1 N 33/68

G 0 1 N 27/62 V

G 0 1 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 (H M W K)を検出するための方法であって、

(i) H M W K 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産生させるステップと、

(i i i) 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 H M W K 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 H M W K の 4 6 k D a の軽鎖を表し、任意選択で、前記切断された H M W K の 4 6 k D a の軽鎖を表すシグネチャーペプチドは、K H N L G H G H (配列番号 1)、K H N L G H G H K H E (配列番号 2) ; K H N L G H G H K (配列番号 3) ; または K H N L G H G H K H E R (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 H M W K の 5 6 k D a の軽鎖を表し、任意選択で、前記切断された H M W K の 5 6 k D a の軽鎖を表すシグネチャーペプチドは、S S R I G E (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 G l u - C、エンドプロテイナーゼ A s p - N、カテプシン G、およびエンドプロテイナーゼ L y s - 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 H M W K 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 H M W K 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)

であつてもよい、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 H M W K を表すシグネチャーペプチドのレベル、前記完全長の H M W K 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 (L C - M S) 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、F X I I a 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つてもよい、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 (H A E) 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、S C A T チューブであつてもよい、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 H A E を有するかどうかを決定するステップであつて、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 H M W K が、前記ヒトの対象が H A E 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 H A E 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つて、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 H M W K が、前記ヒトの対象に H A E 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 (H M W K) と切断された H M W K とを区別するための方法であつて、

(i) 完全長の H M W K および / または切断された H M W K 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産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

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 H M W K と比較して切断された H M W K に固有である、ステップと、

(i v) ステップ (i i) 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 (L M W K) と比較して H M W K 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、

(v i) 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 H M W K を完全長の H M W K と区別するステップと、
を含む方法。

【請求項 1 3】

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 G l u - C またはカテプシン G であってもよい、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 4】

前記プロテアーゼが、エンドプロテイナーゼ G l u - C であり、任意選択で、前記第 1 の消化されたペプチドは S S R I G E (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 S Y Y F D L T D G L S (配列番号 1 0) であってもよい、請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 1 5】

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、L C - M S により測定する、請求項 1 2 ~ 1 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 6】

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 2 ~ 1 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 7】

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、F X I I a 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 1 6 に記載の方法。

【請求項 1 8】

前記ヒトの対象が、遺伝性血管性浮腫 (H A E) を有する、または有する疑いがある、請求項 1 6 または 1 7 に記載の方法。

【請求項 1 9】

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 S C A T チューブであってもよい、請求項 1 6 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 0】

ステップ (i i) が還元剤の存在下で行われ、任意選択で、前記生体試料は、9 0 で 1 時間、前記還元剤と共にインキュベートされる、請求項 1 2 ~ 1 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 1】

ステップ (i i) 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 (i i) において、プロテアーゼ / タンパク質の比率が約 1 : 2 0 である、
請求項 1 2 ~ 2 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記対象が、ヒトの対象であり、
前記方法が、

(v i i) 前記ヒトの対象が H A E 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 H M W K が、前記ヒトの対象が H A E を有することを表す、ステップ ; または

 (v i i) 前記ヒトの対象に H A E 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た生体試料における上昇したレベルの切断された H M W K が、前記ヒトの対象に H A E 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 1 2 ~ 2 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 3】

遺伝性血管性浮腫 (H A E) を有する、または H A E 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、

(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産生させるステップと、

(i i i) 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 H M W K を表す、ステップと、

(i v) 前記切断された H M W K のレベルに基づき、前記対象が H A E を有する、または H A E 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、前記生体試料における上昇したレベルの切断された H M W K が、前記対象が H A E を有する、または H A E 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 2 4】

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 K H N L G H G H (配列番号 1) であってもよい、請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 5】

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 H M W K を表す、ステップをさらに含む、請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 6】

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、H A E を有する対象または H A E 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む、任意選択で、前記プロテアーゼはエンドプロテイナーゼ G 1 u - C またはカテプシンであってもよい、請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記プロテアーゼが、エンドプロテイナーゼ G 1 u - 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 S S R I G E (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 S Y Y F D L T D G L S (配列番号 1 0) であってもよい、請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 8】

(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、L C - M S により測定する ; および / または

(i i) 前記生体試料が血液試料または血漿試料である、
請求項 2 3 ~ 2 7 のいずれか 1 項に記載の方法。