

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-516733

(P2023-516733A)

(43)公表日 令和5年4月20日(2023.4.20)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
G 0 1 N 33/68 (2006.01)	G 0 1 N 33/68	Z N A 2 G 0 4 5
C 0 7 K 16/18 (2006.01)	C 0 7 K 16/18	4 B 0 6 3
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	D 4 H 0 4 5
C 1 2 Q 1/06 (2006.01)	C 1 2 Q 1/06	

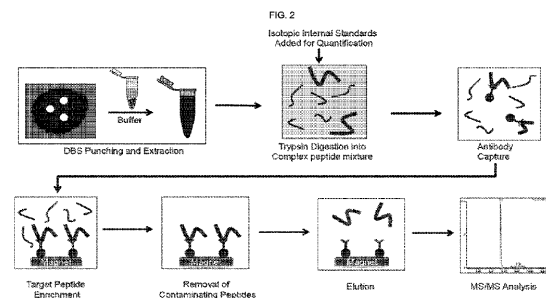
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全149頁)

(21)出願番号	特願2022-553039(P2022-553039)	(71)出願人	522349742
(86)(22)出願日	令和3年3月3日(2021.3.3)		シアトル・チルドレン・ホスピタル・
(85)翻訳文提出日	令和4年11月1日(2022.11.1)		ドゥーイング／ビジネス／アズ・シアトル・
(86)国際出願番号	PCT/US2021/020679		チルドレン・リサーチ・インスティテュート
(87)国際公開番号	WO2021/178545		アメリカ合衆国、ワシントン・98105、
(87)国際公開日	令和3年9月10日(2021.9.10)		シアトル、サンド・ポイント・ウェイ・
(31)優先権主張番号	62/984,744		ノースイースト・4800
(32)優先日	令和2年3月3日(2020.3.3)	(74)代理人	110001173
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		弁理士法人川口国際特許事務所
(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,最終頁に続く	(72)発明者	ハーン, シフーン
			アメリカ合衆国、ワシントン・98105、
			シアトル、サンド・ポイント・ウェイ・
			ノースイースト・4800
		(72)発明者	コリンズ, クリストファー
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 疾患についてのプロテオミクススクリーニング

(57)【要約】

原発性免疫不全症(PIDD)についての臨床診断及び新生児スクリーニングが記載されている。PIDDは、X連鎖慢性肉芽腫症(X-CGD)、X連鎖リンパ増殖性症候群(XLP1; SH2D1A欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2(FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症(AT)、分類不能型免疫不全症(CVID; B細胞機能不全)、重症複合免疫不全症(SCID)、アデノシンデアミナーゼ(ADA)欠損症及び細胞質分裂デディケーター8(DOCK8)欠損症を含む。加えて、血小板(CD42)、ナチュラルキラー(NK)細胞(CD56)及びT細胞(CD3イプシロン及びCD3デルタ)についての細胞特異的マーカーは、疾患の診断についての裏付けを与える二次マーカーとして使用される。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

対象における、X連鎖慢性肉芽腫症（X-CGD）、アデノシンデアミナーゼ（ADA）欠損症及び細胞質分裂デディケーター8（DOCK8）欠損症についてスクリーニングする方法であって、

対象に由来する生物学的試料を得るステップ；

生物学的試料に由来するタンパク質を酵素で消化して、1つ以上のペプチドをもたらすステップ；

配列番号2の、X-CGDについてのCYBBシグネチャーペプチドを、CYBBシグネチャーペプチドに結合し、配列番号16のCDR1、配列番号17のCDR2及び配列番号18のCDR3を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号19のCDR1、配列番号20のCDR2及び配列番号21のCDR3を含む軽鎖可変（VL）ドメインを含む抗体又はその抗原結合性断片により富化し；

配列番号11の、ADA欠損症についてのADAシグネチャーペプチドを、ADAシグネチャーペプチドに結合し、配列番号82のCDR1、配列番号83のCDR2及び配列番号84のCDR3を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号85のCDR1、配列番号86のCDR2及び配列番号87のCDR3を含む軽鎖可変（VL）ドメインを含む抗体又はその抗原結合性断片により富化し；

配列番号12の、DOCK8欠損症についてのDOCK8シグネチャーペプチドを、DOCK8シグネチャーペプチドに結合し、配列番号100のCDR1、配列番号101のCDR2及び配列番号102のCDR3を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号103のCDR1、配列番号104のCDR2及び配列番号105のCDR3を含む軽鎖可変（VL）ドメインを含む抗体又はその抗原結合性断片により富化するステップ；

富化されたペプチドに対して、液体クロマトグラフィー-多重反応モニタリング質量分析（LC-MRM-MS）を実施して、各シグネチャーペプチドの濃度を決定するステップ；並びに

CYBBシグネチャーペプチドの濃度が所定の閾値濃度未満である、又はCYBBシグネチャーペプチドが非存在である場合に、対象がX-CGDを有すると診断し；

ADAシグネチャーペプチドの濃度が所定の閾値濃度未満である、又はADAシグネチャーペプチドが非存在である場合に、対象がADA欠損症を有すると診断し；

DOCK8シグネチャーペプチドの濃度が所定の閾値濃度未満である、又はDOCK8シグネチャーペプチドが非存在である場合に、対象がDOCK8欠損症を有すると診断するステップを含む方法。

【請求項 2】

配列番号13の、第1のCD42シグネチャーペプチドを、第1のCD42シグネチャーペプチドに結合し、配列番号112のCDR1、配列番号113のCDR2及び配列番号114のCDR3を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号115のCDR1、配列番号116のCDR2及び配列番号117のCDR3を含む軽鎖可変（VL）ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号14の、第2のCD42シグネチャーペプチドを、第2のCD42シグネチャーペプチドに結合し、配列番号124のCDR1、配列番号125のCDR2及び配列番号126のCDR3を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号127のCDR1、配列番号128のCDR2及び配列番号129のCDR3を含む軽鎖可変（VL）ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；かつ

配列番号15の、CD56シグネチャーペプチドを、CD56シグネチャーペプチドに結合し、配列番号136のCDR1、配列番号137のCDR2及び配列番号138のCDR3を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号139のCDR1、配列番号140のCDR2及び配列番号141のCDR3を含む軽鎖可変（VL）ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化するステップ；

富化された第1のCD42シグネチャーペプチド、第2のCD42シグネチャーペプチド及びCD56シグネチャーペプチドに対して、液体クロマトグラフィー-多重反応モニタリング質量分析(LC-MRM-MS)を実施して、各シグネチャーペプチドの濃度を決定するステップ；並びに

第1のCD42シグネチャーペプチド、第2のCD42シグネチャーペプチド及びCD56シグネチャーペプチドの濃度を、対応する所定の閾値濃度と比較するステップをさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

第1のCD42シグネチャーペプチド及び第2のCD42シグネチャーペプチドの濃度を比較した後に、対象における血小板レベルを評価するステップをさらに含む、請求項2に記載の方法。

【請求項4】

CD56シグネチャーペプチドの濃度を比較した後に、対象におけるナチュラルキラー細胞レベルを評価するステップをさらに含む、請求項2に記載の方法。

【請求項5】

フェニルケトン尿症、原発性先天性甲状腺機能低下症、嚢胞性線維症及び鎌状赤血球症のうちの1つ以上について対象を追加的にスクリーニングする、新生児スクリーニング(NBS)の一部として実施される、請求項1に記載の方法。

【請求項6】

生物学的試料が、乾燥血液スポット(DBS)、口腔スワブ、末梢血単核細胞(PBMC)又は白血球(WBC)である、請求項1に記載の方法。

【請求項7】

対象における、X連鎖慢性肉芽腫症(XCGD)、X連鎖リンパ増殖性症候群1(XLP1)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2(FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症(AT)、分類不能型免疫不全症(CVID)、重症複合免疫不全症(SCID)、アデノシンデアミナーゼ(ADA)欠損症及び／又は細胞質分裂デディケーター8(DOCK8)欠損症についてスクリーニングする方法であって、

対象に由来する生物学的試料を得るステップ；

生物学的試料に由来するタンパク質を酵素で消化して、1つ以上のペプチドをもたらすステップ；

配列番号1の、XCGDについての第1のCYBBシグネチャーペプチドを、第1のCYBBシグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号2の、XCGDについての第2のCYBBシグネチャーペプチドを、第2のCYBBシグネチャーペプチドに結合し、配列番号16のCDR1、配列番号17のCDR2及び配列番号18のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号19のCDR1、配列番号20のCDR2及び配列番号21のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号3の、XLP1についてのSH2D1Aシグネチャーペプチドを、SH2D1Aシグネチャーペプチドに結合し、配列番号160のCDR1、配列番号161のCDR2及び配列番号162のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号163のCDR1、配列番号164のCDR2及び配列番号165のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号5の、FHL2についての第1のPRF-1シグネチャーペプチドを、第1のPRF-1シグネチャーペプチドに結合し、配列番号34のCDR1、配列番号35のCDR2及び配列番号36のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号37のCDR1、配列番号38のCDR2及び配列番号39のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号6の、FHL2についての第2のPRF-1シグネチャーペプチドを、第2のPRF-1シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により

10

20

30

40

50

富化し；

配列番号 210 の、毛細血管拡張性運動失調症についての第 1 の A T M シグネチャーペプチドを、第 1 の A T M シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 211 の、毛細血管拡張性運動失調症についての第 2 の A T M シグネチャーペプチドを、第 2 の A T M シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 7 の、毛細血管拡張性運動失調症についての第 3 の A T M シグネチャーペプチドを、第 3 の A T M シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 52 の C D R 1、配列番号 53 の C D R 2 及び配列番号 54 の C D R 3 を含む重鎖可変 (V H) ドメイン並びに配列番号 55 の C D R 1、配列番号 56 の C D R 2 及び配列番号 57 の C D R 3 を含む軽鎖可変 (V L) ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 9 の、C V I D についての第 1 の C D 19 シグネチャーペプチドを、第 1 の C D 19 シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 10 の、C V I D についての第 2 の C D 19 シグネチャーペプチドを、第 2 の C D 19 シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 212 の、C V I D についての第 3 の C D 19 シグネチャーペプチドを、第 3 の C D 19 シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 213 の、S C I D についての第 1 の I L 2 R G シグネチャーペプチドを、第 1 の I L 2 R G シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 214 の、S C I D についての第 2 の I L 2 R G シグネチャーペプチドを、第 2 の I L 2 R G シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 215 の、S C I D についての C D 3 ε シグネチャーペプチドを、C D 3 ε シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 216 の、S C I D についての第 1 の C D 3 d δ シグネチャーペプチドを、第 1 の C D 3 d δ シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 217 の、S C I D についての第 2 の C D 3 d δ シグネチャーペプチドを、第 2 の C D 3 d δ シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 11 の、A D A 欠損症についての A D A シグネチャーペプチドを、A D A シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 82 の C D R 1、配列番号 83 の C D R 2 及び配列番号 84 の C D R 3 を含む重鎖可変 (V H) ドメイン並びに配列番号 85 の C D R 1、配列番号 86 の C D R 2 及び配列番号 87 の C D R 3 を含む軽鎖可変 (V L) ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；かつ／又は

配列番号 12 の、D O C K 8 欠損症についての D O C K 8 シグネチャーペプチドを、D O C K 8 シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 100 の C D R 1、配列番号 101 の C D R 2 及び配列番号 102 の C D R 3 を含む重鎖可変 (V H) ドメイン並びに配列番号 103 の C D R 1、配列番号 104 の C D R 2 及び配列番号 105 の C D R 3 を含む軽鎖可変 (V L) ドメインを含む抗体又はその抗原結合性断片により富化するステップ；

富化されたペプチドに対して、液体クロマトグラフィー—多重反応モニタリング質量分析 (L C—M R M—M S) を実施して、各シグネチャーペプチドの濃度を決定するステップ；並びに

第 1 の C Y B B シグネチャーペプチド及び／若しくは第 2 の C Y B B シグネチャーペプチドの濃度が対応する所定の閾値濃度未満である、又は第 1 の C Y B B シグネチャーペ

10

20

30

40

50

チド及び／若しくは第2のCYBBシグネチャーペプチドが非存在である場合に、対象がX-CGDを有すると診断し；

SH2D1Aシグネチャーペプチドの濃度が所定の閾値濃度未満である、若しくはSH2D1Aシグネチャーペプチドが非存在である場合に、対象がXLP1を有すると診断し；

第1のPRF-1シグネチャーペプチド及び／若しくは第2のPRF-1シグネチャーペプチドの濃度が対応する所定の閾値濃度未満である、又は第1のPRF-1シグネチャーペプチド及び／若しくは第2のPRF-1シグネチャーペプチドが非存在である場合に、対象がFHL2を有すると診断し；

第1のATMシグネチャーペプチド、第2のATMシグネチャーペプチド及び／若しくは第3のATMシグネチャーペプチドの濃度が対応する所定の閾値濃度未満である、又は第1のATMシグネチャーペプチド、第2のATMシグネチャーペプチド及び／若しくは第3のATMシグネチャーペプチドが非存在である場合に、対象がATを有すると診断し；

第1のCD19シグネチャーペプチド、第2のCD19シグネチャーペプチド及び／若しくは第3のCD19シグネチャーペプチドの濃度が対応する所定の閾値濃度未満である、又は第1のCD19シグネチャーペプチド、第2のCD19シグネチャーペプチド及び／若しくは第3のCD19シグネチャーペプチドが非存在である場合に、対象がCVI Dを有すると診断し；

第1のIL2RGシグネチャーペプチド、第2のIL2RGシグネチャーペプチド、CD3εシグネチャーペプチド、第1のCD3δシグネチャーペプチド及び／若しくは第2のCD3δシグネチャーペプチドの濃度が対応する所定の閾値濃度未満である、又は第1のIL2RGシグネチャーペプチド、第2のIL2RGシグネチャーペプチド、CD3εシグネチャーペプチド、第1のCD3δシグネチャーペプチド及び／若しくは第2のCD3δシグネチャーペプチドが非存在である場合に、対象がSCIDを有すると診断し；

A DAシグネチャーペプチドの濃度が所定の閾値濃度未満である、若しくはA DAシグネチャーペプチドが非存在である場合に、対象がA DA欠損症を有すると診断し；かつ／又は

DOCK8シグネチャーペプチドの濃度が所定の閾値濃度未満である、若しくはDOCK8シグネチャーペプチドが非存在である場合に、対象がDOCK8欠損症を有すると診断するステップを含む方法。

【請求項8】

CD3εシグネチャーペプチド、第1のCD3δシグネチャーペプチド及び／又は第2のCD3δシグネチャーペプチドの濃度を、対応する所定の閾値濃度と比較した後に、対象におけるT細胞レベルを評価するステップをさらに含む、請求項7に記載の方法。

【請求項9】

配列番号13の、第1のCD42シグネチャーペプチドを、第1のCD42シグネチャーペプチドに結合し、配列番号112のCDR1、配列番号113のCDR2及び配列番号114のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号115のCDR1、配列番号116のCDR2及び配列番号117のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号14の、第2のCD42シグネチャーペプチドを、第2のCD42シグネチャーペプチドに結合し、配列番号124のCDR1、配列番号125のCDR2及び配列番号126のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号127のCDR1、配列番号128のCDR2及び配列番号129のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；かつ／又は

配列番号15の、CD56シグネチャーペプチドを、CD56シグネチャーペプチドに結合し、配列番号136のCDR1、配列番号137のCDR2及び配列番号138のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号139のCDR1、配列番号1

10

20

30

40

50

40のCDR2及び配列番号141のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化するステップ；

富化された第1のCD42シグネチャーペプチド、第2のCD42シグネチャーペプチド及び／又はCD56シグネチャーペプチドに対して、液体クロマトグラフィー-多重反応モニタリング質量分析(LC-MRM-MS)を実施して、各シグネチャーペプチドの濃度を決定するステップ；並びに

第1のCD42シグネチャーペプチド、第2のCD42シグネチャーペプチド及び／又はCD56シグネチャーペプチドの濃度を、対応する所定の閾値濃度と比較するステップをさらに含む、請求項7に記載の方法。

【請求項10】

第1のCD42シグネチャーペプチド及び／又は第2のCD42シグネチャーペプチドの濃度を比較した後に、対象における血小板レベルを評価するステップをさらに含む、請求項9に記載の方法。

【請求項11】

CD56シグネチャーペプチドの濃度を比較した後に、対象におけるナチュラルキラー細胞レベルを評価するステップをさらに含む、請求項9に記載の方法。

【請求項12】

フェニルケトン尿症、原発性先天性甲状腺機能低下症、嚢胞性線維症及び鎌状赤血球症のうちの1つ以上について対象を追加的にスクリーニングする、新生児スクリーニング(NBS)の一部として実施される、請求項7に記載の方法。

【請求項13】

対象におけるX-CGD、XLP1、FHL2、毛細血管拡張性運動失調症、CVID、SCID、ADA欠損症及び／又はDOCK8欠損症の臨床症状の非存在下において実施される、請求項7に記載の方法。

【請求項14】

生物学的試料が、乾燥血液スポット(DBS)、口腔スワブ、末梢血単核細胞(PBMC)又は白血球(WBC)である、請求項7に記載の方法。

【請求項15】

酵素が、トリプシンである、請求項7に記載の方法。

【請求項16】

各シグネチャーペプチドについての対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、各シグネチャーペプチドの平均濃度の標準偏差から計算される、請求項7に記載の方法。

【請求項17】

各シグネチャーペプチドについての対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、各シグネチャーペプチドの平均濃度の標準偏差から計算される、請求項9に記載の方法。

【請求項18】

正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号2の、X-CGDについての第2のCYBBシグネチャーペプチドの平均濃度が、300ピコモル/L～3000ピコモル/Lの範囲の濃度を含み、請求項16に記載の方法。

【請求項19】

正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号5の、FHL2についての第1のPRF-1シグネチャーペプチドの平均濃度が、10ピコモル/L～200ピコモル/Lの範囲の濃度を含み、請求項16に記載の方法。

【請求項20】

正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号7の、毛細血管拡張性運動失調症についての第3のATMシグネチャーペプチドの平均濃度が、20ピコモル/L～100ピコモル/Lの範囲の濃度を含み、請求項16に記載の方法。

【請求項21】

10

20

30

40

50

正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号 11 の、ADA 欠損症についての ADA シグネチャーペプチドの平均濃度が、900 ピコモル/L ~ 5000 ピコモル/L の範囲の濃度を含む、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 22】

正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号 12 の、DOCK8 欠損症についての DOCK8 シグネチャーペプチドの平均濃度が、70 ピコモル/L ~ 550 ピコモル/L の範囲の濃度を含む、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 23】

正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号 13 の、第 1 の CD42 シグネチャーペプチドの平均濃度が、4000 ピコモル/L ~ 20000 ピコモル/L の範囲の濃度を含む、請求項 17 に記載の方法。

10

【請求項 24】

正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号 14 の、第 2 の CD42 シグネチャーペプチドの平均濃度が、8000 ピコモル/L ~ 30000 ピコモル/L の範囲の濃度を含む、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 25】

正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号 15 の、CD56 シグネチャーペプチドの平均濃度が、600 ピコモル/L ~ 5000 ピコモル/L の範囲の濃度を含む、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 26】

配列番号 2 の、X-CGD についての第 2 の CYBB シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号 27 の VH ドメイン；配列番号 33 の VL ドメイン；配列番号 24 の重鎖又は配列番号 30 の軽鎖のうちの 1 つ以上を含む、請求項 7 に記載の方法。

20

【請求項 27】

配列番号 3 の、XLP1 についての SH2D1A シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号 173 の VH ドメイン；配列番号 181 の VL ドメイン；配列番号 169 の重鎖又は配列番号 177 の軽鎖のうちの 1 つ以上を含む、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 28】

配列番号 5 の、FHL2 についての第 1 の PRF-1 シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号 45 の VH ドメイン；配列番号 51 の VL ドメイン；配列番号 42 の重鎖又は配列番号 48 の軽鎖のうちの 1 つ以上を含む、請求項 7 に記載の方法。

30

【請求項 29】

配列番号 7 の、毛細血管拡張性運動失調症についての第 3 の ATM シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号 63 の VH ドメイン；配列番号 69 の VL ドメイン；配列番号 60 の重鎖又は配列番号 66 の軽鎖のうちの 1 つ以上を含む、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 30】

配列番号 11 の、ADA 欠損症についての ADA シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号 93 の VH ドメイン；配列番号 99 の VL ドメイン；配列番号 90 の重鎖又は配列番号 96 の軽鎖のうちの 1 つ以上を含む、請求項 7 に記載の方法。

40

【請求項 31】

配列番号 12 の、DOCK8 欠損症についての DOCK8 シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号 108 の VH ドメイン及び／又は配列番号 111 の VL ドメインを含む、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 32】

配列番号 13 の、第 1 の CD42 シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体

50

又はその抗原結合性断片が、配列番号 120 の V H ドメイン及び／又は配列番号 123 の V L ドメインを含む、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 33】

配列番号 14 の、第 2 の C D 4 2 シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号 132 の V H ドメイン及び／又は配列番号 135 の V L ドメインを含む、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 34】

配列番号 15 の、C D 5 6 シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号 147 の V H ドメイン；配列番号 153 の V L ドメイン；配列番号 144 の重鎖又は配列番号 150 の軽鎖のうちの 1 つ以上を含む、請求項 9 に記載の方法。

10

【請求項 35】

1 つ以上の生物学的試料中の、X 連鎖慢性肉芽腫症（X-CGD）、X 連鎖リンパ増殖性症候群 1（XLP1）、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症 2（FHL2）、毛細血管拡張性運動失調症（AT）、分類不能型免疫不全症（CVID）、重症複合免疫不全症（SCID）、アデノシンデアミナーゼ（ADA）欠損症及び／又は細胞質分裂デディケーター 8（DOCK8）欠損症についての 1 つ以上のシグネチャーペプチドを検出する方法であって、

1 つ以上の生物学的試料を得るステップ；

各生物学的試料のうちの血液由来のタンパク質を酵素で消化して、1 つ以上のペプチドをもたらすステップ；

20

配列番号 1 の、X-CGD についての第 1 の C Y B B シグネチャーペプチドを、第 1 の C Y B B シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 2 の、X-CGD についての第 2 の C Y B B シグネチャーペプチドを、第 2 の C Y B B シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 16 の C D R 1、配列番号 17 の C D R 2 及び配列番号 18 の C D R 3 を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号 19 の C D R 1、配列番号 20 の C D R 2 及び配列番号 21 の C D R 3 を含む軽鎖可変（VL）ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 3 の、XLP1 についての S H 2 D 1 A シグネチャーペプチドを、S H 2 D 1 A シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 160 の C D R 1、配列番号 161 の C D R 2 及び配列番号 162 の C D R 3 を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号 163 の C D R 1、配列番号 164 の C D R 2 及び配列番号 165 の C D R 3 を含む軽鎖可変（VL）ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

30

配列番号 5 の、FHL2 についての第 1 の P R F-1 シグネチャーペプチドを、第 1 の P R F-1 シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 34 の C D R 1、配列番号 35 の C D R 2 及び配列番号 36 の C D R 3 を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号 37 の C D R 1、配列番号 38 の C D R 2 及び配列番号 39 の C D R 3 を含む軽鎖可変（VL）ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 6 の、FHL2 についての第 2 の P R F-1 シグネチャーペプチドを、第 2 の P R F-1 シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

40

配列番号 210 の、毛細血管拡張性運動失調症についての第 1 の A T M シグネチャーペプチドを、第 1 の A T M シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 211 の、毛細血管拡張性運動失調症についての第 2 の A T M シグネチャーペプチドを、第 2 の A T M シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 7 の、毛細血管拡張性運動失調症についての第 3 の A T M シグネチャーペプチドを、第 3 の A T M シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 52 の C D R 1、配列番

50

号 53 の C D R 2 及び配列番号 54 の C D R 3 を含む重鎖可変 (V H) ドメイン並びに配列番号 55 の C D R 1、配列番号 56 の C D R 2 及び配列番号 57 の C D R 3 を含む軽鎖可変 (V L) ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 9 の、C V I D についての第 1 の C D 19 シグネチャーペプチドを、第 1 の C D 19 シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 10 の、C V I D についての第 2 の C D 19 シグネチャーペプチドを、第 2 の C D 19 シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 212 の、C V I D についての第 3 の C D 19 シグネチャーペプチドを、第 3 の C D 19 シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 213 の、S C I D についての第 1 の I L 2 R G シグネチャーペプチドを、第 1 の I L 2 R G シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 214 の、S C I D についての第 2 の I L 2 R G シグネチャーペプチドを、第 2 の I L 2 R G シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 215 の、S C I D についての C D 3 ε シグネチャーペプチドを、C D 3 ε シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 216 の、S C I D についての第 1 の C D 3 d δ シグネチャーペプチドを、第 1 の C D 3 d δ シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 217 の、S C I D についての第 2 の C D 3 d δ シグネチャーペプチドを、第 2 の C D 3 d δ シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 11 の、A D A 欠損症についての A D A シグネチャーペプチドを、A D A シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 82 の C D R 1、配列番号 83 の C D R 2 及び配列番号 84 の C D R 3 を含む重鎖可変 (V H) ドメイン並びに配列番号 85 の C D R 1、配列番号 86 の C D R 2 及び配列番号 87 の C D R 3 を含む軽鎖可変 (V L) ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；かつ／又は

配列番号 12 の、D O C K 8 欠損症についての D O C K 8 シグネチャーペプチドを、D O C K 8 シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 100 の C D R 1、配列番号 101 の C D R 2 及び配列番号 102 の C D R 3 を含む重鎖可変 (V H) ドメイン並びに配列番号 103 の C D R 1、配列番号 104 の C D R 2 及び配列番号 105 の C D R 3 を含む軽鎖可変 (V L) ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化するステップ；

並びに

富化されたペプチドに対して、液体クロマトグラフィー—多重反応モニタリング質量分析 (L C—M R M—M S) を実施して、各シグネチャーペプチドの濃度を決定し、これにより、1 つ以上の生物学的試料中の、X—C G D、X L P 1、F H L 2、A T、C V I D、S C I D、A D A 欠損症及び／又は D O C K 8 欠損症についての 1 つ以上のシグネチャーペプチドを検出するステップ

を含む方法。

【請求項 36】

配列番号 13 の、第 1 の C D 42 シグネチャーペプチドを、第 1 の C D 42 シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 112 の C D R 1、配列番号 113 の C D R 2 及び配列番号 114 の C D R 3 を含む重鎖可変 (V H) ドメイン並びに配列番号 115 の C D R 1、配列番号 116 の C D R 2 及び配列番号 117 の C D R 3 を含む軽鎖可変 (V L) ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 14 の、第 2 の CD42 シグネチャーペプチドを、第 2 の CD42 シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 124 の CDR1、配列番号 125 の CDR2 及び配列番号 126 の CDR3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 127 の CDR1、配列番号 128 の CDR2 及び配列番号 129 の CDR3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；かつ／又は

配列番号 15 の、CD56 シグネチャーペプチドを、CD56 シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 136 の CDR1、配列番号 137 の CDR2 及び配列番号 138 の CDR3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 139 の CDR1、配列番号 140 の CDR2 及び配列番号 141 の CDR3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

富化された第 1 の CD42 シグネチャーペプチド、第 2 の CD42 シグネチャーペプチド及び／又は CD56 シグネチャーペプチドに対して、液体クロマトグラフィー—多重反応モニタリング質量分析 (LC—MRM—MS) を実施して、各シグネチャーペプチドの濃度を決定し、これにより、血小板及び／又はナチュラルキラー (NK) 細胞の 1 つ以上のシグネチャーペプチドを検出すること

により、血小板及び／又はナチュラルキラー (NK) 細胞の 1 つ以上のシグネチャーペプチドを検出するステップ

をさらに含む、請求項 35 に記載の方法。

【請求項 37】

1 つ以上の生物学的試料が、乾燥血液スポット (DBS)、口腔スワブ、末梢血単核細胞 (PBMC) 又は白血球 (WBC) である、請求項 35 に記載の方法。

【請求項 38】

酵素が、トリプシンである、請求項 35 に記載の方法。

【請求項 39】

各シグネチャーペプチドの濃度を、対応する所定の閾値濃度と比較するステップをさらに含む、請求項 35 に記載の方法。

【請求項 40】

各シグネチャーペプチドについての対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する 1 つ以上の生物学的試料中の、各シグネチャーペプチドの平均濃度の標準偏差から計算される、請求項 39 に記載の方法。

【請求項 41】

各シグネチャーペプチドの濃度を、対応する所定の閾値濃度と比較するステップをさらに含む、請求項 36 に記載の方法。

【請求項 42】

各シグネチャーペプチドについての対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の 1 つ以上の対応する生物学的試料中の、各シグネチャーペプチドの平均濃度の標準偏差から計算される、請求項 41 に記載の方法。

【請求項 43】

正常対照対象の集団由来の 1 つ以上の対応する生物学的試料中の、配列番号 2 の、X—CGD についての第 2 の CYBB シグネチャーペプチドの平均濃度が、300 ピコモル／L～3000 ピコモル／L の範囲の濃度を含む、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 44】

正常対照対象の集団由来の 1 つ以上の対応する生物学的試料中の、配列番号 5 の、FHL2 についての第 1 の PRF—1 シグネチャーペプチドの平均濃度が、10 ピコモル／L～200 ピコモル／L の範囲の濃度を含む、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 45】

正常対照対象の集団由来の 1 つ以上の対応する生物学的試料中の、配列番号 7 の、毛細血管拡張性運動失調症についての第 3 の ATM シグネチャーペプチドの平均濃度が、20 ピコモル／L～100 ピコモル／L の範囲の濃度を含む、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 46】

10

20

30

40

50

正常対照対象の集団由来の1つ以上の対応する生物学的試料中の、配列番号11の、ADA欠損症についてのADAシグネチャーペプチドの平均濃度が、900ピコモル/L～5000ピコモル/Lの範囲の濃度を含む、請求項40に記載の方法。

【請求項47】

正常対照対象の集団由来の1つ以上の対応する生物学的試料中の、配列番号12の、DOCK8欠損症についてのDOCK8シグネチャーペプチドの平均濃度が、70ピコモル/L～550ピコモル/Lの範囲の濃度を含む、請求項40に記載の方法。

【請求項48】

正常対照対象の集団由来の1つ以上の対応する生物学的試料中の、配列番号13の、第1のCD42シグネチャーペプチドの平均濃度が、4000ピコモル/L～20000ピコモル/Lの範囲の濃度を含む、請求項42に記載の方法。

10

【請求項49】

正常対照対象の集団由来の1つ以上の対応する生物学的試料中の、配列番号14の、第2のCD42シグネチャーペプチドの平均濃度が、8000ピコモル/L～30000ピコモル/Lの範囲の濃度を含む、請求項42に記載の方法。

【請求項50】

正常対照対象の集団由来の1つ以上の対応する生物学的試料中の、配列番号15の、CD56シグネチャーペプチドの平均濃度が、600ピコモル/L～5000ピコモル/Lの範囲の濃度を含む、請求項42に記載の方法。

【請求項51】

配列番号2の、X-CGDについての第2のCYBBシグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号27のVHドメイン；配列番号33のVLドメイン；配列番号24の重鎖又は配列番号30の軽鎖のうちの1つ以上を含む、請求項35に記載の方法。

20

【請求項52】

配列番号3の、XLP1についてのSH2D1Aシグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号173のVHドメイン；配列番号181のVLドメイン；配列番号169の重鎖又は配列番号177の軽鎖のうちの1つ以上を含む、請求項35に記載の方法。

【請求項53】

配列番号5の、FHL2についての第1のPRF-1シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号45のVHドメイン；配列番号51のVLドメイン；配列番号42の重鎖又は配列番号48の軽鎖のうちの1つ以上を含む、請求項35に記載の方法。

30

【請求項54】

配列番号7の、毛細血管拡張性運動失調症についての第3のATMシグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号63のVHドメイン；配列番号69のVLドメイン；配列番号60の重鎖又は配列番号66の軽鎖のうちの1つ以上を含む、請求項35に記載の方法。

【請求項55】

配列番号11の、ADA欠損症についてのADAシグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号93のVHドメイン；配列番号99のVLドメイン；配列番号90の重鎖又は配列番号96の軽鎖のうちの1つ以上を含む、請求項35に記載の方法。

40

【請求項56】

配列番号12の、DOCK8欠損症についてのDOCK8シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号108のVHドメイン及び／又は配列番号111のVLドメインを含む、請求項35に記載の方法。

【請求項57】

配列番号13の、第1のCD42シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体

50

又はその抗原結合性断片が、配列番号 120 の V H ドメイン及び／又は配列番号 123 の V L ドメインを含む、請求項 36 に記載の方法。

【請求項 58】

配列番号 14 の、第 2 の C D 4 2 シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号 132 の V H ドメイン及び／又は配列番号 135 の V L ドメインを含む、請求項 36 に記載の方法。

【請求項 59】

配列番号 15 の、C D 5 6 シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号 147 の V H ドメイン；配列番号 153 の V L ドメイン；配列番号 144 の重鎖又は配列番号 150 の軽鎖のうちの 1 つ以上を含む、請求項 36 に記載の方法。

10

【請求項 60】

X 連鎖慢性肉芽腫症（X-CGD）、X 連鎖リンパ増殖性症候群 1（XLP1）、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症 2（FHL2）、毛細血管拡張性運動失調症（AT）、分類不能型免疫不全症（CVID）、重症複合免疫不全症（SCID）、アデノシンデアミナーゼ（ADA）欠損症及び／又は細胞質分裂デディケーター 8（DOCK8）欠損症について処置される対象における、1 つ以上の処置の有効性を決定する方法であって、

1 つ以上の処置の前に、対象に由来する生物学的試料を得るステップ；

生物学的試料のうちの血液由来のタンパク質を酵素で消化して、1 つ以上のペプチドをもたらすステップ；

20

配列番号 1 の、X-CGD についての第 1 の C Y B B シグネチャーペプチドを、第 1 の C Y B B シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 2 の、X-CGD についての第 2 の C Y B B シグネチャーペプチドを、第 2 の C Y B B シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 16 の C D R 1、配列番号 17 の C D R 2 及び配列番号 18 の C D R 3 を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号 19 の C D R 1、配列番号 20 の C D R 2 及び配列番号 21 の C D R 3 を含む軽鎖可変（VL）ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 3 の、XLP1 についての S H 2 D 1 A シグネチャーペプチドを、S H 2 D 1 A シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 160 の C D R 1、配列番号 161 の C D R 2 及び配列番号 162 の C D R 3 を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号 163 の C D R 1、配列番号 164 の C D R 2 及び配列番号 165 の C D R 3 を含む軽鎖可変（VL）ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

30

配列番号 5 の、FHL2 についての第 1 の P R F - 1 シグネチャーペプチドを、第 1 の P R F - 1 シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 34 の C D R 1、配列番号 35 の C D R 2 及び配列番号 36 の C D R 3 を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号 37 の C D R 1、配列番号 38 の C D R 2 及び配列番号 39 の C D R 3 を含む軽鎖可変（VL）ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 6 の、FHL2 についての第 2 の P R F - 1 シグネチャーペプチドを、第 2 の P R F - 1 シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

40

配列番号 210 の、毛細血管拡張性運動失調症についての第 1 の A T M シグネチャーペプチドを、第 1 の A T M シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 211 の、毛細血管拡張性運動失調症についての第 2 の A T M シグネチャーペプチドを、第 2 の A T M シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 7 の、毛細血管拡張性運動失調症についての第 3 の A T M シグネチャーペプチドを、第 3 の A T M シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 52 の C D R 1、配列番号 53 の C D R 2 及び配列番号 54 の C D R 3 を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配

50

列番号 55 の C D R 1、配列番号 56 の C D R 2 及び配列番号 57 の C D R 3 を含む軽鎖可変 (V L) ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 9 の、C V I D についての第 1 の C D 19 シグネチャーペプチドを、第 1 の C D 19 シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 10 の、C V I D についての第 2 の C D 19 シグネチャーペプチドを、第 2 の C D 19 シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 212 の、C V I D についての第 3 の C D 19 シグネチャーペプチドを、第 3 の C D 19 シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 213 の、S C I D についての第 1 の I L 2 R G シグネチャーペプチドを、第 1 の I L 2 R G シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 214 の、S C I D についての第 2 の I L 2 R G シグネチャーペプチドを、第 2 の I L 2 R G シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 215 の、S C I D についての C D 3 ε シグネチャーペプチドを、C D 3 ε シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 216 の、S C I D についての第 1 の C D 3 d δ シグネチャーペプチドを、第 1 の C D 3 d δ シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 217 の、S C I D についての第 2 の C D 3 d δ シグネチャーペプチドを、第 2 の C D 3 d δ シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 11 の、A D A 欠損症についての A D A シグネチャーペプチドを、A D A シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 82 の C D R 1、配列番号 83 の C D R 2 及び配列番号 84 の C D R 3 を含む重鎖可変 (V H) ドメイン並びに配列番号 85 の C D R 1、配列番号 86 の C D R 2 及び配列番号 87 の C D R 3 を含む軽鎖可変 (V L) ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；かつ／又は

配列番号 12 の、D O C K 8 欠損症についての D O C K 8 シグネチャーペプチドを、D O C K 8 シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 100 の C D R 1、配列番号 101 の C D R 2 及び配列番号 102 の C D R 3 を含む重鎖可変 (V H) ドメイン並びに配列番号 103 の C D R 1、配列番号 104 の C D R 2 及び配列番号 105 の C D R 3 を含む軽鎖可変 (V L) ドメインを含む抗体又はその抗原結合性断片により富化するステップ；

富化されたペプチドに対して、液体クロマトグラフィー—多重反応モニタリング質量分析 (L C—M R M—M S) を実施して、1 つ以上の処置の前の対象における各シグネチャーペプチドの濃度を決定するステップ；

1 つ以上の処置時に又はこれらの後に、対象に由来する生物学的試料を得るステップ、これらを消化するステップ、これらを富化するステップ、及びこれらに対して実施するステップを反復するステップ；

並びに

1 つ以上の処置が、

1 つ以上の処置時若しくはこれらの後における、第 1 の C Y B B シグネチャーペプチド及び／若しくは第 2 の C Y B B シグネチャーペプチドの濃度が、1 つ以上の処置の前における、第 1 の C Y B B シグネチャーペプチド及び／若しくは第 2 の C Y B B シグネチャーペプチドの対応する濃度より高い場合に、X—C G D に対して効果的であり；

1 つ以上の処置時若しくはこれらの後における、S H 2 D 1 A シグネチャーペプチドの濃度が、1 つ以上の処置の前における、S H 2 D 1 A シグネチャーペプチドの対応する濃度より高い場合に、X L P 1 に対して効果的であり；

10

20

30

40

50

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、第1のPRF-1シグネチャーペプチド及び／若しくは第2のPRF-1シグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、第1のPRF-1シグネチャーペプチド及び／若しくは第2のPRF-1シグネチャーペプチドの対応する濃度より高い場合に、FHL2に対して効果的であり；

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、第1のATMシグネチャーペプチド、第2のATMシグネチャーペプチド及び／若しくは第3のATMシグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、第1のATMシグネチャーペプチド、第2のATMシグネチャーペプチド及び／若しくは第3のATMシグネチャーペプチドの濃度より高い場合に、ATに対して効果的であり；

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、第1のCD19シグネチャーペプチド、第2のCD19シグネチャーペプチド及び／若しくは第3のCD19シグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、第1のCD19シグネチャーペプチド、第2のCD19シグネチャーペプチド及び／若しくは第3のCD19シグネチャーペプチドの対応する濃度より高い場合に、CV1Dに対して効果的であり；

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、第1のIL2RGシグネチャーペプチド、第2のIL2RGシグネチャーペプチド、CD3εシグネチャーペプチド、第1のCD3δシグネチャーペプチド及び／若しくは第2のCD3δシグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、第1のIL2RGシグネチャーペプチド、第2のIL2RGシグネチャーペプチド、CD3εシグネチャーペプチド、第1のCD3δシグネチャーペプチド及び／若しくは第2のCD3δシグネチャーペプチドの対応する濃度より高い場合に、SC1Dに対して効果的であり；

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、ADAシグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、ADAシグネチャーペプチドの濃度より高い場合に、ADA欠損症に対して効果的であり；かつ／又は

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、DOCK8シグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、所定の閾値濃度以上である場合に、DOCK8欠損症に対して効果的である

ことを決定する、

又は

1つ以上の処置が、

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、第1のCYBBシグネチャーペプチド及び／若しくは第2のCYBBシグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、第1のCYBBシグネチャーペプチド及び／若しくは第2のCYBBシグネチャーペプチドの対応する濃度以下である、又は第1のCYBBシグネチャーペプチド及び／若しくは第2のCYBBシグネチャーペプチドが非存在である場合に、X-CGDに対して効果的でなく；

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、SH2D1Aシグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、SH2D1Aシグネチャーペプチドの対応する濃度以下である、又はSH2D1Aシグネチャーペプチドが非存在である場合に、XLP1に対して効果的でなく；

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、第1のPRF-1シグネチャーペプチド及び／若しくは第2のPRF-1シグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、第1のPRF-1シグネチャーペプチド及び／若しくは第2のPRF-1シグネチャーペプチドの対応する濃度以下である、又は第1のPRF-1シグネチャーペプチド及び／若しくは第2のPRF-1シグネチャーペプチドが非存在である場合に、FHL2に対して効果的でなく；

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、第1のATMシグネチャーペプチド、第2のATMシグネチャーペプチド及び／若しくは第3のATMシグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、第1のATMシグネチャーペプチド、第2のATMシグネチャーペプチド及び／若しくは第3のATMシグネチャーペプチドの対応する

10

20

30

40

50

濃度以下である、又は第 1 の A T M シグネチャーペプチド、第 2 の A T M シグネチャーペプチド及び／若しくは第 3 の A T M シグネチャーペプチドが非存在である場合に、A T に対して効果的でなく；

1 つ以上の処置時若しくはこれらの後における、第 1 の C D 1 9 シグネチャーペプチド、第 2 の C D 1 9 シグネチャーペプチド及び／若しくは第 3 の C D 1 9 シグネチャーペプチドの濃度が、1 つ以上の処置の前における、第 1 の C D 1 9 シグネチャーペプチド、第 2 の C D 1 9 シグネチャーペプチド及び／若しくは第 3 の C D 1 9 シグネチャーペプチドの対応する濃度以下である、又は第 1 の C D 1 9 シグネチャーペプチド、第 2 の C D 1 9 シグネチャーペプチド及び／若しくは第 3 の C D 1 9 シグネチャーペプチドが非存在である場合に、C V I D に対して効果的でなく；

10

1 つ以上の処置時若しくはこれらの後における、第 1 の I L 2 R G シグネチャーペプチド、第 2 の I L 2 R G シグネチャーペプチド、C D 3 ϵ シグネチャーペプチド、第 1 の C D 3 δ シグネチャーペプチド及び／若しくは第 2 の C D 3 δ シグネチャーペプチドの濃度が、1 つ以上の処置の前における、第 1 の I L 2 R G シグネチャーペプチド、第 2 の I L 2 R G シグネチャーペプチド、C D 3 ϵ シグネチャーペプチド、第 1 の C D 3 δ シグネチャーペプチド及び／若しくは第 2 の C D 3 δ シグネチャーペプチドの対応する濃度以下である、又は第 1 の I L 2 R G シグネチャーペプチド、第 2 の I L 2 R G シグネチャーペプチド、C D 3 ϵ シグネチャーペプチド、第 1 の C D 3 δ シグネチャーペプチド及び／若しくは第 2 の C D 3 δ シグネチャーペプチドが非存在である場合に、S C I D に対して効果的でなく；

20

1 つ以上の処置時若しくはこれらの後における、A D A シグネチャーペプチドの濃度が、1 つ以上の処置の前における、A D A シグネチャーペプチドの濃度以下である、又は A D A シグネチャーペプチドが非存在である場合に、A D A 欠損症に対して効果的でなく；かつ／又は

1 つ以上の処置時若しくはこれらの後における、D O C K 8 シグネチャーペプチドの濃度が、1 つ以上の処置の前における、D O C K 8 シグネチャーペプチドの濃度以下である、又は D O C K 8 シグネチャーペプチドが非存在である場合に、D O C K 8 欠損症に対して効果的でなく

ことを決定するステップを含む方法。

30

【請求項 6 1】

1 つ以上の処置の前における、生物学的試料中の、

配列番号 1 3 の、第 1 の C D 4 2 シグネチャーペプチドを、第 1 の C D 4 2 シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 1 1 2 の C D R 1、配列番号 1 1 3 の C D R 2 及び配列番号 1 1 4 の C D R 3 を含む重鎖可変 (V H) ドメイン並びに配列番号 1 1 5 の C D R 1、配列番号 1 1 6 の C D R 2 及び配列番号 1 1 7 の C D R 3 を含む軽鎖可変 (V L) ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 1 4 の、第 2 の C D 4 2 シグネチャーペプチドを、第 2 の C D 4 2 シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 1 2 4 の C D R 1、配列番号 1 2 5 の C D R 2 及び配列番号 1 2 6 の C D R 3 を含む重鎖可変 (V H) ドメイン並びに配列番号 1 2 7 の C D R 1、配列番号 1 2 8 の C D R 2 及び配列番号 1 2 9 の C D R 3 を含む軽鎖可変 (V L) ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；かつ／又は

40

配列番号 1 5 の、C D 5 6 シグネチャーペプチドを、C D 5 6 シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 1 3 6 の C D R 1、配列番号 1 3 7 の C D R 2 及び配列番号 1 3 8 の C D R 3 を含む重鎖可変 (V H) ドメイン並びに配列番号 1 3 9 の C D R 1、配列番号 1 4 0 の C D R 2 及び配列番号 1 4 1 の C D R 3 を含む軽鎖可変 (V L) ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化することにより、対象における 1 つ以上の処置の有効性を決定するステップ；

富化された第 1 の C D 4 2 シグネチャーペプチド、第 2 の C D 4 2 シグネチャーペプチド及び／又は C D 5 6 シグネチャーペプチドに対して、液体クロマトグラフィーー多重反

50

応モニタリング質量分析（LC-MRM-MS）を実施して、1つ以上の処置の前の対象における各シグネチャーペプチドの濃度を決定するステップ；

1つ以上の処置時に又はこれらの後に、対象に由来する生物学的試料を得るステップ、これらを消化するステップ、これらを富化するステップ、及びこれらに対して実施するステップを反復するステップ；

並びに

1つ以上の処置が、

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、第1のCD42シグネチャーペプチド、第2のCD42シグネチャーペプチド及び／若しくはCD56シグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、対応する第1のCD42シグネチャーペプチド、第2のCD42シグネチャーペプチド及び／若しくはCD56シグネチャーペプチドの濃度より高い場合に

10

効果的であることを決定する、

又は

1つ以上の処置が、

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、第1のCD42シグネチャーペプチド、第2のCD42シグネチャーペプチド及び／若しくはCD56シグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、対応する第1のCD42シグネチャーペプチド、第2のCD42シグネチャーペプチド及び／若しくはCD56シグネチャーペプチドの濃度以下である、又は第1のCD42シグネチャーペプチド、第2のCD42シグネチャーペプチド及び／若しくはCD56シグネチャーペプチドが非存在である場合に

20

効果的でないことを決定するステップ

をさらに含む、請求項60に記載の方法。

【請求項62】

生物学的試料が、乾燥血液スポット（DBS）、口腔スワブ、末梢血単核細胞（PBMC）又は白血球（WBC）である、請求項60に記載の方法。

【請求項63】

対象における、X連鎖慢性肉芽腫症（XCGD）、X連鎖リンパ増殖性症候群1（XLP1）、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2（FHL2）、毛細血管拡張性運動失調症（AT）、分類不能型免疫不全症（CVID）、重症複合免疫不全症（SCID）、アデノシンデアミナーゼ（ADA）欠損症及び／又は細胞質分裂デディケーター8（DOCK8）欠損症のスクリーニングのためのアッセイであって、

30

（i）抗体又はその抗原結合性断片であって、

配列番号2の、XCGDについてのCYBBシグネチャーペプチドに結合する、配列番号16のCDR1、配列番号17のCDR2及び配列番号18のCDR3を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号19のCDR1、配列番号20のCDR2及び配列番号21のCDR3を含む軽鎖可変（VL）ドメイン；

配列番号3の、XLP1についてのSH2D1Aシグネチャーペプチドに結合する、配列番号160のCDR1、配列番号161のCDR2及び配列番号162のCDR3を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号163のCDR1、配列番号164のCDR2及び配列番号165のCDR3を含む軽鎖可変（VL）ドメイン；

40

配列番号5の、FHL2についてのPRF-1シグネチャーペプチドに結合する、配列番号34のCDR1、配列番号35のCDR2及び配列番号36のCDR3を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号37のCDR1、配列番号38のCDR2及び配列番号39のCDR3を含む軽鎖可変（VL）ドメイン；

配列番号7の、毛細血管拡張性運動失調症についてのATMシグネチャーペプチドに結合する、配列番号52のCDR1、配列番号53のCDR2及び配列番号54のCDR3を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号55のCDR1、配列番号56のCDR2及び配列番号67のCDR3を含む軽鎖可変（VL）ドメイン；

配列番号11の、ADA欠損症についてのADAシグネチャーペプチドに結合する、

50

配列番号 82 の C D R 1、配列番号 83 の C D R 2 及び配列番号 84 の C D R 3 を含む重鎖可変 (V H) ドメイン並びに配列番号 85 の C D R 1、配列番号 86 の C D R 2 及び配列番号 87 の C D R 3 を含む軽鎖可変 (V L) ドメイン；並びに／又は

配列番号 12 の、D O C K 8 欠損症についての D O C K 8 シグネチャーペプチドに結合する、配列番号 100 の C D R 1、配列番号 101 の C D R 2 及び配列番号 102 の C D R 3 を含む重鎖可変 (V H) ドメイン並びに配列番号 103 の C D R 1、配列番号 104 の C D R 2 及び配列番号 105 の C D R 3 を含む軽鎖可変 (V L) ドメイン

を含む抗体又はその抗原結合性断片；

並びに／又は

(i i) 配列番号 1 の、X - C G D についての C Y B B シグネチャーペプチドに結合する抗体若しくはその抗原結合性断片；

配列番号 6 の、F H L 2 についての P R F - 1 シグネチャーペプチドに結合する抗体若しくはその抗原結合性断片；

配列番号 210 の、A T についての A T M シグネチャーペプチドに結合する抗体若しくはその抗原結合性断片；

配列番号 211 の、A T についての A T M シグネチャーペプチドに結合する抗体若しくはその抗原結合性断片；

配列番号 9 の、C V I D についての C D 19 シグネチャーペプチドに結合する抗体若しくはその抗原結合性断片；

配列番号 10 の、C V I D についての C D 19 シグネチャーペプチドに結合する抗体若しくはその抗原結合性断片；

配列番号 212 の、C V I D についての C D 19 シグネチャーペプチドに結合する抗体若しくはその抗原結合性断片；

配列番号 213 の、S C I D についての I L 2 R G シグネチャーペプチドに結合する抗体若しくはその抗原結合性断片；

配列番号 214 の、S C I D についての I L 2 R G シグネチャーペプチドに結合する抗体若しくはその抗原結合性断片；

配列番号 215 の、S C I D についての C D 3 ε シグネチャーペプチドに結合する抗体若しくはその抗原結合性断片；

配列番号 216 の、S C I D についての C D 3 δ シグネチャーペプチドに結合する抗体若しくはその抗原結合性断片；及び／又は

配列番号 217 の、S C I D についての C D 3 δ シグネチャーペプチドに結合する抗体若しくはその抗原結合性断片；

並びに／又は

(i i i) 参照シグネチャーペプチドであって、

配列番号 1 の、X - C G D についての C Y B B シグネチャーペプチド；

配列番号 2 の、X - C G D についての C Y B B シグネチャーペプチド；

配列番号 3 の、X L P 1 についての S H 2 D 1 A シグネチャーペプチド；

配列番号 5 の、F H L 2 についての P R F - 1 シグネチャーペプチド；

配列番号 6 の、F H L 2 についての P R F - 1 シグネチャーペプチド；

配列番号 210 の、毛細血管拡張性運動失調症についての A T M シグネチャーペプチド；

配列番号 211 の、毛細血管拡張性運動失調症についての A T M シグネチャーペプチド；

配列番号 7 の、毛細血管拡張性運動失調症についての A T M シグネチャーペプチド；

配列番号 9 の、C V I D についての C D 19 シグネチャーペプチド；

配列番号 10 の、C V I D についての C D 19 シグネチャーペプチド；

配列番号 212 の、C V I D についての C D 19 シグネチャーペプチド；

配列番号 213 の、S C I D についての I L 2 R G シグネチャーペプチド；

配列番号 214 の、S C I D についての I L 2 R G シグネチャーペプチド；

10

20

30

40

50

配列番号 215 の、SCID についての CD3ε シグネチャーペプチド；

配列番号 216 の、SCID についての CD3δ シグネチャーペプチド；

配列番号 217 の、SCID についての CD3δ シグネチャーペプチド；

配列番号 11 の、ADA 欠損症についての ADA シグネチャーペプチド；及び／又は

配列番号 12 の、DOCK8 欠損症についての DOCK8 シグネチャーペプチド

を含む参照シグネチャーペプチド

を含むアッセイ。

【請求項 64】

(iv) 抗体又はその抗原結合性断片であって、

配列番号 13 の、CD42 シグネチャーペプチドに結合する、配列番号 112 の CDR1、配列番号 113 の CDR2 及び配列番号 114 の CDR3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 115 の CDR1、配列番号 116 の CDR2 及び配列番号 117 の CDR3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメイン；

配列番号 14 の、CD42 シグネチャーペプチドに結合する、配列番号 124 の CDR1、配列番号 125 の CDR2 及び配列番号 126 の CDR3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 127 の CDR1、配列番号 128 の CDR2 及び配列番号 129 の CDR3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメイン；並びに／又は

配列番号 15 の、CD56 シグネチャーペプチドに結合する、配列番号 136 の CDR1、配列番号 137 の CDR2 及び配列番号 138 の CDR3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 139 の CDR1、配列番号 140 の CDR2 及び配列番号 141 の CDR3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメイン

を含む抗体又はその抗原結合性断片；

並びに／又は

(v) 参照シグネチャーペプチドであって、

配列番号 13 の、CD42 シグネチャーペプチド；

配列番号 14 の、CD42 シグネチャーペプチド；及び／又は

配列番号 15 の、CD56 シグネチャーペプチド

を含む参照シグネチャーペプチド

をさらに含む、請求項 63 に記載のアッセイ。

【請求項 65】

参照シグネチャーペプチドが、同位体標識化されている、請求項 63 に記載のアッセイ。

【請求項 66】

参照シグネチャーペプチドが、同位体標識化されている、請求項 64 に記載のアッセイ。

【請求項 67】

抗体又はその抗原結合性断片が、磁気ビーズに付着している、請求項 63 に記載のアッセイ。

【請求項 68】

抗体又はその抗原結合性断片が、磁気ビーズに付着している、請求項 64 に記載のアッセイ。

【請求項 69】

配列番号 16 の CDR1、配列番号 17 の CDR2 及び配列番号 18 の CDR3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 19 の CDR1、配列番号 20 の CDR2 及び配列番号 21 の CDR3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメインを含む、組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【請求項 70】

VH ドメインが、配列番号 27 に明示され、かつ／又は重鎖が、配列番号 24 に明示され；

VL ドメインが、配列番号 33 に明示され、かつ／又は軽鎖が、配列番号 30 に明示さ

10

20

30

40

50

れている、

請求項 69 に記載の組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【請求項 71】

配列番号 160 の CDR1、配列番号 161 の CDR2 及び配列番号 162 の CDR3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 163 の CDR1、配列番号 164 の CDR2 及び配列番号 165 の CDR3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメインを含む、組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【請求項 72】

VH ドメインが、配列番号 173 に明示され、かつ／又は重鎖が、配列番号 169 に明示され；

VL ドメインが、配列番号 181 に明示され、かつ／又は軽鎖が、配列番号 177 に明示されている、

請求項 71 に記載の組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【請求項 73】

配列番号 34 の CDR1、配列番号 35 の CDR2 及び配列番号 36 の CDR3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 37 の CDR1、配列番号 38 の CDR2 及び配列番号 39 の CDR3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメインを含む、組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【請求項 74】

VH ドメインが、配列番号 45 に明示され、かつ／又は重鎖が、配列番号 42 に明示され；

VL ドメインが、配列番号 51 に明示され、かつ／又は軽鎖が、配列番号 48 に明示されている、

請求項 73 に記載の組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【請求項 75】

配列番号 52 の CDR1、配列番号 53 の CDR2 及び配列番号 54 の CDR3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 55 の CDR1、配列番号 56 の CDR2 及び配列番号 57 の CDR3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメインを含む、組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【請求項 76】

VH ドメインが、配列番号 63 に明示され、かつ／又は重鎖が、配列番号 60 に明示され；

VL ドメインが、配列番号 69 に明示され、かつ／又は軽鎖が、配列番号 66 に明示されている、

請求項 75 に記載の組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【請求項 77】

配列番号 82 の CDR1、配列番号 83 の CDR2 及び配列番号 84 の CDR3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 85 の CDR1、配列番号 86 の CDR2 及び配列番号 87 の CDR3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメインを含む、組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【請求項 78】

VH ドメインが、配列番号 93 に明示され、かつ／又は重鎖が、配列番号 90 に明示され；

VL ドメインが、配列番号 99 に明示され、かつ／又は軽鎖が、配列番号 96 に明示されている、

請求項 77 に記載の組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【請求項 79】

配列番号 100 の CDR1、配列番号 101 の CDR2 及び配列番号 102 の CDR3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 103 の CDR1、配列番号 104 の CDR2 及び配列番号 105 の CDR3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメインを含む、組換え抗

10

20

30

40

50

体又はその抗原結合性断片。

【請求項 8 0】

VHドメインが、配列番号 1 0 8 に明示され、VLドメインが、配列番号 1 1 1 に明示されている、請求項 7 9 に記載の組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【請求項 8 1】

配列番号 1 1 2 の C D R 1、配列番号 1 1 3 の C D R 2 及び配列番号 1 1 4 の C D R 3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 1 1 5 の C D R 1、配列番号 1 1 6 の C D R 2 及び配列番号 1 1 7 の C D R 3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメインを含む、組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【請求項 8 2】

VHドメインが、配列番号 1 2 0 に明示され、VLドメインが、配列番号 1 2 3 に明示されている、請求項 8 1 に記載の組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【請求項 8 3】

配列番号 1 2 4 の C D R 1、配列番号 1 2 5 の C D R 2 及び配列番号 1 2 6 の C D R 3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 1 2 7 の C D R 1、配列番号 1 2 8 の C D R 2 及び配列番号 1 2 9 の C D R 3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメインを含む、組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【請求項 8 4】

VHドメインが、配列番号 1 3 2 に明示され、VLドメインが、配列番号 1 3 5 に明示されている、請求項 8 3 に記載の組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【請求項 8 5】

配列番号 1 3 6 の C D R 1、配列番号 1 3 7 の C D R 2 及び配列番号 1 3 8 の C D R 3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 1 3 9 の C D R 1、配列番号 1 4 0 の C D R 2 及び配列番号 1 4 1 の C D R 3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメインを含む、組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【請求項 8 6】

VHドメインが、配列番号 1 4 7 に明示され、かつ／又は重鎖が、配列番号 1 4 4 に明示され；

VLドメインが、配列番号 1 5 3 に明示され、かつ／又は軽鎖が、配列番号 1 5 0 に明示されている、

請求項 8 5 に記載の組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【請求項 8 7】

(i) 抗体又はその抗原結合性断片であって、

配列番号 2 の、X-CGD についての CYBB シグネチャーペプチドに結合する、配列番号 1 6 の C D R 1、配列番号 1 7 の C D R 2 及び配列番号 1 8 の C D R 3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 1 9 の C D R 1、配列番号 2 0 の C D R 2 及び配列番号 2 1 の C D R 3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメイン；

配列番号 3 の、XLP1 についての SH2D1A シグネチャーペプチドに結合する、配列番号 1 6 0 の C D R 1、配列番号 1 6 1 の C D R 2 及び配列番号 1 6 2 の C D R 3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 1 6 3 の C D R 1、配列番号 1 6 4 の C D R 2 及び配列番号 1 6 5 の C D R 3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメイン；

配列番号 5 の、FHL2 についての PRF-1 シグネチャーペプチドに結合する、配列番号 3 4 の C D R 1、配列番号 3 5 の C D R 2 及び配列番号 3 6 の C D R 3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 3 7 の C D R 1、配列番号 3 8 の C D R 2 及び配列番号 3 9 の C D R 3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメイン；

配列番号 7 の、毛細血管拡張性運動失調症についての ATM シグネチャーペプチドに結合する、配列番号 5 2 の C D R 1、配列番号 5 3 の C D R 2 及び配列番号 5 4 の C D R 3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 5 5 の C D R 1、配列番号 5 6 の C D R 2 及び配列番号 6 7 の C D R 3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメイン；

配列番号 1 1 の、ADA 欠損症についての ADA シグネチャーペプチドに結合する、

10

20

30

40

50

配列番号 82 の CDR1、配列番号 83 の CDR2 及び配列番号 84 の CDR3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 85 の CDR1、配列番号 86 の CDR2 及び配列番号 87 の CDR3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメイン；

配列番号 12 の、DOCK8 欠損症についての DOCK8 シグネチャーペプチドに結合する、配列番号 100 の CDR1、配列番号 101 の CDR2 及び配列番号 102 の CDR3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 103 の CDR1、配列番号 104 の CDR2 及び配列番号 105 の CDR3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメイン；

配列番号 13 の、CD42 シグネチャーペプチドに結合する、配列番号 112 の CDR1、配列番号 113 の CDR2 及び配列番号 114 の CDR3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 115 の CDR1、配列番号 116 の CDR2 及び配列番号 117 の CDR3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメイン；

配列番号 14 の、CD42 シグネチャーペプチドに結合する、配列番号 124 の CDR1、配列番号 125 の CDR2 及び配列番号 126 の CDR3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 127 の CDR1、配列番号 128 の CDR2 及び配列番号 129 の CDR3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメイン；並びに／又は

配列番号 15 の、CD56 シグネチャーペプチドに結合する、配列番号 136 の CDR1、配列番号 137 の CDR2 及び配列番号 138 の CDR3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 139 の CDR1、配列番号 140 の CDR2 及び配列番号 141 の CDR3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメイン

を含む抗体又はその抗原結合性断片；

並びに／又は

(ii) 配列番号 1 の、X-CGD についての CYBB シグネチャーペプチドに結合する抗体又はその抗原結合性断片；

配列番号 6 の、FHL2 についての PRF-1 シグネチャーペプチドに結合する抗体又はその抗原結合性断片；

配列番号 210 の、AT についての ATM シグネチャーペプチドに結合する抗体又はその抗原結合性断片；

配列番号 211 の、AT についての ATM シグネチャーペプチドに結合する抗体又はその抗原結合性断片；

配列番号 9 の、CVID についての CD19 シグネチャーペプチドに結合する抗体又はその抗原結合性断片；

配列番号 10 の、CVID についての CD19 シグネチャーペプチドに結合する抗体又はその抗原結合性断片；

配列番号 212 の、CVID についての CD19 シグネチャーペプチドに結合する抗体又はその抗原結合性断片；

配列番号 213 の、SCID についての IL2RG シグネチャーペプチドに結合する抗体又はその抗原結合性断片；

配列番号 214 の、SCID についての IL2RG シグネチャーペプチドに結合する抗体又はその抗原結合性断片；

配列番号 215 の、SCID についての CD3 ϵ シグネチャーペプチドに結合する抗体又はその抗原結合性断片；

配列番号 216 の、SCID についての CD3 δ シグネチャーペプチドに結合する抗体又はその抗原結合性断片；及び／又は

配列番号 217 の、SCID についての CD3 δ シグネチャーペプチドに結合する抗体又はその抗原結合性断片；

並びに／又は

(iii) 参照シグネチャーペプチドであって、

配列番号 1 の、X-CGD についての CYBB シグネチャーペプチド；

配列番号 2 の、X-CGD についての CYBB シグネチャーペプチド；

配列番号 3 の、XLP1 についての SH2D1A シグネチャーペプチド；

配列番号 5 の、FHL 2 についての PRF-1 シグネチャーペプチド；

配列番号 6 の、FHL 2 についての PRF-1 シグネチャーペプチド；

配列番号 210 の、毛細血管拡張性運動失調症についての ATM シグネチャーペプチド；

配列番号 211 の、毛細血管拡張性運動失調症についての ATM シグネチャーペプチド；

配列番号 7 の、毛細血管拡張性運動失調症についての ATM シグネチャーペプチド；

配列番号 9 の、CVID についての CD19 シグネチャーペプチド；

配列番号 10 の、CVID についての CD19 シグネチャーペプチド；

配列番号 212 の、CVID についての CD19 シグネチャーペプチド；

10

配列番号 213 の、SCID についての IL2RG シグネチャーペプチド；

配列番号 214 の、SCID についての IL2RG シグネチャーペプチド；

配列番号 215 の、SCID についての CD3ε シグネチャーペプチド；

配列番号 216 の、SCID についての CD3δ シグネチャーペプチド；

配列番号 217 の、SCID についての CD3δ シグネチャーペプチド；

配列番号 11 の、ADA 欠損症についての ADA シグネチャーペプチド；

配列番号 12 の、DOCK8 欠損症についての DOCK8 シグネチャーペプチド；

配列番号 13 の、CD42 シグネチャーペプチド；

配列番号 14 の、CD42 シグネチャーペプチド；及び／又は

配列番号 15 の、CD56 シグネチャーペプチド

20

を含む参照シグネチャーペプチド

を含むキット。

【請求項 88】

濾紙カード；パンチツール；口腔スワブ；クライオジェニックバイアル；血液回収チューブ；消化酵素；消化緩衝液；抗体又はその抗原結合性断片のための固体支持体及び溶離緩衝液のうちの 1 つ以上をさらに含む、請求項 87 に記載のキット。

【請求項 89】

参照シグネチャーペプチドが、同位体標識化されている、請求項 87 に記載のキット。

【請求項 90】

抗体又はその抗原結合性断片が、磁気ビーズに付着している、請求項 87 に記載のキット。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、本明細書において完全に明示されたかのように、その全体において参照により本明細書に組み込まれる、2020 年 3 月 3 日に提出された、米国仮特許出願第 62/984,744 号に対する優先権を主張する。

【0002】

連邦政府の後援を受けた調査研究又は開発に関する言明

本出願は、米国国立衛生研究所により与えられる助成金第 HD098180 号及び同第 AI123135 号の下にある政府助成によりなされた。米国連邦政府は、本発明において、一定の権利を有する。

40

【0003】

配列表に関する言明

本出願と関連する配列表は、紙原稿ではなく、テキストフォーマットで提供され、本明細書への参照により本明細書に組み込まれる。配列表を含有するテキストファイルの名称は、2G85039__ST25.txt である。テキストファイルは、201KB であり、2021 年 3 月 2 日に作成され、EFS-Web を介して、電子的に提出されている。

【0004】

本開示は、原発性免疫不全症障害（PID）についての臨床診断及び新生児スクリー

50

ニングを提供する。PIDDは、X連鎖慢性肉芽腫症（X-CGD）、X連鎖リンパ増殖性症候群（XLP1；SH2D1A欠損症）、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2（FHL2）、毛細血管拡張性運動失調症（AT）、分類不能型免疫不全症（CVID；B細胞機能不全）、重症複合免疫不全症（SCID）、アデノシンデアミナーゼ（ADA）欠損症及び細胞質分裂デディケーター8（DOCK8）欠損症を含む。開示されているアッセイは、他の供給源及び時点のうち、出生時に、既に定期的に回収されている乾燥血液スポットから、これらの障害を検出する。加えて、血小板（CD42）、ナチュラルキラー（NK）細胞（CD56）及びT細胞（CD3イプシロン及びCD3デルタ）についての細胞特異的マーカーは、疾患の診断についての裏付けを与える二次マーカーとして使用される。これらの障害の早期検出は、これらは各々症状が現れると致死性でありうる

10

【背景技術】

【0005】

効果的な処置が利用可能な疾患は、多数にのぼる。しかし、これらの多数の疾患について、症状が現れると、疾患は、既に致死性である、又は不可逆的損傷をもたらしている。このような疾患の例は、原発性免疫不全症障害（PIDD）を含む。

【0006】

先天性免疫異常（IEI）ともまた称される、原発性免疫不全症障害（PIDD）は、免疫系の構成要素が、逸失している、又は不適正に機能する、416を超える、希少な遺伝障害の群である。PIDDの例は、X連鎖慢性肉芽腫症（X-CGD）、X連鎖リンパ増殖性症候群（XLP1；SH2D1A欠損症）、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2（FHL2）、毛細血管拡張性運動失調症、分類不能型免疫不全症（CVID；B細胞機能不全）、重症複合免疫不全症（SCID）、アデノシンデアミナーゼ（ADA）欠損症、細胞質分裂デディケーター8（DOCK8）欠損症を含む。PIDDの早期検出は、潜在的に致死性の感染症及び慢性後遺症の制御及び防止において極めて重要である。

20

【0007】

PIDDの処置は、臨床症状が現れる前の診断が可能であれば、著明に増強される。新生児スクリーニング（NBS）は、米国において毎年出生する400万人の乳児に対して義務づけられた、標準的な公的予防スクリーニング検査である。NBSは、通例、出生の24～48時間後に実施される血液検査を伴う。スクリーニングは、濾紙上に被着させた新生児のかかとの血液のうちの数滴を使用する。乾燥血液スポット（DBS）を含有する濾紙は、検査が行われるまで保管される。

30

【0008】

NBS評価を行うために、乾燥血液のパンチは、DBSから採取され、出生には明らかでないが、後の生涯において深刻な健康問題を引き起こす障害を指し示す、血液中の特異物質（マーカー又はバイオマーカーと呼ばれる）の存在又は非存在を検出するように、検査室検査が実施される。スクリーニングされる障害は、州により変動するが、大半の州は、フェニルケトン尿症、原発性先天性甲状腺機能低下症、嚢胞性線維症及び鎌状赤血球症についてスクリーニングする。NBSは、患者の転帰を改善し、罹患個体における、長期にわたる身体障害を回避する一方、同時に、医療費も低減するのに、極めて効果的である

40

【0009】

SCIDは、近年、NBSパネルへと追加されている。残念ながら、他の致死性であるが、処置可能な「非SCID」免疫不全症の大半について、現在のところ、広範にわたり費用効果的なスクリーニング法は利用可能でない。

【0010】

有益であっても、多くの障害がスクリーニングされない1つの理由は、検査室検査に、障害と関連するマーカーを、信頼できる形で測定することができなかったことである。この不可能性の1つの理由は、障害が、極めて低濃度である、又は標的障害に特異的でないマーカーと関連することである。この状況において、マーカーのレベルと、患者の状態と

50

の相関を、信頼できる形で確立することは困難である。

【0011】

選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化 (immuno-SRM) は、低存在度のマーカーの正確な定量を可能とする方法である。immuno-SRMの利用は、一般に、以下のステップ：(i) 障害の存在又は非存在を指し示す標的タンパク質を選択するステップ；(ii) 存在する場合、標的タンパク質を含む生物学的試料の、生物学的試料中の全てのタンパク質を、ペプチドと呼ばれる、小型の断片へと消化する酵素により処理するステップ；(iii) 標的タンパク質に由来する、選択されたペプチドマーカーを富化するステップ並びに(iv) 質量分析計により、富化された目的のペプチドを解析及び定量するステップを伴う。

10

【0012】

近年、Jungら (J. Proteome Res.、2017、16:862~871) は、DBSに由来する、ウィルソン病と関連するタンパク質マーカーである、ATP7Bを定量する、immuno-SRMの使用について記載した。これは、immuno-SRMが、低存在度のマーカーを、保管されたDBSから、信頼できる形で検出するのに使用されうることについての最初の実証であり、広範な障害パネルについてスクリーニングする手法を使用する可能性を開いた。

【0013】

immuno-SRM (PCT/US2019/054856) により、SCID、WAS、XLA、シスチン症及びWDを診断するための、シグネチャーペプチドマーカー及びそれらに結合する抗体が開発されている。

20

【先行技術文献】

【特許文献】

【0014】

【特許文献1】 国際特許出願番号第US2019/054856号明細書

【非特許文献】

【0015】

【非特許文献1】 Jungら、J. Proteome Res.、2017、16:862~871

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0016】

しかし、このようなアッセイの多くの態様は、診断される障害、各障害について入手可能なバイオマーカー、目的のペプチドを富化する分子の実体を開発する可能性及び質量分析計内の、各目的のペプチドの挙動に依存する。これらの態様及びさらなる態様の全ては、障害を、信頼できる形で検出しうるアッセイを達成するように、注意深い検討及び実験を要求する。特定の実施形態において、障害の診断は、臨床症状が現れる前に、DBSを使用するNBSパネルにより行われる。

【課題を解決するための手段】

【0017】

(発明の要旨)

本開示は、対象 (例えば、新生児) を、X連鎖慢性肉芽腫症 (X-CGD)、X連鎖リンパ増殖性症候群 (XLP1; SH2D1A欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2 (FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症 (AT)、分類不能型免疫不全症 (CVID; B細胞機能不全)、重症複合免疫不全症 (SCID)、アデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損症及び細胞質分裂デディケーター8 (DOCK8) 欠損症についてスクリーニングするのに使用されうる、マルチプレックスアッセイの開発について記載する。特定の実施形態において、方法は、X連鎖SCID又はIL2RG欠損SCIDを有する個体を同定するステップを含む。アッセイは、重大であり、しばしば致死性である臨床症状が現れる前に、これらの障害を、信頼できる形で診断することにより、罹患個体についての

30

40

50

転帰を、著明に改善しうる。特定の実施形態において、血小板（CD42）、ナチュラルキラー（NK）細胞（CD56）及びT細胞（CD3イプシロン（CD3ε）及びCD3デルタ（CD3δ））についての細胞特異的マーカーは、疾患の診断についての裏付けを与える二次マーカーとして使用されうる。特定の実施形態において、CD3ε及びCD3δは、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用されうる。アッセイは、既存の新生児スクリーニング（NBS）手順の一部として、既に定期的に回収されている乾燥血液スポット（DBS）を使用して、これらの障害と関連するマーカーの存在又は非存在を検出しうる。特定の実施形態において、対象から得られた、口腔スワブ試料、末梢血単核細胞（PBMC）試料又は白血球（WBC）試料は、アッセイにおいて使用される。

【0018】

本開示は、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化（immunoprecipitation）を使用して、信頼できる形で検出及び定量されうる、障害の各々と関連するペプチドについて記載する。本開示はまた、ペプチドを富化するのに使用されうる、高親和性抗体も提供する。

【0019】

本明細書において提出される図面の一部は、カラーにおいてよりよく理解されうる。出願人は、カラー版の図面を、元の提出の一部と考え、後の手続きにおいて、図面の本カラー画像に対する権利を保持する。

【図面の簡単な説明】

【0020】

【図1-1】X連鎖慢性肉芽腫症（XCGD）、X連鎖リンパ増殖性症候群（XLP1；SH2D1A欠損症）、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2（FHL2）、毛細血管拡張性運動失調症（AT）、分類不能型免疫不全症（CVID；B細胞機能不全）、重症複合免疫不全症（SCID）、アデノシンデアミナーゼ（ADA）欠損症、細胞質分裂デフェクター8（DOCK8）欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化（immunoprecipitation）（immunoprecipitation-mass spectrometry）のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板（CD42）、ナチュラルキラー（NK）細胞（CD56）及びT細胞（CD3イプシロン（CD3ε）及びCD3デルタ（CD3δ））についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε及びCD3δは、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用されうる。総質量、親イオン質量、娘y-イオン質量及び娘b-イオン質量もまた示される。

【図1-2】X連鎖慢性肉芽腫症（XCGD）、X連鎖リンパ増殖性症候群（XLP1；SH2D1A欠損症）、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2（FHL2）、毛細血管拡張性運動失調症（AT）、分類不能型免疫不全症（CVID；B細胞機能不全）、重症複合免疫不全症（SCID）、アデノシンデアミナーゼ（ADA）欠損症、細胞質分裂デフェクター8（DOCK8）欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化（immunoprecipitation）（immunoprecipitation-mass spectrometry）のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板（CD42）、ナチュラルキラー（NK）細胞（CD56）及びT細胞（CD3イプシロン（CD3ε）及びCD3デルタ（CD3δ））についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε及びCD3δは、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用されうる。総質量、親イオン質量、娘y-イオン質量及び娘b-イオン質量もまた示される。

【図1-3】X連鎖慢性肉芽腫症（XCGD）、X連鎖リンパ増殖性症候群（XLP1；SH2D1A欠損症）、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2（FHL2）、毛細血管拡張性運動失調症（AT）、分類不能型免疫不全症（CVID；B細胞機能不全）、重症複合免疫不全症（SCID）、アデノシンデアミナーゼ（ADA）欠損症、細胞質分裂デフェクター8（DOCK8）欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化（immunoprecipitation）（immunoprecipitation-mass spectrometry）のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板（CD42）、ナチュラルキラー（NK）細胞（CD56）及びT細胞（CD3イプシロン（CD3ε）及びCD

10

20

30

40

50

3デルタ (CD3 δ) についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3 ϵ 及びCD3 δ は、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘y-イオン質量及び娘b-イオン質量もまた示される。

【図1-4】X連鎖慢性肉芽腫症 (X-CGD)、X連鎖リンパ増殖性症候群 (XLP1; SH2D1A欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2 (FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症 (AT)、分類不能型免疫不全症 (CVID; B細胞機能不全)、重症複合免疫不全症 (SCID)、アデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損症、細胞質分裂ディケーター8 (DOCK8) 欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化 (immuno-SRM) (immuno-SRM-MS) のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板 (CD42)、ナチュラルキラー (NK) 細胞 (CD56) 及びT細胞 (CD3イプシロン (CD3 ϵ) 及びCD3デルタ (CD3 δ)) についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3 ϵ 及びCD3 δ は、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘y-イオン質量及び娘b-イオン質量もまた示される。

【図1-5】X連鎖慢性肉芽腫症 (X-CGD)、X連鎖リンパ増殖性症候群 (XLP1; SH2D1A欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2 (FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症 (AT)、分類不能型免疫不全症 (CVID; B細胞機能不全)、重症複合免疫不全症 (SCID)、アデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損症、細胞質分裂ディケーター8 (DOCK8) 欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化 (immuno-SRM) (immuno-SRM-MS) のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板 (CD42)、ナチュラルキラー (NK) 細胞 (CD56) 及びT細胞 (CD3イプシロン (CD3 ϵ) 及びCD3デルタ (CD3 δ)) についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3 ϵ 及びCD3 δ は、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘y-イオン質量及び娘b-イオン質量もまた示される。

【図1-6】X連鎖慢性肉芽腫症 (X-CGD)、X連鎖リンパ増殖性症候群 (XLP1; SH2D1A欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2 (FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症 (AT)、分類不能型免疫不全症 (CVID; B細胞機能不全)、重症複合免疫不全症 (SCID)、アデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損症、細胞質分裂ディケーター8 (DOCK8) 欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化 (immuno-SRM) (immuno-SRM-MS) のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板 (CD42)、ナチュラルキラー (NK) 細胞 (CD56) 及びT細胞 (CD3イプシロン (CD3 ϵ) 及びCD3デルタ (CD3 δ)) についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3 ϵ 及びCD3 δ は、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘y-イオン質量及び娘b-イオン質量もまた示される。

【図1-7】X連鎖慢性肉芽腫症 (X-CGD)、X連鎖リンパ増殖性症候群 (XLP1; SH2D1A欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2 (FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症 (AT)、分類不能型免疫不全症 (CVID; B細胞機能不全)、重症複合免疫不全症 (SCID)、アデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損症、細胞質分裂ディケーター8 (DOCK8) 欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化 (immuno-SRM) (immuno-SRM-MS) のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板 (CD42)、ナチュラルキラー (NK) 細胞 (CD56) 及びT細胞 (CD3イプシロン (CD3 ϵ) 及びCD3デルタ (CD3 δ)) についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3 ϵ 及びCD3 δ は、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘y-イオン質量及び娘b-イオン質量もまた示される。

【図1-8】X連鎖慢性肉芽腫症 (X-CGD)、X連鎖リンパ増殖性症候群 (XLP1; SH2D1A欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2 (FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症 (AT)、分類不能型免疫不全症 (CVID; B細胞機能不全)、重

10

20

30

40

50

症複合免疫不全症（SCID）、アデノシンデアミナーゼ（ADA）欠損症、細胞質分裂デディケーター8（DOCK8）欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化（immuno-SRM）（immuno-SRM-MS）のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板（CD42）、ナチュラルキラー（NK）細胞（CD56）及びT細胞（CD3イプシロン（CD3ε）及びCD3デルタ（CD3δ））についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε及びCD3δは、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘y-イオン質量及び娘b-イオン質量もまた示される。

【図1-9】X連鎖慢性肉芽腫症（X-CGD）、X連鎖リンパ増殖性症候群（XLP1；SH2D1A欠損症）、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2（FHL2）、毛細血管拡張性運動失調症（AT）、分類不能型免疫不全症（CVID；B細胞機能不全）、重症複合免疫不全症（SCID）、アデノシンデアミナーゼ（ADA）欠損症、細胞質分裂デディケーター8（DOCK8）欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化（immuno-SRM）（immuno-SRM-MS）のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板（CD42）、ナチュラルキラー（NK）細胞（CD56）及びT細胞（CD3イプシロン（CD3ε）及びCD3デルタ（CD3δ））についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε及びCD3δは、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘y-イオン質量及び娘b-イオン質量もまた示される。

【図1-10】X連鎖慢性肉芽腫症（X-CGD）、X連鎖リンパ増殖性症候群（XLP1；SH2D1A欠損症）、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2（FHL2）、毛細血管拡張性運動失調症（AT）、分類不能型免疫不全症（CVID；B細胞機能不全）、重症複合免疫不全症（SCID）、アデノシンデアミナーゼ（ADA）欠損症、細胞質分裂デディケーター8（DOCK8）欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化（immuno-SRM）（immuno-SRM-MS）のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板（CD42）、ナチュラルキラー（NK）細胞（CD56）及びT細胞（CD3イプシロン（CD3ε）及びCD3デルタ（CD3δ））についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε及びCD3δは、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘y-イオン質量及び娘b-イオン質量もまた示される。

【図1-11】X連鎖慢性肉芽腫症（X-CGD）、X連鎖リンパ増殖性症候群（XLP1；SH2D1A欠損症）、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2（FHL2）、毛細血管拡張性運動失調症（AT）、分類不能型免疫不全症（CVID；B細胞機能不全）、重症複合免疫不全症（SCID）、アデノシンデアミナーゼ（ADA）欠損症、細胞質分裂デディケーター8（DOCK8）欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化（immuno-SRM）（immuno-SRM-MS）のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板（CD42）、ナチュラルキラー（NK）細胞（CD56）及びT細胞（CD3イプシロン（CD3ε）及びCD3デルタ（CD3δ））についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε及びCD3δは、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘y-イオン質量及び娘b-イオン質量もまた示される。

【図1-12】X連鎖慢性肉芽腫症（X-CGD）、X連鎖リンパ増殖性症候群（XLP1；SH2D1A欠損症）、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2（FHL2）、毛細血管拡張性運動失調症（AT）、分類不能型免疫不全症（CVID；B細胞機能不全）、重症複合免疫不全症（SCID）、アデノシンデアミナーゼ（ADA）欠損症、細胞質分裂デディケーター8（DOCK8）欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化（immuno-SRM）（immuno-SRM-MS）のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板（CD42）、ナチュラルキラー（NK）細胞（CD56）及びT細胞（CD3イプシロン（CD3ε）及びCD3デルタ（CD3δ））についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態にお

10

20

30

40

50

いて、CD3ε及びCD3δは、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘y-イオン質量及び娘b-イオン質量もまた示される。

【図1-13】X連鎖慢性肉芽腫症(X-CGD)、X連鎖リンパ増殖性症候群(XLP1; SH2D1A欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2(FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症(AT)、分類不能型免疫不全症(CVID; B細胞機能不全)、重症複合免疫不全症(SCID)、アデノシンデアミナーゼ(ADA)欠損症、細胞質分裂デドicator-8(DOCK8)欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化(immuno-SRM)(immuno-SRM-MS)のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板(CD42)、ナチュラルキラー(NK)細胞(CD56)及びT細胞(CD3イプシロン(CD3ε)及びCD3デルタ(CD3δ))についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε及びCD3δは、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘y-イオン質量及び娘b-イオン質量もまた示される。

10

【図1-14】X連鎖慢性肉芽腫症(X-CGD)、X連鎖リンパ増殖性症候群(XLP1; SH2D1A欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2(FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症(AT)、分類不能型免疫不全症(CVID; B細胞機能不全)、重症複合免疫不全症(SCID)、アデノシンデアミナーゼ(ADA)欠損症、細胞質分裂デドicator-8(DOCK8)欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化(immuno-SRM)(immuno-SRM-MS)のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板(CD42)、ナチュラルキラー(NK)細胞(CD56)及びT細胞(CD3イプシロン(CD3ε)及びCD3デルタ(CD3δ))についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε及びCD3δは、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘y-イオン質量及び娘b-イオン質量もまた示される。

20

【図1-15】X連鎖慢性肉芽腫症(X-CGD)、X連鎖リンパ増殖性症候群(XLP1; SH2D1A欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2(FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症(AT)、分類不能型免疫不全症(CVID; B細胞機能不全)、重症複合免疫不全症(SCID)、アデノシンデアミナーゼ(ADA)欠損症、細胞質分裂デドicator-8(DOCK8)欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化(immuno-SRM)(immuno-SRM-MS)のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板(CD42)、ナチュラルキラー(NK)細胞(CD56)及びT細胞(CD3イプシロン(CD3ε)及びCD3デルタ(CD3δ))についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε及びCD3δは、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘y-イオン質量及び娘b-イオン質量もまた示される。

30

【図1-16】X連鎖慢性肉芽腫症(X-CGD)、X連鎖リンパ増殖性症候群(XLP1; SH2D1A欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2(FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症(AT)、分類不能型免疫不全症(CVID; B細胞機能不全)、重症複合免疫不全症(SCID)、アデノシンデアミナーゼ(ADA)欠損症、細胞質分裂デドicator-8(DOCK8)欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化(immuno-SRM)(immuno-SRM-MS)のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板(CD42)、ナチュラルキラー(NK)細胞(CD56)及びT細胞(CD3イプシロン(CD3ε)及びCD3デルタ(CD3δ))についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε及びCD3δは、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘y-イオン質量及び娘b-イオン質量もまた示される。

40

【図1-17】X連鎖慢性肉芽腫症(X-CGD)、X連鎖リンパ増殖性症候群(XLP1; SH2D1A欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2(FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症(AT)、分類不能型免疫不全症(CVID; B細胞機能不全)、重症複合免疫不全症(SCID)、アデノシンデアミナーゼ(ADA)欠損症、細胞質分

50

裂デディケーター8 (DOCK8) 欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化 (immuno-SRM) (immuno-SRM-MS) のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板 (CD42)、ナチュラルキラー (NK) 細胞 (CD56) 及びT細胞 (CD3イプシロン (CD3ε) 及びCD3デルタ (CD3δ)) についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε及びCD3δは、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘y-イオン質量及び娘b-イオン質量もまた示される。

【図1-18】X連鎖慢性肉芽腫症 (X-CGD)、X連鎖リンパ増殖性症候群 (XLP1; SH2D1A欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2 (FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症 (AT)、分類不能型免疫不全症 (CVID; B細胞機能不全)、重症複合免疫不全症 (SCID)、アデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損症、細胞質分裂デディケーター8 (DOCK8) 欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化 (immuno-SRM) (immuno-SRM-MS) のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板 (CD42)、ナチュラルキラー (NK) 細胞 (CD56) 及びT細胞 (CD3イプシロン (CD3ε) 及びCD3デルタ (CD3δ)) についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε及びCD3δは、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘y-イオン質量及び娘b-イオン質量もまた示される。

【図1-19】X連鎖慢性肉芽腫症 (X-CGD)、X連鎖リンパ増殖性症候群 (XLP1; SH2D1A欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2 (FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症 (AT)、分類不能型免疫不全症 (CVID; B細胞機能不全)、重症複合免疫不全症 (SCID)、アデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損症、細胞質分裂デディケーター8 (DOCK8) 欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化 (immuno-SRM) (immuno-SRM-MS) のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板 (CD42)、ナチュラルキラー (NK) 細胞 (CD56) 及びT細胞 (CD3イプシロン (CD3ε) 及びCD3デルタ (CD3δ)) についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε及びCD3δは、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘y-イオン質量及び娘b-イオン質量もまた示される。

【図1-20】X連鎖慢性肉芽腫症 (X-CGD)、X連鎖リンパ増殖性症候群 (XLP1; SH2D1A欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2 (FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症 (AT)、分類不能型免疫不全症 (CVID; B細胞機能不全)、重症複合免疫不全症 (SCID)、アデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損症、細胞質分裂デディケーター8 (DOCK8) 欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化 (immuno-SRM) (immuno-SRM-MS) のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板 (CD42)、ナチュラルキラー (NK) 細胞 (CD56) 及びT細胞 (CD3イプシロン (CD3ε) 及びCD3デルタ (CD3δ)) についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε及びCD3δは、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘y-イオン質量及び娘b-イオン質量もまた示される。

【図1-21】X連鎖慢性肉芽腫症 (X-CGD)、X連鎖リンパ増殖性症候群 (XLP1; SH2D1A欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2 (FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症 (AT)、分類不能型免疫不全症 (CVID; B細胞機能不全)、重症複合免疫不全症 (SCID)、アデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損症、細胞質分裂デディケーター8 (DOCK8) 欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化 (immuno-SRM) (immuno-SRM-MS) のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板 (CD42)、ナチュラルキラー (NK) 細胞 (CD56) 及びT細胞 (CD3イプシロン (CD3ε) 及びCD3デルタ (CD3δ)) についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε及びCD3δは、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用され

10

20

30

40

50

うる。総質量、親イオン質量、娘 y-イオン質量及び娘 b-イオン質量もまた示される。

【図 1-22】X連鎖慢性肉芽腫症 (X-CGD)、X連鎖リンパ増殖性症候群 (XLP1; SH2D1A 欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症 2 (FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症 (AT)、分類不能型免疫不全症 (CVID; B細胞機能不全)、重症複合免疫不全症 (SCID)、アデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損症、細胞質分裂デディケーター 8 (DOCK8) 欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化 (immuno-SRM) (immuno-SRM-MS) のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板 (CD42)、ナチュラルキラー (NK) 細胞 (CD56) 及び T 細胞 (CD3 イプシロン (CD3ε) 及び CD3 デルタ (CD3δ)) についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε 及び CD3δ は、SCID を診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘 y-イオン質量及び娘 b-イオン質量もまた示される。

10

【図 1-23】X連鎖慢性肉芽腫症 (X-CGD)、X連鎖リンパ増殖性症候群 (XLP1; SH2D1A 欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症 2 (FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症 (AT)、分類不能型免疫不全症 (CVID; B細胞機能不全)、重症複合免疫不全症 (SCID)、アデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損症、細胞質分裂デディケーター 8 (DOCK8) 欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化 (immuno-SRM) (immuno-SRM-MS) のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板 (CD42)、ナチュラルキラー (NK) 細胞 (CD56) 及び T 細胞 (CD3 イプシロン (CD3ε) 及び CD3 デルタ (CD3δ)) についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε 及び CD3δ は、SCID を診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘 y-イオン質量及び娘 b-イオン質量もまた示される。

20

【図 1-24】X連鎖慢性肉芽腫症 (X-CGD)、X連鎖リンパ増殖性症候群 (XLP1; SH2D1A 欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症 2 (FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症 (AT)、分類不能型免疫不全症 (CVID; B細胞機能不全)、重症複合免疫不全症 (SCID)、アデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損症、細胞質分裂デディケーター 8 (DOCK8) 欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化 (immuno-SRM) (immuno-SRM-MS) のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板 (CD42)、ナチュラルキラー (NK) 細胞 (CD56) 及び T 細胞 (CD3 イプシロン (CD3ε) 及び CD3 デルタ (CD3δ)) についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε 及び CD3δ は、SCID を診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘 y-イオン質量及び娘 b-イオン質量もまた示される。

30

【図 1-25】X連鎖慢性肉芽腫症 (X-CGD)、X連鎖リンパ増殖性症候群 (XLP1; SH2D1A 欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症 2 (FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症 (AT)、分類不能型免疫不全症 (CVID; B細胞機能不全)、重症複合免疫不全症 (SCID)、アデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損症、細胞質分裂デディケーター 8 (DOCK8) 欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化 (immuno-SRM) (immuno-SRM-MS) のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板 (CD42)、ナチュラルキラー (NK) 細胞 (CD56) 及び T 細胞 (CD3 イプシロン (CD3ε) 及び CD3 デルタ (CD3δ)) についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε 及び CD3δ は、SCID を診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘 y-イオン質量及び娘 b-イオン質量もまた示される。

40

【図 1-26】X連鎖慢性肉芽腫症 (X-CGD)、X連鎖リンパ増殖性症候群 (XLP1; SH2D1A 欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症 2 (FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症 (AT)、分類不能型免疫不全症 (CVID; B細胞機能不全)、重症複合免疫不全症 (SCID)、アデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損症、細胞質分裂デディケーター 8 (DOCK8) 欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連

50

動ペプチド免疫親和性富化 (immuno-SRM) (immuno-SRM-MS) のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板 (CD42)、ナチュラルキラー (NK) 細胞 (CD56) 及び T 細胞 (CD3 イプシロン (CD3ε) 及び CD3 デルタ (CD3δ)) についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε 及び CD3δ は、SCID を診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘 y-イオン質量及び娘 b-イオン質量もまた示される。

【図 1-27】 X 連鎖慢性肉芽腫症 (X-CGD)、X 連鎖リンパ増殖性症候群 (XLP1; SH2D1A 欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症 2 (FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症 (AT)、分類不能型免疫不全症 (CVID; B 細胞機能不全)、重症複合免疫不全症 (SCID)、アデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損症、細胞質分裂デディケーター 8 (DOCK8) 欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化 (immuno-SRM) (immuno-SRM-MS) のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板 (CD42)、ナチュラルキラー (NK) 細胞 (CD56) 及び T 細胞 (CD3 イプシロン (CD3ε) 及び CD3 デルタ (CD3δ)) についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε 及び CD3δ は、SCID を診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘 y-イオン質量及び娘 b-イオン質量もまた示される。

【図 1-28】 X 連鎖慢性肉芽腫症 (X-CGD)、X 連鎖リンパ増殖性症候群 (XLP1; SH2D1A 欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症 2 (FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症 (AT)、分類不能型免疫不全症 (CVID; B 細胞機能不全)、重症複合免疫不全症 (SCID)、アデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損症、細胞質分裂デディケーター 8 (DOCK8) 欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化 (immuno-SRM) (immuno-SRM-MS) のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板 (CD42)、ナチュラルキラー (NK) 細胞 (CD56) 及び T 細胞 (CD3 イプシロン (CD3ε) 及び CD3 デルタ (CD3δ)) についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε 及び CD3δ は、SCID を診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘 y-イオン質量及び娘 b-イオン質量もまた示される。

【図 1-29】 X 連鎖慢性肉芽腫症 (X-CGD)、X 連鎖リンパ増殖性症候群 (XLP1; SH2D1A 欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症 2 (FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症 (AT)、分類不能型免疫不全症 (CVID; B 細胞機能不全)、重症複合免疫不全症 (SCID)、アデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損症、細胞質分裂デディケーター 8 (DOCK8) 欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化 (immuno-SRM) (immuno-SRM-MS) のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板 (CD42)、ナチュラルキラー (NK) 細胞 (CD56) 及び T 細胞 (CD3 イプシロン (CD3ε) 及び CD3 デルタ (CD3δ)) についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε 及び CD3δ は、SCID を診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘 y-イオン質量及び娘 b-イオン質量もまた示される。

【図 1-30】 X 連鎖慢性肉芽腫症 (X-CGD)、X 連鎖リンパ増殖性症候群 (XLP1; SH2D1A 欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症 2 (FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症 (AT)、分類不能型免疫不全症 (CVID; B 細胞機能不全)、重症複合免疫不全症 (SCID)、アデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損症、細胞質分裂デディケーター 8 (DOCK8) 欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化 (immuno-SRM) (immuno-SRM-MS) のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板 (CD42)、ナチュラルキラー (NK) 細胞 (CD56) 及び T 細胞 (CD3 イプシロン (CD3ε) 及び CD3 デルタ (CD3δ)) についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε 及び CD3δ は、SCID を診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘 y-イオン質量及び娘 b-イオン質量もまた示される。

10

20

30

40

50

【図1-31】X連鎖慢性肉芽腫症(X-CGD)、X連鎖リンパ増殖性症候群(XLP1; SH2D1A欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2(FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症(AT)、分類不能型免疫不全症(CVID; B細胞機能不全)、重症複合免疫不全症(SCID)、アデノシンデアミナーゼ(ADA)欠損症、細胞質分裂デディケーター8(DOCK8)欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化(immuno-SRM)(immuno-SRM-MS)のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板(CD42)、ナチュラルキラー(NK)細胞(CD56)及びT細胞(CD3イプシロン(CD3ε)及びCD3デルタ(CD3δ))についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε及びCD3δは、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘y-イオン質量及び娘b-イオン質量もまた示される。

10

【図1-32】X連鎖慢性肉芽腫症(X-CGD)、X連鎖リンパ増殖性症候群(XLP1; SH2D1A欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2(FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症(AT)、分類不能型免疫不全症(CVID; B細胞機能不全)、重症複合免疫不全症(SCID)、アデノシンデアミナーゼ(ADA)欠損症、細胞質分裂デディケーター8(DOCK8)欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化(immuno-SRM)(immuno-SRM-MS)のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板(CD42)、ナチュラルキラー(NK)細胞(CD56)及びT細胞(CD3イプシロン(CD3ε)及びCD3デルタ(CD3δ))についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε及びCD3δは、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘y-イオン質量及び娘b-イオン質量もまた示される。

20

【図1-33】X連鎖慢性肉芽腫症(X-CGD)、X連鎖リンパ増殖性症候群(XLP1; SH2D1A欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2(FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症(AT)、分類不能型免疫不全症(CVID; B細胞機能不全)、重症複合免疫不全症(SCID)、アデノシンデアミナーゼ(ADA)欠損症、細胞質分裂デディケーター8(DOCK8)欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化(immuno-SRM)(immuno-SRM-MS)のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板(CD42)、ナチュラルキラー(NK)細胞(CD56)及びT細胞(CD3イプシロン(CD3ε)及びCD3デルタ(CD3δ))についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε及びCD3δは、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘y-イオン質量及び娘b-イオン質量もまた示される。

30

【図1-34】X連鎖慢性肉芽腫症(X-CGD)、X連鎖リンパ増殖性症候群(XLP1; SH2D1A欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2(FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症(AT)、分類不能型免疫不全症(CVID; B細胞機能不全)、重症複合免疫不全症(SCID)、アデノシンデアミナーゼ(ADA)欠損症、細胞質分裂デディケーター8(DOCK8)欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化(immuno-SRM)(immuno-SRM-MS)のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板(CD42)、ナチュラルキラー(NK)細胞(CD56)及びT細胞(CD3イプシロン(CD3ε)及びCD3デルタ(CD3δ))についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε及びCD3δは、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘y-イオン質量及び娘b-イオン質量もまた示される。

40

【図1-35】X連鎖慢性肉芽腫症(X-CGD)、X連鎖リンパ増殖性症候群(XLP1; SH2D1A欠損症)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2(FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症(AT)、分類不能型免疫不全症(CVID; B細胞機能不全)、重症複合免疫不全症(SCID)、アデノシンデアミナーゼ(ADA)欠損症、細胞質分裂デディケーター8(DOCK8)欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化(immuno-SRM)(immuno-SRM-MS)の

50

ために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板（CD42）、ナチュラルキラー（NK）細胞（CD56）及びT細胞（CD3イプシロン（CD3ε）及びCD3デルタ（CD3δ））についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε及びCD3δは、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘y-イオン質量及び娘b-イオン質量もまた示される。

【図1-36】X連鎖慢性肉芽腫症（X-CGD）、X連鎖リンパ増殖性症候群（XLP1；SH2D1A欠損症）、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2（FHL2）、毛細血管拡張性運動失調症（AT）、分類不能型免疫不全症（CVID；B細胞機能不全）、重症複合免疫不全症（SCID）、アデノシンデアミナーゼ（ADA）欠損症、細胞質分裂デディケーター8（DOCK8）欠損症についての、選択反応モニタリング質量分析連動ペプチド免疫親和性富化（immuno-SRM）（immuno-SRM-MS）のために使用される、標的タンパク質及びペプチド配列並びに血小板（CD42）、ナチュラルキラー（NK）細胞（CD56）及びT細胞（CD3イプシロン（CD3ε）及びCD3デルタ（CD3δ））についての二次マーカーを示す図である。特定の実施形態において、CD3ε及びCD3δは、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用される。総質量、親イオン質量、娘y-イオン質量及び娘b-イオン質量もまた示される。

10

【図2】immuno-SRM-MS工程の概略的例示を示す図である。

【図3-1】選択されたトランジションによる、各標的ペプチドについての、フラグメントスペクトルを示す図である。

【図3-2】選択されたトランジションによる、各標的ペプチドについての、フラグメントスペクトルを示す図である。

20

【図3-3】選択されたトランジションによる、各標的ペプチドについての、フラグメントスペクトルを示す図である。

【図4-1】シグネチャーペプチドについての、内因性多重反応モニタリング（MRM）トレースを示す図である。

【図4-2】シグネチャーペプチドについての、内因性多重反応モニタリング（MRM）トレースを示す図である。

【図4-3】シグネチャーペプチドについての、内因性多重反応モニタリング（MRM）トレースを示す図である。

【図4-4】シグネチャーペプチドについての、内因性多重反応モニタリング（MRM）トレースを示す図である。

30

【図4-5】シグネチャーペプチドについての、内因性多重反応モニタリング（MRM）トレースを示す図である。

【図5A】各シグネチャーペプチドについての線形曲線を示す図である（図5A）。

【図5B】高フェムトモル範囲プロットが、解析される全濃度範囲を表す図である（図5B）。低フェムトモル範囲プロットは、図5Aのプロットから拡大された、低濃度領域を表す。

【図6-1】全てのシグネチャーペプチドの測定濃度、診断、遺伝情報及び現行処置を含む患者情報を示す図である。N/A＝該当なしである。

【図6-2】全てのシグネチャーペプチドの測定濃度、診断、遺伝情報及び現行処置を含む患者情報を示す図である。N/A＝該当なしである。

40

【図7A】血小板マーカーである、CD42 128及びCD42 154についてのimmuno-SRM解析が、対応する血小板レベルの変化を示す図である（**** $p < 0.001$ ）。

【図7B】血小板マーカーである、CD42 128及びCD42 154についてのimmuno-SRM解析が、対応する血小板レベルの変化を示す図である（**** $p < 0.001$ ）。

【図8A】X-CGD、DOCK8欠損症及びADA欠損症患者における、一次シグネチャーペプチドである、CYBB509、DOCK8 1272及びADA93についてのimmuno-SRM解析を示す図である（* $p < 0.05$ ）。

50

【図8B】X-CGD、DOCK8欠損症及びADA欠損症患者における、一次シグネチャーペプチドである、CYBB509、DOCK8 1272及びADA93についてのimmuno-SRM解析を示す図である(* $p < 0.05$)。

【図8C】X-CGD、DOCK8欠損症及びADA欠損症患者における、一次シグネチャーペプチドである、CYBB509、DOCK8 1272及びADA93についてのimmuno-SRM解析を示す図である(* $p < 0.05$)。

【図9】PIDD患者のDBS中に見出される、NK細胞マーカーである、CD56 122のレベルを示す図である。

【図10A】HT及び標準immuno-SRMを使用する、PIDD患者の識別の比較を示す図である(** $p < 0.005$)。

【図10B】HT及び標準immuno-SRMを使用する、PIDD患者の識別の比較を示す図である(** $p < 0.005$)。

【図10C】HT及び標準immuno-SRMを使用する、PIDD患者の識別の比較を示す図である(** $p < 0.005$)。

【図11】以下を含む、本開示の例示的配列を示す図である。

10

20

30

40

50

【表 1】

配列番号	説明
22	リーダー配列を伴う、抗 CYBB509 の重鎖コード配列(クローン:EB0611C-1E12-H2)
23	リーダー配列を伴う、抗 CYBB509 の重鎖アミノ酸配列
24	リーダー配列を伴わない、抗 CYBB509 の重鎖アミノ酸配列
25	リーダー配列を伴う、抗 CYBB509 の重鎖可変ドメインのコード配列
26	リーダー配列を伴う、抗 CYBB509 の重鎖可変ドメインのアミノ酸配列
28	リーダー配列を伴う、抗 CYBB509/抗 CYBB509 の軽鎖コード配列(クローン:EB0611C-1E12-K2)
29	リーダー配列を伴う、抗 CYBB509 の軽鎖アミノ酸配列
30	リーダー配列を伴わない、抗 CYBB509 の軽鎖アミノ酸配列
31	リーダー配列を伴う、抗 CYBB509 の軽鎖可変ドメインのコード配列
32	リーダー配列を伴う、抗 CYBB509 の軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列
40	リーダー配列を伴う、抗 PRF215 の重鎖コード配列(クローン:EB0610D-9E12-H3)
41	リーダー配列を伴う、抗 PRF215 の重鎖アミノ酸配列
42	リーダー配列を伴わない、抗 PRF215 の重鎖アミノ酸配列
43	リーダー配列を伴う、抗 PRF215 の重鎖可変ドメインのコード配列
44	リーダー配列を伴う、抗 PRF215 の重鎖可変ドメインのアミノ酸配列
46	リーダー配列を伴う、抗 PRF215/抗 CYBB509 の軽鎖コード配列(クローン:EB0610D-9E12-K1)
47	リーダー配列を伴う、抗 PRF215 の軽鎖アミノ酸配列
48	リーダー配列を伴わない、抗 PRF215 の軽鎖アミノ酸配列
49	リーダー配列を伴う、抗 PRF215 の軽鎖可変ドメインのコード配列
50	リーダー配列を伴う、抗 PRF215 の軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列
58	リーダー配列を伴う、抗 ATM1561 の重鎖コード配列(クローン:EB0608D-4A10-H4)
59	リーダー配列を伴う、抗 ATM1561 の重鎖アミノ酸配列
60	リーダー配列を伴わない、抗 ATM1561 の重鎖アミノ酸配列
61	リーダー配列を伴う、抗 ATM1561 の重鎖可変ドメインのコード配列
62	リーダー配列を伴う、抗 ATM1561 の重鎖可変ドメインのアミノ酸配列
64	リーダー配列を伴う、抗 ATM1561 の軽鎖コード配列(クローン:EB0608D-4A10-K1)
65	リーダー配列を伴う、抗 ATM1561 の軽鎖アミノ酸配列
66	リーダー配列を伴わない、抗 ATM1561 の軽鎖アミノ酸配列
67	リーダー配列を伴う、抗 ATM1561 の軽鎖可変ドメインのコード配列
68	リーダー配列を伴う、抗 ATM1561 の軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列
76	リーダー配列を伴う、抗 CD19 41 の重鎖可変ドメインのコード配列
77	リーダー配列を伴う、抗 CD19 41 の重鎖可変ドメインのアミノ酸配列
79	リーダー配列を伴う、抗 CD19 41 の軽鎖可変ドメインのコード配列
80	リーダー配列を伴う、抗 CD19 41 の軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列
88	リーダー配列を伴う、抗 ADA93 の重鎖コード配列(クローン:EB0608A-3C12-H2)
89	リーダー配列を伴う、抗 ADA93 の重鎖アミノ酸配列
90	リーダー配列を伴わない、抗 ADA93 の重鎖アミノ酸配列
91	リーダー配列を伴う、抗 ADA93 の重鎖可変ドメインのコード配列
92	リーダー配列を伴う、抗 ADA93 の重鎖可変ドメインのアミノ酸配列
94	リーダー配列を伴う、抗 ADA93 の軽鎖コード配列(クローン:EB0608A-3C12-K2)

10

20

30

40

95	リーダー配列を伴う、抗 ADA93 の軽鎖アミノ酸配列
96	リーダー配列を伴わない、抗 ADA93 の軽鎖アミノ酸配列
97	リーダー配列を伴う、抗 ADA93 の軽鎖可変ドメインのコード配列
98	リーダー配列を伴う、抗 ADA93 の軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列
106	リーダー配列を伴う、抗 DOCK8 1272 の重鎖可変ドメインのコード配列(ハイブリドーマ:SJSH5-1C2-2E)
107	リーダー配列を伴う、抗 DOCK8 1272 の重鎖可変ドメインのアミノ酸配列
109	リーダー配列を伴う、抗 DOCK8 1272 の軽鎖可変ドメインのコード配列(ハイブリドーマ:SJSH5-1C2-2E)
110	リーダー配列を伴う、抗 DOCK8 1272 の軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列
118	リーダー配列を伴う、抗 CD42 128 の重鎖可変ドメインのコード配列(ハイブリドーマ:SJSH4 3B8-1b)
119	リーダー配列を伴う、抗 CD42 128 の重鎖可変ドメインのアミノ酸配列
121	リーダー配列を伴う、抗 CD42 128 の軽鎖可変ドメインのコード配列(ハイブリドーマ:SJSH4 3B8-1b)
122	リーダー配列を伴う、抗 CD42 128 の軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列
130	リーダー配列を伴う、抗 CD42 154 の重鎖可変ドメインのコード配列(ハイブリドーマ:SJSH4-1H11c)
131	リーダー配列を伴う、抗 CD42 154 の重鎖可変ドメインのアミノ酸配列
133	リーダー配列を伴う、抗 CD42 154 の軽鎖可変ドメインのコード配列(ハイブリドーマ:SJSH4-1H11c)
134	リーダー配列を伴う、抗 CD42 154 の軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列
142	リーダー配列を伴う、抗 CD56 122 の重鎖コード配列(クローン:EB0608C-3H4-H2)
143	リーダー配列を伴う、抗 CD56 122 の重鎖アミノ酸配列
144	リーダー配列を伴わない、抗 CD56 122 の重鎖アミノ酸配列
145	リーダー配列を伴う、抗 CD56 122 の重鎖可変ドメインのコード配列
146	リーダー配列を伴う、抗 CD56 122 の重鎖可変ドメインのアミノ酸配列
148	リーダー配列を伴う、抗 CD56 122 の軽鎖コード配列(クローン:EB0608C-3H4-K2)
149	リーダー配列を伴う、抗 CD56 122 の軽鎖アミノ酸配列
150	リーダー配列を伴わない、抗 CD56 122 の軽鎖アミノ酸配列
151	リーダー配列を伴う、抗 CD56 122 の軽鎖可変ドメインのコード配列
152	リーダー配列を伴う、抗 CD56 122 の軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列
166	リーダー配列を伴う、抗 SH2D1A (SAP) 19 の重鎖コード配列(クローン:EB0612B-2F4-H1)
167	リーダー配列を伴わない、抗 SH2D1A (SAP) 19 の重鎖コード配列(クローン:EB0612B-2F4-H1)
168	リーダー配列を伴う、抗 SH2D1A (SAP) 19 の重鎖アミノ酸配列
169	リーダー配列を伴わない、抗 SH2D1A (SAP) 19 の重鎖アミノ酸配列
170	リーダー配列を伴う、抗 SH2D1A (SAP) 19 の重鎖可変ドメインのコード配列
171	リーダー配列を伴わない、抗 SH2D1A (SAP) 19 の重鎖可変ドメインのコード配列
172	リーダー配列を伴う、抗 SH2D1A (SAP) 19 の重鎖可変ドメインのアミノ酸配列
174	リーダー配列を伴う、抗 SH2D1A (SAP) 19 の軽鎖コード配列(クローン:EB0612B-2F4-K1)
175	リーダー配列を伴わない、抗 SH2D1A (SAP) 19 の軽鎖コード配列(クローン:EB0612B-2F4-K1)
176	リーダー配列を伴う、抗 SH2D1A (SAP) 19 の軽鎖アミノ酸配列

10

20

30

40

50

177	リーダー配列を伴わない、抗 SH2D1A (SAP) 19 の軽鎖アミノ酸配列	
178	リーダー配列を伴う、抗 SH2D1A (SAP) 19 の軽鎖可変ドメインのコード配列	
179	リーダー配列を伴わない、抗 SH2D1A (SAP) 19 の軽鎖可変ドメインのコード配列	
180	リーダー配列を伴う、抗 SH2D1A (SAP) 19 の軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列	
182	リーダー配列を伴わない、抗 CYBB509 の重鎖コード配列(クローン:EB0611C-1E12-H2)	
183	リーダー配列を伴わない、抗 CYBB509 の重鎖可変ドメインのコード配列	
184	リーダー配列を伴わない、抗 CYBB509 の軽鎖コード配列(クローン:EB0611C-1E12-K2)	
185	リーダー配列を伴わない、抗 CYBB509 の軽鎖可変ドメインのコード配列	
186	リーダー配列を伴わない、抗 PRF215 の重鎖コード配列(クローン:EB0610D-9E12-H3)	10
187	リーダー配列を伴わない、抗 PRF215 の重鎖可変ドメインのコード配列	
188	リーダー配列を伴わない、抗 PRF215 の軽鎖コード配列(クローン:EB0610D-9E12-K1)	
189	リーダー配列を伴わない、抗 PRF215 の軽鎖可変ドメインのコード配列	
190	リーダー配列を伴わない、抗 ATM1561 の重鎖コード配列(クローン:EB0608D-4A10-H4)	
191	リーダー配列を伴わない、抗 ATM1561 の重鎖可変ドメインのコード配列	
192	リーダー配列を伴わない、抗 ATM1561 の軽鎖コード配列(クローン:EB0608D-4A10-K1)	
193	リーダー配列を伴わない、抗 ATM1561 の軽鎖可変ドメインのコード配列	
194	リーダー配列を伴わない、抗 CD19 41 の重鎖可変ドメインのコード配列	
195	リーダー配列を伴わない、抗 CD19 41 の軽鎖可変ドメインのコード配列	
196	リーダー配列を伴わない、抗 ADA93 の重鎖コード配列(クローン:EB0608A-3C12-H2)	20
197	リーダー配列を伴わない、抗 ADA93 の重鎖可変ドメインのコード配列	
198	リーダー配列を伴わない、抗 ADA93 の軽鎖コード配列(クローン:EB0608A-3C12-K2)	
199	リーダー配列を伴わない、抗 ADA93 の軽鎖可変ドメインのコード配列	
200	リーダー配列を伴わない、抗 DOCK8 1272 の重鎖可変ドメインのコード配列(ハイブリドーマ:SJSH5-1C2-2E)	
201	リーダー配列を伴わない、抗 DOCK8 1272 の軽鎖可変ドメインのコード配列(ハイブリドーマ:SJSH5-1C2-2E)	
202	リーダー配列を伴わない、抗 CD42 128 の重鎖可変ドメインのコード配列(ハイブリドーマ:SJSH4 3B8-1b)	
203	リーダー配列を伴わない、抗 CD42 128 の軽鎖可変ドメインのコード配列(ハイブリドーマ:SJSH4 3B8-1b)	30
204	リーダー配列を伴わない、抗 CD42 154 の重鎖可変ドメインのコード配列(ハイブリドーマ:SJSH4-1H11c)	
205	リーダー配列を伴わない、抗 CD42 154 の軽鎖可変ドメインのコード配列(ハイブリドーマ:SJSH4-1H11c)	
206	リーダー配列を伴わない、抗 CD56 122 の重鎖コード配列(クローン:EB0608C-3H4-H2)	
207	リーダー配列を伴わない、抗 CD56 122 の重鎖可変ドメインのコード配列	
208	リーダー配列を伴わない、抗 CD56 122 の軽鎖コード配列(クローン:EB0608C-3H4-K2)	
209	リーダー配列を伴わない、抗 CD56 122 の軽鎖可変ドメインのコード配列	40

【発明を実施するための形態】

【0021】

効果的な処置が利用可能な疾患は、多数にのぼる。しかし、これらの多数の疾患について、症状が現れると、疾患は、既に致死性である、又は不可逆的損傷をもたらしている。原発性免疫不全症障害（PIDD）は、この良い例である。

【0022】

先天性免疫異常（IEI）ともまた称される、原発性免疫不全症障害（PIDD）は、免疫系の構成要素が、逸失している、又は不適正に機能する、416を超える、希少な遺伝障害の群である。個別には希少であるが、PIDDの組合せ発生数は、1200人中約

10

20

30

40

50

1人であると推定される (Tangyeら、Journal of Clinical Immunology、2020、印刷中; McCusker, C., J. Upton 及び R. Warrington、「Primary immunodeficiency」、Allergy, asthma, and clinical immunology: official journal of the Canadian Society of Allergy and Clinical Immunology、2018年、14巻 (増刊2号): 61~61頁; Kobrynskiら、J Clin Immunol、2014、34 (8): 954~61頁)。適切に診断され、処置されると、患者は、しばしば、比較的正常な生活を送ることができる (Kaveriら、Clin Exp Immunol、2011年、164巻、増刊2号: 2~5頁; Rajе, N. 及び C. Dinakar、Immunology and allergy clinics of North America、2015、35 (4): 599~623頁)。障害に応じて、造血幹細胞移植 (HSCT)、酵素置換療法 (ERT) 又は遺伝子治療による、治癒的療法もまた可能である (Rajе, N. 及び C. Dinakar、Immunology and allergy clinics of North America、2015、35 (4): 599~623頁; Aydinら、J Clin Immunol、2015、35 (2): 189~98頁; Gasparら、Blood、2009、114 (17): 3524~32頁; Morattoら、Blood、2011、118 (6): 1675~84頁; Partaら、Journal of Clinical Immunology、2017、37 (6): 548~558頁; Staalら、Frontiers in Pediatrics、2019、7 (443); Ferruaら、Lancet Haematol、2019、6 (5): e239~e253頁)。ほぼどのような場合にも、PIDDの早期検出は、潜在的に致死性の感染症及び慢性後遺症の制御及び防止において極めて重要である (Grunebaumら、JAMA、2006、295 (5): 508~18頁; Kanariouら、Curr Opin Hematol、2018、25 (1): 7~12頁)。

【0023】

早期の介入は、PIDDを、臨床において診断することの困難及び簡単な集団スクリーニングのためのツールの欠如により限定されている。検査室における査定は、典型的に、再発性感染症及び／又は慢性感染症の証拠により導かれる。臨床査定の後、診断の確認に要求される検査室検査は、しばしば、免疫細胞サブセット解析、患者の白血球におけるタンパク質の発現及び／又は酵素活性を含む、技術的要求の大きい解析を伴う (Bonillaら、Journal of Allergy and Clinical Immunology、2015、136 (5): 1186~1205、e78頁)。現在、全ての検査は、全血液試料又は単離末梢血単核細胞 (PBMC) 試料を要求するので、乾燥血液スポット (DBS) により、これらの臨床診断法を実施することが不可能である。遺伝子的シーケンシングが、最もしばしば、最終確認として使用される (Bonillaら、Journal of Allergy and Clinical Immunology、2015、136 (5): 1186~1205、e78頁)。

【0024】

かかと用のスティックによる、侵襲性が小さな回収試料を使用する、操作が簡略な質量分析アッセイは、疑われるPIDDについての迅速なスクリーニングを可能とする。タンデム質量分析 (MS/MS) ベースのプロテオミクスアッセイの感度及び特異度は、DBS抽出物中の存在度が極めて低度であるペプチドを、信頼できる形で測定し、これにより、それらが表すタンパク質を定量するのに利用されうる (Collinsら、Frontiers in Immunology、2018、9 (2756); Collinsら、Frontiers in Immunology、2020、11; deWildeら、Clin Chem、2008、54 (12): 1961~8)。さらに、DBSを使用して、PIDD患者を検出することが可能なアッセイであれば、新生児スクリーニング (NBS) において適用可能であり、潜在的に致死性の感染症が発生する前に、患者の

識別を可能とする。重症複合免疫不全症（SCID）及び無ガンマグロブリン血症の一部形態について、DBSに由来する、T細胞受容体切除サークル（TREC）及びカップタ失エメント組換えサークル（KREC）のための新生児スクリーニングが存在する。しかし、TREC/KREC解析は、複数のSCID亜型（例えば、ADA欠損症、ZAP70欠損症及びMHC欠損症）を、高頻度において逸失し、他のPIDDについてのNBSは、現在のところ、スクリーニング法の欠如のために存在しない（Kwanら、JAMA、2014、312（7）：729～38頁；Chan及びPuck、J Allergy Clin Immunol、2005、115（2）：391～8頁；Bakerら、J Allergy Clin Immunol、2009、124（3）：522～7頁；Chaseら、Curr Opin Allergy Clin Immunol、2010、10（6）：521～5頁；la Marcaら、J Allergy Clin Immunol、2013、131（6）：1604～10頁）。しかしながら、近年の進展は、アデノシンデアミナーゼ（ADA）欠損性SCID及びプリンヌクレオシドホスホリラーゼ欠損症に関連する代謝物並びに免疫細胞プロファイルについての後成的マーカーをスクリーニングする能力を裏付けている（la Marcaら、Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis、2014、88：201～206頁；Baronら、Sci Transl Med、2018、10（452）；la Marcaら、Journal of Allergy and Clinical Immunology、2014、134（1）：155～159、e3頁）。

10

20

【0025】

SCIDとは、T細胞及びB細胞など、感染症に対抗する免疫細胞の発生及び機能に関与する異なる遺伝子における突然変異により引き起こされる、希少な障害の群である。12を超える遺伝子が、SCIDに関与している。最もしばしば、SCIDは、1つが母親から遺伝し、1つが父親から遺伝した、特定の遺伝子の両方のコピーが、欠損を含有する、常染色体劣性パターンにおいて遺伝する。X連鎖SCID又はIL2RG欠損SCID（X-SCID）は、男性に主に影響を及ぼし、X染色体に配置された、インターロイキン（IL）受容体サブユニット共通ガンマ鎖（IL2RG）をコードする遺伝子における突然変異により引き起こされる。この受容体サブユニットは、IL2、IL4、IL7、IL9、IL15及びIL21の受容体複合体を含む、少なくとも6つの異なるインターロイキン受容体複合体により共有されている。IL2RG遺伝子内の突然変異は、リンパ球の発生及び機能に重要な、複数のサイトカイン経路の遮断を介して、免疫系の重大な欠損をもたらす。この種のSCIDを有する男性は、白血球の増殖及び発生が異常である。結果として、これらの男性は、T細胞及びナチュラルキラー細胞の数が減少し、B細胞が機能しなくなる。SCID患者は、通例、幼少期に、重症の細菌感染症、ウイルス感染症、又は真菌感染症に罹患し、しばしば、肺の瘢痕化、慢性下痢及び発育不全を被る。乳児が、造血幹細胞の移植、遺伝子治療又は酵素療法などの免疫再生処置を受けなければ、状態は、通例、生後1又は2年以内に致死性となる。

30

【0026】

常染色体劣性SCIDの周知の形態は、乳児が、T細胞の存続に必要なADA酵素を欠く、アデノシンデアミナーゼ（ADA）欠損症により引き起こされる。SCIDを有する罹患者は、事実上、細菌、ウイルス及び真菌からの全ての免疫保護を欠くので、致死性でありうる感染症の反復及び遷延に陥りやすい。ADA欠損症を有する大半の個体は、生後最初の6カ月間以内に、SCIDを有すると診断される。時間経過にわたり、罹患個体は、慢性肺損傷、栄養不良及び他の健康問題を発症しうる。ADAとは、プリンの分解に必要な酵素である。現行の処置選択肢は、酵素置換療法、同種造血幹細胞移植（HSCT）及び自家遺伝子治療を含む。

40

【0027】

X連鎖慢性肉芽腫症（X-CGD）とは、ある特定の細菌及び真菌により引き起こされた感染症に対する、体内の感受性を増大させる、遺伝性PIDDである、CGDの最も一

50

一般的な形態である。CGDを有する患者は、好中球が欠損しており、これらの細胞は、過酸化水素を産生できないため、感染に対抗できない。感染部位又は炎症部位における免疫細胞塊は、肉芽腫形態と呼ばれる。これらの重症感染症は、皮膚又は骨の感染症及び内臓における膿瘍を含みうる。CGDを有する小児は、しばしば、出生時には健常であるが、乳児期又は幼少期において、重症感染症を発症する。X-CGDは、チトクロームb-245ベータ鎖と呼ばれるタンパク質（また、p91-phoxとしても公知である）をコードする、CYBB遺伝子内の突然変異により引き起こされる。チトクロームb-245は、他のサブユニットと共に、NADPHオキシダーゼと呼ばれる酵素複合体を形成し、これは、免疫系において、必須の役割を果たす。CGDのための治療選択肢は、予防的抗生剤及び抗真菌薬、インターフェロン-ガンマ注入及び急性感染症に対する積極的管理を含む。骨髄移植は、CGDを治癒させるが、この治療は、煩雑であり、移植候補者及びドナーの選択を注意深く行わなければならない。

10

【0028】

X連鎖リンパ増殖性症候群（XLP1；SH2D1A欠損症）は、エプスタイン-バーウイルス（EBV）による感染に対する免疫系応答の欠損により特徴づけられる、希少な、遺伝性PIDDであり、重症の致死性肝炎、抗体又は免疫グロブリンの、血液中レベル及び体内分泌物中レベルの異常な低下（低ガンマグロブリン血症）並びに／又はある特定の種類のリンパ組織の悪性腫瘍（B細胞リンパ腫）を結果としてもたらしうる。XLP1は、T細胞とB細胞との双方向的刺激において、主要な役割を果たすタンパク質をコードする、SH2D1A遺伝子内の突然変異により引き起こされる。EBVへの曝露の前に、罹患個体が識別される場合、致死性の感染性単球症及び他の症状の発生を防止する一助とするように、EBV抗体を伴う、免疫グロブリン（静脈内ガンマグロブリン）の注入が推奨されうる。EBV曝露に続発するXLPを有すると診断された罹患個体において、処置は、日和見感染症及び／又は静脈内ガンマグロブリン療法を防止する一助とするように、抗生剤の投薬を含みうる。B細胞リンパ腫を発症する罹患個体は、手術、放射線及び／又は化学療法により処置される場合がある。

20

【0029】

家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2（FHL2）は、免疫系が、T細胞、ナチュラルキラー細胞、B細胞及びマクロファージを含む、過剰に多くの活性化免疫細胞（リンパ球）を産生する障害（組織球症）である。過剰量の、サイトカインと呼ばれる免疫系タンパク質もまた産生される。この免疫系の過剰活性化は、発熱を引き起こし、肝臓及び脾臓を損傷する結果として、これらの臓器の腫大をもたらす。骨髄中の血液産生細胞もまた、血球貪食と呼ばれる過程において破壊される。結果として、罹患個体は、貧血を有し、血小板数が低減する。血小板の低減は、あざをできやすくし、出血の異常を引き起こす。FHL2とは、T細胞内及びナチュラルキラー（NK）細胞内において見出され、細胞の破壊及び免疫系の調節に関与する、パーフォリンタンパク質をコードする、PRF1遺伝子における突然変異により引き起こされる。同種造血細胞移植は、FHL2のための治療法でありうる。エマパルマブは、原発性血球貪食性リンパ組織球増多症を有する成人患者及び小児患者の処置として、FDAにより承認されている。

30

【0030】

毛細血管拡張性運動失調症（AT）は、神経系、免疫系及び他の体内系に影響を及ぼす、希少な遺伝性障害である。この障害は、幼少期に始まる、運動協調困難（運動失調）の進行並びに眼及び皮膚の表面において生じる、毛細血管拡張症と呼ばれる、拡大血管の小クラスターにより特徴づけられる。免疫系が弱化した罹患個体は、肺感染症にかかりやすく、がんを発症する危険性を増大させる。罹患個体は、それらの血液中に、高量の、アルファ-フェトプロテイン（AFP）と呼ばれるタンパク質を有する傾向がある。毛細血管拡張性運動失調症は、DNA損傷後における細胞の分裂の調節において役割を果たす酵素をコードする、ATM遺伝子における突然変異により引き起こされる。毛細血管拡張性運動失調症のための処置は、症状のコントロールへと方向付けられ、呼吸器感染症のための、抗生薬による治療、気管支及び肺の体位ドレナージ並びにガンマグロブリンの注入；毛

40

50

細血管拡張症の拡大及び重症度をコントロールするための、日光への不要な曝露の回避；ビタミンE療法；不明瞭な発語及び不随意的筋収縮を支援する薬物であるジアゼパム（Valium）の投与並びに理学療法を含む。

【0031】

分類不能型免疫不全症（CVID；B細胞機能不全）は、PIDの、最も一般的な形態のうちの1つである。CVIDは、免疫系を、細菌及びウイルスに対して防御できないまま放置する結果として、耳、副鼻腔及び気道に主に影響を及ぼす、再発性感染症及び重症感染症をもたらす抗体欠損症により特徴づけられる。CVID罹患者のうちの約25パーセントは、血液細胞に影響を及ぼすことから、白血球数又は血小板数の減少、貧血、関節炎及び内分泌障害など、他の状態を引き起こしうる、自己免疫障害を有する。CVIDの一部の形態において、患者は、肺、リンパ節、肝臓、皮膚又は他の臓器において、肉芽腫を発症する。CVIDは、多くの遺伝的由来を有するが、典型的に、B細胞の機能不全、低減又は非存在を特徴とする。CVIDのための処置は、免疫グロブリン置換、予防的抗生剤並びに自己免疫性疾患及び肉芽腫性疾患の管理を含む。

10

【0032】

細胞質分裂デディケーター8（DOCK8）欠損症とは、免疫グロブリンEレベルの上昇、好酸球（疾患対抗白血球の種類）レベルの上昇並びに再発性のブドウ球菌感染症及びウイルス感染症により特徴づけられる、遺伝性障害である。DOCK8とは、細胞のアクチン骨格の調節に関与するタンパク質であり、DOCK8は、多くのがんにおいて失われ、DOCK8欠損者は、悪性腫瘍を発症しやすいので、また、腫瘍抑制因子でもありうる。DOCK8欠損症のための処置は、感染症の防止及び処置に焦点を絞り、広域スペクトル抗生剤；局所抗生剤；トリメトプリム／スルファメトキサゾール、ペニシリン及びセファロsporinを含む全身抗生剤並びに抗真菌剤；白血球機能を改善するクロモグリク酸ナトリウム；皮膚状態のためのイソトレチノイン；静脈内免疫グロブリン；インターフェロンガンマ；オマリズマブ；シクロsporin A；HSCT；骨髄移植並びに手術による処置を含む。

20

【0033】

糖タンパク質Ib（GPIb）としてもまた公知のCD42は、血小板上のGPIb-V-IX複合体の構成要素である。GPIb-V-IX複合体は、フォンウィレブラント因子（VWF）に結合して、血管損傷部位における、血小板の接着及び血小板血栓の形成を可能とする。

30

【0034】

神経細胞接着分子（NCAM）としてもまた公知の、CD56は、ニューロン、グリア及び骨格筋の表面上に発現する、同種親和性の結合性糖タンパク質である。特に、CD56の発現は、NK細胞と関連する。神経系統関与のマーカーであることに加えて、CD56の発現はまた、造血系においても見出される。CD56は、ガンマデルタ（ $\gamma\delta$ ）T細胞及び活性化CD8+T細胞並びに樹状細胞を含む、他のリンパ球上においても検出されている。NCAMは細胞間接着、神経突起の成長、シナプス可塑性並びに学習及び記憶において役割を有する分子として含意されている。

【0035】

CD3イプシロン（CD3 ϵ ）とは、T細胞受容体（TCR）-CD3複合体の一部を形成するポリペプチドである。CD3 ϵ 鎖は、CD3 δ 、CD3 γ 及びCD3 ζ 鎖と共に、獲得免疫応答に重要な、下流におけるシグナル伝達経路を活性化させる、細胞膜を介する、TCR媒介性シグナルの伝達の一因となる。T細胞の活性化時の、シグナル伝達におけるその役割に加えて、CD3 ϵ は、適正なT細胞発生においても機能する。CD3 ϵ は、2つのヘテロ二量体である、CD3 δ /CD3 ϵ 及びCD3 γ /CD3 ϵ を形成することにより、TCR-CD3複合体のアセンブリーを誘発する。CD3 ϵ はまた、CD3 ϵ 細胞質領域内に存在するエンドサイトーシス配列を介して、TCR-CD3複合体の内部化及び細胞表面における下方調節においても機能する。

40

【0036】

50

CD3デルタ (CD3 δ) は、T細胞受容体 (TCR) - CD3複合体の一部を形成するポリペプチドである。CD3 δ 鎖は、CD3 ϵ 、CD3 γ 及びCD3 ζ 鎖と共に、獲得免疫応答に重要な、下流におけるシグナル伝達経路を活性化させる、細胞膜を介する、TCR媒介性シグナルの伝達の一因となる。T細胞の活性化時の、シグナル伝達におけるその役割に加えて、CD3 δ は、細胞内TCR-CD3複合体の適正なアセンブリー及び表面発現においても機能する。CD3 δ は、胸腺細胞 (胸腺内のリンパ球) の分化において、重要な役割を果たす。機能的なTCR-CD3複合体の非存在下において、胸腺細胞は、適正な分化が不可能である。CD3 δ は、CD4T細胞又はCD8T細胞の活性化及び陽性選択を可能とする相互作用である、CD4及びCD8との相互作用により、TCRと、共受容体であるCD4及びCD8との間において、機能的連関を確立する。

10

【0037】

乾燥血液スポット (DBS) による、頑健なスクリーニング方法が、新生児期において、患者を識別しうるならば、X-CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、SCID、ADA欠損症及びDOCK8欠損症は、新生児スクリーニング (NBS) のための、強力な候補疾患となる。例えば、先天性PIDDの大部分は、特異的タンパク質の低減又は非存在を結果としてもたつたので、これらの標的タンパク質の直接的な定量は、魅力的な潜在的スクリーニングツールを表す。

【0038】

NBS評価を行うために、乾燥血液のパンチは、DBSから採取され、出生には明らかでないが、後の生涯において深刻な健康問題を引き起こす障害を指し示す、血液中の特異物質 (マーカー又はバイオマーカーと呼ばれる) の存在又は非存在を検出するように、検査室検査が実施される。スクリーニングされる障害は、州により変動するが、大半の州は、フェニルケトン尿症、原発性先天性甲状腺機能低下症、嚢胞性線維症及び鎌状赤血球症についてスクリーニングする。NBSは、患者の転帰を改善し、罹患個体における、長年にわたる身体障害を回避する一方、同時に、医療費も低減するのに、極めて効果的であることが実証されている。残念ながら、検出は、しばしば、血液細胞内の、極めて低度のタンパク質濃度及びDBS中に存在する、限定的な血液容量により限定される。

20

【0039】

タンデム質量分析 (MS/MS) は、1990年代において、初めて、NBSへと適用され、複数の代謝物についての、迅速なスクリーニングへの道を開き、これにより、出生時に回収されたDBS試料による、複数の疾患についての、迅速なスクリーニングへの道を開いた (Chace J Mass Spectrom., Wiley-Blackwell, 2009, 44:163~170; Millingtonら、J. Inher. Metab. Dis., 1990, 13:321~324; Sweetmanら、Pediatrics, 2006, 117:S308~S314; Almannaiら、Curr. Opin. Pediatr., 2016, 28:694~699; Watsonら、Genet. Med., Nature Publishing Group, 2006, 1S~252S頁; Chaceら、Clin. Chem., 1993, 39:66~71)。トリプル四重極質量分析計上において実施された、選択反応モニタリング質量分析 (SRM-MS) は、正確な、ハイスループットであり、解析的に頑健な特異的バイオマーカーの定量をさらに可能とし; このようにして、SRM-MSは、今や、世界中の臨床NBS検査室において、標準治療となっている (Chace DH J Mass Spectrom., Wiley-Blackwell, 2009, 44:163~170; Chace及びKalas、Clinical Biochemistry, 2005, 38:296~309; Dottら、American Journal of Medical Genetics Part A, Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, 2006, 140:837~842)。

30

40

【0040】

MS/MSは、特異的な酵素欠損を伴う、多様な先天性代謝異常を検出するために、濃

50

縮された、上流における代謝物の測定に依拠する。このことは、代謝物の蓄積が存在しない、又は現在のところ検証されていない、PIDDなどの疾患への、その適用を許さなかった。この理由のために、フローサイトメトリー又はウェスタンブロット法など、タンパク質ベースのアッセイが、大半の突然変異が、タンパク質産物の非存在又は減少をもたらす、ウィスコット-アルドリッチ症候群 (WAS) 及びその軽度の表現型である、X連鎖血小板減少症 (XLT) などの疾患についての第1選択の探索法として使用されている (Qasimら、Br. J. Haematol.、2001、113:861~865; Jinら、Blood、American Society of Hematology、2004、104:4010~4019)。これらの手法は、患者に由来する、無傷血液試料又は無傷細胞が利用可能であることを要求することから、供給源に乏しい領域からの患者についての、集団ベースのスクリーニング又は検査を不可能としている。

10

【0041】

既に、PBMCのトリプシン消化物に由来する、BTK、WASP及びT細胞マーカーであるCD3εについての、シグネチャーペプチドの定量のための、MSベースの手法は、それぞれ、X連鎖無ガンマグロブリン血症 (XLA)、WAS及びSCIDをスクリーニングするのに使用されることが示された (Kerfootら、Proteomics Clin Appl、2012、6(7~8):394~402頁)。全てのSCID患者は、遺伝的異質性にも拘わらず、T細胞リンパ球減少症を共有するので、CD3εは、T細胞数の一般的表示物として選出された。盲検化研究における各患者は、それらのそれぞれの疾患に特異的なシグネチャーペプチドを欠損していた (すなわち、ブルトン型チロシンキナーゼ (BTK) を欠くXLA患者及びWASタンパク質 (WASP) を逸失するWAS患者など)。

20

【0042】

SRM-MSは、タンパク質分解により作出されたシグネチャーペプチドを、目的のタンパク質の化学量論的サロゲートとして活用する。これは、次に、試料中において、このタンパク質を発現させる、特定の細胞型の数を推定するのに使用されうる (すなわち、血液中のCD3+T細胞の量を指し示すための、CD3εの定量)。各シグネチャーペプチドに対する、MSの高特異性は、3つの物理化学的特性 (高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による分離時における、その質量、保持時間及び結果として得られる、標的特異的フラグメンテーションパターン) により付与される (Kennedyら、Nat. Methods、2014、11:149~155)。典型的な定量限界を、1mL当たりのタンパク質100~1000ngの範囲とする、これらの進展にも拘わらず、血液又は血漿など、複雑なマトリックスの使用は、しばしば、SRM-MSベースのアッセイによる、低存在度の標的の正確な定量を不可能とする。これは、細胞内だけにおいて発現する標的タンパク質の非存在又はレベルの低下を結果としてもたらし、多くのPIDDに対する適用可能性を限定する (de Saint Basileら、J. Clin. Invest. American Society for Clinical Investigation、2004、114:1512~1517)。

30

【0043】

安定同位体標準及び抗ペプチド抗体による捕捉 (SISCAPA) とともに称される、ペプチドSRM連動ペプチド免疫親和性富化 (immuno-SRM) は、抗ペプチド抗体を利用して、SRM-MS解析の前に、生物学的試料複合体から、目的のペプチドを精製及び富化することにより、SRM-MSアッセイの感度を増大させる (Zhaoら、J Vis Exp、2011、53:2812; Whiteakerら、Mol. Cell Proteomics、American Society for Biochemistry and Molecular Biology、2010、9:184~196; Whiteakerら、Mol. Cell Proteomics、American Society for Biochemistry and Molecular Biology、2012、11:M111.015347; Kuhnら、Clin. Chem.、2009、55:1108~1117; Andersonら、J Prote

40

50

ome Res.、2004、3(2):235~244;Collinsら、Frontiers in Immunology、2018、9(2756);Collinsら、Frontiers in Immunology、2020、11;Jungら、J Proteome Res、2017、16(2):862~871頁)。代表的immuno-SRM工程は、図2に例示される。

【0044】

抗ペプチド抗体を使用する、シグネチャーペプチドバイオマーカーの免疫親和性富化は、目的のペプチドを、生物学的マトリックスの複合体から単離する。これは、試料マトリックスを簡素化し、バックグラウンドを低減し、解析物を濃縮して、液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析(LC-MS/MS)アッセイの感度を増強する(Andersonら、J Proteome Res、2004、3(2):235~44頁;Anderson及びHunter、Mol Cell Proteomics、2006、5(4):573~88頁)。immuno-SRMは、血液中に、ピコモル単位の低濃度において存在するタンパク質の定量を、高度の再現性により可能とする(Whiteakerら、Mol Cell Proteomics、2010、9(1):184~96頁;Whiteakerら、J Proteome Res、2014、13(4):2187~96頁;Hoofnagleら、Clin Chem、2008、54(11):1796~804頁;Hoofnagleら、Clin Chem、2016、62(1):48~69頁;Kuhnら、Mol Cell Proteomics、2012、11(6):M111.013854頁)。この方法を、40例の患者試料についての盲検化スクリーニングに使用したところ、これらの患者試料それぞれのペプチド内において、全てが有意に低減され、診断カットオフは、分子的に確認されたXLA(n=26)、WAS(n=11)のあらゆる症例及びSCIDの症例3例中2例の陽性の識別を可能とした(Collinsら、Frontiers in Immunology、2018、9(2756))。

【0045】

immuno-SRMアッセイの多くの態様は、診断される障害、各障害について入手可能なバイオマーカー、目的のペプチドを富化しうる分子の実体を開発する可能性及び質量分析計内の、各目的のペプチドの挙動に依存する。これらの態様及びさらなる態様の全ては、障害を、信頼できる形で検出しうる、信頼できるアッセイを達成するように、注意深い検討及び実験を要求する。特定の実施形態において、障害の診断は、臨床症状が現れる前に、DBSを使用するNBSパネルにより行われる。

【0046】

本開示は、X-CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、SCID、ADA欠損症及びDOCK8欠損症を信頼できる形で診断する、マルチプレックスimmuno-SRM法を提供する。加えて、細胞特異的マーカーである、CD42、CD56、CD3ε及びCD3δは、血小板(CD42)、ナチュラルキラー(NK)細胞(CD56)及びT細胞(CD3ε及びCD3δ)を定量することにより、診断の裏付けとなる情報をもたらす二次マーカーとして使用されうる。特定の実施形態において、CD3ε及びCD3δは、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用されうる。本明細書において開示されたマルチプレックスimmuno-SRMアッセイは、X-CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、SCID、ADA欠損症及びDOCK8欠損症において低減される、又は非存在であるタンパク質のペプチドに対して生じた抗ペプチド抗体を利用しうる。

【0047】

ここで、本開示の以下の態様：(I)生物学的試料の回収及び処理；(II)X-CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、SCID、ADA欠損症及びDOCK8欠損症についてのペプチドマーカー並びに二次ペプチドマーカーである、CD42、CD56、CD3ε及びCD3δ；(III)生物学的試料中のタンパク質の、酵素による消化；(IV)ペプチドマーカーを富化する抗体；(V)変異体；(VI)ペプチドの富化戦略

；（V I I）液体クロマトグラフィー（L C）；（V I I I）質量分析（M S）；（I X）使用法；（X）キット；（X I）例示的实施形態；（X I I）実施例並びに（X I I I）結語について、より詳細に記載されている。これらの見出しは、構成だけを目的として提供されるものであり、本開示の範囲又は解釈を限定するものではない。

【0048】

（I）生物学的試料の回収及び処理：特定の実施形態において、本開示の方法において使用されうる生物学的試料は、血液又は細胞に由来する試料を含む。特定の実施形態において、本開示の方法において使用される試料は、D B Sである。特定の実施形態において、対象に由来する全血液は、血液を濾紙カードへ置き、血液を乾燥させることにより調製されうる。

【0049】

特定の実施形態において、対象に由来する全血液は、任意の抗凝固剤中に回収されうる。特定の実施形態において、対象に由来する全血液は、ヘパリン中に回収されうる。D B Sは、スポット1つ当たり50～100 μ L（例えば、70 μ L）の血液を、濾紙カード（例えば、Protein Saver（商標）903（登録商標）Card、Whatman Inc、Piscataway、NJ）へとピペティングし、室温において乾燥させることにより調製されうる。特定の実施形態において、血液は、濾紙カード上において、一晩にわたり乾燥させる。D B Sは、例えば、使用まで、プラスチック製の密封バッグ内、-80 $^{\circ}$ Cにおいて保管されうる。特定の実施形態において、全D B Sは、本開示のimmuno-SRMアッセイにおいて使用されうる。特定の実施形態において、D B Sに由来する、1つ以上の3mmパンチは、本開示のimmuno-SRMアッセイにおいて使用されうる。特定の実施形態において、D B Sは、50mMの重炭酸アンモニウム中に0.1%のTriton X-100により可溶化させうる。

【0050】

特定の実施形態において、本開示の方法において使用される試料は、口腔スワブ試料又は粘膜試料から得られた細胞を含む。特定の実施形態において、粘膜試料は、口腔試料、鼻腔試料、生殖器試料、及び直腸試料を含む（Espinosa-de Aquinoら（2017）、Methods in Ecology and Evolution、8：370～378）。特定の実施形態において、口腔スワブ試料は、頬又は口腔に由来する細胞を含む。特定の実施形態において、口腔スワブ試料は、以下：CHLA（2016年4月4日）、「Buccal Swab Collection Procedure」、CHLA-Clinical Pathology；同上（2016年7月27日）、「Buccal DNA Collection Instructions」、Pathway Genomics；（2017年12月14日）、「Instruction for Buccal Swab Sample Collection」、Otogenetics；PDXL（2017年11月28日）、「Buccal Swab collection procedure-Personalized Dx Labs」[Video]、YouTube、On World Wide Web：youtube/3ftvHkfM71o?t=146及びCenters of Disease Control and Prevention（CDC）（2020年7月8日）、「Interim Guidelines for collecting, handling, and testing clinical specimens for Covid-19」、On World Wide Web：cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.htmlに記載されているプロトコルに従い、対象から得られうる。

【0051】

特定の実施形態において、口腔スワブ試料は、以下のプロトコルにより、対象から得られうる。試料の回収の前に、患者は、少なくとも30分間にわたり、喫煙をしない、飲食をしない、ガムを噛まない、又はそれらの歯を磨かない。スワブは、先端部が、任意の

10

20

30

40

50

物体又は表面に接触しないことを確認ながら、パッケージから、注意深く取り出される。スワブは、口腔へと挿入され、頬、歯及び上歯肉の間の、口腔の一方の側へと配置される。スワブの先端部は、1つの頬の内側に押し当てられ、前後に、上下に、円を描くようにこすりつけられる。把持部は、全先端部を、頬に由来する細胞により覆うように、こする間回転させる。先端部が、回収工程において、歯、歯肉及び口唇に接触することは許容されない。スワブが、唾液により過飽和することは許容されない。回収の後、スワブは、歯、歯肉又は口唇に接触させずに、口腔から取り出される。スワブは、室温において、少なくとも30分間にわたり空気乾燥させる。把持部を除去されたスワブは、クライオジェニックバイアル内において保管されうる。ステップは、第2のスワブにより、反対側の頬において反復されうる。口腔スワブ試料は、回収後、2〜8℃において、72時間以下にわたり、又は、72時間を超える場合、冷凍庫内、−80℃以下において保管されうる。特定の実施形態において、口腔スワブによる細胞の回収は、少なくとも30秒間にわたりうる。特定の実施形態において、口腔スワブによる細胞の回収は、最大限の粘膜表面からなされうる。特定の実施形態において、対象1人当たり1〜5例の口腔スワブ試料が回収されうる。特定の実施形態において、口腔スワブ試料は、滅菌表面上において、少なくとも5分間、少なくとも10分間、少なくとも15分間、少なくとも20分間、少なくとも25分間、少なくとも30分間以上にわたり空気乾燥させうる。特定の実施形態において、対象は、試料回収の前に、それらの口腔を、清浄水によりすすぐことができる。特定の実施形態において、試料回収領域は、別個のスワブを使用して、生理食塩液により湿らせられる場合がある。特定の実施形態において、口腔スワブ試料は、25℃、20℃、15℃、10℃、5℃、0℃、−5℃、−10℃、−15℃、−20℃以下において保管されうる。特定の実施形態において、口腔スワブ試料は、−20℃において、1〜2週間にわたり保管されうる。特定の実施形態において、口腔試料は、スワブではなく、水及び／又は口腔洗浄液から回収されうる (Michalczykら (2004)、BioTechniques、37 (2) : 262〜269)。

10

20

30

40

50

【0052】

特定の実施形態において、口腔スワブに由来する細胞試料は、50mMの重炭酸アンモニウム中に0.1%のTriton X-100により可溶化させうる。特定の実施形態において、タンパク質は、Espinosade Aquinoら (2017) に記載されているプロトコルに従い、口腔スワブ試料から単離されうる。特定の実施形態において、口腔スワブに由来する細胞試料は、TRIzol (Thermo Fisher Scientific、Waltham、MA) など、適切な緩衝液により抽出される場合があり、核酸沈殿の後における上清は、タンパク質の抽出のために使用されうる。特定の実施形態において、タンパク質は、アセトンにより沈殿させる場合があり、タンパク質ペレットは、適切な緩衝液 (例えば、2.5%グリセロールを補充した95%エタノール中の塩酸グアニジン) 中に再懸濁させる場合があり、ペレットは、超音波処理により分散させる場合があり、ペレットは、遠心分離され洗浄される場合があり、ペレットは、乾燥させる場合があり、ペレットは、適切な緩衝液 (例えば、PBS及びドデシル硫酸ナトリウム) 中において可溶化させうる。特定の実施形態において、可溶化させたペレットは、100℃において加熱され、次いで、使用のための上清を得るように遠心分離されうる。

【0053】

特定の実施形態において、本開示の方法において使用される試料は、末梢血単核細胞 (PBMC) を含む。PBMCは、末梢血から生じ、骨髄中に常在する造血幹細胞 (HSC) に由来する。PBMCとは、核が球形の血液細胞であり、単球、リンパ球 (T細胞、B細胞及びNK細胞を含む)、樹状細胞及び幹細胞を含む、多くの種類の細胞を含みうる。PBMCは、密度勾配遠心分離 (例えば、Ficoll-Paque) 及び／又は白血球アフェレーシス (Kerfootら、Proteomics Clin Appl、2012、6 (7〜8) : 394〜402; Grievinkら (2016)、Biopreserv Biobank、14 (5) : 410〜415; Corkumら (2015)、BMC Immunol、16 : 48; Jiaら (2018)、Biopreserv

v Biobank、16(2):82~91)により単離されうる。密度勾配遠心分離は、細胞の密度により、細胞を分離する。特定の実施形態において、全血液又は軟膜層は、密度媒質の上又は下において、遠心分離後に、2つの層を混合せずに層状化されうる。特定の実施形態において、PBMCは、血漿と密度勾配媒質との界面における淡白色層であると考えられる。特定の実施形態において、Ficoll-Hypaque及びFicoll溶液を、採取される血液から分離するゲルプラグを含有する、Vacutainer(登録商標)採血チューブが使用されうる(細胞調製チューブ(CPT(商標)、BD Biosciences、San Jose、CA);Puleoら(2017)、Bio-protocol、7(2):e2103)。特定の実施形態において、遠心分離の前に、密度勾配媒質と試料とを混合せずに保つ挿入物を伴ってデザインされた、Sepmate(商標)チューブ(STEMCELL Technologies、Vancouver、CA)も使用されうる。白血球アフェレーシス器は、ドナーから全血液を採取し、高速遠心分離を使用して、血漿、赤血球及び顆粒球を含む残りの血液部分を、ドナーへと戻しながら、標的PBMC画分を分離する自動式デバイスである。特定の実施形態において、単離PBMCは、50mMの重炭酸アンモニウム中に0.1%のTriton X-100により可溶化させうる。

10

【0054】

特定の実施形態において、本開示の方法において使用される試料は、白血球(WBC)を含む。白血球としてもまた公知のWBCは、免疫系の一部であり、体内を、感染症及び外来の侵入者から保護する。特定の実施形態において、WBCは、顆粒球(多形核細胞)、リンパ球(単核細胞)及び単球(単核細胞)を含む。特定の実施形態において、単核細胞又は多形核細胞の富化は、抗体コンジュゲート磁気ビーズによる、特定の細胞型の陽性選択又は陰性選択を使用しうる(Zhouら(2012)、Clinical and Vaccine Immunology、19(7):1065~1074)。特定の実施形態において、WBCは、リンパ球及び単球を含むが、顆粒球を含まない。特定の実施形態において、WBCは、塩化アンモニウムなどの溶解試薬を使用して、赤血球を溶解させる工程により単離されうる。特定の実施形態において、単核WBCは、上記において記載された通り、密度勾配遠心分離により単離されうる。特定の実施形態において、単離WBCは、50mMの重炭酸アンモニウム中に0.1%のTriton X-100により可溶化させうる。

20

30

【0055】

(II)X-CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、SCID、ADA欠損症及びDOCK8欠損症についてのペプチドマーカー並びに二次ペプチドマーカーである、CD42、CD56、CD3ε及びCD3δ:理論的に、標的タンパク質からのタンパク質分解により生じるペプチドは多い。これらは、モノクローナル抗体作製のための、潜在的候補物質でありうる。しかしながら、最良の潜在的候補物質ペプチドは、MS/MSによるそれらの特徴のスクリーニングの後で選出された。対応するモノクローナル抗体を開発するように、感度及び特異度が最高度であるシグネチャーペプチドが選択され、臨床試料を使用して検証された。特定の実施形態において、immuno-SRMアッセイのスループットを増大させ、アッセイにより要求される費用及び時間を低減するように、マルチプレックス解析に、複数のペプチド及び抗体が組み入れられうる。

40

【0056】

典型的に、目的のタンパク質を化学量論的に表すように、目的のタンパク質に固有であり、MS実験において一貫して観察される、1つ又は2つのプロテオタイプシグネチャーペプチドが選択される(Mallikら、Nat Biotechnol、2007、25:125~131)。シグネチャーペプチドは、前出のMS実験における検出により選択される場合もあり、MSにより観察可能である可能性が最も高いペプチドを予測するコンピュータ解析用ツールの使用により選択される場合もあり、これらの両方の組合せにより選択される場合もある。特定の実施形態において、中程度の疎水性を伴い、5~22アミノ酸の長さのトリプシン消化ペプチドが選択されうる。極親水性ペプチド及び極疎水

50

性ペプチドは、HPLCにおける保持時間の変動及び表面への接触の喪失に起因して、安定性が低下しうる。特定の実施形態において、メチオニン残基（酸化）、N末端のグルタミン（環化）、アスパラギンに続くグリシン又はプロリン（脱アミド化しやすい）及び二塩基性末端（例えば、KK、KR、RR、RKなど、リシン又はアルギニン残基への近接は、消化効率の変動に対する潜在的可能性を有する）は、所望されない場合がある（Whiteaker及びPaulovich、Clin Lab Med.、2011、31（3）：385～396）。短鎖ペプチド及びプロリン残基を含有するペプチドは、SRMのためのよりよい標的でありうる（Langeら、Molecular Systems Biology、2008、4：222）。

【0057】

特定の実施形態において、ペプチドは、CYBB、SH2D1A（SAP）、PRF1、ATM、CD19、IL2RG、ADA、DOCK8、CD42、CD56、CD3ε、CD3δ又はこれらの組合せの部分を含む。特定の実施形態において、ペプチドは、図1に示された、配列番号1～15及び210～217を含む。

【0058】

特定の実施形態において、本開示の抗体の例示的CDR配列は、表1Aに示される。特定の実施形態において、本開示の抗体の例示的な重鎖可変（VH）ドメイン配列及び軽鎖可変（VL）ドメイン配列は、表1Bに示される。特定の実施形態において、本開示の例示的ペプチド及び例示的抗体の配列番号は、表1Cに示される。

【0059】

10

20

30

40

50

【表 2】

表 1A: 本開示の抗体の、例示的 CDR 配列

抗体/ 疾患又はマーカ ー	VH CDR	VL CDR
抗 CYBB509/X- CGD	CDR1: RSYWIC (配列番号 16) CDR2: CIYAGSSGTYASWAKG (配列番号 17) CDR3: GNNNIIILD (配列番号 18)	CDR1: QASQSVYNNALS (配列番号 19) CDR2: DASDLAP (配列番号 20) CDR3: LGGYSVSSDNA (配列番号 21)
抗 SH2D1A19/XLP1	CDR1: SYDMS (配列番号 160) CDR2: FGNTGGSTYYASWAKG (配列番号 161) CDR3: GAPGWITNM (配列番号 162)	CDR1: QSSQSVYRNKCLA (配列番号 163) CDR2: KASTLAS (配列番号 164) CDR3: VGGYNTNTNTTT (配列番号 165)
抗 PRF215/FHL2	CDR1: RHNMG (配列番号 34) CDR2: SISKKGKTYTTWAKG (配列番号 35) CDR3: LYSGSNGYETI (配列番号 36)	CDR1: QASQSVYDNNLA (配列番号 37) CDR2: DASKLAS (配列番号 38) CDR3: LGEFISSSGDCIV (配列番号 39)
抗 ATM1561/AT	CDR1: SGGMC (配列番号 52) CDR2: CIVNGDGSYFATWAKGR (配列番号 53) CDR3: YWAL (配列番号 54)	CDR1: QASESLYNNRLA (配列番号 55) CDR2: SASTLAS (配列番号 56) CDR3: VGGRSRVTDGIA (配列番号 57)
抗 CD19 41/CVID	CDR1: DYSIH (配列番号 70) CDR2: WINTETVEPAYAVDFRG (配列番号 71) CDR3: DYSREGVFDY (配列番号 72)	CDR1: KSSQSLFNSRTRKNYLA (配列番号 73) CDR2: WASTRES (配列番号 74) CDR3: KQSYNLPT (配列番号 75)
抗 ADA93/ ADA 欠損症	CDR1: NSDWEC (配列番号 82) CDR2: CIYGDSRSGYYASWAKGR (配列番号 83) CDR3: NLGSL (配列番号 84)	CDR1: QSSQNVVFNNRLA (配列番号 85) CDR2: QASTLAS (配列番号 86) CDR3: LGSYDCSSTDCNT (配列番号 87)
抗 DOCK8 1272/ Dock8 欠損症	CDR1: SYMMH (配列番号 100) CDR2: AIFPGNSNTRYNQKFKG (配列番号 101) CDR3: DNAFDY (配列番号 102)	CDR1: SASSSVSSRYLH (配列番号 103) CDR2: GTSNLSS (配列番号 104) CDR3: QQYHSDPFT (配列番号 105)
抗 CD42 128/ 血小板について のマーカ ー	CDR1: SYNIH (配列番号 112) CDR2: GIYPGNGDTSYNKFKD (S 配列番号 113) CDR3: DGTRY (配列番号 114)	CDR1: TSSQSLASDGKTYLN (配列番号 115) CDR2: LVSKLDS (配列番号 116) CDR3: WQGAHSPLT (配列番号 117)
抗 CD42 154/ 血小板について のマーカ ー	CDR1: GYNMH (配列番号 124) CDR2: DINPKTGENSEYNQKFKG (配列番号 125) CDR3: WGVYYLDH (配列番号 126)	CDR1: RSTKSLLYSDGITYLY (配列番号 127) CDR2: RMSDLAS (配列番号 128) CDR3: AQMVFPPT (配列番号 129)
抗 CD56 122/ NK 細胞について のマーカ ー	CDR1: SNYYMC (配列番号 136) CDR2: CIYSSSLNTWYASWAKGR (配列番号 137) CDR3: GGGVYVGADYGFYFY (配列番号 138)	CDR1: QASQSIDSWCA (配列番号 139) CDR2: KASTLES (配列番号 140) CDR3: QSYPTTGSDNA (配列番号 141)

【 0 0 6 0 】

10

20

30

40

50

【表 3】

表 1B: 本開示の抗体の、例示的な重鎖可変 (VH) ドメイン配列及び軽鎖可変 (VL) ドメイン配列

可変ドメイン	配列番号	アミノ酸配列
抗 CYBB 509 VH	27	QSLEESGGGLVKGASLTLTCTASGFSFSRSYWICWVRQAPGKGLEWL GCIYAGSSGSTYYASWAKGRFTISKTSSTTVTLQMTSLTAADTATYFCAR GNNNIILDLWGPGLVTVSS
抗 CYBB 509 VL	33	AVLTQTTPSPVSAAVGGTVTISCQASQSVYNNNALSWYQQKPGQPPKLLI YDASDLAPGVPSRFSGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCLGGYSVSSD NAFGGGTEVWVN
抗 SH2D1A 19 VH	173	QSLEESGGRLVTPGGTLTLCTVSGFSLSSYDMSWVRQAPGKGLEWIG FGNTGGSTYYASWAKGRFTISRTSTTVDLRMTSLTAADTATYFCTRGAP GWITTNMWGPGLVTVSL
抗 SH2D1A 19 VL	181	QVLTQTTPSPVSAAVGGTVTISCQSSQSVYRNKCLAWYQQKPGQPPKLLI YKASTLASGVPSRFSGSGSGTQFTFTISDLECDSDATYYCVGYNTNTN TTTFGGGTEVWVK
抗 PRF 215 VH	45	QSVEESGGRLVTPGGTLTLCTASGFSLSRHNMGWVRQAPGEGLEWIG SISSKGKTYTTWAKGRFTISKSTTVDLKITSPTTEDTATYFCARLYSGS NGYETIWGPGLVTVSL
抗 PRF 215 VL	51	ADVMTQTTPSPVSAAVGGTVTINCQASQSVYDNNNLAWYQQKPGQPP KLLIYDASKLASGVPSRFSGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCLGEFISS SGDCIVFGGGTEWVK
抗 ATM 1561 VH	63	QEQLVESGGGLVQPGGSLTLTKASGFDFSSGGMWVRQAPGKGLEW IGCIVNGDGSTYFATWAKGRFTITRTSSTTVTLQMTSLTAADTATYFCWR YWALWGPGLVTVSS
抗 ATM 1561 VL	69	IVMTQTSSKSVVGGTVTINCQASESLYNNRLAWFQQKPGQPPKLLIY SASTLASGVPPDRFSGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCVGGRSRVTDG IAFGGGTEAVVK
抗 CD19 41 VH	78	QIQLVQSGPELKKPGETVKISKASDYTFDYSIHWWKQAPGKGLKWLG WINTETVEPAYAVDFRGRFALSLET SANTAYLQINNKNEDAATYFCTRD YSREGVFDYWGQGTTLTVSS
抗 CD19 41 VL	81	DNVMSQSPSSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLFNSRTRKNYLAWYQQKPG QSPKLLVYWASTRESGVPPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQAEDLAVYYCKQ SYNLPTEFGAGTKLELK
抗 ADA 93 VH	93	QEQLVESGGDLVKPGSSSLTLCTASGFSFTNSDWECWVRQAPGKGLE WIACIYGDSRSGYYASWAKGRFTISKTSSTTVTLQMTTLTAADTATYFCA RNLGSLWGPGLVTVSS
抗 ADA 93 VL	99	QVLTQTSSVSAAVGGTVTINCQSSQNVVFNRLAWFQQKPGQPPKLLI YQASTLASGVPPRFKSGSGSGTQFTLTISDLECDSDAATYYCLGSYDCSST DCNTFGGGTEVWVK
抗 DOCK8 1272 VH	108	EVQLQQSGTVLARPASVKMSCKASGYTFTSYWMHWKQRPQGGL WIGAIFPGNSNTRYNQFKGKAKLTAVTSASTAYMELSSLTNEDSA VYYC ADDNAFDYWGQGTTLTVSS
抗 DOCK8 1272 VL	111	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSSRYLHWYQQKSGASPKLWI YGTSNLSSGVPPDRFSGSGSGTSYSLTISSVETEDAATYYCQYHSDPFT FGTGKLEIK
抗 CD42 128 VH	120	QAYLQQSGAVLVRPGASVKMSCKASGYTFSSYNIHWWKQTPRQGLEWI GGIYPGNGDTSYNKKFKDKATLTVDKSSNTAYMHLSSLTSEDSAVFFCA SDGTRYWGQGTTLTVSS
抗 CD42 128 VL	123	EVVMTQTPLTSLVITGQAVSISCTSSQSLLASDGKTYLNWLLQRPQGSPK RLIYLVSKLDGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEADDLGVYCCWQGAHS PLTFGAGTRLELK

10

20

30

40

50

抗 CD42 154 VH	132	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTGYNMHWVKQSHGKSLEW IGDINPKTGENSEYNQKFKGKATLTISKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCV WGVYYLDHWGQGTTTLTVSS
抗 CD42 154 VL	135	DIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCRSTKSLLYSDGITYLYWYLQRPQGSPQ LLIYRMSDLASGVDPDRFSGSGSGTDFTLRISRVEAEDVGVYYCAQMVEF PPTFGGGTKLEIK
抗 CD56 122 VH	147	QSLEESGGDLVKPGASLTLTCKASGLDFSSNYMCWVRQAPGKGLEWI ACIYSSSLNTWYASWAKGRFTISKSTSLHTVTLQMTSLTAADTATYFCTR GGGVYVGADYGFYFYLWGPGLTVTVSS
抗 CD56 122 VL	153	ADIVMTQTPSSVEAPVGGTVTIKCQASQSIDSWCAWYQQKPGQPPKLLI YKASTLESGVPSRFKSGSGTEFTLTISDLECAADAATYFCQSYPTTGSD NAFGGGTEVVK

10

20

30

40

50

【 0 0 6 1 】

【表 4】

表 10: 本開示の例示的ペプチド及び例示的抗体についての配列番号

疾患及び/又は標的細胞	標的タンパク質	ペプチド配列番号	配列番号			
			VH CDR	VL CDR	重鎖 VH ドメイン	軽鎖 VL ドメイン
X 連鎖慢性肉芽腫症 (X-CGD)	CYBB	CYBB 131-147 配列番号 1				
		CYBB 509-521 配列番号 2	16-18	19-21	<u>22-24, 182</u> <u>25-27, 183</u>	<u>28-30, 184</u> <u>31-33, 185</u>
X 連鎖リンパ増殖性症候群 1 (XLP1)	SAP	SH2D1A 19-32 配列番号 3	160-162	163-165	<u>166, 167, 168, 169</u> <u>170, 171, 172, 173</u>	<u>174, 175, 176, 177</u> <u>178, 179, 180, 181</u>
		SH2D1A 110-118 配列番号 4				
家族性血球貪食性リンパ組織球増多症 (FHL2)	PRF-1	PRF 215-225 配列番号 5	34-36	37-39	<u>40-42, 186</u> <u>43-45, 187</u>	<u>46-48, 188</u> <u>49-51, 189</u>
		PRF 441-449 配列番号 6				
毛細血管拡張性運動失調症	ATM	ATM 798-805 配列番号 210				
		ATM 1544-1550 配列番号 211				
		ATM 1561-1572 配列番号 7	52-54	55-57	<u>58-60, 190</u> <u>61-63, 191</u>	<u>64-66, 192</u> <u>67-69, 193</u>
分類不能型免疫不全症 (CVID)	CD19	CD19 41-54 配列番号 8	70-72	73-75	<u>76-78, 194</u>	<u>79-81, 195</u>
		CD19 55-63 配列番号 212				
		CD19 210-220 配列番号 9				
		CD19 505-514 配列番号 10				
重症複合免疫不全症 (SCID)	IL2RG	IL2RG 295-315 配列番号 213				
SCID	IL2RG	IL2RG 316-328 配列番号 214				

10

20

30

40

50

疾患及び/又は標的細胞	標的タンパク質	ペプチド 配列番号	VH CDR	VL CDR	配列番号	
					重鎖 VH ドメイン	軽鎖 VL ドメイン
SCID 及び T 細胞	CD3ε	CD3 ε 74-85 配列番号 215				
	CD3δ	CD3 δ 24-32 配列番号 216				
	CD3δ	CD3 δ 133-144 配列番号 217				
アデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損症	ADA	ADA 93-101 配列番号 11	82-84	85-87	<u>88-90, 196</u>	<u>94-96, 198</u>
					<u>91-93, 197</u>	<u>97-99, 199</u>
DOCK8 欠損症	DOCK8	Dock8 1272-1283 配列番号 12	100-102	103-105		
					<u>106-108, 200</u>	<u>109-111, 201</u>
血小板(二次マーカー)	CD42	CD42 128-137 配列番号 13	112-114	115-117		
					<u>118-120, 202</u>	<u>121-123, 203</u>
		CD42 154-165 配列番号 14	124-126	127-129		
					<u>130-132, 204</u>	<u>133-135, 205</u>
ナチュラルキラー(NK)細胞 (二次マーカー)	CD56	CD56 122-130 配列番号 15	136-138	139-141	<u>142-144, 206</u>	<u>148-150, 208</u>
					<u>145-147, 207</u>	<u>151-153, 209</u>

*下線を付された配列番号は、ヌクレオチド配列を表示する。下線を付されていない配列番号は、アミノ酸配列を表示する。

【 0 0 6 2 】

(I I I) 生物学的試料中のタンパク質の、酵素による消化： D B S 中、口腔スワブに由来する細胞試料中、 P B M C 内又は W B C 内のタンパク質は、 L C - S R M - M S による解析の前に、免疫親和性精製により、さらに選択されうるペプチドを作製するように、タンパク質分解にかけられうる。タンパク質分解は、ペプシン、 a r g - C プロテイナーゼ、 a s p - N エンドペプチダーゼ、 B N P S - スカトール、カスパーゼ 1、カスパーゼ 2、カスパーゼ 3、カスパーゼ 4、カスパーゼ 5、カスパーゼ 6、カスパーゼ 7、カスパーゼ 8、カスパーゼ 9、カスパーゼ 10、キモトリプシン、クロストリパイン（クロストリジオペプチダーゼ B）、エンテロキナーゼ、第 X a 因子、グルタミルエンドペプチダーゼ、グランザイム B、 l y s C、プロリン-エンドペプチダーゼ、プロテイナーゼ K、ブドウ球菌ペプチダーゼ I、テルモリシン、トロンビン及びトリプシンなどの部位特異的エンドプロテアーゼを使用して達せられうる。特異的に部位を切断する化学物質もまた使用されうる。酵素及び/又は化学物質の組合せは、所望の解析物を得るのに使用されうる。

【 0 0 6 3 】

特定の実施形態において、 D B S 中、口腔スワブに由来する細胞試料中、 P B M C 内又は W B C 内のタンパク質は、トリプシンにより、ペプチドへと消化されうる。トリプシンは、作出されるペプチドの質量は、大半の質量分析計（ 2 0 0 0 m / z 以下）の検出能力と適合性であり、理論的なトリプシン作出ペプチドのデータベースの作成のために、効率的アルゴリズムが利用可能であるため、 C 末端を、もっぱら、アルギニン残基及びリシン

残基へと切断し、ペプチドを作出するのに好ましい選択でありうる。高度な切断特異性、アベイラビリティ及び低廉さは、トリプシンの他の利点である。トリプシンによるタンパク質の処理により形成されるペプチドは、トリプシン消化ペプチドとして公知である。

【0064】

(I V) ペプチドマーカを富化する抗体：抗体は、天然であれ、部分的に合成により作製されたのであれ、完全に合成により作製されたのであれ、1つ以上の免疫グロブリン遺伝子又はこれらの断片により実質的にコードされたポリペプチドリガンドを含む。抗体は、エピトープ（例えば、抗原）に、特異的に（又は選択的に）結合し、これを認識する。抗体は、免疫グロブリンの結合性ドメインと相同である、又は大部分が相同である結合性ドメインを有する、任意のタンパク質を含みうる。抗体は、モノクローナル抗体の場合もあり、ポリクローナルの場合もある。抗体は、ヒトクラス：I g G、I g M、I g A、I g D及びI g Eなどのうちのいずれかを含む、任意の免疫グロブリンクラスのメンバーでありうる。認知された免疫グロブリン遺伝子は、軽鎖定常領域遺伝子である、カッパ及びラムダ、重鎖定常領域遺伝子である、アルファ、ガンマ、デルタ、イプシロン及びミュー並びに無数の免疫グロブリン可変領域遺伝子を含む。抗体の「F c」部分とは、1つ以上の重鎖定常領域ドメインである、C H 1、C H 2及びC H 3を含むが、重鎖可変領域を含まない、免疫グロブリン重鎖の部分を目指す。

【0065】

無傷抗体は、ジスルフィド結合により相互接続された、少なくとも2つの重（H）鎖と、2つの軽（L）鎖とを含みうる。各重鎖は、重鎖可変領域（本明細書において、V H又はV_Hと略記される）と、重鎖定常領域とから構成される。重鎖定常領域は、3つのドメインである、C H 1、C H 2、及びC H 3を含む。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書において、V L又はV_Lと略記される）と、軽鎖定常領域とから構成される。軽鎖定常領域は、1つのドメインである、C Lを含む。V H領域及びV L領域は、より保存的な、フレームワーク領域（F R）と称される領域を散在させた、超可変性を有する、相補性決定領域（C D R）と称される領域へと、さらに細分されうる。各V H及び各V Lは、アミノ末端から、カルボキシ末端へと、以下の順序：F R 1、C D R 1、F R 2、C D R 2、F R 3、C D R 3、F R 4において配置された、3つのC D Rと、4つのF Rとから構成される。重鎖及び軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する、結合性ドメインを含有する。抗体の定常領域は、免疫系の多様な細胞（例えば、エフェクター細胞）、及び古典的補体系の第1成分（C 1 q）を含む、宿主組織又は因子への、免疫グロブリンの結合を媒介しうる。

【0066】

所与のC D R又はF Rの、正確なアミノ酸配列の境界は、K a b a tら（1991）「Sequences of Proteins of Immunological Interest,」、5版、Public Health Service、National Institutes of Health、Bethesda、Md.（K a b a tによる番号付けスキーム）；A l -L a z i k a n iら（1997）、J Mol Biol 273：927～948（C h o t h i aによる番号付けスキーム）；M a c c a l l u mら（1996）、J Mol Biol 262：732～745（C o n t a c tによる番号付けスキーム）；M a r t i nら（1989）、Proc. Natl. Acad. Sci.、86：9268～9272（A b Mによる番号付けスキーム）；L e f r a n c M Pら（2003）、Dev Comp Immunol、27（1）：55～77（I M G Tによる番号付けスキーム）並びにH o n e g g e r及びP l u c k t h u n（2001）、J Mol Biol、309（3）：657～670（「A h o」による番号付けスキーム）により記載されているスキームを含む、多数の周知のスキームのいずれかを使用して、たやすく決定されうる。所与のC D R又はF Rの境界は、同定のために使用されたスキームに応じて変動しうる。例えば、K a b a tスキームが、構造アライメントに基づくのに対し、C h o t h i aスキームは、構造情報に基づく。番号付けは、K a b a tによるスキーム及びC h o t h i aによるスキームのいずれについて

も、挿入文字、例えば、「30アミノ酸」により調整される挿入及び一部の抗体内に現れる欠失を伴う、最も一般的な抗体領域の配列長に基づく。2つのスキームは、ある特定の挿入及び欠失（「インデル」）を、異なる位置に配置する結果として、示差的な番号付けをもたらす。Contactスキームは、複合体の結晶構造についての解析に基づき、多くの点において、Chothiaによる番号付けスキームと同様である。特定の実施形態において、本明細書において開示された抗体のCDR配列は、Kabattによる番号付けに従う。

【0067】

抗体断片は、全長未満である、抗体の任意の誘導体又は部分を含む。特定の実施形態において、抗体断片は、全長抗体の、結合パートナーとしての特異的結合能のうちの少なくとも重要部分を保持する。抗体断片の例は、Fab断片、Fab'断片、Fab'-SH断片、F(ab')₂断片、単鎖可変断片(scFv)、Fv断片、dsFv断片ダイアボディー及びFd断片並びに／又は本明細書において記載されたエピトープに特異的に結合する、免疫グロブリンの、任意の生物学的に有効な断片を含む。抗体又は抗体断片は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、合成抗体、キメラ抗体、二特異性抗体、ミニボディー及び直鎖状抗体の全部又は一部を含む。

10

【0068】

単鎖可変断片(scFv)とは、短いリンカーペプチドにより接続された、免疫グロブリンの、重鎖及び軽鎖の可変領域の融合タンパク質である。Fv断片は、抗体の単一のアームの、VLドメイン及びVHドメインを含む。Fv断片の2つのドメインである、VL及びVHは、別個の遺伝子によりコードされるが、例えば、組換え法を使用して、VL領域と、VH領域とが対合して、一価分子（単鎖Fv(scFv)）を形成する、単一のタンパク質鎖となることを可能とする合成リンカーにより接合されうる。Fv及びscFvに関する、さらなる情報について、例えば、Birdら、Science、242(1988)、423～426；Hustonら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、85(1988)、5879～5883；Plueckthun、「The pharmacology of Monoclonal Antibodies」、113巻、Rosenburg及びMoore（編）、Springer-Verlag、New York(1994)、269～315；WO1993/16185；米国特許第5,571,894号並びに米国特許第5,587,458号を参照されたい。

20

30

【0069】

Fab断片とは、VLドメイン、VHドメイン、CLドメイン及びCH1ドメインを含む一価抗体断片である。F(ab')₂断片とは、ヒンジ領域において、ジスルフィド架橋により連結された、2つのFab断片を含む、二価断片である。インビボにおける半減期を延長した、Fab断片及びF(ab')₂断片の議論については、米国特許第5,869,046号を参照されたい。ダイアボディーは、二価でありうる、2つのエピトープ結合性部位を含む。例えば、EP0404097；WO1993/01161及びHolligerら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、90(1993)、6444～6448を参照されたい。二重親和性再標的化抗体(DART(商標)；ダイアボディーフォーマットに基づくが、さらなる安定性のために、C末端のジスルフィド架橋を特徴とする(Mooreら、Blood、117、4542～51(2011))もまた、使用されうる。抗体断片はまた、単離CDRも含みうる。抗体断片の総説について、Hudsonら、Nat. Med.、9(2003)、129～134を参照されたい。

40

【0070】

抗体断片は、任意の手段により作製されうる。例えば、抗体断片は、無傷抗体の断片化により、酵素的に、又は化学的に作製される場合もあり、部分的抗体配列をコードする遺伝子から、組換えにより作製される場合もある。代替的に、抗体断片は、完全に、又は部分的に合成により作製される場合もある。抗体断片は、単鎖抗体断片を含みうる。別の実施形態において、断片は、例えば、ジスルフィド連結により、一体に連結された、複数の

50

鎖を含みうる。断片はまた、多分子複合体も含みうる。機能的抗体断片は、典型的に、少なくとも50アミノ酸を含む場合があり、より典型的に、少なくとも200アミノ酸を含む。

【0071】

特定の実施形態において、組換え免疫グロブリンが作製されうる。Cabilly、US 4,816,567及びQueenら、Proc Natl Acad Sci USA、86:10029~10033 (1989)を参照されたい。

【0072】

指し示される通り、特定の実施形態において、操作抗体又は抗原結合性断片の結合性ドメインは、リンカーを介して接合されうる。リンカーとは、操作抗体又は抗原結合性断片の結合性ドメインの間において、可撓性及びコンフォメーション運動の余地をもたらさるアミノ酸配列である。任意の適切なリンカーが使用されうる。リンカーの例は、Chenら、Adv Drug Deliv Rev.、2013年10月15日、65(10):1357~1369において見出されうる。リンカーは、標的への、所望の機能的なドメインの提示に応じて、可撓性の場合もあり、非可撓性の場合もあり、半可撓性の場合もある。一般に使用される可撓性リンカーは、GGSGGGSGGGSG(配列番号154)、GGSGGGSGGGSG(配列番号155)及びGGSGGGSGGGSG(配列番号156)などのGly-Serリンカーを含む。さらなる例は、GGGGSGGGGGSG(配列番号157);GGGGSGGGGGSG(配列番号158)及びGGSGGGSGGGSG(配列番号159)を含む。CH3単独又はCH2CH3配列など、1つ以上の抗体ヒンジ領域及び／又は免疫グロブリン重鎖定常領域を含むリンカーもまた使用されうる。

【0073】

一部の状況において、可撓性リンカーは、特定の使用に必要とされる、結合性ドメインの距離又は配置を維持することができない。これらの場合、非可撓性又は半可撓性リンカーは、有用でありうる。非可撓性リンカー又は半可撓性リンカーの例は、プロリンリッチリンカーを含む。特定の実施形態において、プロリンリッチリンカーとは、偶然だけに基つき期待されるより多くのプロリン残基を有するペプチド配列である。特定の実施形態において、プロリンリッチリンカーとは、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも36%、少なくとも39%、少なくとも40%、少なくとも48%、少なくとも50%又は少なくとも51%のプロリン残基を有するリンカーである。プロリンリッチリンカーの特定の例は、プロリンリッチ唾液タンパク質(PRP)の断片を含む。

【0074】

当業者により、抗体は、様々な翻訳後修飾を受ける場合があることもまた理解される。これらの修飾の種類及び程度は、しばしば、抗体を発現させるのに使用される宿主細胞系のほか、培養条件に依存する。このような修飾は、グリコシル化の変動、メチオニン酸化、ジケトピペラジンの形成、アスパラギン酸の異性体化及びアスパラギンの脱アミド化を含みうる。

【0075】

モノクローナル抗体は、実質的に均一な抗体の集団から得られた抗体を含む、すなわち、モノクローナル抗体の作製時に発生しうる、可能な変異体であって、一般に、少量で存在する、このような変異体を除き、集団を構成する個々の抗体は、同一であり、かつ／又は同じエпитープに結合する。異なる決定基(エпитープ)に対して方向付けられた、異なる抗体を典型的に含む、ポリクローナル抗体調製物と対照的に、各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対して方向付けられている。この種の抗体は、単一の抗体産生ハイブリドーマの娘細胞により産生される。モノクローナル抗体は、典型的に、それが結合する、いかなるエпитープに対しても、単一の結合親和性を提示する。

【0076】

「モノクローナル」という修飾語は、均一の抗体集団から得られた抗体の性格を指し示し、任意の特定の方法による抗体の作製を要求するとは考えられない。モノクローナル抗体は、1つの種類の抗原だけを認識する。本明細書におけるモノクローナル抗体は、重鎖

及び／又は軽鎖の部分が、特定の種に由来する、又は特定の抗体クラス若しくはサブクラスに属する抗体内の、対応する配列と同一である、又はこれらと相同であるのに対し、鎖の残りの部分は、別の種に由来する、又は別の抗体クラス若しくはサブクラスに属する抗体内の、対応する配列並びにこのような抗体の断片と同一である、又はこれらと相同である、「キメラ」抗体（免疫グロブリン）を含む。当技術分野において、抗体を作製するための技法が周知であり、例えば、Harlow及びLane、「Antibodies, A Laboratory Manual」、Cold Spring Harbor Laboratory Press、1988；Harlow及びLane、「Using Antibodies: A Laboratory Manual」Cold Spring Harbor Laboratory Press、1999；Ticklerら、JALA: Journal of the Association for Laboratory Automation、2009、14（5）：303～307；Babcookら、Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.、1996、93：7843～7848並びにUS5,627,052において記載されている。
【0077】

特定の実施形態において、「親和性」とは、分子（例えば、抗体）の、単一の結合性部位と、その結合パートナー（例えば、抗原）との、非共有結合的相互作用の総計の強度を指す。そうでないことが指し示されない限りにおいて、本明細書において使用された、「結合親和性」とは、結合対のメンバー（例えば、抗体及びペプチド）の間の、1：1の相互作用を反映する、内因性の結合親和性を指す。分子Xの、そのパートナーYに対する親和性は、一般に、解離定数（ K_D ）又は会合定数（ K_A ）により表されうる。親和性は、当技術分野で公知の、一般的な方法により測定されうる。

【0078】

特定の実施形態において、「～に結合する」とは、抗体の結合性ドメインが、その標的ペプチドと、 10^{-8} M以下、特定の実施形態において、 10^{-5} M～ 10^{-13} M、特定の実施形態において、 10^{-5} M～ 10^{-10} M、特定の実施形態において、 10^{-5} M～ 10^{-7} M、特定の実施形態において、 10^{-8} M～ 10^{-13} M又は、特定の実施形態において、 10^{-9} M～ 10^{-13} Mの解離定数（ K_D ）により会合することを意味する。用語はさらに、結合性ドメインが、存在する、他の生体分子に結合しない（例えば、他の生体分子に、 10^{-4} M以上、特定の実施形態において、 10^{-4} M～1 Mの解離定数（ K_D ）により結合する）ことを指し示すのにも使用されうる。

【0079】

特定の実施形態において、「～に結合する」とは、抗体の結合性ドメインが、その標的ペプチドと、 10^7 M $^{-1}$ 以上、特定の実施形態において、 10^5 M $^{-1}$ ～ 10^{13} M $^{-1}$ 、特定の実施形態において、 10^5 M $^{-1}$ ～ 10^{10} M $^{-1}$ 、特定の実施形態において、 10^5 M $^{-1}$ ～ 10^8 M $^{-1}$ 、特定の実施形態において、 10^7 M $^{-1}$ ～ 10^{13} M $^{-1}$ 又は、特定の実施形態において、 10^7 M $^{-1}$ ～ 10^8 M $^{-1}$ の親和性定数（すなわち、会合定数である K_A ）により会合することを意味する。用語はさらに、結合性ドメインが、存在する、他の生体分子に結合しない（例えば、他の生体分子に、 10^4 M $^{-1}$ 以下、特定の実施形態において、 10^4 M $^{-1}$ ～1 M $^{-1}$ の会合定数（ K_A ）により結合する）ことを指し示すのにも使用されうる。

【0080】

本開示の抗体は、X-CGD、XLP1、FHL2、毛細血管拡張性運動失調症、CVID、SCID、ADA欠損症及びDOCK8欠損症の診断及び二次ペプチドマーカーである、CD42、CD56、CD3ε及びCD3δの評価のために、SRMアッセイにおいて検出される本明細書において記載されているペプチドの、免疫親和性富化のために使用されうる。特定の実施形態において、CD3ε及びCD3δは、SCIDを診断するための一次マーカーとして使用されうる。高親和性抗体についての、特定の実施形態は、抗CYBB131、抗CYBB509、抗SH2D1A19、抗SH2D1A110、抗PRF215、抗PRF441、抗ATM798、抗ATM1544、抗ATM1561、

抗CD19 41、抗CD19 55、抗CD19 210、抗CD19 505、抗IL2RG295、抗IL2RG316、抗ADA93、抗Dock8 1272、抗CD42 128、抗CD42 154、抗CD56 122、抗CD3ε74、抗CD3δ24及び抗CD3δ133を含む。

【0081】

特定の実施形態において、例示的抗体は、表1A～1C及び図11に提示された配列番号の、VH CDR、重鎖、VHドメイン、LH CDR、軽鎖及びVLドメインを含む。

【0082】

特定の実施形態において、例示的抗体は、リーダー配列を伴う、重鎖コード配列又は軽鎖コード配列を含む。特定の実施形態において、例示的抗体は、リーダー配列を伴う、重鎖可変ドメインコード配列又は軽鎖可変ドメインコード配列を含む。特定の実施形態において、例示的抗体は、リーダーペプチドを伴う、重鎖アミノ酸配列又は軽鎖アミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、例示的抗体は、リーダーペプチドを伴わない、重鎖アミノ酸配列又は軽鎖アミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、例示的抗体は、リーダーペプチドを伴う、重鎖可変ドメインアミノ酸配列又は軽鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、例示的抗体は、リーダーペプチドを伴わない、重鎖可変ドメインアミノ酸配列又は軽鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む。

【0083】

(V) 変異体：本明細書において開示され、言及される配列の変異体もまた含まれる。機能的変異体は、タンパク質の生理学的効果に実質的に影響を与えない、1つ以上の残基の付加又は置換を含む。機能的断片は、タンパク質の生理学的効果に実質的に影響を与えない、1つ以上の欠失又は切断を含む。実質的な影響の欠如は、結合研究において、同等な結果を、実験により観察することにより確認されうる。結合性ドメインの機能的変異体及び機能的断片は、それらのコグネイト抗原又はリガンドに、野生型参照と同等なレベルにおいて結合する。

【0084】

どのアミノ酸残基が、生物学的活性を消失させずに置換されうるのか、挿入されうるのか、又は欠失されうるのかを決定する指針は、DNASTAR（商標）(Madison、Wisconsin)ソフトウェアなど、当技術分野において周知のコンピュータプログラムを使用して見出されうる。好ましくは、本明細書において開示されたタンパク質変異体内のアミノ酸変化は、保存的アミノ酸変化、すなわち、同様な帯電アミノ酸又は非帯電アミノ酸の置換である。保存的アミノ酸変化は、それらの側鎖において類縁のアミノ酸のファミリーの1つの置換を伴う。

【0085】

ペプチド又はタンパク質において、当業者には、アミノ酸の適切な保存的置換が公知であり、一般に、結果として得られる分子の生物学的活性を変更せずになされる。当業者は、一般に、ポリペプチドの非必須領域における、単一のアミノ酸置換は、生物学的活性を、実質的に変更しないことを認識する（例えば、Watsonら、「Molecular Biology of the Gene」、4版、1987、The Benjamin/Cummings Pub. Co.、224頁を参照されたい）。自然発生のアミノ酸は一般に、以下の保存的置換ファミリー：群1：アラニン（Ala）、グリシン（Gly）、セリン（Ser）及びトレオニン（Thr）；群2：（酸性）：アスパラギン酸（Asp）及びグルタミン酸（Glu）；群3：（酸性；極性残基、負帯電残基及びこれらのアミドとしてもまた分類される）：アスパラギン（Asn）、グルタミン（Gln）、Asp及びGlu；群4：Gln及びAsn；群5：（塩基性；極性残基、正帯電残基としてもまた分類される）：アルギニン（Arg）、リシン（Lys）及びヒスチジン（His）；群6（大型脂肪族、非極性残基）：イソロイシン（Ile）、ロイシン（Leu）、メチオニン（Met）、バリン（Val）及びシステイン（Cys）；群7（非帯電極性）：チロシン（Tyr）、Gly、Asn、Gln、Cys、Ser及びThr；群8（大型芳香族残基）：フェニルアラニン（Phe）、トリプトファン（Trp）及びT

10

20

30

40

50

yr ; 群 9 (非極性) : プロリン (Pro)、Ala、Val、Leu、Ile、Phe、Met 及び Trp ; 群 11 (脂肪族) : Gly、Ala、Val、Leu 及び Ile ; 群 10 (小型脂肪族、非極性又は微弱極性残基) : Ala、Ser、Thr、Pro 及び Gly 並びに 群 12 (硫黄含有) : Met 及び Cys へと分けられる。さらなる情報は、Creighton (1984)、「Proteins」、W. H. Freeman and Company において見出される。

【0086】

このような変化を施す場合、アミノ酸の疎水性指数が検討される。当技術分野において、相互作用性生物学的機能の、タンパク質への付与における、アミノ酸の疎水性指数の重要性は、一般に理解されている (Kyte 及び Doolittle、1982、J. Mol. Biol.、157 (1)、105~32)。各アミノ酸は、その疎水性特徴及び電荷特徴に基づき、疎水性指数が割り当てられている (Kyte 及び Doolittle、1982)。これらの値は、Ile (+4.5) ; Val (+4.2) ; Leu (+3.8) ; Phe (+2.8) ; Cys (+2.5) ; Met (+1.9) ; Ala (+1.8) ; Gly (-0.4) ; Thr (-0.7) ; Ser (-0.8) ; Trp (-0.9) ; Tyr (-1.3) ; Pro (-1.6) ; His (-3.2) ; グルタミン酸 (-3.5) ; Gln (-3.5) ; アスパラギン酸 (-3.5) ; Asn (-3.5) ; Lys (-3.9) 及び Arg (-4.5) である。

【0087】

ある特定のアミノ酸は、同様の疎水性指数又は疎水性スコアを有する、他のアミノ酸により置換され、なおかつ、同様の生物学的活性を有するタンパク質を結果としてもたらしうる、すなわち、生物学的、機能的に同等なタンパク質を得ることが当技術分野において公知である。このような変化を施す場合、それらの疎水性値が±2以内のアミノ酸置換が好ましく、それらの疎水性値が±1以内の置換が、特に好ましく、それらの疎水性値が±0.5以内の置換が、なおより特に好ましい。類似のアミノ酸による置換が、親水性に基づき、効果的になされうることまた当技術分野において理解される。

【0088】

米国特許第 4, 554, 101 号において詳述されている通り、以下の親水性値 : Arg (+3.0) ; Lys (+3.0) ; アスパラギン酸 (+3.0±1) ; グルタミン酸 (+3.0±1) ; Ser (+0.3) ; Asn (+0.2) ; Gln (+0.2) ; Gly (0) ; Thr (-0.4) ; Pro (-0.5±1) ; Ala (-0.5) ; His (-0.5) ; Cys (-1.0) ; Met (-1.3) ; Val (-1.5) ; Leu (-1.8) ; Ile (-1.8) ; Tyr (-2.3) ; Phe (-2.5) ; Trp (-3.4) が、アミノ酸残基へと割り当てられている。アミノ酸は、同様の親水性値を有する別のアミノ酸により置換され、なおかつ、生物学的に同等であり、特に、免疫学的に同等なタンパク質を得ることが理解される。このような変化において、それらの親水性値が±2以内のアミノ酸置換が好ましく、それらの親水性値が±1以内の置換が、特に好ましく、それらの親水性値が±0.5以内の置換が、なおより特に好ましい。

【0089】

上記において概括された通り、アミノ酸置換は、アミノ酸側鎖置換基の相対的類似性、例えば、それらの疎水性、親水性、電荷、サイズなどに基づきうる。

【0090】

特定の実施形態において、結合性ドメインの VH 領域は、公知の抗体又は本明細書において開示された抗体の VH に由来しうる、又はこれらに基づく場合があり、任意選択的に、公知の抗体又は本明細書において開示された抗体の VH と比較された場合に、1つ以上の (例えば、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、10の) 挿入、1つ以上の (例えば、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、10の) 欠失、1つ以上の (例えば、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、10の) アミノ酸置換 (例えば、保存的アミノ酸置換又は非保存的アミノ酸置換) 又は上記において言及された変化の組合せを含有しうる。挿入、欠失又は置換は、各 CDR が、変化を含まない、

10

20

30

40

50

又は1つ、2つ若しくは3つ以下の変化を含み、修飾VH領域を含有する結合性ドメインが、その標的に、野生型の結合性ドメインと同様の親和性により、特異的に結合しうることを条件として、この領域の、アミノ末端若しくはカルボキシ末端又は両末端を含む、VH領域内のいずれかの位置に存在しうる。

【0091】

特定の実施形態において、結合性ドメイン内のVL領域は、公知の抗体又は本明細書において開示された抗体のVLに由来する、又はこれらに基づき、任意選択的に、公知の抗体又は本明細書において開示された抗体のVLと比較された場合に、1つ以上の（例えば、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、10の）挿入、1つ以上の（例えば、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、10の）欠失、1つ以上の（例えば、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、10の）アミノ酸置換（例えば、保存的アミノ酸置換）又は上記において言及された変化の組合せを含有する。挿入、欠失又は置換は、各CDRが、変化を含まない、又は1つ、2つ若しくは3つ以下の変化を含み、修飾VL領域を含有する結合性ドメインが、その標的に、野生型の結合性ドメインと同様の親和性により、特異的に結合しうることを条件として、この領域の、アミノ末端若しくはカルボキシ末端又は両末端を含む、VL領域内のいずれかの位置に存在しうる。

10

【0092】

別の箇所において指し示された通り、遺伝子配列の変異体は、コードされる産物の機能に、統計学的に有意な程度において影響を及ぼさない、コドン最適化変異体、配列多型、スプライス変異体及び／又は突然変異を含むうる。

20

【0093】

タンパク質配列、核酸配列及び遺伝子配列の変異体はまた、本明細書において開示されたタンパク質配列、核酸配列及び遺伝子配列に対する、少なくとも70%の配列同一性、80%の配列同一性、85%の配列同一性、90%の配列同一性、95%の配列同一性、96%の配列同一性、97%の配列同一性、98%の配列同一性又は99%の配列同一性を有する配列も含む。

【0094】

「配列同一性%」とは、配列を比較することにより決定された、2つ以上の配列の間の関係を指す。当技術分野において、「同一性」とはまた、このような配列の連なりの間のマッチにより決定された、タンパク質配列、核酸配列又は遺伝子配列の間の配列類縁性の程度も意味する。「同一性」（「類似性」と称されることが多い）は、「Computational Molecular Biology」（Lesk, A. M. 編）、Oxford University Press、NY（1988）；「Biocomputing: Informatics and Genome Projects」（Smith, D. W. 編）、Academic Press、NY（1994）；「Computer Analysis of Sequence Data」、I部（Griffin, A. M. 及びGriffin, H. G. 編）、Humana Press、NJ（1994）；「Sequence Analysis in Molecular Biology」（Von Heijne, G. 編）、Academic Press（1987）及び「Sequence Analysis Primer」（Gribnikov, M. 及びDevereux, J. 編）、Oxford University Press、NY（1992）において記載された方法を含む（がこれらに限定されない）、公知の方法により、たやすく計算されうる。同一性を決定する、好ましい方法は、被験配列の間の最も良好なマッチをもたらすようにデザインされる。同一性及び類似性を決定する方法は、一般に入手可能なコンピュータプログラムにおいてコード化されている。配列アライメント及び同一性パーセントの計算は、LASERGENEバイオインフォマティクス計算スイート（DNASTAR, Inc.、Madison、Wisconsin）の、Megalignプログラムを使用して実施されうる。配列の多重アライメントもまた、Clustalアライメント法（Higgins及びSharp、CABIOS、5、

30

40

50

151～153 (1989)) を、デフォルトのパラメータ (ギャップペナルティー=10、ギャップ長ペナルティー=10) により使用して実施されうる。関与性のプログラムはまた、GCG プログラムスイート (Wisconsin Package Version 9.0、Genetics Computer Group (GCG)、Madison、Wisconsin) ; BLASTP、BLASTN、BLASTX (Altschulら、J. Mol. Biol.、215:403～410 (1990)) ; DNASTAR (DNASTAR, Inc.、Madison、Wisconsin) 及び Smith-Waterman によるアルゴリズムを組み込む、FASTA プログラム (Pearson、"Comput. Methods Genome Res.」、[Proc. Int. Symp.] (1994)、会合日:1992年1月11～20日、編者:Su Hai, Sandor、出版元:Plenum、New York、N.Y.) も含む。本開示の文脈において、解析のために、配列解析ソフトウェアが使用される場合、解析の結果は、参照されたプログラムの「デフォルト値」に基づくことが理解される。本明細書において使用された、「デフォルト値」とは、最初に初期化されたときに、ソフトウェアにより元からロードされていた、値又はパラメータの任意のセットを意味する。

10

【0095】

(VI) ペプチドの富化戦略:SRMの前における、所望のペプチド標的の富化は、当技術分野で公知の任意の手段により達せられうる。試料からの、夥多タンパク質分子種の、免疫吸着ベースの枯渇、沈殿、クロマトグラフィー、電気泳動、溶媒分配、免疫沈殿、免疫電気泳動及びイムノクロマトグラフィーを含む、多数の富化手順が利用可能である。特定の実施形態において、試料の消化物からの、個別のトリプシン消化ペプチドの、特異的抗体ベースの捕捉のために、SISCAPA法が使用されうる (Andersonら、J. Proteome Research、2004、3:235～244;US7,632,686)。

20

【0096】

特定の実施形態において、本明細書において開示された抗体など、ペプチドマーカースに結合する抗体は、固体支持体に付着しうる。特定の実施形態は、抗体が、クロマトグラフィー媒質へと、共有結合的にカップリングした親和性カラムを使用する。特定の実施形態において、SISCAPA富化において、POROS (Applied Biosystems、Foster City、CA) ナノカラムが使用され、高度な結合能を特徴とし、比較的高濃度の抗体が、標的ペプチドの迅速な富化、及び様々な官能基を有するカラムを調製する能力を可能とする。代替的に、抗体は、ビーズ、磁気ビーズ又は他の固体粒子に付着しうる。1つの付着手段は、ビーズにコーティングされたタンパク質への、抗体のコンジュゲーションである。例えば、プロテインGコーティング粒子は、好ましい配向性において、抗体の結合をもたらす。抗体による、ビーズの、直接的なコーティングなど、他の付着手段が使用されうる。磁性粒子は、抗体へのカップリングを可能とする、広範にわたる化学反応において利用可能である。粒子に付着した抗体による富化は、並行した試料の処理を可能としうる。質量分析による解析のための、プレート内の溶離を伴う、SISCAPA富化ステップのための、96ウェルプレート内の磁性粒子の処理は、自動化されている。他の特定の実施形態は、ナノフロークロマトグラフィーシステムと接続されて、ビーズ操作ステップを実施するために開発された、新規のビーズトラップデバイス (Andersonら、Mol Cell Proteomics、2009、8(5):995～1005) を使用する。これは、溶離ステップと解析ステップとの間に、容器に付着したペプチドの喪失を最小化する。ペプチドの富化はまた、ピペット先端部に、抗ペプチド抗体を固定化することによっても実施されうる (Nelsonら、Anal Chem.、1995、67(7):1153～1158)。抗体に結合したペプチドの、遊離ペプチドからの分離の後、結合したペプチドは、溶離されうる。任意の溶離手段が使用されうる。効率的であることが見出されている、1つの溶離手段は、5%酢酸/3%アセトニトリルである。特定のペプチドに効率的な、他の酸及び他の濃度の酢酸を含む、他の溶離手段も使用されうる。

30

40

50

【0097】

(V I I) 液体クロマトグラフィー (L C) : 特定の実施形態において、S R M - M S の前に、1つ以上のL C精製ステップが実施される。富化されたペプチドの混合物 (移動相) は、カラムの移動相及び定常相に対する、それらの重量及び親和性に基づき、ペプチドを分離するように、材料 (定常相) を充填されたカラムを流過しうる。従来のL C解析は、試料成分と、カラム充填材料との化学的相互作用に依拠し、カラムを通る試料の層流が、目的の解析物の、被検試料からの分離のベースである。当業者は、このようなカラム内の分離は、拡散工程であることを理解する。様々なカラム充填材料が、クロマトグラフィーによる試料の分離に利用可能であり、適切な分離プロトコルの選択は、試料の特徴、目的の解析物、存在する干渉物質及びそれらの特徴などに依存する、経験的工程である。必要 (例えば、精製される化合物の構造、極性及び可溶性) に応じて、多様な充填物化学反応が使用されうる。特定の実施形態において、カラムは、極性、イオン交換 (カチオン及びアニオンの両方)、疎水性相互作用、フェニル、C - 2カラム、C - 8カラム、C - 18カラム、多孔性ポリマー上の極性コーティング又は市販されている他のカラムである。クロマトグラフィー時に、材料の分離は、溶離剤 (また、「移動相」としても公知である) の選択、勾配溶離の選択及び勾配条件、温度などの選択などの変数の影響を受ける。特定の実施形態において、解析物は、目的の解析物は、カラム充填材料により、可逆的に保持されるが、1つ以上の他の材料は保持されない条件下において、試料を、カラムへと適用することにより精製されうる。これらの実施形態において、目的の解析物が、カラムにより保持される、第1の移動相条件が援用され、この後、保持されなかった材料が洗い流されたら、保持された材料を、カラムから除去するように、第2の移動相条件が援用されうる。代替的に、解析物は、試料を、目的の解析物が、1つ以上の他の材料と比較して、示差的速度において溶離される移動相条件下において、カラムへと適用することにより精製されうる。上記において論じられた通り、このような手順は、1つ以上の目的の解析物の量を、試料の、1つ以上の他の成分と比べて富化しうる。特定の実施形態において、L Cは、マイクロフローL C (micr o L C) である。マイクロフローL Cにおいて、クロマトグラフィーによる分離は、1分間当たり低値マイクロリットル範囲の流量を使用して実施される。特定の実施形態において、L Cは、ナノフローL C (nan o L C) である。ナノフローL C (nan o L C) において、クロマトグラフィーによる分離は、1分間当たり300ナノリットルの流量を使用して実施される。流速の緩徐化は、この種のクロマトグラフィーによりもたらされる、大きな濃度効率に起因する、高解析感度を結果としてもたらす (C u t i l l a s、C u r r e n t N a n o s c i e n c e、2005、1:65~71)。

【0098】

(V I I I) 質量分析 (M S) : 質量分析計は、気相イオンの質量対電荷 (m/z) 比へと変換されうるパラメータを測定する、気相イオン分光計を含む。質量分析とは、気相イオンを検出する、質量分析計の使用を指す。質量分析計は、一般に、イオン供給源及び質量分析計を含む。質量分析計の例は、飛行時間 (T O F)、磁気セクター、四重極フィルター、イオントラップ、イオンサイクロトロン共鳴、静電セクター分析計及びこれらのハイブリッド装置である。レーザー脱着質量分析計は、解析物を脱着し、蒸発させ、イオン化する手段として、レーザーエネルギーを使用する質量分析計を含む。タンデム質量分析計は、2つの連続段階にわたり、イオン混合物中のイオンを含むイオンの、 m/z ベースの弁別又は測定を実施することが可能な、任意の質量分析計を含む。タンデム質量分析計という語句は、2つの連続段階にわたり、 m/z ベースの、イオンの弁別又は測定を、空間的タンデムにおいて実施することが可能な、2つの質量分析計を有する質量分析計を含む。タンデム質量分析計という語句は、2つの連続段階にわたり、 m/z ベースの、イオンの弁別又は測定を、時間的タンデムにおいて実施することが可能な、単一の質量分析計を有する質量分析計をさらに含む。したがって、タンデム質量分析計という語句は、Q q - T O F 質量分析計、イオントラップ質量分析計、イオントラップ - T O F 質量分析計、T O F - T O F 質量分析計、フーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴質量分析計、静電

10

20

30

40

50

セクター磁気セクター質量分析計、トリプル四重極質量分析計及びこれらの組合せを明示的に含む。

【0099】

質量分析におけるイオン化は、試料中の解析物がイオン化される工程を含む。このような解析物は、さらなる解析に使用される、帯電分子となりうる。例えば、試料のイオン化は、エレクトロスプレーイオン化（ESI）、レーザースプレーイオン化（LSI）大気圧化学イオン化（APCI）、光イオン化、電子イオン化、高速原子衝撃法（FAB）／液体二次イオン化（LSIMS）、マトリックス支援レーザー脱着イオン化（MALDI）、電界イオン化、電界脱着、サーモスプレー／プラズマスプレーイオン化及び粒子ビームイオン化により実施されうる。当業者は、イオン化法の選択が、測定される解析物、試料の種類、検出器の種類、ネガティブモードと対比されるポジティブモードの選択などに基づき決定されうることを理解する。

10

【0100】

質量分析計は、イオン化塊を採取し、 m/z 比に基づき、それらを分離し、それらを、イオン化塊が検出され、その後、デジタル出力へと変換される、検出器へと出力する質量分析計の構成要素を含む。 m/z 比を決定するために適する質量分析計は、四重極質量分析計、飛行時間（TOF）質量分析計、磁気又は静電セクター質量分析計及びイオントラップ（例えば、イオンサイクロトロン共鳴）質量分析計を含む。

【0101】

選択反応モニタリング（SRM）-MSアッセイは、所与の目的のタンパク質についての、所定のペプチドセットをターゲティングする。SRMとは、親イオン又は前駆体イオンである、特定の質量のイオンが、タンデム質量分析の第1段階において選択され、前駆体イオンに対するフラグメンテーション反応のイオン生成物が、検出のための、質量分析の第2段階において選択される、タンデム質量分析モードである。選択された前駆体イオン及びフラグメントイオンと関連する m/z 値の特異的対は、トランジションと称される。各シグネチャーペプチドについて、最適のシグナル強度をもたらす、標的ペプチドを、試料中に存在する他の分子種から弁別するフラグメントイオンが同定される。トランジションの最適化は、効果的なSRMアッセイに寄与する。いくつかのこのようなトランジション（前駆体イオン／フラグメントイオンの対）が、時間経過にわたりモニタリングされるが、これは、特異的トランジションについての保持時間及びシグナル強度を座標として伴う、クロマトグラフィートレースのセットをもたらす。シグネチャーペプチドについてのSRM-MS解析は、一般に、シグネチャーペプチドの m/z に対応する前駆体イオンを選択的に単離し、ペプチド特異的フラグメントイオンについて選択的にモニタリングする能力を伴う装置である、トリプル四重極質量分析計（QQQ-MS）上において実施される。SRM解析において、特異性は、複数の質量分析計（質量フィルター）に依存する。第1の四重極は、所望の親イオン又は前駆体イオンを選択するものとする。第3の四重極は、（1つ以上の）フラグメントイオンについてモニタリングするものとする。フラグメントイオンは、第2の四重極内において衝突により誘導される解離を介して発生する。共溶離されたバックグラウンドイオンは、極めて効果的に除外されるので、2つのレベルにわたる質量選択は、高度な選択性を可能とする。試料中の全ての解析物について走査する、従来型のタンデム質量分析（MS/MS）実験と異なり、SRM解析は、特定の解析物を、選択的にターゲティングする（フィルターをかける）が、これは、従来型の「フルスキャン」法と比較した、1又は2桁の感度の増大へと変換される。加えて、SRMは、5桁以下の広範なダイナミックレンジにわたり、直線性の応答をもたらす。これは、高度な複合混合物中の、低存在度のタンパク質の検出を可能とする。したがって、SRMとは、バックグラウンド干渉が低度な、高度に特異的な検出／モニタリング法である。複数の親イオンが、単一のMS試行においてモニタリングされる場合、この種の解析は、多重反応モニタリング（MRM）として公知である。MRM解析を使用すると、複数のタンパク質及び複数のタンパク質領域（シグネチャーペプチド）は、単一の質量分析試行においてモニタリングされうる。選択反応モニタリング／多重反応モニタリング質量分析（SR

20

30

40

50

M/MRM-MS)は、例えば、US8,383,417、WO2013/106603及びUS2013/105684において記載されている。

【0102】

特定の実施形態において、以下のパラメータ：(1)所与のタンパク質のトリプシン消化ペプチドの富化；(2)LCカラム上における、ペプチドの保持時間(RT)；(3)ペプチド前駆体イオンの m/z 値；(4)前駆体イオンをイオン化するのに使用された、デクラスタリング電位；(5)ペプチド前駆体イオンから発生したフラグメントイオンの m/z 値及び(6)特定のペプチドのために最適化されたペプチド前駆体イオンをフラグメント化するのに使用された衝突エネルギー(CE)は、タンパク質についてのLC-SRM-MSアッセイを、特定のLC-SRM-MSシステム下において指定するのに使用されうる。RTは、解析物の注入と溶離との間において経過した時間を含む。デクラスタリング電位(DP)は、イオンクラスターを溶解させ、解離する電位を含む。DPはまた、製造元により、「フラグメンター電圧」又は「イオントランスファーキャピラリーオフセット電圧」としても公知である。衝突エネルギー(CE)は、コリジョンセルへと加速化されるときに、前駆体イオンが受けるエネルギーの量を含む。

10

【0103】

本明細書において開示された方法による、ペプチドの正確な定量を容易とするために、目的のペプチドの同位体標識化合成のセットが、内部標準物質としての使用のために、既知量において、試料へと添加されうる。同位体標識化ペプチドは、対応するサロゲートペプチドと同一な物理的特性及び化学的特性を有するので、クロマトグラフィーカラムから共溶離され、結果として得られる質量スペクトル上において、容易に同定可能である(Gerberら、Proc. Natl. Assoc. Sci.、2003、100:6940~6945；Kirkpatrickら、Methods、2005、35:265~273)。所与のペプチド内のアミノ酸が標識化されうる同位体は、 ^{13}C 、 ^2H 、 ^{15}N 、 ^{17}O 、 ^{18}O 及び ^{34}S を含む。特定の実施形態において、ペプチドは、標識化重同位体である ^{13}C 及び／又は ^{15}N である。標識化標準物質の添加は、タンパク質分解性消化の前になされる場合もあり、この後になされる場合もある。特定の実施形態において、標識化内部標準ペプチドは、タンパク質分解性消化の後に添加される。当業者には、同位体標識化ペプチドを合成する方法が公知である。したがって、特定の実施形態において、被験試料は、内部標準ペプチドを含有する。特定の実施形態において、内部標準ペプチドは、参照シグネチャーペプチドを含む。特定の実施形態において、シグネチャーペプチド濃度は、(i)シグネチャーペプチドのピーク面積の、LC-MRM-MSアッセイから得られる、その対応する参照シグネチャーペプチドのピーク面積との比較から計算された比と、(ii)参照シグネチャーペプチドの既知の濃度とを組み合わせることにより決定されうる。参照標準物質として選択され、定量に適するペプチドは、場合によって、クォンタタイプペプチド(Qペプチド)と称される。Qペプチドは、プロテオタイプペプチドの特徴の全てを含むが、また、アーチファクトの修飾及び／又は不完全な切断を根絶するように、参照ペプチドを構成しうる残基に対して制限も設ける(Holmanら、Bioanalysis、2012、4(14):1763~1786)。

20

30

【0104】

1つ以上の所与のタンパク質の絶対定量レベルは、1つの生物学的試料中の所与のタンパク質に由来する、個々のペプチドのSRM/MRMシグネチャーピーク面積が、「スパイクされた」既知量の内部標準物質のSRM/MRMシグネチャーピーク面積と比較される、SRM/MRM法により決定されうる。特定の実施形態において、内部標準物質は、1つ以上の重同位体により標識化された、1つ以上のアミノ酸残基を含有する、同じ正確なペプチドの合成形である。このような同位体標識化内部標準物質は、質量分析が、天然のペプチドシグネチャーピークと異なり、顕著に異なり、比較ピークとして使用されうる、予測可能であり、一貫した、SRM/MRMシグネチャーピークを生成するように合成される。したがって、内部標準物質が、既知量において、生物学的試料由来のタンパク質調製物へとスパイクされ、質量分析により解析される場合、天然ペプチドのシグネチャー

40

50

ピーク面積は、内部標準ペプチドのシグネチャーピーク面積と比較され、この数値的比較は、生物学的試料由来の元のタンパク質調製物中に存在する、天然ペプチドの絶対モル濃度及び／又は絶対重量を指し示す。フラグメントペプチドについての絶対定量データは、試料ごとに解析されるタンパク質の量に従い提示される。絶対定量は、個々の生物学的試料中及び個々の試料の全コホート内の、絶対タンパク質量への洞察を得るように、単一の試料中及び／又は多くの試料にわたる、多くのペプチドにわたり、したがって、タンパク質にわたり、同時に実施されうる。

【0105】

ペプチドの絶対定量のための別の戦略は、イコライザーペプチドを介する等モル濃度である。この方法は、ジペプチドとしての、目的の同位体標識化Qペプチドの化学合成を伴う。共通のアミノ酸配列は、QペプチドのN末端に配置され、イコライザーペプチドと称される。可溶化及びタンパク質分解性消化の後、Qペプチドの量は、単一の光標識化ペプチドへの参照を介して、正確に決定されうる。次いで、絶対定量を容易とするように、適量の各標準ペプチドが、目的の試料へと添加されうる（消化の前に、又はタンパク質分解の前に）（Holzmannら、Anal. Chem.、2009、81:10254～10261）。絶対定量はまた、定量用コンカタマー（QconCAT）タンパク質も援用しうる。（Beynonら、Nat. Methods、2005、2:587～589；Johnsonら、J. Am. Soc. Mass Spectrom.、2009、20:2211～2220；Dingら、J. Proteome Res.、2011、10:3652～3659；Carrollら、Molecular & Cellular Proteomics、2011年9月19日:mcp-M111）。この戦略において、いくつかの目的のタンパク質に由来する標準ペプチドの、親和性タグ付け連結である、組換え人工タンパク質が、安定同位体について富化された培地中において増殖させた、エシェリキア・コリ（Escherichia coli）内において異種作製される。次いで、QconCATタンパク質は、親和性精製され、試料と共に共消化され、QconCATタンパク質が構成される全ての「重い」Qペプチドの化学量論的混合物を生成し、天然のタンパク質由来のタンパク質分解性ペプチド及び内部標準物質が後に解析される。ペプチド連結標準物質（PCS）と称する、QconCAT法の変形は、それらの内因性環境を反映する、人工タンパク質配列内のQペプチドの間のランキング領域を使用する（Kitohら、J. Proteome Res.、2007、6:792～800）。他の特定の実施形態は、絶対定量用タンパク質標準物質（PSAQ）（Brunら、Mol. Cell. Proteomics、2007、6:2139～2149）を使用する。PSAQは、組換えタンパク質を使用するが、いくつかのタンパク質からのペプチドの連結ではなく、定量される全タンパク質は、安定同位体標識化形態において発現させる。次いで、1つ以上のPSAQは、定量を容易とするように、試料の前消化物へと添加されうる。

【0106】

特定の実施形態は、強度ベースの測定（America及びCordewener、Proteomics、2008、8:731～749）又はスペクトルカウンティング（Lundgrenら、Expert Rev. Proteomics、2010、7:39～53）など、タンパク質定量のための無標識戦略を使用する。

【0107】

所与のペプチドの相対定量レベルを得るために、1つの生物学的試料中の、所与のタンパク質に由来する、個々のペプチド又は複数ペプチドの質量分析由来のシグネチャーピーク面積（又はピークが十分に分解されている場合におけるピーク高）が、同じSRM/MRM法を使用して、1つ以上のさらなる生物学的試料及び異なる生物学的試料中の同じタンパク質に由来する同じ1つ以上のペプチドについて決定されたシグネチャーピーク面積と比較されうる。この方式により、所与のタンパク質に由来する、1つ以上の特定のペプチドの量が、同じ被験条件下において、2つ以上の生物学的試料にわたり、同じタンパク質に由来する同じ1つ以上のペプチドと比べて決定される。加えて、相対定量は、SRM

／MRM法による、この所与のタンパク質についての、このペプチドについてのシグネチャーピーク面積を、生物学的試料に由来する、同じタンパク質調製物中の、異なるタンパク質に由来する、別の異なる1つ以上のペプチドについてのシグネチャーピーク面積と比較することにより単一の試料中の単一のタンパク質に由来する、所与の1つ以上のペプチドについて決定されうる。この方式により、所与のタンパク質に由来する、特定のペプチドの量が、したがって、所与のタンパク質の量が、同じ試料中の、別のタンパク質と比べて決定される。これらの手法は、試料間及び試料中の、同じタンパク質又は異なるタンパク質に由来する、別の1つ以上のペプチドの量に照らした、所与のタンパク質に由来する、個々の1つ以上のペプチドの定量をもたらす、この場合、シグネチャーピーク面積により決定された量は、生物学的試料由来のタンパク質調製物中のペプチドの、容量に対する絶対重量であるのか、重量に対する絶対重量であるのかに拘わらず、別の量に対する、1つの量の相対量である。異なる試料の間の、個々のシグネチャーピーク面積についての相対定量データは、試料ごとに解析されたタンパク質の量に照らして正規化されうる。相対定量は、相対タンパク質量への洞察を得るように、単一の試料中及び／又は多くの試料にわたる、多くのペプチドにわたり、同時に実施されうる。

10

20

30

40

50

【0108】

シグネチャーペプチドレベルは、濃度単位（例えば、ピコモル／L）により表されうる。特定の実施形態において、X-CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、SCID、ADA欠損症、DOCK8欠損症、二次ペプチドマーカーであるCD42、二次ペプチドマーカーであるCD56、二次ペプチドマーカーであるCD3ε、二次ペプチドマーカーであるCD3δ又はこれらの組合せについてスクリーニングされる対象に由来する被検試料中の、シグネチャーペプチドの平均濃度は、正常対照試料中の、対応するペプチドの平均濃度と比較されうる。特定の実施形態において、正常対照試料は、1例以上の正常対照対象に由来する場合もあり、正常対照対象の集団に由来する場合もある。特定の実施形態において、正常対照対象は、X-CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、SCID、ADA欠損症、DOCK8欠損症、血小板の欠損、NK細胞の欠損及び／又はT細胞の欠損を有さない、又はこれらを有することが既知ではない対象を含む。

【0109】

特定の実施形態において、正常対照対象は、X-CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、SCID、ADA欠損症、DOCK8欠損症、CD42の欠損、CD56の欠損、CD3εの欠損、CD3δの欠損又はこれらの組合せと関連する遺伝子突然変異を有さない対象を含む。

【0110】

特定の実施形態において、正常対照対象の集団に由来するDBS中の、CYBB509シグネチャーペプチドの平均濃度は、300ピコモル／L～3000ピコモル／Lの範囲の濃度、500ピコモル／L～2900ピコモル／Lの範囲の濃度及び700ピコモル／L～2800ピコモル／Lの範囲の濃度を含む。特定の実施形態において、正常対照対象の集団に由来するDBS中の、CYBB509シグネチャーペプチドの平均濃度は、300ピコモル／L、400ピコモル／L、500ピコモル／L、600ピコモル／L、700ピコモル／L、800ピコモル／L、900ピコモル／L、1000ピコモル／L、1100ピコモル／L、1200ピコモル／L、1300ピコモル／L、1400ピコモル／L、1500ピコモル／L、1600ピコモル／L、1700ピコモル／L、1800ピコモル／L、1900ピコモル／L、2000ピコモル／L、2100ピコモル／L、2200ピコモル／L、2300ピコモル／L、2400ピコモル／L、2500ピコモル／L、2600ピコモル／L、2700ピコモル／L、2800ピコモル／L、2900ピコモル／L、3000ピコモル／L以上の濃度を含む。

【0111】

特定の実施形態において、正常対照対象の集団に由来するDBS中の、ADA93シグネチャーペプチドの平均濃度は、900ピコモル／L～5000ピコモル／Lの範囲の濃度、1000ピコモル／L～4900ピコモル／Lの範囲の濃度及び1100ピコモル／

L～4800ピコモル/Lの範囲の濃度を含む。特定の実施形態において、正常対照対象の集団に由来するDBS中の、ADA93シグネチャーペプチドの平均濃度は、900ピコモル/L、1000ピコモル/L、1100ピコモル/L、1200ピコモル/L、1300ピコモル/L、1400ピコモル/L、1500ピコモル/L、1600ピコモル/L、1700ピコモル/L、1800ピコモル/L、1900ピコモル/L、2000ピコモル/L、2100ピコモル/L、2200ピコモル/L、2300ピコモル/L、2400ピコモル/L、2500ピコモル/L、2600ピコモル/L、2700ピコモル/L、2800ピコモル/L、2900ピコモル/L、3000ピコモル/L、3100ピコモル/L、3200ピコモル/L、3300ピコモル/L、3400ピコモル/L、3500ピコモル/L、3600ピコモル/L、3700ピコモル/L、3800ピコモル/L、3900ピコモル/L、4000ピコモル/L、4100ピコモル/L、4200ピコモル/L、4300ピコモル/L、4400ピコモル/L、4500ピコモル/L以上の濃度を含む。

10

【0112】

特定の実施形態において、正常対照対象の集団に由来するDBS中の、DOCK8 1272シグネチャーペプチドの平均濃度は、70ピコモル/L～550ピコモル/Lの範囲の濃度、80ピコモル/L～530ピコモル/Lの範囲の濃度及び90ピコモル/L～500ピコモル/Lの範囲の濃度を含む。特定の実施形態において、正常対照対象の集団に由来するDBS中の、DOCK8 1272シグネチャーペプチドの平均濃度は、70ピコモル/L、75ピコモル/L、80ピコモル/L、85ピコモル/L、90ピコモル/L、95ピコモル/L、100ピコモル/L、125ピコモル/L、150ピコモル/L、175ピコモル/L、200ピコモル/L、225ピコモル/L、250ピコモル/L、275ピコモル/L、300ピコモル/L、325ピコモル/L、350ピコモル/L、375ピコモル/L、400ピコモル/L、425ピコモル/L、450ピコモル/L、475ピコモル/L、500ピコモル/L、525ピコモル/L、550ピコモル/L以上の濃度を含む。

20

【0113】

特定の実施形態において、正常対照対象の集団に由来するDBS中の、CD42 128シグネチャーペプチドの平均濃度は、4000ピコモル/L～20000ピコモル/Lの範囲の濃度、5000ピコモル/L～18000ピコモル/Lの範囲の濃度及び6000ピコモル/L～17500ピコモル/Lの範囲の濃度を含む。特定の実施形態において、正常対照対象の集団に由来するDBS中の、CD42 128シグネチャーペプチドの平均濃度は、4000ピコモル/L、4500ピコモル/L、5000ピコモル/L、5500ピコモル/L、6000ピコモル/L、6500ピコモル/L、7000ピコモル/L、7500ピコモル/L、8000ピコモル/L、8500ピコモル/L、9000ピコモル/L、9500ピコモル/L、10000ピコモル/L、10500ピコモル/L、11000ピコモル/L、11500ピコモル/L、12000ピコモル/L、12500ピコモル/L、13000ピコモル/L、13500ピコモル/L、14000ピコモル/L、14500ピコモル/L、15000ピコモル/L、15500ピコモル/L、16000ピコモル/L、16500ピコモル/L、17000ピコモル/L、17500ピコモル/L、18000ピコモル/L、18500ピコモル/L、19000ピコモル/L、19500ピコモル/L、20000ピコモル/L以上の濃度を含む。

30

40

【0114】

特定の実施形態において、正常対照対象の集団に由来するDBS中の、CD42 154シグネチャーペプチドの平均濃度は、8000ピコモル/L～30000ピコモル/Lの範囲の濃度、9000ピコモル/L～29000ピコモル/Lの範囲の濃度及び10000ピコモル/L～28000ピコモル/Lの範囲の濃度を含む。特定の実施形態において、正常対照対象の集団に由来するDBS中の、CD42 154シグネチャーペプチドの平均濃度は、8000ピコモル/L、9000ピコモル/L、10000ピコモル/L、11000ピコモル/L、12000ピコモル/L、13000ピコモル/L、14000ピコモル/L、15000ピコモル/L、16000ピコモル/L、17000ピコモル/L、18000ピコモル/L、19000ピコモル/L、20000ピコモル/L、21000ピコモル/L、22000ピコモル/L、23000ピコモル/L、24000ピコモル/L、25000ピコモル/L、26000ピコモル/L、27000ピコモル/L、28000ピコモル/L、29000ピコモル/L以上の濃度を含む。

50

00ピコモル/L、15000ピコモル/L、16000ピコモル/L、17000ピコモル/L、18000ピコモル/L、19000ピコモル/L、20000ピコモル/L、21000ピコモル/L、22000ピコモル/L、23000ピコモル/L、24000ピコモル/L、25000ピコモル/L、26000ピコモル/L、27000ピコモル/L、28000ピコモル/L、29000ピコモル/L、30000ピコモル/L以上の濃度を含む。

【0115】

特定の実施形態において、正常対照対象の集団に由来するDBS中の、CD56 122シグネチャーペプチドの平均濃度は、600ピコモル/L～5000ピコモル/Lの範囲の濃度、700ピコモル/L～4500ピコモル/Lの範囲の濃度及び800ピコモル/L～4000ピコモル/Lの範囲の濃度を含む。特定の実施形態において、正常対照対象の集団に由来するDBS中の、CD56 122シグネチャーペプチドの平均濃度は、600ピコモル/L、700ピコモル/L、800ピコモル/L、900ピコモル/L、1000ピコモル/L、1100ピコモル/L、1200ピコモル/L、1300ピコモル/L、1400ピコモル/L、1500ピコモル/L、1600ピコモル/L、1700ピコモル/L、1800ピコモル/L、1900ピコモル/L、2000ピコモル/L、2100ピコモル/L、2200ピコモル/L、2300ピコモル/L、2400ピコモル/L、2500ピコモル/L、2600ピコモル/L、2700ピコモル/L、2800ピコモル/L、2900ピコモル/L、3000ピコモル/L、3100ピコモル/L、3200ピコモル/L、3300ピコモル/L、3400ピコモル/L、3500ピコモル/L、3600ピコモル/L、3700ピコモル/L、3800ピコモル/L、3900ピコモル/L、4000ピコモル/L、4100ピコモル/L、4200ピコモル/L、4300ピコモル/L、4400ピコモル/L、4500ピコモル/L、4600ピコモル/L、4700ピコモル/L、4800ピコモル/L、4900ピコモル/L、5000ピコモル/L以上の濃度を含む。

【0116】

特定の実施形態において、正常対照対象の集団に由来するDBS中の、ATM1561シグネチャーペプチドの平均濃度は、20ピコモル/L～100ピコモル/Lの範囲の濃度、25ピコモル/L～90ピコモル/Lの範囲の濃度及び30ピコモル/L～80ピコモル/Lの範囲の濃度を含む。特定の実施形態において、正常対照対象の集団に由来するDBS中の、ATM1561シグネチャーペプチドの平均濃度は、20ピコモル/L、25ピコモル/L、30ピコモル/L、35ピコモル/L、40ピコモル/L、45ピコモル/L、50ピコモル/L、55ピコモル/L、60ピコモル/L、65ピコモル/L、70ピコモル/L、75ピコモル/L、80ピコモル/L、85ピコモル/L、90ピコモル/L、95ピコモル/L、100ピコモル/L以上の濃度を含む。

【0117】

特定の実施形態において、正常対照対象の集団に由来するDBS中の、PRF215シグネチャーペプチドの平均濃度は、10ピコモル/L～200ピコモル/Lの範囲の濃度、11ピコモル/L～100ピコモル/Lの範囲の濃度及び12ピコモル/L～80ピコモル/Lの範囲の濃度を含む。特定の実施形態において、正常対照対象の集団に由来するDBS中の、PRF215シグネチャーペプチドの平均濃度は、10ピコモル/L、15ピコモル/L、20ピコモル/L、25ピコモル/L、30ピコモル/L、35ピコモル/L、40ピコモル/L、45ピコモル/L、50ピコモル/L、55ピコモル/L、60ピコモル/L、65ピコモル/L、70ピコモル/L、75ピコモル/L、80ピコモル/L、85ピコモル/L、90ピコモル/L、95ピコモル/L、100ピコモル/L、110ピコモル/L、115ピコモル/L、120ピコモル/L、125ピコモル/L、130ピコモル/L、135ピコモル/L、140ピコモル/L、145ピコモル/L、150ピコモル/L、155ピコモル/L、160ピコモル/L、165ピコモル/L、170ピコモル/L、175ピコモル/L、180ピコモル/L、185ピコモル/L、190ピコモル/L、195ピコモル/L、200ピコモル/L以上の濃度を含む。

【0118】

1つ以上の標準ペプチドは、関連技術分野において公知の任意の方法により合成される。このような合成ペプチドは、1つ以上の天然の修飾を有するアミノ酸をさらに含む。このような天然の修飾は、グルタミン及びアスパラギンの脱アミノ化、アミノ化、酸化並びにヒドロキシル化を含む。

【0119】

(IX) 使用法：本開示の方法は、X-CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、SCID、ADA欠損症及びDOCK8欠損症のうちの1つ以上を有する個体を同定するステップを含む。特定の実施形態において、方法は、X連鎖SCID又はIL2RG欠損SCIDを有する個体を同定するステップを含む。特定の実施形態において、X-CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、SCID、ADA欠損症及び／又はDOCK8欠損症を有する個体の診断は、早期に、例えば、NBSの一部として、又は障害の症状が、個体において明白となる前に実施される。特定の実施形態において、識別又は診断は、二次ペプチドマーカーである、CD42、CD56、CD3ε、CD3δ又はこれらの組合せの使用を含む。特定の実施形態において、二次マーカーであるCD42は、血小板のレベルについての情報をもたらす。特定の実施形態において、二次マーカーであるCD56は、NK細胞のレベルについての情報をもたらす。特定の実施形態において、CD3εは、T細胞のレベルについての情報をもたらす二次マーカーとして使用される。特定の実施形態において、CD3δは、T細胞のレベルについての情報をもたらす二次マーカーとして使用される。特定の実施形態において、CD3εは、SCIDを有する個体を診断するための一次マーカーとして使用される。特定の実施形態において、CD3δは、SCIDを有する個体を診断するための一次マーカーとして使用される。

【0120】

本開示の方法は、DBS試料、口腔スワブ試料、PBMC試料又はWBC試料を得るステップを含む。特定の実施形態において、DBS試料、口腔スワブ試料、PBMC試料又はWBC試料は、本明細書において記載された方法に従い得られる。特定の実施形態において、DBS試料、口腔スワブ試料、PBMC試料又はWBC試料は、DBS、口腔スワブ、PBMC若しくはWBCのレポジトリ又は将来の試験のために、DBS試料、口腔スワブ試料、PBMC試料若しくはWBC試料を保管する検査室から得られる。

【0121】

本開示の方法は、DBS、口腔スワブに由来する細胞、PBMC又はWBCにおけるタンパク質を、消化酵素により消化するステップを含む。特定の実施形態において、1つ以上のDBSパンチ、全DBS、口腔スワブに由来する細胞、PBMC又はWBCは、適切な緩衝液中に可溶化させ、上記において記載された、DBS、口腔スワブに由来する細胞、PBMC又はWBCにおいて存在するタンパク質を、ペプチド断片へと消化するのに適切な消化酵素が添加される。特定の実施形態において、DBS、口腔スワブに由来する細胞、PBMC又はWBCは、50mMの重炭酸アンモニウム中に0.1%のTriton X-100により可溶化させ、トリプシンにより消化する。

【0122】

本開示の方法は、X-CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、ADA欠損症及び／又はDOCK8欠損症のスクリーニングにおいて使用されるシグネチャーペプチドを富化するステップを含む。シグネチャーペプチドは、X-CGDについてのCYBB131；X-CGDについてのCYBB509；XLP1についてのSH2D1A19；XLP1についてのSH2D1A110；FHL2についてのPRF215；FHL2についてのPRF441；ATについてのATM798；ATについてのATM1544；ATについてのATM1561；CVIDについてのCD19 41；CVIDについてのCD19 55；CVIDについてのCD19 210；CVIDについてのCD19 505；SCIDについてのIL2RG295；SCIDについてのIL2RG316；SCIDについてのCD3ε74；SCIDについてのCD3δ24；SCIDについてのCD3δ133；ADA欠損症についてのADA93；DOCK8欠損症についてのDO

C K 8 1 2 7 2 ; 血小板レベルについての C D 4 2 1 2 8 ; 血小板レベルについての C D 4 2 1 5 4 ; N K 細胞レベルについての C D 5 6 1 2 2 ; T 細胞レベルについての C D 3 ε 7 4 ; T 細胞レベルについての C D 3 δ 2 4 及び T 細胞レベルについての C D 3 δ 1 3 3 を含む。特定の実施形態において、シグネチャーペプチドを富化するステップは、消化された生物学的試料に由来するペプチド断片の混合物を、シグネチャーペプチドを認識する、1つ以上の結合性実体と接触させることを含む。特定の実施形態において、結合性実体は、抗体又はその抗原結合性断片である。特定の実施形態において、抗体は、表 1 A ~ 1 C 及び図 1 1 に開示された抗体を含む。特定の実施形態において、本開示の抗体のアミノ酸配列は、配列番号 2 3、2 4、2 6、2 7、2 9、3 0、3 2、3 3、4 1、4 2、4 4、4 5、4 7、4 8、5 0、5 1、5 9、6 0、6 2、6 3、6 5、6 6、6 8、6 9、7 7、7 8、8 0、8 1、8 9、9 0、9 2、9 3、9 5、9 6、9 8、9 9、1 0 7、1 0 8、1 1 0、1 1 1、1 1 9、1 2 0、1 2 2、1 2 3、1 3 1、1 3 2、1 3 4、1 3 5、1 4 3、1 4 4、1 4 6、1 4 7、1 4 9、1 5 0、1 5 2、1 5 3、1 6 8、1 6 9、1 7 2、1 7 3、1 7 6、1 7 7、1 8 0 及び 1 8 1 を含む。特定の実施形態において、本開示の抗体のコード配列は、配列番号 2 2、2 5、2 8、3 1、4 0、4 3、4 6、4 9、5 8、6 1、6 4、6 7、7 6、7 9、8 8、9 1、9 4、9 7、1 0 6、1 0 9、1 1 8、1 2 1、1 3 0、1 3 3、1 4 2、1 4 5、1 4 8、1 5 1、1 6 6、1 6 7、1 7 0、1 7 1、1 7 4、1 7 5、1 7 8、1 7 9 及び 1 8 2 ~ 2 0 9 を含む。特定の実施形態において、抗体は、C Y B B 1 3 1 ; C Y B B 5 0 9 ; S H 2 D 1 A 1 9 ; S H 2 D 1 A 1 1 0 ; P R F 2 1 5 ; P R F 4 4 1 ; A T M 7 9 8 ; A T M 1 5 4 4 ; A T M 1 5 6 1 ; C D 1 9 4 1 ; C D 1 9 5 5 ; C D 1 9 2 1 0 ; C D 1 9 5 0 5 ; I L 2 R G 2 9 5 ; I L 2 R G 3 1 6 ; A D A 9 3 ; D O C K 8 1 2 7 2 ; C D 4 2 1 2 8 ; C D 4 2 1 5 4 ; C D 5 6 1 2 2 ; C D 3 ε 7 4 ; C D 3 δ 2 4 及び C D 3 δ 1 3 3 に結合する抗体を含む。

10

20

30

40

50

【0123】

特定の実施形態において、抗体は、配列番号 1 を含む C Y B B ペプチドを富化するのに使用される。特定の実施形態において、配列番号 1 6 ~ 2 1、2 3、2 4、2 6、2 7、2 9、3 0、3 2 及び 3 3 を含む抗体は、配列番号 2 を含む C Y B B ペプチドを富化するのに使用される。

【0124】

特定の実施形態において、配列番号 1 6 0 ~ 1 6 5、1 6 8、1 6 9、1 7 2、1 7 3、1 7 6、1 7 7、1 8 0 及び 1 8 1 を含む抗体は、配列番号 3 を含む S H 2 D 1 A ペプチドを富化するのに使用される。特定の実施形態において、抗体は、配列番号 4 を含む S H 2 D 1 A ペプチドを富化するのに使用される。

【0125】

特定の実施形態において、配列番号 3 4 ~ 3 9、4 1、4 2、4 4、4 5、4 7、4 8、5 0 及び 5 1 を含む抗体は、配列番号 5 を含む P R F - 1 ペプチドを富化するのに使用される。特定の実施形態において、抗体は、配列番号 6 を含む P R F - 1 ペプチドを富化するのに使用される。

【0126】

特定の実施形態において、配列番号 5 2 ~ 5 7、5 9、6 0、6 2、6 3、6 5、6 6、6 8 及び 6 9 を含む抗体は、配列番号 7 を含む A T M ペプチドを富化するのに使用される。特定の実施形態において、抗体は、配列番号 2 1 0 を含む A T M ペプチドを富化するのに使用される。特定の実施形態において、抗体は、配列番号 2 1 1 を含む A T M ペプチドを富化するのに使用される。

【0127】

特定の実施形態において、配列番号 7 0 ~ 7 5、7 7、7 8、8 0 及び 8 1 を含む抗体は、配列番号 8 を含む C D 1 9 ペプチドを富化するのに使用される。特定の実施形態において、抗体は、配列番号 9 を含む C D 1 9 ペプチドを富化するのに使用される。特定の実施形態において、抗体は、配列番号 1 0 を含む C D 1 9 ペプチドを富化するのに使用され

る。特定の実施形態において、抗体は、配列番号 212 を含む CD19 ペプチドを富化するのに使用される。

【0128】

特定の実施形態において、抗体は、配列番号 213 を含む IL2RG ペプチドを富化するのに使用される。特定の実施形態において、抗体は、配列番号 214 を含む IL2RG ペプチドを富化するのに使用される。

【0129】

特定の実施形態において、配列番号 82～87、89、90、92、93、95、96、98 及び 99 を含む抗体は、配列番号 11 を含む ADA ペプチドを富化するのに使用される。

10

【0130】

特定の実施形態において、配列番号 100～105、107、108、110 及び 111 を含む抗体は、配列番号 12 を含む DOCK8 ペプチドを富化するのに使用される。

【0131】

特定の実施形態において、配列番号 112～117、119、120、122 及び 123 を含む抗体は、配列番号 13 を含む CD42 ペプチドを富化するのに使用される。特定の実施形態において、配列番号 124～129、131、132、134 及び 135 を含む抗体は、配列番号 14 を含む CD42 ペプチドを富化するのに使用される。

【0132】

特定の実施形態において、配列番号 136～141、143、144、146、147、149、150、152 及び 153 を含む抗体は、配列番号 15 を含む CD56 ペプチドを富化するのに使用される。

20

【0133】

特定の実施形態において、抗体は、配列番号 215 の CD3ε ペプチドを富化するのに使用される。

【0134】

特定の実施形態において、抗体は、配列番号 216 の CD3δ ペプチドを富化するのに使用される。特定の実施形態において、抗体は、配列番号 217 の CD3δ ペプチドを富化するのに使用される。

【0135】

特定の実施形態において、それらのコグネイトシグネチャーペプチドに結合する、表 1A～1C 及び図 11 に開示された、1つ以上の抗体の任意の組合せは、X-CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、SCID、ADA 欠損症及び／又は DOCK8 欠損症についてスクリーニングするのに使用されうる。特定の実施形態において、それらのコグネイトシグネチャーペプチドに結合する、表 1A～1C 及び図 11 に開示された、1つ以上の抗体の任意の組合せは、集団を、X-CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、SCID、ADA 欠損症及び／又は DOCK8 欠損症についてスクリーニングするのに使用されうる。特定の実施形態において、方法は、X連鎖 SCID 又は IL2RG 欠損 SCID を有する個体を同定するステップを含む。

30

【0136】

本開示の方法は、MS 解析の前に、免疫親和性富化ペプチドに対して、液体クロマトグラフィーを、任意選択的に実施して、ペプチドを分離するステップを含む。液体クロマトグラフィーは、ペプチドを、それらの重量並びにカラムの移動相及び定常相に対する親和性に基づき分離しうる。

40

【0137】

本開示の方法は、免疫親和性富化ペプチドに対して、SRM-MS 又は MRM-MS を実施して、所与のシグネチャーペプチドの量を定量するステップを含む。特定の実施形態において、SRM-MS 又は MRM-MS は、上記において記載された通りに実行される。特定の実施形態において、シグネチャーペプチドの定量は、既知の量において、アッセイへと導入された、参照ペプチドを使用するステップを含む。特定の実施形態において、

50

参照ペプチドは、参照ペプチドが、例えば、1つ以上の重同位体で、参照ペプチドを、シグネチャーペプチドから識別するように、示差的に標識化されていることを除き、あらゆる点において、シグネチャーペプチドと同一でありうる。

【0138】

特定の実施形態において、SRM-MS又はMRM-MSは、CYBBペプチドの低減又は非存在を検出する。特定の実施形態において、CYBBペプチドは、配列番号1を含む。特定の実施形態において、CYBBペプチドは、配列番号2を含む。

【0139】

特定の実施形態において、SRM-MS又はMRM-MSは、SH2D1Aペプチドの低減又は非存在を検出する。特定の実施形態において、SH2D1Aペプチドは、配列番号3を含む。特定の実施形態において、SH2D1Aペプチドは、配列番号4を含む。

【0140】

特定の実施形態において、SRM-MS又はMRM-MSは、PRF-1ペプチドの低減又は非存在を検出する。特定の実施形態において、PRF-1ペプチドは、配列番号5を含む。特定の実施形態において、PRF-1ペプチドは、配列番号6を含む。

【0141】

特定の実施形態において、SRM-MS又はMRM-MSは、ATMペプチドの低減又は非存在を検出する。特定の実施形態において、ATMペプチドは、配列番号7を含む。特定の実施形態において、ATMペプチドは、配列番号210を含む。特定の実施形態において、ATMペプチドは、配列番号211を含む。

【0142】

特定の実施形態において、SRM-MS又はMRM-MSは、CD19ペプチドの低減又は非存在を検出する。特定の実施形態において、CD19ペプチドは、配列番号8を含む。特定の実施形態において、CD19ペプチドは、配列番号9を含む。特定の実施形態において、CD19ペプチドは、配列番号10を含む。特定の実施形態において、CD19ペプチドは、配列番号212を含む。

【0143】

特定の実施形態において、SRM-MS又はMRM-MSは、IL2RGペプチドの低減又は非存在を検出する。特定の実施形態において、IL2RGペプチドは、配列番号213を含む。特定の実施形態において、IL2RGペプチドは、配列番号214を含む。

【0144】

特定の実施形態において、SRM-MS又はMRM-MSは、ADAペプチドの低減又は非存在を検出する。特定の実施形態において、ADAペプチドは、配列番号11を含む。

【0145】

特定の実施形態において、SRM-MS又はMRM-MSは、DOCK8ペプチドの低減又は非存在を検出する。特定の実施形態において、DOCK8ペプチドは、配列番号12を含む。

【0146】

特定の実施形態において、SRM-MS又はMRM-MSは、CD42ペプチドの低減又は非存在を検出する。特定の実施形態において、CD42ペプチドは、配列番号13を含む。特定の実施形態において、CD42ペプチドは、配列番号14を含む。

【0147】

特定の実施形態において、SRM-MS又はMRM-MSは、CD56ペプチドの低減又は非存在を検出する。特定の実施形態において、CD56ペプチドは、配列番号15を含む。

【0148】

特定の実施形態において、SRM-MS又はMRM-MSは、CD3εペプチドの低減又は非存在を検出する。特定の実施形態において、CD3εペプチドは、配列番号215を含む。

10

20

30

40

50

【0149】

特定の実施形態において、SRM-MS又はMRM-MSは、CD3δペプチドの低減又は非存在を検出する。特定の実施形態において、CD3δペプチドは、配列番号216を含む。特定の実施形態において、CD3δペプチドは、配列番号217を含む。

【0150】

特定の実施形態は、本明細書において記載されたimmuno-SRMを使用する、時間経過にわたる、シグネチャーペプチドレベルについての、対象のモニタリングを含む。特定の実施形態において、対象は、本明細書において記載された、X-CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、SCID、ADA欠損症及び／又はDOCK8欠損症の徴候又は症状を呈する、又はX-CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、SCID、ADA欠損症及び／又はDOCK8欠損症についての処置を受けつつあるため、本明細書において開示されたシステム及び方法に従うモニタリングについて選択される。

10

【0151】

本明細書において開示された、特定の実施形態は、X-CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、SCID、ADA欠損症及び／又はDOCK8欠損症について処置される対象における処置の有効性の決定であって、1つ以上の処置の前において、1つ以上の処置時に、かつ／若しくはこれらの後に、対象に由来する生物学的試料を得るステップ；本明細書において記載されたimmuno-SRMを使用する処置の前に、対象におけるシグネチャーペプチドレベルを検出するステップ；本明細書において記載されたimmuno-SRMを使用する、1つ以上の処置時に、若しくはこれらの後に、対象におけるシグネチャーペプチドレベルを検出するステップ；及び処置時若しくは処置後におけるシグネチャーペプチドレベルが、処置前におけるシグネチャーペプチドレベルより高度である場合に、処置が、効果的であることを決定する、又は処置時若しくは処置後におけるシグネチャーペプチドレベルが、処置前におけるシグネチャーペプチドレベル以下である場合に、処置が、効果的でないことを決定するステップを含む決定を含む。特定の実施形態において、生物学的試料は、DBS、口腔スワブに由来する細胞、PBMC又はWBCを含む。特定の実施形態において、対象は、X連鎖SCID又はIL2RG欠損SCIDについて処置されつつある。

20

【0152】

特定の実施形態において、X-CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、SCID、ADA欠損症及び／又はDOCK8欠損症について処置される対象における処置の有効性の決定は、1つ以上の処置が継続されるべきなのか、中断されるべきなのか、新たな処置が実施されるべきなのかについての導きとなりうる。特定の実施形態において、1つ以上の処置時又はこれらの後の対象におけるシグネチャーペプチドレベルが、1つ以上の処置前の対象におけるシグネチャーペプチドレベルより高度である場合に、1つ以上の処置は、継続されうる。特定の実施形態において、対象における1つ以上の処置時又はこれらの後のシグネチャーペプチドレベルが、正常対照対象又はX-CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、SCID、ADA欠損症及び／若しくはDOCK8欠損症に罹患していない対照対象において測定されたシグネチャーペプチドレベルの、1%を超える、5%を超える、10%を超える、15%を超える、20%を超える、25%を超える、30%を超える、35%を超える、40%を超える、45%を超える、50%を超える、55%を超える、60%を超える、65%を超える、70%を超える、75%を超える、80%を超える、85%を超える、90%を超える、95%を超える、100%を超えるレベル以上である場合に、1つ以上の処置は、中断されうる。特定の実施形態において、処置時又は処置後の対象におけるシグネチャーペプチドレベルが、処置前の対象におけるシグネチャーペプチドレベル以下である、又はシグネチャーペプチドが非存在である場合に、新たな処置は、実施されうる。

30

40

【0153】

本明細書において開示された、特定の実施形態は、X-CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、SCID、ADA欠損症及び／又はDOCK8欠損症について処置され

50

る対象へと投与されたタンパク質治療剤の薬物動態プロファイルの測定であって、1つ以上のタンパク質治療剤の投与前に、対象に由来する生物学的試料を得、1つ以上のタンパク質治療剤の投与時に、かつ／又はこの後に、対象に由来する生物学的試料を得るステップ；本明細書において記載されたimmuno-SRMを使用して、1つ以上のタンパク質治療剤の投与前の対象におけるシグネチャーペプチドレベルを検出するステップ；本明細書において記載されたimmuno-SRMを使用して、1つ以上のタンパク質治療剤の投与時又は投与後の対象におけるシグネチャーペプチドレベルを検出し、これにより、投与されたタンパク質治療剤の薬物動態プロファイルを測定するステップを含む測定を含む。特定の実施形態において、生物学的試料は、DBS、口腔スワブに由来する細胞、PBMC又はWBCを含む。特定の実施形態において、対象は、X連鎖SCID又はIL2RG欠損SCIDについて処置されつつある。

10

【0154】

特定の実施形態において、シグネチャーペプチドレベルについての尺度の「安定」とは、同じ対象における、先行値との比較との関係において査定された尺度であり、シグネチャーペプチドレベルが、前回の測定から、有意に変化していないこと（t検定又はp値、例えば、 > 0.05 であるp値など、当技術分野において公知の統計学的尺度により決定された）を表す。特定の実施形態において、尺度の「安定」とは、同じ患者における、先行値との比較との関係において査定された尺度であり、シグネチャーペプチドレベルが、先行する測定値群（例えば、直前の3、4、又は5回にわたる測定値の群）の総計又は平均から、有意に変化していないこと（t検定又はp値、例えば、 > 0.05 であるp値など、当技術分野において公知の統計学的尺度により決定された）を表す。

20

【0155】

シグネチャーペプチドレベルについての尺度の「不変」とは、同じ患者における、先行値との比較との関係において査定された尺度であり、特定の対象におけるスコアが、参照シグネチャーペプチドレベルに近づく、又はこれから遠ざかる、統計学的に有意な変化を達成しないことを表す。特定の実施形態において、尺度の「不変」とは、同じ患者における、先行値との比較との関係において、又は先行する測定値群（例えば、直前の3、4、又は5回にわたる測定値の群）の総計若しくは平均から査定された尺度である。

【0156】

特定の実施形態において、本開示の抗体はまた、生化学検査の結果が両義的である患者及び、遺伝子検査により、意義不明の変異体（VUS）のキャリアである患者についてのX-CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、SCID、ADA欠損症及びDOCK8欠損症の診断のために、補完的臨床試験においても使用されうる。特定の実施形態において、本明細書において開示された、X-CGDについてのCYBB；XLP1についてのSH2D1A；FHL2についてのPRF-1；ATについてのATM；CVIDについてのCD19；SCIDについてのIL2RG；ADA欠損症についてのADA及び／又はDOCK8欠損症についてのDOCK8をコードする遺伝子内において、VUSを有する対象は、VUSが、これらの対象において、それぞれのシグネチャーペプチドレベルに影響を及ぼすかどうかを決定するように、本開示のimmuno-SRMアッセイについて調べられる場合がある。

30

40

【0157】

特定の実施形態において、所定のカットオフ値は、所与のシグネチャーペプチドについての閾値として使用される。閾値を上回る、所与のシグネチャーペプチドの濃度は、アッセイされた生物学的試料（例えば、DBS、口腔スワブに由来する細胞、PBMC又はWBC）が、X-CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、SCID、ADA欠損症及び／又はDOCK8欠損症に罹患していない個体に由来することを指し示す。閾値を下回る所与のシグネチャーペプチドの濃度又はシグネチャーペプチドの非存在は、アッセイされたDBSが、X-CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、SCID、ADA欠損症及び／又はDOCK8欠損症に罹患した個体に由来することを指し示す。特定の実施形態において、閾値は、正常対照集団についての解析及びこの集団内の所与のシグネ

50

ャーペプチドの濃度の標準偏差 (SD) の計算により決定されうる。閾値は、所与のシグネチャーペプチドの平均濃度に由来する、ある特定のSDに設定されうる。特定の実施形態において、閾値は、所与のシグネチャーペプチドの平均濃度から、 $-1SD$ 、 $-1.1SD$ 、 $-1.2SD$ 、 $-1.3SD$ 、 $-1.4SD$ 、 $-1.5SD$ 、 $-1.6SD$ 、 $-1.7SD$ 、 $-1.8SD$ 、 $-1.9SD$ 、 $-2.0SD$ 、 $-2.1SD$ 、 $-2.2SD$ 、 $-2.3SD$ 、 $-2.4SD$ 、 $-2.5SD$ 、 $-2.6SD$ 、 $-2.7SD$ 、 $-2.8SD$ 、 $-2.9SD$ 、 $-3.0SD$ 以上のSDである。X-CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、SCID、ADA欠損症又はDOCK8欠損症の診断又はスクリーニングについての特定の実施形態において、閾値は、正常対照集団についての解析及びこの集団内の、所与のシグネチャーペプチドの濃度の、ATP7B (Jungら、J. Proteome Res.、2017、16:862~871) の内因性濃度に対する比の標準偏差 (SD) の計算により決定されうる。各PIDDについての、ペプチド濃度カットオフは、各シグネチャーペプチドの平均濃度又は所与のシグネチャーペプチドの濃度の、ATP7Bの内因性濃度に対する比に由来する、ある特定のSDに設定されうる。

10

【0158】

特定の実施形態において、本開示のシグネチャーペプチドについての閾値濃度は、正常対照集団における、対応するシグネチャーペプチドの平均濃度から、 $-1.0SD$ 、 $-1.25SD$ 、 $-1.3SD$ 、 $-1.35SD$ 、 $-1.4SD$ 、 $-1.45SD$ 、 $-1.5SD$ 、 $-1.55SD$ 、 $-1.6SD$ 、 $-1.65SD$ 、 $-1.7SD$ 、 $-1.75SD$ 、 $-1.8SD$ 、 $-1.85SD$ 、 $-1.9SD$ 、 $-1.95SD$ 、 $-2.0SD$ 、 $-2.25SD$ 、 $-2.3SD$ 、 $-2.35SD$ 、 $-2.4SD$ 、 $-2.45SD$ 、 $-2.5SD$ 、 $-2.55SD$ 、 $-2.6SD$ 、 $-2.65SD$ 、 $-2.7SD$ 、 $-2.75SD$ 、 $-2.8SD$ 、 $-2.85SD$ 、 $-2.9SD$ 、 $-2.95SD$ 、 $-3.0SD$ 以上の濃度を含む。

20

【0159】

特定の実施形態において、CYBB509ペプチドについての閾値濃度は、250ピコモル/L以下、240ピコモル/L以下、230ピコモル/L以下、220ピコモル/L以下、210ピコモル/L以下、200ピコモル/L以下、190ピコモル/L以下、185ピコモル/L以下、180ピコモル/L以下、175ピコモル/L以下、170ピコモル/L以下、165ピコモル/L以下、160ピコモル/L以下、155ピコモル/L以下、150ピコモル/L以下を含む。特定の実施形態において、CYBB509ペプチドについての閾値濃度は、188ピコモル/L以下を含む。

30

【0160】

特定の実施形態において、ADA93ペプチドについての閾値濃度は、500ピコモル/L以下、490ピコモル/L以下、480ピコモル/L以下、470ピコモル/L以下、460ピコモル/L以下、450ピコモル/L以下、440ピコモル/L以下、430ピコモル/L以下、420ピコモル/L以下、410ピコモル/L以下、400ピコモル/L以下、390ピコモル/L以下、380ピコモル/L以下、370ピコモル/L以下、360ピコモル/L以下を含む。特定の実施形態において、ADA93ペプチドについての閾値濃度は、470ピコモル/L以下を含む。

40

【0161】

特定の実施形態において、DOCK8 1272ペプチドについての閾値濃度は、100ピコモル/L以下、90ピコモル/L以下、80ピコモル/L以下、70ピコモル/L以下、60ピコモル/L以下、50ピコモル/L以下、40ピコモル/L以下、30ピコモル/L以下、20ピコモル/L以下、10ピコモル/L以下を含む。特定の実施形態において、DOCK8 1272ペプチドについての閾値濃度は、63ピコモル/L以下を含む。

【0162】

特定の実施形態において、CD42 128ペプチドについての閾値濃度は、4000ピコモル/L以下、3900ピコモル/L以下、3800ピコモル/L以下、3700ピ

50

コモル／L以下、3600ピコモル／L以下、3500ピコモル／L以下、3400ピコモル／L以下、3300ピコモル／L以下、3200ピコモル／L以下、3100ピコモル／L以下、3000ピコモル／L以下、2900ピコモル／L以下、2800ピコモル／L以下、2700ピコモル／L以下、2600ピコモル／L以下を含む。特定の実施形態において、CD42 128ペプチドについての閾値濃度は、3435ピコモル／L以下を含む。

【0163】

特定の実施形態において、CD42 154ペプチドについての閾値濃度は、8000ピコモル／L以下、7900ピコモル／L以下、7800ピコモル／L以下、7700ピコモル／L以下、7600ピコモル／L以下、7500ピコモル／L以下、7400ピコモル／L以下、7300ピコモル／L以下、7200ピコモル／L以下、7100ピコモル／L以下、7000ピコモル／L以下、6900ピコモル／L以下、6800ピコモル／L以下、6700ピコモル／L以下、6600ピコモル／L以下を含む。特定の実施形態において、CD42 154ペプチドについての閾値濃度は、7450ピコモル／L以下を含む。

10

【0164】

特定の実施形態において、CD56 122ペプチドについての閾値濃度は、600ピコモル／L以下、590ピコモル／L以下、580ピコモル／L以下、570ピコモル／L以下、560ピコモル／L以下、550ピコモル／L以下、540ピコモル／L以下、530ピコモル／L以下、520ピコモル／L以下、510ピコモル／L以下、500ピコモル／L以下、490ピコモル／L以下、480ピコモル／L以下、470ピコモル／L以下、460ピコモル／L以下を含む。特定の実施形態において、CD56 122ペプチドについての閾値濃度は、482ピコモル／L以下を含む。

20

【0165】

特定の実施形態において、ATM1561ペプチドについての閾値濃度は、18ピコモル／L以下、17ピコモル／L以下、16ピコモル／L以下、15ピコモル／L以下、14ピコモル／L以下、13ピコモル／L以下、12ピコモル／L以下、11ピコモル／L以下、10ピコモル／L以下、9ピコモル／L以下、8ピコモル／L以下、7ピコモル／L以下、6ピコモル／L以下、5ピコモル／L以下、4ピコモル／L以下、3ピコモル／L以下、2ピコモル／L以下、1ピコモル／L以下を含む。特定の実施形態において、ATM1561ペプチドについての閾値濃度は、15ピコモル／L以下を含む。

30

【0166】

特定の実施形態において、PRF215ペプチドについての閾値濃度は、11ピコモル／L以下、10ピコモル／L以下、9ピコモル／L以下、8ピコモル／L以下、7ピコモル／L以下、6ピコモル／L以下、5ピコモル／L以下、4ピコモル／L以下、3ピコモル／L以下、2ピコモル／L以下、1ピコモル／L以下、0.9ピコモル／L以下、0.8ピコモル／L以下、0.7ピコモル／L以下、0.6ピコモル／L以下、0.5ピコモル／L以下、0.4ピコモル／L以下、0.3ピコモル／L以下、0.2ピコモル／L以下、0.1ピコモル／L以下を含む。特定の実施形態において、PRF215ペプチドについての閾値濃度は、10ピコモル／L以下を含む。

40

【0167】

特定の実施形態において、シグネチャーペプチドは、所与の疾患の診断又はスクリーニングのための一次バイオマーカーであると考えられうる。一次シグネチャーペプチドは、所与の疾患を診断又はスクリーニングするのに、最初に使用されるペプチドを含みうる。特定の実施形態において、一次バイオマーカーは、特異的疾患を、直接診断するのに使用されうる。特定の実施形態において、一次バイオマーカーは、対応するタンパク質の消化から、再現可能な形で得られる場合があり、免疫親和性富化のための高親和性抗体を有し、かつ／又は独立の液体クロマトグラフィーカラム及び／又は質量分析装置にわたり再現可能である。特定の実施形態において、CYBBペプチドは、X-CGDを有する対象をスクリーニングするための、一次バイオマーカーとして使用されうる。特定の実施形態に

50

において、SH2D1Aペプチドは、XLP1を有する対象をスクリーニングするための、一次バイオマーカーとして使用されうる。特定の実施形態において、PRF-1ペプチドは、FHL2を有する対象をスクリーニングするための、一次バイオマーカーとして使用されうる。特定の実施形態において、ATMペプチドは、ATを有する対象をスクリーニングするための、一次バイオマーカーとして使用されうる。特定の実施形態において、CD19ペプチドは、CVIDを有する対象をスクリーニングするための、一次バイオマーカーとして使用されうる。特定の実施形態において、IL2RGペプチドは、SCIDを有する対象をスクリーニングするための、一次バイオマーカーとして使用されうる。特定の実施形態において、CD3εペプチドは、SCIDを有する対象をスクリーニングするための、一次バイオマーカーとして使用されうる。特定の実施形態において、CD3δペプチドは、SCIDを有する対象をスクリーニングするための、一次バイオマーカーとして使用されうる。特定の実施形態において、ADAペプチドは、ADA欠損症を有する対象をスクリーニングするための、一次バイオマーカーとして使用されうる。特定の実施形態において、DOCK8ペプチドは、DOCK8欠損症を有する対象をスクリーニングするための、一次バイオマーカーとして使用されうる。特定の実施形態において、シグネチャーペプチドは、所与の疾患の診断又はスクリーニングのための二次バイオマーカーであると考えられうる。二次シグネチャーペプチドは、一次バイオマーカーによる、所与の疾患の診断又はスクリーニングを確認するのに、二次的に使用されるペプチドを含みうる。特定の実施形態において、CD42は、血小板のレベルを評価するための二次バイオマーカーでありうる。特定の実施形態において、CD56は、NK細胞のレベルについての二次バイオマーカーでありうる。特定の実施形態において、CD56は、多様な免疫不全症について裏付けとなる、二次バイオマーカーでありうる。特定の実施形態において、CD3εは、T細胞のレベルを評価するための二次バイオマーカーとして使用されうる。特定の実施形態において、CD3δは、T細胞のレベルを評価するための二次バイオマーカーとして使用されうる。

10

20

30

40

50

【0168】

本明細書において開示された方法は、本明細書において開示された組成物及び方法による、X-CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、SCID、ADA欠損症及び／又はDOCK8欠損症についてのスクリーニングの転帰に基づく、対象（例えば、ヒト）の処置を含む。対象の処置は、治療有効量の送達を含む。治療有効量は、有効量、予防処置及び／又は治療処置をもたらす量を含む。

【0169】

「有効量」とは、対象において、所望の生理学的変化を結果としてもたらすのに必要な組成物の量である。例えば、有効量は、X-CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、SCID、ADA欠損症及び／又はDOCK8欠損症について、症状の緩和、症状の消失又は治癒をもたらす。有効量は、しばしば、調査研究を目的として投与される。本明細書において開示された有効量は、疾患の発生、進行及び／又は消失の評価に関与性の動物モデル又はインビトロアッセイにおいて、統計学的に有意な効果を引き起こしうる。

【0170】

特定の実施形態は、「予防処置」としての組成物の投与を含みうる。予防処置は、処置が、障害を発症する危険性を減殺する、又は減少させる目的で投与されるように、X-CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、SCID、ADA欠損症及び／又はDOCK8欠損症の徴候若しくは症状を提示しない対象、又はX-CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、SCID、ADA欠損症及び／又はDOCK8欠損症の早期の徴候又は症状だけを提示する対象へと投与される予防処置を含む。したがって、予防処置は、X-CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、SCID、ADA欠損症及び／又はDOCK8欠損症に対する防止処置として機能する。

【0171】

特定の実施形態において、予防処置は、X-CGD、XLP1、FHL2、AT、CV

I D、S C I D、A D A 欠損症及び／又はD O C K 8 欠損症の発生を防止しうる、遅延させうる、又は低減しうる。特定の実施形態において、予防処置は、P I D D のための抗生剤の使用など、他の防止措置の前に、これらと共時的に、又はこれらの後に施されうる。特定の実施形態において、予防処置は、X - C G D、X L P 1、F H L 2、A T、C V I D、S C I D、A D A 欠損症及び／又はD O C K 8 欠損症と関連する症状又は合併症の重症度を防止しうる、又は低減しうる。

【0172】

X - C G D についての症状及び合併症は、細菌感染症及び真菌感染症；肉芽腫；肺、肝臓、脾臓、骨若しくは皮膚の膿瘍；リンパ節の腫脹；下痢の遷延並びに／又は慢性鼻水を含む。X L P 1 についての症状及び合併症は、発熱；疲労感、体重減少；食欲減退；リンパ節の腫大及び／又はがんを発症する危険性の増大を含む。F H L 2 についての症状及び合併症は、発熱；浮腫；肝脾腫大；肝機能不全；神経機能障害；発作及び／又は運動失調を含む。A T についての症状及び合併症は、運動協調の低下；精神発達遅滞；歩行の遅延及び／又は日光に曝露された皮膚領域の変色を含む。C V I D についての症状及び合併症は、呼吸問題；慢性咳；体重減少を引き起こす下痢；耳感染症；副鼻腔感染症及び／又は再発性肺感染症を含む。S C I D についての症状及び合併症は、呼吸器感染症、耳感染症、口腔カンジダ症、他の病原菌性感染症、気管支炎、肺炎、下痢及び発育障害を含む。A D A 欠損症についての症状及び合併症は、肺炎；慢性下痢；皮膚発赤及び／又は発達遅滞を含む。D O C K 8 欠損症についての症状及び合併症は、湿疹；呼吸器感染症及び／又は皮膚ブドウ球菌感染症を含む。

【0173】

「治療処置」は、X - C G D、X L P 1、F H L 2、A T、C V I D、S C I D、A D A 欠損症及び／又はD O C K 8 欠損症の症状又は徴候を提示する対象へと投与される処置を含み、X - C G D、X L P 1、F H L 2、A T、C V I D、S C I D、A D A 欠損症及び／又はD O C K 8 欠損症の、これらの徴候又は症状を減殺する、又は消失させる目的で、対象へと投与される。特定の実施形態において、治療処置は、X - C G D、X L P 1、F H L 2、A T、C V I D、S C I D、A D A 欠損症及び／又はD O C K 8 欠損症を有すると診断された対象のために、免疫機能をもたらしうる。特定の実施形態において、治療処置は、本明細書において記載された症状及び合併症など、X - C G D、X L P 1、F H L 2、A T、C V I D、S C I D、A D A 欠損症及び／又はD O C K 8 欠損症の症状及び合併症を低減しうる、制御しうる、又は消失させうる。

【0174】

予防処置と、治療処置とは、相互に排他的である必要はなく、特定の実施形態において、投与された投与量は、1つを超える処置種類を達しうる。

【0175】

特定の実施形態において、治療有効量は、X - C G D、X L P 1、F H L 2、A T、C V I D、S C I D、A D A 欠損症及び／又はD O C K 8 欠損症を有すると診断された対象のために、免疫系機能をもたらす。したがって、特定の実施形態において、本明細書において開示された処置法は、X - C G D、X L P 1、F H L 2、A T、C V I D、S C I D、A D A 欠損症及び／又はD O C K 8 欠損症などの障害のための、幹細胞移植、免疫グロブリン注入、抗生剤注入及び／又は遺伝子治療を含む。特定の実施形態において、処置法は、A D A 欠損症のための酵素療法を含む。免疫機能の施与は、細菌感染、ウイルス感染又は寄生虫感染の頻度又は数の減少、平均余命の延長及び／又は発育の延長を含む。

【0176】

特定の実施形態において、治療用組成物の投与は、別個のアジュバントの投与に伴われる場合がある。例示的アジュバントは、アラム、ベントナイト、ラテックス及びアクリル粒子；不完全フロイントアジュバント、完全フロイントアジュバント；水酸化アルミニウムなど、アルミニウムベースの塩；カルシウムベースの塩；シリカ又は任意のT L R 生物学的リガンド；S i g m a アジュバントシステム（S A S）；R i b i アジュバントを含む。

【0177】

投与のために、治療有効量（本明細書においてまた、用量とも称される）は、初期において、インビトロアッセイ及び／又は動物モデル研究からの結果に基づき推定されうる。このような情報は、目的の対象において有用な用量を、より正確に決定するのに使用されうる。特定の対象へと投与される、実際の用量は、標的、体重、状態の重症度、過去の治療的介入又は共時的な治療的介入、対象の特発性疾患及び投与経路を含む、物理的因子及び生理学的因子などのパラメータを考慮に入れる、医師、獣医師又は研究者により決定されうる。

【0178】

細胞の治療有効量は、1 kg 当たりの細胞 10^4 個～1 kg 当たりの細胞 10^9 個の範囲でありうる。特定の実施形態において、細胞の治療有効量は、1 kg 当たりの細胞 10^4 個、1 kg 当たりの細胞 10^5 個、1 kg 当たりの細胞 10^6 個、1 kg 当たりの細胞 10^7 個、1 kg 当たりの細胞 10^8 個、1 kg 当たりの細胞 10^9 個以上を含みうる。

10

【0179】

有用な用量は、0.1～5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 又は 0.5～1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の範囲でありうる。特定の実施形態において、用量は、1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、55 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、70 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、350 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、750 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、0.1～5 mg/kg 又は 0.5～1 mg/kg を含みうる。特定の実施形態において、用量は、1 mg/kg 、10 mg/kg 、30 mg/kg 、50 mg/kg 、70 mg/kg 、100 mg/kg 、300 mg/kg 、500 mg/kg 、700 mg/kg 、1000 mg/kg 以上を含みうる。

20

【0180】

治療有効量は、処置レジメン（例えば、毎日、隔日、3日ごと、4日ごと、5日ごと、6日ごと、毎週、2週間ごと、3週間ごと、毎月、2カ月ごと、3カ月ごと、4カ月ごと、5カ月ごと、6カ月ごと、7カ月ごと、8カ月ごと、9カ月ごと、10カ月ごと、11カ月ごと又は毎年）の経過中に、単回投与又は複数回投与を実施することにより達成されうる。

【0181】

（X）キット：先天性障害について調べるキットもまた、提供される。キットは、採血用の穿刺ランセット、血液滴を回収する濾紙カード、頬細胞を回収するスワブ、血液を回収するチューブ、DBS又は細胞を可溶化させる溶液並びにDBS又は細胞におけるマーカータンパク質を消化するのに適切な緩衝液及び酵素を含みうる。キットは、CYBB、SH2D1A（SAP）、PRF-1、ATM、CD19、IL2RG、ADA、DOCK8、CD42、CD56、CD3 ϵ 及び／又はCD3 δ の非存在又は低減について評価する、抗ペプチド結合剤（例えば、抗体）及び／又は試薬若しくは備品を含む、1つ以上の容器をさらに含みうる。特定の実施形態において、キットは、以下の抗ペプチド抗体：抗CYBB131、抗CYBB509、抗SH2D1A19、抗SH2D1A110、抗PRF215、抗PRF441、抗ATM798、抗ATM1544、抗ATM1561、抗CD19 41、抗CD19 55、抗CD19 210、抗CD19 505、抗IL2RG295、抗IL2RG316、抗ADA93、抗DOCK8 1272、抗CD42 128、抗CD42 154 及び／又は抗CD56 122、抗CD3 ϵ 74、抗CD3 δ 24 及び／又は抗CD3 δ 133を含む、1つ以上の容器を含む。抗体は、カラム又はビーズなどの固体支持体上に固定化させうる。キットは、ペプチドを抗体から放出する、溶離緩衝液をさらに含みうる。特定の実施形態において、キットは、シグネチャーペプチドの絶対定量を実施する、1つ以上の標識化参照ペプチドを含みうる。特定の実施形態において、キットはまた、ガーゼ、滅菌粘着テープ、手袋、チューブなど、キットを、効果的に使用するのに必要とされる、必須の検査用備品及び／又は医療用備品の一部又は全部も含みうる。本明細書において記載されたキットのうちのいずれかの内容物には、変動がなされうる。

30

40

50

【0182】

キットの構成要素は、保管及び後の使用のために調製されうる。このような容器は、キットの製造、使用又は販売を規制する政府機関により規定された形態の通知であって、要求された場合、製造、使用又は販売についての機関による承認を反映する通知を伴いうる。

【0183】

任意選択的に、キットは、方法においてキットを使用するための指示をさらに含む。多様な実施形態において、指示は、キットの使用と関連する結果を解釈するのに適切な指示；関連廃棄物の適正な処理などを含む。指示は、キット内に提供された指示書の形態の場合もあり、指示は、キット自体の部分に印字される場合もある。指示は、紙片、パンフレット、小冊子、CD-ROM又はコンピューター読取り型デバイスの形態の場合もあり、ウェブサイトなど、遠隔地における指示への道筋を提供する場合もある。

10

【0184】

下記の例示的实施形態及び実施例は、本開示の特定の实施形態を裏付けるように組み入れられる。当業者は、本開示に照らして、本明細書において開示された、詳細な实施形態に対して、多くの変化がなされる場合があるが、本開示の精神及び範囲から逸脱せずに、やはり、類似する結果又は同様の結果を得ることを認識されたい。

【0185】

(XI) 例示的实施形態

1. 対象における、X連鎖慢性肉芽腫症(X-CGD)、アデノシンデアミナーゼ(ADA)欠損症、及び細胞質分裂ディケーター8(DOCK8)欠損症についてスクリーニングする方法であって、

20

対象に由来する生物学的試料を得るステップ；

生物学的試料に由来するタンパク質を酵素で消化して、1つ以上のペプチドをもたらすステップ；

配列番号2の、X-CGDについてのCYBBシグネチャーペプチドを、第2のCYBBシグネチャーペプチドに結合し、配列番号16のCDR1、配列番号17のCDR2及び配列番号18のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号19のCDR1、配列番号20のCDR2及び配列番号21のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む抗体又はその抗原結合性断片により富化し；

30

配列番号11の、ADA欠損症についてのADAシグネチャーペプチドを、ADAシグネチャーペプチドに結合し、配列番号82のCDR1、配列番号83のCDR2及び配列番号84のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号85のCDR1、配列番号86のCDR2及び配列番号87のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む抗体又はその抗原結合性断片により富化し；

配列番号12の、DOCK8欠損症についてのDOCK8シグネチャーペプチドを、DOCK8シグネチャーペプチドに結合し、配列番号100のCDR1、配列番号101のCDR2及び配列番号102のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号103のCDR1、配列番号104のCDR2及び配列番号105のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む抗体又はその抗原結合性断片により富化するステップ；

40

富化されたペプチドに対して、液体クロマトグラフィー-多重反応モニタリング質量分析(LC-MRM-MS)を実施して、各シグネチャーペプチドの濃度を決定するステップ；並びに

CYBBシグネチャーペプチドの濃度が所定の閾値濃度未満である、又はCYBBシグネチャーペプチドが非存在である場合に、対象がX-CGDを有すると診断し；

ADAシグネチャーペプチドの濃度が所定の閾値濃度未満である、又はADAシグネチャーペプチドが非存在である場合に、対象がADA欠損症を有すると診断し；

DOCK8シグネチャーペプチドの濃度が所定の閾値濃度未満である、又はDOCK8シグネチャーペプチドが非存在である場合に、対象がDOCK8欠損症を有すると診断するステップ

50

を含む方法。

【0186】

2. 配列番号13の、第1のCD42シグネチャーペプチドを、第1のCD42シグネチャーペプチドに結合し、配列番号112のCDR1、配列番号113のCDR2及び配列番号114のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号115のCDR1、配列番号116のCDR2及び配列番号117のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号14の、第2のCD42シグネチャーペプチドを、第2のCD42シグネチャーペプチドに結合し、配列番号124のCDR1、配列番号125のCDR2及び配列番号126のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号127のCDR1、配列番号128のCDR2及び配列番号129のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；かつ

配列番号15の、CD56シグネチャーペプチドを、CD56シグネチャーペプチドに結合し、配列番号136のCDR1、配列番号137のCDR2及び配列番号138のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号139のCDR1、配列番号140のCDR2及び配列番号141のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化するステップ；

富化された第1のCD42シグネチャーペプチド、第2のCD42シグネチャーペプチド及び／又はCD56シグネチャーペプチドに対して、液体クロマトグラフィー-多重反応モニタリング質量分析(LC-MRM-MS)を実施して、各シグネチャーペプチドの濃度を決定するステップ；並びに

第1のCD42シグネチャーペプチド、第2のCD42シグネチャーペプチド及びCD56シグネチャーペプチドの濃度を、対応する所定の閾値濃度と比較するステップをさらに含む、実施形態1に記載の方法。

【0187】

3. 第1のCD42シグネチャーペプチド及び第2のCD42シグネチャーペプチドの濃度を比較した後に、対象における血小板レベルを評価するステップをさらに含む、実施形態2に記載の方法。

【0188】

4. CD56シグネチャーペプチドの濃度を比較した後に、対象におけるナチュラルキラー細胞レベルを評価するステップをさらに含む、実施形態2又は3に記載の方法。

【0189】

5. フェニルケトン尿症、原発性先天性甲状腺機能低下症、嚢胞性線維症及び鎌状赤血球症のうちの1つ以上について対象を追加的にスクリーニングする、新生児スクリーニング(NBS)の一部として実施される、実施形態1～4のいずれか一項に記載の方法。

【0190】

6. 生物学的試料が、乾燥血液スポット(DBS)、口腔スワブ、末梢血単核細胞(PBMC)又は白血球(WBC)である、実施形態1～5のいずれか一項に記載の方法。

【0191】

7. 対象における、X連鎖慢性肉芽腫症(X-CGD)、X連鎖リンパ増殖性症候群1(XLP1)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2(FHL2)、毛細血管拡張性運動失調症(AT)、分類不能型免疫不全症(CVID)、重症複合免疫不全症(SCID)、アデノシンデアミナーゼ(ADA)欠損症、及び／又は細胞質分裂デディケーター8(DOCK8)欠損症についてスクリーニングする方法であって、

対象に由来する生物学的試料を得るステップ；

生物学的試料に由来するタンパク質を酵素で消化して、1つ以上のペプチドをもたらすステップ；

配列番号1の、X-CGDについての第1のCYBBシグネチャーペプチドを、第1のCYBBシグネチャーペプチドに結合する抗体又はその抗原結合性断片により富化し；

配列番号2の、X-CGDについての第2のCYBBシグネチャーペプチドを、第2

10

20

30

40

50

のCYBBシグネチャーペプチドに結合し、配列番号16のCDR1、配列番号17のCDR2及び配列番号18のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号19のCDR1、配列番号20のCDR2及び配列番号21のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号3の、XLP1についての第1のSH2D1Aシグネチャーペプチドを、第1のSH2D1Aシグネチャーペプチドに結合し、配列番号160のCDR1、配列番号161のCDR2及び配列番号162のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号163のCDR1、配列番号164のCDR2及び配列番号165のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号4の、XLP1についての第2のSH2D1Aシグネチャーペプチドを、第2のSH2D1Aシグネチャーペプチドに結合する抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号5の、FHL2についての第1のPRF-1シグネチャーペプチドを、第1のPRF-1シグネチャーペプチドに結合し、配列番号34のCDR1、配列番号35のCDR2及び配列番号36のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号37のCDR1、配列番号38のCDR2及び配列番号39のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号6の、FHL2についての第2のPRF-1シグネチャーペプチドを、第2のPRF-1シグネチャーペプチドに結合する抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号210の、毛細血管拡張性運動失調症についての第1のATMシグネチャーペプチドを、第1のATMシグネチャーペプチドに結合する抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号211の、毛細血管拡張性運動失調症についての第2のATMシグネチャーペプチドを、第2のATMシグネチャーペプチドに結合する抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号7の、毛細血管拡張性運動失調症についての第3のATMシグネチャーペプチドを、第3のATMシグネチャーペプチドに結合し、配列番号52のCDR1、配列番号53のCDR2及び配列番号54のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号55のCDR1、配列番号56のCDR2及び配列番号57のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号8の、CVIDについての第1のCD19シグネチャーペプチドを、第1のCD19シグネチャーペプチドに結合し、配列番号70のCDR1、配列番号71のCDR2及び配列番号72のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号73のCDR1、配列番号74のCDR2及び配列番号75のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号9の、CVIDについての第2のCD19シグネチャーペプチドを、第2のCD19シグネチャーペプチドに結合する抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号10の、CVIDについての第3のCD19シグネチャーペプチドを、第3のCD19シグネチャーペプチドに結合する抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号212の、CVIDについての第4のCD19シグネチャーペプチドを、第4のCD19シグネチャーペプチドに結合する抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号213の、SCIDについての第1のIL2RGシグネチャーペプチドを、第1のIL2RGシグネチャーペプチドに結合する抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号214の、SCIDについての第2のIL2RGシグネチャーペプチドを、第2のIL2RGシグネチャーペプチドに結合する抗体若しくはその抗原結合性断片によ

10

20

30

40

50

り富化し；

配列番号 215 の、SCID についての CD3ε シグネチャーペプチドを、CD3ε シグネチャーペプチドに結合する抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 216 の、SCID についての、第 1 の CD3δ シグネチャーペプチドを、第 1 の CD3δ シグネチャーペプチドに結合する抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 217 の、SCID についての第 2 の CD3δ シグネチャーペプチドを、第 2 の CD3δ シグネチャーペプチドに結合する抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 11 の、ADA 欠損症についての ADA シグネチャーペプチドを、ADA シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 82 の CDR1、配列番号 83 の CDR2 及び配列番号 84 の CDR3 を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号 85 の CDR1、配列番号 86 の CDR2 及び配列番号 87 の CDR3 を含む軽鎖可変（VL）ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；かつ／又は

配列番号 12 の、DOCK8 欠損症についての DOCK8 シグネチャーペプチドを、DOCK8 シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 100 の CDR1、配列番号 101 の CDR2 及び配列番号 102 の CDR3 を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号 103 の CDR1、配列番号 104 の CDR2 及び配列番号 105 の CDR3 を含む軽鎖可変（VL）ドメインを含む抗体又はその抗原結合性断片により富化するステップ；

富化されたペプチドに対して、液体クロマトグラフィー—多重反応モニタリング質量分析（LC—MRM—MS）を実施して、各シグネチャーペプチドの濃度を決定するステップ；並びに

第 1 の CYBB シグネチャーペプチド及び／若しくは第 2 の CYBB シグネチャーペプチドの濃度が対応する所定の閾値濃度未満である、又は第 1 の CYBB シグネチャーペプチド及び／若しくは第 2 の CYBB シグネチャーペプチドが非存在である場合に、対象が X—CGD を有すると診断し；

第 1 の SH2D1A シグネチャーペプチド及び／若しくは第 2 の SH2D1A シグネチャーペプチドの濃度が対応する所定の閾値濃度未満である、又は第 1 の SH2D1A シグネチャーペプチド及び／若しくは第 2 の SH2D1A シグネチャーペプチドが非存在である場合に、対象が XLP1 を有すると診断し；

第 1 の PRF—1 シグネチャーペプチド及び／若しくは第 2 の PRF—1 シグネチャーペプチドの濃度が対応する所定の閾値濃度未満である、又は第 1 の PRF—1 シグネチャーペプチド及び／若しくは第 2 の PRF—1 シグネチャーペプチドが非存在である場合に、対象が FHL2 を有すると診断し；

第 1 の ATM シグネチャーペプチド、第 2 の ATM シグネチャーペプチド及び／若しくは第 3 の ATM シグネチャーペプチドの濃度が対応する所定の閾値濃度未満である、又は第 1 の ATM シグネチャーペプチド、第 2 の ATM シグネチャーペプチド及び／若しくは第 3 の ATM シグネチャーペプチドが非存在である場合に、対象が AT を有すると診断し；

第 1 の CD19 シグネチャーペプチド、第 2 の CD19 シグネチャーペプチド、第 3 の CD19 シグネチャーペプチド及び／若しくは第 4 の CD19 シグネチャーペプチドの濃度が対応する所定の閾値濃度未満である、又は第 1 の CD19 シグネチャーペプチド、第 2 の CD19 シグネチャーペプチド、第 3 の CD19 シグネチャーペプチド及び／若しくは第 4 の CD19 シグネチャーペプチドが非存在である場合に、対象が CVID を有すると診断し；

第 1 の IL2RG シグネチャーペプチド、第 2 の IL2RG シグネチャーペプチド、CD3ε シグネチャーペプチド、第 1 の CD3δ シグネチャーペプチド及び／若しくは第 2 の CD3δ シグネチャーペプチドの濃度が対応する所定の閾値濃度未満である、又は第 1 の IL2RG シグネチャーペプチド、第 2 の IL2RG シグネチャーペプチド、CD3ε シグネチャーペプチド、第 1 の CD3δ シグネチャーペプチド及び／若しくは第 2 の C

10

20

30

40

50

D 3 δ シグネチャーペプチドが非存在である場合に、対象が S C I D を有すると診断し；
A D A シグネチャーペプチドの濃度が所定の閾値濃度未満である、又は A D A シグネチャーペプチドが非存在である場合に、対象が A D A 欠損症を有すると診断し；かつ／又は

D O C K 8 シグネチャーペプチドの濃度が所定の閾値濃度未満である、又は D O C K 8 シグネチャーペプチドが非存在である場合に、対象が D O C K 8 欠損症を有すると診断するステップを含む方法。

【0192】

8. C D 3 ε シグネチャーペプチド、第1の C D 3 δ シグネチャーペプチド及び／又は第2の C D 3 δ シグネチャーペプチドの濃度を、対応する所定の閾値濃度と比較した後に、対象における T 細胞レベルを評価するステップをさらに含む、実施形態 7 に記載の方法。

10

【0193】

9. 配列番号 1 3 の、第1の C D 4 2 シグネチャーペプチドを、第1の C D 4 2 シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 1 1 2 の C D R 1、配列番号 1 1 3 の C D R 2 及び配列番号 1 1 4 の C D R 3 を含む重鎖可変 (V H) ドメイン並びに配列番号 1 1 5 の C D R 1、配列番号 1 1 6 の C D R 2 及び配列番号 1 1 7 の C D R 3 を含む軽鎖可変 (V L) ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 1 4 の、第2の C D 4 2 シグネチャーペプチドを、第2の C D 4 2 シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 1 2 4 の C D R 1、配列番号 1 2 5 の C D R 2 及び配列番号 1 2 6 の C D R 3 を含む重鎖可変 (V H) ドメイン並びに配列番号 1 2 7 の C D R 1、配列番号 1 2 8 の C D R 2 及び配列番号 1 2 9 の C D R 3 を含む軽鎖可変 (V L) ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；かつ／又は

20

配列番号 1 5 の、C D 5 6 シグネチャーペプチドを、C D 5 6 シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 1 3 6 の C D R 1、配列番号 1 3 7 の C D R 2 及び配列番号 1 3 8 の C D R 3 を含む重鎖可変 (V H) ドメイン並びに配列番号 1 3 9 の C D R 1、配列番号 1 4 0 の C D R 2 及び配列番号 1 4 1 の C D R 3 を含む軽鎖可変 (V L) ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化するステップ；

富化された第1の C D 4 2 シグネチャーペプチド、第2の C D 4 2 シグネチャーペプチド及び／又は C D 5 6 シグネチャーペプチドに対して、液体クロマトグラフィー-多重反応モニタリング質量分析 (L C - M R M - M S) を実施して、各シグネチャーペプチドの濃度を決定するステップ；並びに

30

第1の C D 4 2 シグネチャーペプチド、第2の C D 4 2 シグネチャーペプチド及び／又は C D 5 6 シグネチャーペプチドの濃度を、対応する所定の閾値濃度と比較するステップをさらに含む、実施形態 7 又は 8 に記載の方法。

【0194】

10. 第1の C D 4 2 シグネチャーペプチド及び／又は第2の C D 4 2 シグネチャーペプチドの濃度を比較した後に、対象における血小板レベルを評価するステップをさらに含む、実施形態 9 に記載の方法。

40

【0195】

11. C D 5 6 シグネチャーペプチドの濃度を比較した後に、対象におけるナチュラルキラー細胞レベルを評価するステップをさらに含む、実施形態 9 又は 10 に記載の方法。

【0196】

12. フェニルケトン尿症、原発性先天性甲状腺機能低下症、嚢胞性線維症及び鎌状赤血球症のうちの1つ以上について対象を追加的にスクリーニングする、新生児スクリーニング (N B S) の一部として実施される、実施形態 7 ~ 11 のいずれか一項に記載の方法。

【0197】

13. 対象における、X - C G D、X L P 1、F H L 2、毛細血管拡張性運動失調症、

50

CVID、SCID、ADA欠損症及び／又はDOCK8欠損症の臨床症状の非存在下において実施される、実施形態7～12のいずれか一項に記載の方法。

【0198】

14．生物学的試料が、乾燥血液スポット（DBS）、口腔スワブ、末梢血単核細胞（PBMC）又は白血球（WBC）である、実施形態7～13のいずれか一項に記載の方法。

【0199】

15．酵素が、トリプシンである、実施形態7～14のいずれか一項に記載の方法。

【0200】

16．各シグネチャーペプチドについての対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、各シグネチャーペプチドの平均濃度の標準偏差（SD）から計算される、実施形態7～15のいずれか一項に記載の方法。

【0201】

17．正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号2の、X-CGDについての第2のCYBBシグネチャーペプチドの平均濃度が、300ピコモル／L～3000ピコモル／Lの範囲の濃度を含む、実施形態16に記載の方法。

【0202】

18．対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号2の、X-CGDについての第2のCYBBシグネチャーペプチドの平均濃度の $-2.5SD \sim -2SD$ を含む、実施形態16又は17に記載の方法。

【0203】

19．正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号5の、FHL2についての第1のPRF-1シグネチャーペプチドの平均濃度が、10ピコモル／L～200ピコモル／Lの範囲の濃度を含む、実施形態16～18のいずれか一項に記載の方法。

【0204】

20．対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号5の、FHL2についての第1のPRF-1シグネチャーペプチドの平均濃度の $-1.5SD \sim -1SD$ を含む、実施形態16～19のいずれか一項に記載の方法。

【0205】

21．正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号7の、毛細血管拡張性運動失調症についての第3のATMシグネチャーペプチドの平均濃度が、20ピコモル／L～100ピコモル／Lの範囲の濃度を含む、実施形態16～20のいずれか一項に記載の方法。

【0206】

22．対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号7の、毛細血管拡張性運動失調症についての第3のATMシグネチャーペプチドの平均濃度の $-2.25SD \sim -1.75SD$ を含む、実施形態16～21のいずれか一項に記載の方法。

【0207】

23．正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号11の、ADA欠損症についてのADAシグネチャーペプチドの平均濃度が、900ピコモル／L～5000ピコモル／Lの範囲の濃度を含む、実施形態16～22のいずれか一項に記載の方法。

【0208】

24．対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号11の、ADA欠損症についてのADAシグネチャーペプチドの平均濃度の $-2.1SD \sim -1.6SD$ を含む、実施形態16～23のいずれか一項に記載の方法。

【0209】

25．正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号12の、DOC

10

20

30

40

50

K 8 欠損症についての D O C K 8 シグネチャーペプチドの平均濃度が、7 0 ピコモル／L ～ 5 5 0 ピコモル／L の範囲の濃度を含む、実施形態 1 6 ～ 2 4 のいずれか一項に記載の方法。

【0 2 1 0】

2 6 . 対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号 1 2 の、D O C K 8 欠損症についての D O C K 8 シグネチャーペプチドの平均濃度の $-2.5SD$ ～ $-2SD$ を含む、実施形態 1 6 ～ 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

【0 2 1 1】

2 7 . 正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号 1 3 の、第 1 の C D 4 2 シグネチャーペプチドの平均濃度が、4 0 0 0 ピコモル／L ～ 2 0 0 0 0 ピコモル／L の範囲の濃度を含む、実施形態 1 6 ～ 2 6 のいずれか一項に記載の方法。

10

【0 2 1 2】

2 8 . 対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号 1 3 の、第 1 の C D 4 2 シグネチャーペプチドの平均濃度の $-2.25SD$ ～ $-1.75SD$ を含む、実施形態 1 6 ～ 2 7 のいずれか一項に記載の方法。

【0 2 1 3】

2 9 . 正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号 1 4 の、第 2 の C D 4 2 シグネチャーペプチドの平均濃度が、8 0 0 0 ピコモル／L ～ 3 0 0 0 0 ピコモル／L の範囲の濃度を含む、実施形態 1 6 ～ 2 8 のいずれか一項に記載の方法。

20

【0 2 1 4】

3 0 . 対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号 1 4 の、第 2 の C D 4 2 シグネチャーペプチドの平均濃度の $-1.75SD$ ～ $-1.25SD$ を含む、実施形態 1 6 ～ 2 9 のいずれか一項に記載の方法。

【0 2 1 5】

3 1 . 正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号 1 5 の、C D 5 6 シグネチャーペプチドの平均濃度が、6 0 0 ピコモル／L ～ 5 0 0 0 ピコモル／L の範囲の濃度を含む、実施形態 1 6 ～ 3 0 のいずれか一項に記載の方法。

【0 2 1 6】

3 2 . 対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号 1 5 の、C D 5 6 シグネチャーペプチドの平均濃度の $-2.75SD$ ～ $-2.25SD$ を含む、実施形態 1 6 ～ 3 1 のいずれか一項に記載の方法。

30

【0 2 1 7】

3 3 . 配列番号 2 の、X - C G D についての第 2 の C Y B B シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号 2 7 の V H ドメイン；配列番号 3 3 の V L ドメイン；配列番号 2 4 の重鎖又は配列番号 3 0 の軽鎖のうちの 1 つ以上を含む、実施形態 7 ～ 3 2 のいずれか一項に記載の方法。

【0 2 1 8】

3 4 . 配列番号 3 の、X L P 1 についての第 1 の S H 2 D 1 A シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号 1 7 3 の V H ドメイン；配列番号 1 8 1 の V L ドメイン；配列番号 1 6 9 の重鎖又は配列番号 1 7 7 の軽鎖のうちの 1 つ以上を含む、実施形態 7 ～ 3 3 のいずれか一項に記載の方法。

40

【0 2 1 9】

3 5 . 配列番号 5 の、F H L 2 についての第 1 の P R F - 1 シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号 4 5 の V H ドメイン；配列番号 5 1 の V L ドメイン；配列番号 4 2 の重鎖又は配列番号 4 8 の軽鎖のうちの 1 つ以上を含む、実施形態 7 ～ 3 4 のいずれか一項に記載の方法。

【0 2 2 0】

3 6 . 配列番号 7 の、毛細血管拡張性運動失調症についての第 3 の A T M シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号 6 3 の V H

50

ドメイン；配列番号 69 の V L ドメイン；配列番号 60 の重鎖又は配列番号 66 の軽鎖のうちの 1 つ以上を含む、実施形態 7 ～ 35 のいずれか一項に記載の方法。

【0221】

37. 配列番号 8 の、C V I D についての第 1 の C D 19 シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号 78 の V H ドメイン；又は配列番号 81 の V L ドメインのうちの 1 つ以上を含む、実施形態 7 ～ 36 のいずれか一項に記載の方法。

【0222】

38. 配列番号 11 の、A D A 欠損症についての A D A シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号 93 の V H ドメイン；配列番号 99 の V L ドメイン；配列番号 90 の重鎖又は配列番号 96 の軽鎖のうちの 1 つ以上を含む、実施形態 7 ～ 37 のいずれか一項に記載の方法。

10

【0223】

39. 配列番号 12 の、D O C K 8 欠損症についての D O C K 8 シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号 108 の V H ドメイン及び／又は配列番号 111 の V L ドメインを含む、実施形態 7 ～ 38 のいずれか一項に記載の方法。

【0224】

40. 配列番号 13 の、第 1 の C D 42 シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号 120 の V H ドメイン及び／又は配列番号 123 の V L ドメインを含む、実施形態 7 ～ 39 のいずれか一項に記載の方法。

20

【0225】

41. 配列番号 14 の、第 2 の C D 42 シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号 132 の V H ドメイン及び／又は配列番号 135 の V L ドメインを含む、実施形態 7 ～ 40 のいずれか一項に記載の方法。

【0226】

42. 配列番号 15 の、C D 56 シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号 147 の V H ドメイン；配列番号 153 の V L ドメイン；配列番号 144 の重鎖又は配列番号 150 の軽鎖のうちの 1 つ以上を含む、実施形態 7 ～ 41 のいずれか一項に記載の方法。

30

【0227】

43. 1 つ以上の生物学的試料中の、X 連鎖慢性肉芽腫症 (X - C G D)、X 連鎖リンパ増殖性症候群 1 (X L P 1)、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症 2 (F H L 2)、毛細血管拡張性運動失調症 (A T)、分類不能型免疫不全症 (C V I D)、重症複合免疫不全症 (S C I D)、アデノシンデアミナーゼ (A D A) 欠損症、及び／又は細胞質分裂ディケーター 8 (D O C K 8) 欠損症についての 1 つ以上のシグネチャーペプチドを検出する方法であって、

1 つ以上の生物学的試料を得るステップ；

各生物学的試料のうちの血液由来のタンパク質を酵素で消化して、1 つ以上のペプチドをもたらすステップ；

40

配列番号 1 の、X - C G D についての第 1 の C Y B B シグネチャーペプチドを、第 1 の C Y B B シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 2 の、X - C G D についての第 2 の C Y B B シグネチャーペプチドを、第 2 の C Y B B シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 16 の C D R 1、配列番号 17 の C D R 2 及び配列番号 18 の C D R 3 を含む重鎖可変 (V H) ドメイン並びに配列番号 19 の C D R 1、配列番号 20 の C D R 2 及び配列番号 21 の C D R 3 を含む軽鎖可変 (V L) ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 3 の、X L P 1 についての第 1 の S H 2 D 1 A シグネチャーペプチドを、第 1 の S H 2 D 1 A シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 160 の C D R 1、配列番号

50

161のCDR2及び配列番号162のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号163のCDR1、配列番号164のCDR2及び配列番号165のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号4の、XLP1についての第2のSH2D1Aシグネチャーペプチドを、第2のSH2D1Aシグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号5の、FHL2についての第1のPRF-1シグネチャーペプチドを、第1のPRF-1シグネチャーペプチドに結合し、配列番号34のCDR1、配列番号35のCDR2及び配列番号36のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号37のCDR1、配列番号38のCDR2及び配列番号39のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号6の、FHL2についての第2のPRF-1シグネチャーペプチドを、第2のPRF-1シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号210の、毛細血管拡張性運動失調症についての第1のATMシグネチャーペプチドを、第1のATMシグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号211の、毛細血管拡張性運動失調症についての第2のATMシグネチャーペプチドを、第2のATMシグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号7の、毛細血管拡張性運動失調症についての第3のATMシグネチャーペプチドを、第3のATMシグネチャーペプチドに結合し、配列番号52のCDR1、配列番号53のCDR2及び配列番号54のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号55のCDR1、配列番号56のCDR2及び配列番号57のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号8の、CVIDについての第1のCD19シグネチャーペプチドを、第1のCD19シグネチャーペプチドに結合し、配列番号70のCDR1、配列番号71のCDR2及び配列番号72のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号73のCDR1、配列番号74のCDR2及び配列番号75のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号9の、CVIDについての第2のCD19シグネチャーペプチドを、第2のCD19シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号10の、CVIDについての第3のCD19シグネチャーペプチドを、第3のCD19シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号212の、CVIDについての第4のCD19シグネチャーペプチドを、第4のCD19シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号213の、SCIDについての第1のIL2RGシグネチャーペプチドを、第1のIL2RGシグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号214の、SCIDについての第2のIL2RGシグネチャーペプチドを、第2のIL2RGシグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号215の、SCIDについてのCD3εシグネチャーペプチドを、CD3εシグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号216の、SCIDについての第1のCD3δシグネチャーペプチドを、第1のCD3δシグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

10

20

30

40

50

配列番号 217 の、SCID についての第 2 の CD3δ シグネチャーペプチドを、第 2 の CD3δ シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 11 の、ADA 欠損症についての ADA シグネチャーペプチドを、ADA シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 82 の CDR1、配列番号 83 の CDR2 及び配列番号 84 の CDR3 を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号 85 の CDR1、配列番号 86 の CDR2 及び配列番号 87 の CDR3 を含む軽鎖可変（VL）ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；かつ／又は

配列番号 12 の、DOCK8 欠損症についての DOCK8 シグネチャーペプチドを、DOCK8 シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 100 の CDR1、配列番号 101 の CDR2 及び配列番号 102 の CDR3 を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号 103 の CDR1、配列番号 104 の CDR2 及び配列番号 105 の CDR3 を含む軽鎖可変（VL）ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化するステップ；
並びに

富化されたペプチドに対して、液体クロマトグラフィー—多重反応モニタリング質量分析（LC—MRM—MS）を実施して、各シグネチャーペプチドの濃度を決定し、これにより、1 つ以上の生物学的試料中の、X—CGD、XLP1、FHL2、AT、CVID、SCID、ADA 欠損症及び／又は DOCK8 欠損症についての 1 つ以上のシグネチャーペプチドを検出するステップを含む方法。

【0228】

44. 配列番号 13 の、第 1 の CD42 シグネチャーペプチドを、第 1 の CD42 シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 112 の CDR1、配列番号 113 の CDR2 及び配列番号 114 の CDR3 を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号 115 の CDR1、配列番号 116 の CDR2 及び配列番号 117 の CDR3 を含む軽鎖可変（VL）ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 14 の、第 2 の CD42 シグネチャーペプチドを、第 2 の CD42 シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 124 の CDR1、配列番号 125 の CDR2 及び配列番号 126 の CDR3 を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号 127 の CDR1、配列番号 128 の CDR2 及び配列番号 129 の CDR3 を含む軽鎖可変（VL）ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；かつ／又は

配列番号 15 の、CD56 シグネチャーペプチドを、CD56 シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 136 の CDR1、配列番号 137 の CDR2 及び配列番号 138 の CDR3 を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号 139 の CDR1、配列番号 140 の CDR2 及び配列番号 141 の CDR3 を含む軽鎖可変（VL）ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

富化された第 1 の CD42 シグネチャーペプチド、第 2 の CD42 シグネチャーペプチド及び／又は CD56 シグネチャーペプチドに対して、液体クロマトグラフィー—多重反応モニタリング質量分析（LC—MRM—MS）を実施して、各シグネチャーペプチドの濃度を決定し、これにより、血小板及び／又はナチュラルキラー（NK）細胞の 1 つ以上のシグネチャーペプチドを検出することにより、血小板及び／又はナチュラルキラー（NK）細胞の 1 つ以上のシグネチャーペプチドを検出するステップをさらに含む、実施形態 43 に記載の方法。

【0229】

45. 1 つ以上の生物学的試料が、乾燥血液スポット（DBS）、口腔スワブ、末梢血単核細胞（PBMC）又は白血球（WBC）である、実施形態 43 又は 44 に記載の方法。

【0230】

10

20

30

40

50

46. 酵素が、トリプシンである、実施形態43～45のいずれか一項に記載の方法。

【0231】

47. 各シグネチャーペプチドの濃度を、対応する所定の閾値濃度と比較するステップをさらに含む、実施形態43～46のいずれか一項に記載の方法。

【0232】

48. 各シグネチャーペプチドについての対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の1つ以上の対応する生物学的試料中の、各シグネチャーペプチドの平均濃度の標準偏差(SD)から計算される、実施形態43～47のいずれか一項に記載の方法。

【0233】

49. 正常対照対象の集団由来の1つ以上の対応する生物学的試料中の、配列番号2の、X-CGDについての第2のCYBBシグネチャーペプチドの平均濃度が、300ピコモル/L～3000ピコモル/Lの範囲の濃度を含み、実施形態48に記載の方法。

10

【0234】

50. 対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号2の、X-CGDについての第2のCYBBシグネチャーペプチドの平均濃度の $-2.5SD \sim -2SD$ を含む、実施形態48又は49に記載の方法。

【0235】

51. 正常対照対象の集団由来の1つ以上の対応する生物学的試料中の、配列番号5の、FHL2についての第1のPRF-1シグネチャーペプチドの平均濃度が、10ピコモル/L～200ピコモル/Lの範囲の濃度を含み、実施形態48～50のいずれか一項に記載の方法。

20

【0236】

52. 対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号5の、FHL2についての第1のPRF-1シグネチャーペプチドの平均濃度の $-1.5SD \sim -1SD$ を含む、実施形態48～51のいずれか一項に記載の方法。

【0237】

53. 正常対照対象の集団由来の1つ以上の対応する生物学的試料中の、配列番号7の、毛細血管拡張性運動失調症についての第3のATMシグネチャーペプチドの平均濃度が、20ピコモル/L～100ピコモル/Lの範囲の濃度を含み、実施形態48～52のいずれか一項に記載の方法。

30

【0238】

54. 対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号7の、毛細血管拡張性運動失調症についての第3のATMシグネチャーペプチドの平均濃度の $-2.25SD \sim -1.75SD$ を含む、実施形態48～53のいずれか一項に記載の方法。

【0239】

55. 正常対照対象の集団由来の1つ以上の対応する生物学的試料中の、配列番号11の、ADA欠損症についてのADAシグネチャーペプチドの平均濃度が、900ピコモル/L～5000ピコモル/Lの範囲の濃度を含み、実施形態48～54のいずれか一項に記載の方法。

40

【0240】

56. 対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号11の、ADA欠損症についてのADAシグネチャーペプチドの平均濃度の $-2.1SD \sim -1.6SD$ を含む、実施形態48～55のいずれか一項に記載の方法。

【0241】

57. 正常対照対象の集団由来の1つ以上の対応する生物学的試料中の、配列番号12の、DOCK8欠損症についてのDOCK8シグネチャーペプチドの平均濃度が、70ピコモル/L～550ピコモル/Lの範囲の濃度を含み、実施形態48～56のいずれか一項に記載の方法。

【0242】

50

58. 対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号12の、DOCK8欠損症についてのDOCK8シグネチャーペプチドの平均濃度の $-2.5SD \sim -2SD$ を含む、実施形態48～57のいずれか一項に記載の方法。

【0243】

59. 正常対照対象の集団由来の1つ以上の対応する生物学的試料中の、配列番号13の、第1のCD42シグネチャーペプチドの平均濃度が、 $4000 \text{ピコモル/L} \sim 20000 \text{ピコモル/L}$ の範囲の濃度を含む、実施形態48～58のいずれか一項に記載の方法。

【0244】

60. 対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号13の、第1のCD42シグネチャーペプチドの平均濃度の $-2.25SD \sim -1.75SD$ を含む、実施形態48～59のいずれか一項に記載の方法。

【0245】

61. 正常対照対象の集団由来の1つ以上の対応する生物学的試料中の、配列番号14の、第2のCD42シグネチャーペプチドの平均濃度が、 $8000 \text{ピコモル/L} \sim 30000 \text{ピコモル/L}$ の範囲の濃度を含む、実施形態48～60のいずれか一項に記載の方法。

【0246】

62. 対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号14の、第2のCD42シグネチャーペプチドの平均濃度の $-1.75SD \sim -1.25SD$ を含む、実施形態48～61のいずれか一項に記載の方法。

【0247】

63. 正常対照対象の集団由来の1つ以上の対応する生物学的試料中の、配列番号15の、CD56シグネチャーペプチドの平均濃度が、 $600 \text{ピコモル/L} \sim 5000 \text{ピコモル/L}$ の範囲の濃度を含む、実施形態48～62のいずれか一項に記載の方法。

【0248】

64. 対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号15の、CD56シグネチャーペプチドの平均濃度の $-2.75SD \sim -2.25SD$ を含む、実施形態48～63のいずれか一項に記載の方法。

【0249】

65. 配列番号2の、XCGDについての第2のCYBBシグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号27のVHドメイン；配列番号33のVLドメイン；配列番号24の重鎖又は配列番号30の軽鎖のうちの1つ以上を含む、実施形態43～64のいずれか一項に記載の方法。

【0250】

66. 配列番号3の、XLP1についての第1のSH2D1Aシグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号173のVHドメイン；配列番号181のVLドメイン；配列番号169の重鎖又は配列番号177の軽鎖のうちの1つ以上を含む、実施形態43～65のいずれか一項に記載の方法。

【0251】

67. 配列番号5の、FHL2についての第1のPRF-1シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号45のVHドメイン；配列番号51のVLドメイン；配列番号42の重鎖又は配列番号48の軽鎖のうちの1つ以上を含む、実施形態43～66のいずれか一項に記載の方法。

【0252】

68. 配列番号7の、毛細血管拡張性運動失調症についての第3のATMシグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号63のVHドメイン；配列番号69のVLドメイン；配列番号60の重鎖又は配列番号66の軽鎖のうちの1つ以上を含む、実施形態43～67のいずれか一項に記載の方法。

10

20

30

40

50

【0253】

69. 配列番号8の、CVIDについての第1のCD19シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号78のVHドメイン；又は配列番号81のVLドメインのうちの1つ以上を含む、実施形態43～68のいずれか一項に記載の方法。

【0254】

70. 配列番号11の、ADA欠損症についてのADAシグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号93のVHドメイン；配列番号99のVLドメイン；配列番号90の重鎖又は配列番号96の軽鎖のうちの1つ以上を含む、実施形態43～69のいずれか一項に記載の方法。

【0255】

71. 配列番号12の、DOCK8欠損症についてのDOCK8シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号108のVHドメイン及び／又は配列番号111のVLドメインを含む、実施形態43～70のいずれか一項に記載の方法。

【0256】

72. 配列番号13の、第1のCD42シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号120のVHドメイン及び／又は配列番号123のVLドメインを含む、実施形態43～71のいずれか一項に記載の方法。

【0257】

73. 配列番号14の、第2のCD42シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号132のVHドメイン及び／又は配列番号135のVLドメインを含む、実施形態43～72のいずれか一項に記載の方法。

【0258】

74. 配列番号15の、CD56シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号147のVHドメイン；配列番号153のVLドメイン；配列番号144の重鎖又は配列番号150の軽鎖のうちの1つ以上を含む、実施形態43～73のいずれか一項に記載の方法。

【0259】

75. X連鎖慢性肉芽腫症（X-CGD）、X連鎖リンパ増殖性症候群1（XLP1）、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2（FHL2）、毛細血管拡張性運動失調症（AT）、分類不能型免疫不全症（CVID）、重症複合免疫不全症（SCID）、アデノシンデアミナーゼ（ADA）欠損症、及び／又は細胞質分裂デフェクター8（DOCK8）欠損症について処置される対象における、1つ以上の処置の有効性を決定する方法であって、

1つ以上の処置の前に、対象に由来する生物学的試料を得るステップ；

生物学的試料のうちの血液由来のタンパク質を酵素で消化して、1つ以上のペプチドをもたらすステップ；

配列番号1の、X-CGDについての第1のCYBBシグネチャーペプチドを、第1のCYBBシグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号2の、X-CGDについての第2のCYBBシグネチャーペプチドを、第2のCYBBシグネチャーペプチドに結合し、配列番号16のCDR1、配列番号17のCDR2及び配列番号18のCDR3を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号19のCDR1、配列番号20のCDR2及び配列番号21のCDR3を含む軽鎖可変（VL）ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号3の、XLP1についての第1のSH2D1Aシグネチャーペプチドを、第1のSH2D1Aシグネチャーペプチドに結合し、配列番号160のCDR1、配列番号161のCDR2及び配列番号162のCDR3を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号163のCDR1、配列番号164のCDR2及び配列番号165のCDR3を

10

20

30

40

50

含む軽鎖可変（V L）ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 4 の、X L P 1 についての第 2 の S H 2 D 1 A シグネチャーペプチドを、第 2 の S H 2 D 1 A シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 5 の、F H L 2 についての第 1 の P R F - 1 シグネチャーペプチドを、第 1 の P R F - 1 シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 3 4 の C D R 1、配列番号 3 5 の C D R 2 及び配列番号 3 6 の C D R 3 を含む重鎖可変（V H）ドメイン並びに配列番号 3 7 の C D R 1、配列番号 3 8 の C D R 2 及び配列番号 3 9 の C D R 3 を含む軽鎖可変（V L）ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 6 の、F H L 2 についての第 2 の P R F - 1 シグネチャーペプチドを、第 2 の P R F - 1 シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 2 1 0 の、毛細血管拡張性運動失調症についての第 1 の A T M シグネチャーペプチドを、第 1 の A T M シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 2 1 1 の、毛細血管拡張性運動失調症についての第 2 の A T M シグネチャーペプチドを、第 2 の A T M シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 7 の、毛細血管拡張性運動失調症についての第 3 の A T M シグネチャーペプチドを、第 3 の A T M シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 5 2 の C D R 1、配列番号 5 3 の C D R 2 及び配列番号 5 4 の C D R 3 を含む重鎖可変（V H）ドメイン並びに配列番号 5 5 の C D R 1、配列番号 5 6 の C D R 2 及び配列番号 5 7 の C D R 3 を含む軽鎖可変（V L）ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 8 の、C V I D についての第 1 の C D 1 9 シグネチャーペプチドを、第 1 の C D 1 9 シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 7 0 の C D R 1、配列番号 7 1 の C D R 2 及び配列番号 7 2 の C D R 3 を含む重鎖可変（V H）ドメイン並びに配列番号 7 3 の C D R 1、配列番号 7 4 の C D R 2 及び配列番号 7 5 の C D R 3 を含む軽鎖可変（V L）ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 9 の、C V I D についての第 2 の C D 1 9 シグネチャーペプチドを、第 2 の C D 1 9 シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 1 0 の、C V I D についての第 3 の C D 1 9 シグネチャーペプチドを、第 3 の C D 1 9 シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 2 1 2 の、C V I D についての第 4 の C D 1 9 シグネチャーペプチドを、第 4 の C D 1 9 シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 2 1 3 の、S C I D についての第 1 の I L 2 R G シグネチャーペプチドを、第 1 の I L 2 R G シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 2 1 4 の、S C I D についての第 2 の I L 2 R G シグネチャーペプチドを、第 2 の I L 2 R G シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 2 1 5 の、S C I D についての C D 3 ε シグネチャーペプチドを、C D 3 ε シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 2 1 6 の、S C I D についての第 1 の C D 3 d δ シグネチャーペプチドを、第 1 の C D 3 d δ シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号 2 1 7 の、S C I D についての第 2 の C D 3 d δ シグネチャーペプチドを、第 2 の C D 3 d δ シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片に

10

20

30

40

50

より富化し；

配列番号 11 の、A D A 欠損症についての A D A シグネチャーペプチドを、A D A シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 82 の C D R 1、配列番号 83 の C D R 2 及び配列番号 84 の C D R 3 を含む重鎖可変（V H）ドメイン並びに配列番号 85 の C D R 1、配列番号 86 の C D R 2 及び配列番号 87 の C D R 3 を含む軽鎖可変（V L）ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；かつ／又は

配列番号 12 の、D O C K 8 欠損症についての D O C K 8 シグネチャーペプチドを、D O C K 8 シグネチャーペプチドに結合し、配列番号 100 の C D R 1、配列番号 101 の C D R 2 及び配列番号 102 の C D R 3 を含む重鎖可変（V H）ドメイン並びに配列番号 103 の C D R 1、配列番号 104 の C D R 2 及び配列番号 105 の C D R 3 を含む軽鎖可変（V L）ドメインを含む抗体又はその抗原結合性断片により富化するステップ；

富化されたペプチドに対して、液体クロマトグラフィー—多重反応モニタリング質量分析（L C—M R M—M S）を実施して、1つ以上の処置の前の対象における各シグネチャーペプチドの濃度を決定するステップ；

1つ以上の処置時に又はこれらの後に、対象に由来する生物学的試料を得るステップ、これらを消化するステップ、これらを富化するステップ、及びこれらに対して実施するステップを反復するステップ；

並びに

1つ以上の処置が、

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、第1の C Y B B シグネチャーペプチド及び／若しくは第2の C Y B B シグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、第1の C Y B B シグネチャーペプチド及び／若しくは第2の C Y B B シグネチャーペプチドの対応する濃度より高い場合に、X—C G D に対して効果的であり；

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、第1の S H 2 D 1 A シグネチャーペプチド及び／若しくは第2の S H 2 D 1 A シグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、第1の S H 2 D 1 A シグネチャーペプチド及び／若しくは第2の S H 2 D 1 A シグネチャーペプチドの対応する濃度より高い場合に、X L P 1 に対して効果的であり；

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、第1の P R F—1 シグネチャーペプチド及び／若しくは第2の P R F—1 シグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、第1の P R F—1 シグネチャーペプチド及び／若しくは第2の P R F—1 シグネチャーペプチドの対応する濃度より高い場合に、F H L 2 に対して効果的であり；

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、第1の A T M シグネチャーペプチド、第2の A T M シグネチャーペプチド及び／若しくは第3の A T M シグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、第1の A T M シグネチャーペプチド、第2の A T M シグネチャーペプチド及び／若しくは第3の A T M シグネチャーペプチドの濃度より高い場合に、A T に対して効果的であり；

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、第1の C D 19 シグネチャーペプチド、第2の C D 19 シグネチャーペプチド、第3の C D 19 シグネチャーペプチド及び／若しくは第4の C D 19 シグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、第1の C D 19 シグネチャーペプチド、第2の C D 19 シグネチャーペプチド、第3の C D 19 シグネチャーペプチド及び／若しくは第4の C D 19 シグネチャーペプチドの対応する濃度より高い場合に、C V I D に対して効果的であり；

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、第1の I L 2 R G シグネチャーペプチド、第2の I L 2 R G シグネチャーペプチド、C D 3 ε シグネチャーペプチド、第1の C D 3 δ シグネチャーペプチド及び／若しくは第2の C D 3 δ シグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、第1の I L 2 R G シグネチャーペプチド、第2の I L 2 R G シグネチャーペプチド、C D 3 ε シグネチャーペプチド、第1の C D 3 δ シグネチャーペプチド及び／若しくは第2の C D 3 δ シグネチャーペプチドの対応する濃度より高い場合に、S C I D に対して効果的であり；

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、A D Aシグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、A D Aシグネチャーペプチドの濃度より高い場合に、A D A欠損症に対して効果的であり；かつ／又は

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、D O C K 8シグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、所定の閾値濃度以上である場合に、D O C K 8欠損症に対して効果的である

ことを決定する、

又は

1つ以上の処置が、

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、第1のC Y B Bシグネチャーペプチド及び／若しくは第2のC Y B Bシグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、第1のC Y B Bシグネチャーペプチド及び／若しくは第2のC Y B Bシグネチャーペプチドの対応する濃度以下である、又は第1のC Y B Bシグネチャーペプチド及び／若しくは第2のC Y B Bシグネチャーペプチドが非存在である場合に、X - C G Dに対して効果的でなく；

10

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、第1のS H 2 D 1 Aシグネチャーペプチド及び／若しくは第2のS H 2 D 1 Aシグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、第1のS H 2 D 1 Aシグネチャーペプチド及び／若しくは第2のS H 2 D 1 Aシグネチャーペプチドの対応する濃度以下である、又は第1のS H 2 D 1 Aシグネチャーペプチド及び／若しくは第2のS H 2 D 1 Aシグネチャーペプチドが非存在である場合に、X L P 1に対して効果的でなく；

20

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、第1のP R F - 1シグネチャーペプチド及び／若しくは第2のP R F - 1シグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、第1のP R F - 1シグネチャーペプチド及び／若しくは第2のP R F - 1シグネチャーペプチドの対応する濃度以下である、又は第1のP R F - 1シグネチャーペプチド及び／若しくは第2のP R F - 1シグネチャーペプチドが非存在である場合に、F H L 2に対して効果的でなく；

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、第1のA T Mシグネチャーペプチド、第2のA T Mシグネチャーペプチド及び／若しくは第3のA T Mシグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、第1のA T Mシグネチャーペプチド、第2のA T Mシグネチャーペプチド及び／若しくは第3のA T Mシグネチャーペプチドの対応する濃度以下である、又は第1のA T Mシグネチャーペプチド、第2のA T Mシグネチャーペプチド及び／若しくは第3のA T Mシグネチャーペプチドが非存在である場合に、A Tに対して効果的でなく；

30

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、第1のC D 1 9シグネチャーペプチド、第2のC D 1 9シグネチャーペプチド、第3のC D 1 9シグネチャーペプチド及び／若しくは第4のC D 1 9シグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、第1のC D 1 9シグネチャーペプチド、第2のC D 1 9シグネチャーペプチド、第3のC D 1 9シグネチャーペプチド及び／若しくは第4のC D 1 9シグネチャーペプチドの対応する濃度以下である、又は第1のC D 1 9シグネチャーペプチド、第2のC D 1 9シグネチャーペプチド、第3のC D 1 9シグネチャーペプチド及び／若しくは第4のC D 1 9シグネチャーペプチドが非存在である場合に、C V I Dに対して効果的でなく；

40

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、第1のI L 2 R Gシグネチャーペプチド、第2のI L 2 R Gシグネチャーペプチド、C D 3 εシグネチャーペプチド、第1のC D 3 δシグネチャーペプチド及び／若しくは第2のC D 3 δシグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、第1のI L 2 R Gシグネチャーペプチド、第2のI L 2 R Gシグネチャーペプチド、C D 3 εシグネチャーペプチド、第1のC D 3 δシグネチャーペプチド及び／若しくは第2のC D 3 δシグネチャーペプチドの対応する濃度以下である、又は第1のI L 2 R Gシグネチャーペプチド、第2のI L 2 R Gシグネチャーペプチド、C D 3 εシグネチャーペプチド、第1のC D 3 δシグネチャーペプチド及び／若

50

しくは第2のCD3δシグネチャーペプチドが非存在である場合に、SCIDに対して効果的でなく；

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、ADAシグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、ADAシグネチャーペプチドの濃度以下である、又はADAシグネチャーペプチドが非存在である場合に、ADA欠損症に対して効果的でなく；かつ／又は

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、DOCK8シグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、DOCK8シグネチャーペプチドの濃度以下である、又はDOCK8シグネチャーペプチドが非存在である場合に、DOCK8欠損症に対して効果的でない

ことを決定するステップを含む方法。

【0260】

76. 1つ以上の処置の前における、生物学的試料中の、

配列番号13の、第1のCD42シグネチャーペプチドを、第1のCD42シグネチャーペプチドに結合し、配列番号112のCDR1、配列番号113のCDR2及び配列番号114のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号115のCDR1、配列番号116のCDR2及び配列番号117のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；

配列番号14の、第2のCD42シグネチャーペプチドを、第2のCD42シグネチャーペプチドに結合し、配列番号124のCDR1、配列番号125のCDR2及び配列番号126のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号127のCDR1、配列番号128のCDR2及び配列番号129のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化し；かつ／又は

配列番号15の、CD56シグネチャーペプチドを、CD56シグネチャーペプチドに結合し、配列番号136のCDR1、配列番号137のCDR2及び配列番号138のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号139のCDR1、配列番号140のCDR2及び配列番号141のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む抗体若しくはその抗原結合性断片により富化すること

により、対象における1つ以上の処置の有効性を決定するステップ；

富化された第1のCD42シグネチャーペプチド、第2のCD42シグネチャーペプチド及び／又はCD56シグネチャーペプチドに対して、液体クロマトグラフィー-多重反応モニタリング質量分析(LC-MRM-MS)を実施して、1つ以上の処置の前の対象における各シグネチャーペプチドの濃度を決定するステップ；

1つ以上の処置時に又はこれらの後に、対象に由来する生物学的試料を得るステップ、これらを消化するステップ、これらを富化するステップ、及びこれらに対して実施するステップを反復するステップ；

並びに

1つ以上の処置が、

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、第1のCD42シグネチャーペプチド、第2のCD42シグネチャーペプチド及び／若しくはCD56シグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、対応する第1のCD42シグネチャーペプチド、第2のCD42シグネチャーペプチド及び／若しくはCD56シグネチャーペプチドの濃度より高い場合に

効果的であることを決定する、

又は

1つ以上の処置が、

1つ以上の処置時若しくはこれらの後における、第1のCD42シグネチャーペプチド、第2のCD42シグネチャーペプチド及び／若しくはCD56シグネチャーペプチドの濃度が、1つ以上の処置の前における、対応する第1のCD42シグネチャーペプチド

10

20

30

40

50

、第2のCD42シグネチャーペプチド及び／若しくはCD56シグネチャーペプチドの濃度以下である、又は第1のCD42シグネチャーペプチド、第2のCD42シグネチャーペプチド及び／若しくはCD56シグネチャーペプチドが非存在である場合に効果的でないことを決定するステップをさらに含む、実施形態75に記載の方法。

【0261】

77．生物学的試料が、乾燥血液スポット（DBS）、口腔スワブ、末梢血単核細胞（PBMC）又は白血球（WBC）である、実施形態75又は76に記載の方法。

【0262】

78．酵素が、トリプシンである、実施形態75～77のいずれか一項に記載の方法。

10

【0263】

79．各シグネチャーペプチドの濃度を、対応する所定の閾値濃度と比較するステップをさらに含む、実施形態75～78のいずれか一項に記載の方法。

【0264】

80．各シグネチャーペプチドについての対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、各シグネチャーペプチドの平均濃度の標準偏差（SD）から計算される、実施形態75～79のいずれか一項に記載の方法。

【0265】

81．正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号2の、X-CGDについての第2のCYBBシグネチャーペプチドの平均濃度が、300ピコモル／L～3000ピコモル／Lの範囲の濃度を含み、実施形態80に記載の方法。

20

【0266】

82．対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号2の、X-CGDについての第2のCYBBシグネチャーペプチドの平均濃度の $-2.5SD$ ～ $-2SD$ を含む、実施形態80又は81に記載の方法。

【0267】

83．正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号5の、FHL2についての第1のPRF-1シグネチャーペプチドの平均濃度が、10ピコモル／L～200ピコモル／Lの範囲の濃度を含み、実施形態80～82のいずれか一項に記載の方法。

30

【0268】

84．対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号5の、FHL2についての第1のPRF-1シグネチャーペプチドの平均濃度の $-1.5SD$ ～ $-1SD$ を含む、実施形態80～83のいずれか一項に記載の方法。

【0269】

85．正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号7の、毛細血管拡張性運動失調症についての第3のATMシグネチャーペプチドの平均濃度が、20ピコモル／L～100ピコモル／Lの範囲の濃度を含み、実施形態80～84のいずれか一項に記載の方法。

【0270】

86．対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号7の、毛細血管拡張性運動失調症についての第3のATMシグネチャーペプチドの平均濃度の $-2.25SD$ ～ $-1.75SD$ を含む、実施形態80～85のいずれか一項に記載の方法。

40

【0271】

87．正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号11の、ADA欠損症についてのADAシグネチャーペプチドの平均濃度が、900ピコモル／L～5000ピコモル／Lの範囲の濃度を含み、実施形態80～86のいずれか一項に記載の方法。

【0272】

50

88. 対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号11の、ADA欠損症についてのADAシグネチャーペプチドの平均濃度の $-2.1SD \sim -1.6SD$ を含む、実施形態80～87のいずれか一項に記載の方法。

【0273】

89. 正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号12の、DOCK8欠損症についてのDOCK8シグネチャーペプチドの平均濃度が、70ピコモル/L～550ピコモル/Lの範囲の濃度を含む、実施形態80～88のいずれか一項に記載の方法。

【0274】

90. 対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号12の、DOCK8欠損症についてのDOCK8シグネチャーペプチドの平均濃度の $-2.5SD \sim -2SD$ を含む、実施形態80～89のいずれか一項に記載の方法。

【0275】

91. 正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号13の、第1のCD42シグネチャーペプチドの平均濃度が、4000ピコモル/L～20000ピコモル/Lの範囲の濃度を含む、実施形態80～90のいずれか一項に記載の方法。

【0276】

92. 対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号13の、第1のCD42シグネチャーペプチドの平均濃度の $-2.25SD \sim -1.75SD$ を含む、実施形態80～91のいずれか一項に記載の方法。

【0277】

93. 正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号14の、第2のCD42シグネチャーペプチドの平均濃度が、8000ピコモル/L～30000ピコモル/Lの範囲の濃度を含む、実施形態80～92のいずれか一項に記載の方法。

【0278】

94. 対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号14の、第2のCD42シグネチャーペプチドの平均濃度の $-1.75SD \sim -1.25SD$ を含む、実施形態80～93のいずれか一項に記載の方法。

【0279】

95. 正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号15の、CD56シグネチャーペプチドの平均濃度が、600ピコモル/L～5000ピコモル/Lの範囲の濃度を含む、実施形態80～94のいずれか一項に記載の方法。

【0280】

96. 対応する所定の閾値濃度が、正常対照対象の集団由来の対応する生物学的試料中の、配列番号15の、CD56シグネチャーペプチドの平均濃度の $-2.75SD \sim -2.25SD$ を含む、実施形態80～95のいずれか一項に記載の方法。

【0281】

97. 配列番号2の、X-CGDについての第2のCYBBシグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号27のVHドメイン；配列番号33のVLドメイン；配列番号24の重鎖又は配列番号30の軽鎖のうちの1つ以上を含む、実施形態75～96のいずれか一項に記載の方法。

【0282】

98. 配列番号3の、XLP1についての第1のSH2D1Aシグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号173のVHドメイン；配列番号181のVLドメイン；配列番号169の重鎖又は配列番号177の軽鎖のうちの1つ以上を含む、実施形態75～97のいずれか一項に記載の方法。

【0283】

99. 配列番号5の、FHL2についての第1のPRF-1シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号45のVHドメイン；配

10

20

30

40

50

列番号 51 の V L ドメイン；配列番号 42 の重鎖又は配列番号 48 の軽鎖のうちの 1 つ以上を含む、実施形態 75 ～ 98 のいずれか一項に記載の方法。

【0284】

100．配列番号 7 の、毛細血管拡張性運動失調症についての第 3 の A T M シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号 63 の V H ドメイン；配列番号 69 の V L ドメイン；配列番号 60 の重鎖又は配列番号 66 の軽鎖のうちの 1 つ以上を含む、実施形態 75 ～ 99 のいずれか一項に記載の方法。

【0285】

101．配列番号 8 の、C V I D についての第 1 の C D 19 シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号 78 の V H ドメイン；又は配列番号 81 の V L ドメインのうちの 1 つ以上を含む、実施形態 75 ～ 100 のいずれか一項に記載の方法。

【0286】

102．配列番号 11 の、A D A 欠損症についての A D A シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号 93 の V H ドメイン；配列番号 99 の V L ドメイン；配列番号 90 の重鎖又は配列番号 96 の軽鎖のうちの 1 つ以上を含む、実施形態 75 ～ 101 のいずれか一項に記載の方法。

【0287】

103．配列番号 12 の、D O C K 8 欠損症についての D O C K 8 シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号 108 の V H ドメイン及び／又は配列番号 111 の V L ドメインを含む、実施形態 75 ～ 102 のいずれか一項に記載の方法。

【0288】

104．配列番号 13 の、第 1 の C D 42 シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号 120 の V H ドメイン及び／又は配列番号 123 の V L ドメインを含む、実施形態 75 ～ 103 のいずれか一項に記載の方法。

【0289】

105．配列番号 14 の、第 2 の C D 42 シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号 132 の V H ドメイン及び／又は配列番号 135 の V L ドメインを含む、実施形態 75 ～ 104 のいずれか一項に記載の方法。

【0290】

106．配列番号 15 の、C D 56 シグネチャーペプチドの富化のために使用される抗体又はその抗原結合性断片が、配列番号 147 の V H ドメイン；配列番号 153 の V L ドメイン；配列番号 144 の重鎖又は配列番号 150 の軽鎖のうちの 1 つ以上を含む、実施形態 75 ～ 105 のいずれか一項に記載の方法。

【0291】

107．対象における、X連鎖慢性肉芽腫症（X-CGD）、X連鎖リンパ増殖性症候群 1（XLP1）、家族性血球貪食性リンパ組織球増多症 2（FHL2）、毛細血管拡張性運動失調症（AT）、分類不能型免疫不全症（CVID）、重症複合免疫不全症（SCID）、アデノシンデアミナーゼ（ADA）欠損症、及び／又は細胞質分裂デディケーター 8（DOCK8）欠損症のスクリーニングのためのアッセイであって、

（i）抗体又はその抗原結合性断片であって、

配列番号 2 の、X-CGD についての C Y B B シグネチャーペプチドに結合する、配列番号 16 の C D R 1、配列番号 17 の C D R 2 及び配列番号 18 の C D R 3 を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号 19 の C D R 1、配列番号 20 の C D R 2 及び配列番号 21 の C D R 3 を含む軽鎖可変（VL）ドメイン；

配列番号 3 の、XLP1 についての S H 2 D 1 A シグネチャーペプチドに結合する、配列番号 160 の C D R 1、配列番号 161 の C D R 2 及び配列番号 162 の C D R 3 を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号 163 の C D R 1、配列番号 164 の C D R 2 及び配列番号 165 の C D R 3 を含む軽鎖可変（VL）ドメイン；

10

20

30

40

50

配列番号 5 の、FHL 2 についての PRF-1 シグネチャーペプチドに結合する、配列番号 34 の CDR1、配列番号 35 の CDR2 及び配列番号 36 の CDR3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 37 の CDR1、配列番号 38 の CDR2 及び配列番号 39 の CDR3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメイン；

配列番号 7 の、毛細血管拡張性運動失調症についての ATM シグネチャーペプチドに結合する、配列番号 52 の CDR1、配列番号 53 の CDR2 及び配列番号 54 の CDR3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 55 の CDR1、配列番号 56 の CDR2 及び配列番号 67 の CDR3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメイン；

配列番号 8 の、CVID についての CD19 シグネチャーペプチドに結合する、配列番号 70 の CDR1、配列番号 71 の CDR2 及び配列番号 72 の CDR3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 73 の CDR1、配列番号 74 の CDR2 及び配列番号 75 の CDR3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメイン；

配列番号 11 の、ADA 欠損症についての ADA シグネチャーペプチドに結合する、配列番号 82 の CDR1、配列番号 83 の CDR2 及び配列番号 84 の CDR3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 85 の CDR1、配列番号 86 の CDR2 及び配列番号 87 の CDR3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメイン；並びに／又は

配列番号 12 の、DOCK8 欠損症についての DOCK8 シグネチャーペプチドに結合する、配列番号 100 の CDR1、配列番号 101 の CDR2 及び配列番号 102 の CDR3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 103 の CDR1、配列番号 104 の CDR2 及び配列番号 105 の CDR3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメインを含む抗体又はその抗原結合性断片；並びに／又は

(i i) 配列番号 1 の、X-CGD についての CYBB シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片；

配列番号 4 の、XLP1 についての SH2D1A シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片；

配列番号 6 の、FHL 2 についての PRF-1 シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片；

配列番号 210 の、AT についての ATM シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片；

配列番号 211 の、AT についての ATM シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片；

配列番号 9 の、CVID についての CD19 シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片；

配列番号 10 の、CVID についての CD19 シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片；

配列番号 212 の、CVID についての CD19 シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片；

配列番号 213 の、SCID についての IL2RG シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片；

配列番号 214 の、SCID についての IL2RG シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片；

配列番号 215 の、SCID についての CD3ε シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片；

配列番号 216 の、SCID についての CD3δ シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片；及び／又は

配列番号 217 の、SCID についての CD3δ シグネチャーペプチドに結合する、抗体若しくはその抗原結合性断片；並びに／又は

(i i i) 参照シグネチャーペプチドであって、

10

20

30

40

50

配列番号 1 の、X-CGD についての CYBB シグネチャーペプチド；
配列番号 2 の、X-CGD についての CYBB シグネチャーペプチド；
配列番号 3 の、XLP1 についての SH2D1A シグネチャーペプチド；
配列番号 4 の、XLP1 についての SH2D1A シグネチャーペプチド；
配列番号 5 の、FHL2 についての PRF-1 シグネチャーペプチド；
配列番号 6 の、FHL2 についての PRF-1 シグネチャーペプチド；
配列番号 210 の、毛細血管拡張性運動失調症についての ATM シグネチャーペプチド；
配列番号 211 の、毛細血管拡張性運動失調症についての ATM シグネチャーペプチド；
配列番号 7 の、毛細血管拡張性運動失調症についての ATM シグネチャーペプチド；
配列番号 8 の、CVID についての CD19 シグネチャーペプチド；
配列番号 9 の、CVID についての CD19 シグネチャーペプチド；
配列番号 10 の、CVID についての CD19 シグネチャーペプチド；
配列番号 212 の、CVID についての CD19 シグネチャーペプチド；
配列番号 213 の、SCID についての IL2RG シグネチャーペプチド；
配列番号 214 の、SCID についての IL2RG シグネチャーペプチド；
配列番号 215 の、SCID についての CD3 ϵ シグネチャーペプチド；
配列番号 216 の、SCID についての CD3 δ シグネチャーペプチド；
配列番号 217 の、SCID についての CD3 δ シグネチャーペプチド；
配列番号 11 の、ADA 欠損症についての ADA シグネチャーペプチド；及び／又は
配列番号 12 の、DOCK8 欠損症についての DOCK8 シグネチャーペプチド
を含む参照シグネチャーペプチド
を含むアッセイ。

【0292】

108. (iv) 抗体又はその抗原結合性断片であって、

配列番号 13 の、CD42 シグネチャーペプチドに結合する、配列番号 112 の CDR1、配列番号 113 の CDR2 及び配列番号 114 の CDR3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 115 の CDR1、配列番号 116 の CDR2 及び配列番号 117 の CDR3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメイン；

配列番号 14 の、CD42 シグネチャーペプチドに結合する、配列番号 124 の CDR1、配列番号 125 の CDR2 及び配列番号 126 の CDR3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 127 の CDR1、配列番号 128 の CDR2 及び配列番号 129 の CDR3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメイン；並びに／又は

配列番号 15 の、CD56 シグネチャーペプチドに結合する、配列番号 136 の CDR1、配列番号 137 の CDR2 及び配列番号 138 の CDR3 を含む重鎖可変 (VH) ドメイン並びに配列番号 139 の CDR1、配列番号 140 の CDR2 及び配列番号 141 の CDR3 を含む軽鎖可変 (VL) ドメイン

を含む抗体又はその抗原結合性断片；

並びに／又は

(v) 参照シグネチャーペプチドであって、

配列番号 13 の、CD42 シグネチャーペプチド；

配列番号 14 の、CD42 シグネチャーペプチド；及び／又は

配列番号 15 の、CD56 シグネチャーペプチド

を含む参照シグネチャーペプチド

をさらに含む、実施形態 107 に記載のアッセイ。

【0293】

109. 参照シグネチャーペプチドが、同位体標識化されている、実施形態 107 又は 108 に記載のアッセイ。

【0294】

110. 抗体又はその抗原結合性断片が、磁気ビーズに付着している、実施形態107～109のいずれか一項に記載のアッセイ。

【0295】

111. 配列番号16のCDR1、配列番号17のCDR2及び配列番号18のCDR3を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号19のCDR1、配列番号20のCDR2及び配列番号21のCDR3を含む軽鎖可変（VL）ドメインを含む、組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【0296】

112. VHドメインが、配列番号27に明示され、かつ／又は重鎖が、配列番号24に明示され；

VLドメインが、配列番号33に明示され、かつ／又は軽鎖が、配列番号30に明示されている、実施形態111に記載の組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【0297】

113. 配列番号160のCDR1、配列番号161のCDR2及び配列番号162のCDR3を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号163のCDR1、配列番号164のCDR2及び配列番号165のCDR3を含む軽鎖可変（VL）ドメインを含む、組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【0298】

114. VHドメインが、配列番号173に明示され、かつ／又は重鎖が、配列番号169に明示され；

VLドメインが、配列番号181に明示され、かつ／又は軽鎖が、配列番号177に明示されている、実施形態113に記載の組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【0299】

115. 配列番号34のCDR1、配列番号35のCDR2及び配列番号36のCDR3を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号37のCDR1、配列番号38のCDR2及び配列番号39のCDR3を含む軽鎖可変（VL）ドメインを含む、組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【0300】

116. VHドメインが、配列番号45に明示され、かつ／又は重鎖が、配列番号42に明示され；

VLドメインが、配列番号51に明示され、かつ／又は軽鎖が、配列番号48に明示されている、実施形態115に記載の組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【0301】

117. 配列番号52のCDR1、配列番号53のCDR2及び配列番号54のCDR3を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号55のCDR1、配列番号56のCDR2及び配列番号57のCDR3を含む軽鎖可変（VL）ドメインを含む、組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【0302】

118. VHドメインが、配列番号63に明示され、かつ／又は重鎖が、配列番号60に明示され；

VLドメインが、配列番号69に明示され、かつ／又は軽鎖が、配列番号66に明示されている、実施形態117に記載の組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【0303】

119. 配列番号70のCDR1、配列番号71のCDR2及び配列番号72のCDR3を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号73のCDR1、配列番号74のCDR2及び配列番号75のCDR3を含む軽鎖可変（VL）ドメインを含む、組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【0304】

10

20

30

40

50

120. VHドメインが、配列番号78に明示され、VLドメインが、配列番号81に明示されている、実施形態119に記載の組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【0305】

121. 配列番号82のCDR1、配列番号83のCDR2及び配列番号84のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号85のCDR1、配列番号86のCDR2及び配列番号87のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む、組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【0306】

122. VHドメインが、配列番号93に明示され、かつ／又は重鎖が、配列番号90に明示され；

VLドメインが、配列番号99に明示され、かつ／又は軽鎖が、配列番号96に明示されている、実施形態121に記載の組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【0307】

123. 配列番号100のCDR1、配列番号101のCDR2及び配列番号102のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号103のCDR1、配列番号104のCDR2及び配列番号105のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む、組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【0308】

124. VHドメインが、配列番号108に明示され、VLドメインが、配列番号111に明示されている、実施形態123に記載の組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【0309】

125. 配列番号112のCDR1、配列番号113のCDR2及び配列番号114のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号115のCDR1、配列番号116のCDR2及び配列番号117のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む、組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【0310】

126. VHドメインが、配列番号120に明示され、VLドメインが、配列番号123に明示されている、実施形態125に記載の組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【0311】

127. 配列番号124のCDR1、配列番号125のCDR2及び配列番号126のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号127のCDR1、配列番号128のCDR2及び配列番号129のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む、組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【0312】

128. VHドメインが、配列番号132に明示され、VLドメインが、配列番号135に明示されている、実施形態127に記載の組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【0313】

129. 配列番号136のCDR1、配列番号137のCDR2及び配列番号138のCDR3を含む重鎖可変(VH)ドメイン並びに配列番号139のCDR1、配列番号140のCDR2及び配列番号141のCDR3を含む軽鎖可変(VL)ドメインを含む、組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【0314】

130. VHドメインが、配列番号147に明示され、かつ／又は重鎖が、配列番号144に明示され；

VLドメインが、配列番号153に明示され、かつ／又は軽鎖が、配列番号150に明示されている、実施形態129に記載の組換え抗体又はその抗原結合性断片。

【0315】

131. (i) 抗体又はその抗原結合性断片であって、

配列番号2の、X-CGDについてのCYBBシグネチャーペプチドに結合する、配列番号16のCDR1、配列番号17のCDR2及び配列番号18のCDR3を含む重鎖

10

20

30

40

50

可変（VH）ドメイン並びに配列番号19のCDR1、配列番号20のCDR2及び配列番号21のCDR3を含む軽鎖可変（VL）ドメイン；

配列番号3の、XLP1についてのSH2D1Aシグネチャーペプチドに結合する、配列番号160のCDR1、配列番号161のCDR2及び配列番号162のCDR3を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号163のCDR1、配列番号164のCDR2及び配列番号165のCDR3を含む軽鎖可変（VL）ドメイン；

配列番号5の、FHL2についてのPRF-1シグネチャーペプチドに結合する、配列番号34のCDR1、配列番号35のCDR2及び配列番号36のCDR3を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号37のCDR1、配列番号38のCDR2及び配列番号39のCDR3を含む軽鎖可変（VL）ドメイン；

配列番号7の、毛細血管拡張性運動失調症についてのATMシグネチャーペプチドに結合する、配列番号52のCDR1、配列番号53のCDR2及び配列番号54のCDR3を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号55のCDR1、配列番号56のCDR2及び配列番号67のCDR3を含む軽鎖可変（VL）ドメイン；

配列番号8の、CVIDについてのCD19シグネチャーペプチドに結合する、配列番号70のCDR1、配列番号71のCDR2及び配列番号72のCDR3を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号73のCDR1、配列番号74のCDR2及び配列番号75のCDR3を含む軽鎖可変（VL）ドメイン；

配列番号11の、ADA欠損症についてのADAシグネチャーペプチドに結合する、配列番号82のCDR1、配列番号83のCDR2及び配列番号84のCDR3を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号85のCDR1、配列番号86のCDR2及び配列番号87のCDR3を含む軽鎖可変（VL）ドメイン；

配列番号12の、DOCK8欠損症についてのDOCK8シグネチャーペプチドに結合する、配列番号100のCDR1、配列番号101のCDR2及び配列番号102のCDR3を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号103のCDR1、配列番号104のCDR2及び配列番号105のCDR3を含む軽鎖可変（VL）ドメイン；

配列番号13の、CD42シグネチャーペプチドに結合する、配列番号112のCDR1、配列番号113のCDR2及び配列番号114のCDR3を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号115のCDR1、配列番号116のCDR2及び配列番号117のCDR3を含む軽鎖可変（VL）ドメイン；

配列番号14の、CD42シグネチャーペプチドに結合する、配列番号124のCDR1、配列番号125のCDR2及び配列番号126のCDR3を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号127のCDR1、配列番号128のCDR2及び配列番号129のCDR3を含む軽鎖可変（VL）ドメイン；並びに／又は

配列番号15の、CD56シグネチャーペプチドに結合する、配列番号136のCDR1、配列番号137のCDR2及び配列番号138のCDR3を含む重鎖可変（VH）ドメイン並びに配列番号139のCDR1、配列番号140のCDR2及び配列番号141のCDR3を含む軽鎖可変（VL）ドメイン

を含む抗体又はその抗原結合性断片；

並びに／又は

（ii）配列番号1の、X-CGDについてのCYBBシグネチャーペプチドに結合する、抗体又はその抗原結合性断片；

配列番号4の、XLP1についてのSH2D1Aシグネチャーペプチドに結合する、抗体又はその抗原結合性断片；

配列番号6の、FHL2についてのPRF-1シグネチャーペプチドに結合する、抗体又はその抗原結合性断片；

配列番号210の、ATについてのATMシグネチャーペプチドに結合する、抗体又はその抗原結合性断片；

配列番号211の、ATについてのATMシグネチャーペプチドに結合する、抗体又はその抗原結合性断片；

10

20

30

40

50

配列番号 9 の、C V I D についての C D 1 9 シグネチャーペプチドに結合する、抗体又はその抗原結合性断片；

配列番号 1 0 の、C V I D についての C D 1 9 シグネチャーペプチドに結合する、抗体又はその抗原結合性断片；

配列番号 2 1 2 の、C V I D についての C D 1 9 シグネチャーペプチドに結合する、抗体又はその抗原結合性断片；

配列番号 2 1 3 の、S C I D についての I L 2 R G シグネチャーペプチドに結合する、抗体又はその抗原結合性断片；

配列番号 2 1 4 の、S C I D についての I L 2 R G シグネチャーペプチドに結合する、抗体又はその抗原結合性断片；

配列番号 2 1 5 の、S C I D についての C D 3 ε シグネチャーペプチドに結合する抗体又はその抗原結合性断片；

配列番号 2 1 6 の、S C I D についての C D 3 δ シグネチャーペプチドに結合する抗体又はその抗原結合性断片；及び／又は

配列番号 2 1 7 の、S C I D についての C D 3 δ シグネチャーペプチドに結合する抗体又はその抗原結合性断片；

並びに／又は

(i i i) 参照シグネチャーペプチドであって、

配列番号 1 の、X - C G D についての C Y B B シグネチャーペプチド；

配列番号 2 の、X - C G D についての C Y B B シグネチャーペプチド；

配列番号 3 の、X L P 1 についての S H 2 D 1 A シグネチャーペプチド；

配列番号 4 の、X L P 1 についての S H 2 D 1 A シグネチャーペプチド；

配列番号 5 の、F H L 2 についての P R F - 1 シグネチャーペプチド；

配列番号 6 の、F H L 2 についての P R F - 1 シグネチャーペプチド；

配列番号 2 1 0 の、毛細血管拡張性運動失調症についての A T M シグネチャーペプチド；

配列番号 2 1 1 の、毛細血管拡張性運動失調症についての A T M シグネチャーペプチド；

配列番号 7 の、毛細血管拡張性運動失調症についての A T M シグネチャーペプチド；

配列番号 8 の、C V I D についての C D 1 9 シグネチャーペプチド；

配列番号 9 の、C V I D についての C D 1 9 シグネチャーペプチド；

配列番号 1 0 の、C V I D についての C D 1 9 シグネチャーペプチド；

配列番号 2 1 2 の、C V I D についての C D 1 9 シグネチャーペプチド；

配列番号 2 1 3 の、S C I D についての I L 2 R G シグネチャーペプチド；

配列番号 2 1 4 の、S C I D についての I L 2 R G シグネチャーペプチド；

配列番号 2 1 5 の、S C I D についての C D 3 ε シグネチャーペプチド；

配列番号 2 1 6 の、S C I D についての C D 3 δ シグネチャーペプチド；

配列番号 2 1 7 の、S C I D についての C D 3 δ シグネチャーペプチド；

配列番号 1 1 の、A D A 欠損症についての A D A シグネチャーペプチド；

配列番号 1 2 の、D O C K 8 欠損症についての D O C K 8 シグネチャーペプチド；

配列番号 1 3 の、C D 4 2 シグネチャーペプチド；

配列番号 1 4 の、C D 4 2 シグネチャーペプチド；及び／又は

配列番号 1 5 の、C D 5 6 シグネチャーペプチド

を含む参照シグネチャーペプチド

を含むキット。

【 0 3 1 6 】

1 3 2 . 濾紙カード；パンチツール；口腔スワブ；クライオジェニックバイアル；血液回収チューブ；消化酵素；消化緩衝液；抗体又はその抗原結合性断片のための固体支持体及び溶離緩衝液のうちの 1 つ以上をさらに含む、実施形態 1 3 1 に記載のキット。

【 0 3 1 7 】

10

20

30

40

50

133. 参照シグネチャーペプチドが、同位体標識化されている、実施形態131又は132に記載のキット。

【0318】

134. 抗体又はその抗原結合性断片が、磁気ビーズに付着している、実施形態131～133のいずれか一項に記載のキット。

【実施例】

【0319】

(XII) 実施例：下記の実施例において記載されているデータのうちの少なくとも一部は、Collinsら、「Frontiers in Immunology」、11巻、論文464（2020年4月）において公表されている。

10

【0320】

【実施例1】 概要

マルチプレックス化選択反応モニタリング連動ペプチド免疫親和性富化（immuno-SRM）パネルを、乾燥血液スポット（DBS）に由来する、3つの原発性免疫不全症障害（PID）特異的タンパク質及び3つの細胞型特異的タンパク質を表す、6つのシグネチャーペプチドの同時スクリーニングのために作出した。ウィスコット-アルドリッチ症候群（WAS）、X連鎖無ガンマグロブリン血症（XLA）、X連鎖慢性肉芽腫症（XCGD）、Dock8欠損症及びアデノシンデアミナーゼ（ADA）欠損症を表す、2例のXLA保因者を含む、29例のPID患者試料に由来する試料中において、各疾患を表すペプチドは、正常対照と比べて、著明に低減され、患者識別は、臨床診断及び分子診断と、優れて一致した。マルチプレックスパネルにはまた、血小板（CD42）及びナチュラルキラー（NK）細胞（CD56）についての細胞特異的マーカーも組み入れられた。WAS患者において、CD42レベルは、著明に低減されることが見出され、特徴的な血小板減少症と符合した。骨髓移植の前後に解析されたWAS患者は、処置後における、WASタンパク質及び血小板CD42の正常化を示し、PID処置の効果を裏付け、これについてモニタリングする、immuno-SRMの能力を強調した。ハイスループットimmuno-SRM法は、高容量新生児スクリーニング（NBS）のワークフロー要件をみたす、2.5分間の試行時間において、PID特異的ペプチドをスクリーニングする。このハイスループット法は、標準immuno-SRM PIDパネルと同一な結果をもたらした。immuno-SRMによるペプチド解析は、回収及び搬送が容易なDBSから、PID患者を同定及び研究するための、頑健な潜在的可能性がある臨床診断法を表し、NBSを介する、早期のPID診断に対する、大きな潜在的可能性を裏付ける。

20

30

【0321】

6つのシグネチャーペプチドバイオマーカーを使用して、6つの、分子的に規定されたPIDについて、DBSをスクリーニングするのに、マルチプレックス化プロテオミクス診断パネルを開発した。標的PIDの最新のセットは、ADA欠損症（ADA）（Whitmore及びGaspar、「Frontiers in Immunology」、2016、7：314～314頁；Flinn及びGennery、Orphanet Journal of Rare Diseases、2018、13（1）：65頁）、細胞質分裂デディケーター8（DOCK8）欠損症（Aydinら、J Clin Immunol、2015、35（2）：189～98頁；Engelhardtら、J Allergy Clin Immunol、2009、124（6）：1289～302 e4頁）、X連鎖慢性肉芽腫症（XLCGD）、毛細血管拡張性運動失調症（AT）、X連鎖リンパ増殖性症候群（XLP1；SH2D1A欠損症）及び家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2（FHL2）を含む。これらの状態についてのシグネチャーペプチドは、特異的PIDについての直接的診断のための一次マーカーとして用いられる。神経細胞接着分子（CD56）及び糖タンパク質Ib（CD42）など、二次タンパク質マーカーについての解析は、ナチュラルキラー（NK）細胞及び血小板それぞれのカウントについての情報を生成することにより、特異的診断のための裏付けをもたらす。まとめる

40

50

と、上記の状態と関連する、6つのペプチドバイオマーカーを、マルチプレックスアッセイにおいて、同時に定量することができた。

【0322】

シグネチャーペプチドに対する、抗ペプチドモノクローナル抗体 (mAb) の作出は、ポリクローナル抗体 (pAb) と比べて、より大きな特異性、再現性及びバッチ間の一貫性をもたらす。正常対照範囲を確立し、盲検化試料セットを使用して、患者を、対照から差別化する能力について調べる一方、二次マーカーは、結果として得られる、造血系及び免疫系に対する効果についての情報をもたらした。最後に、高度に転換可能であり、診断解析及びハイスループット (HT) NBSのいずれにも適する、マルチプレックス法を開発した。

10

【0323】

材料及び方法

乾燥血液スポット試料：本プロトコールは、管理治験審査委員会により承認された。全ての対象は、ヘルシンキ宣言に従い、説明同意文書を提出した。正常対照血液試料は、BioIVT (Hicksville, NY) から購入した。Universidade Federal de Uberlandia (Uberlandia, Brazil) に由来する試料を含む患者試料は、Seattle Children's Immunology Diagnostic Laboratoryにより提供された。さらなる患者試料は、説明同意文書を得た後で、米国国立衛生研究所 (Bethesda, MD) により回収された。指先穿刺又は70 µLの血液 (12mmのスポット1つ当たり) のピペティングにより、試料を、濾紙カード (Protein Saver 903, Piscataway, NJ) へと調製した。次いで、試料を、室温において、一晩にわたり乾燥させ、SCHへと搬送し、使用まで、-80 °Cにおいて保管した。175例の正常対照に由来するDBS試料を解析した。8例のWAS患者試料、11例のXLA患者及び2例の保因者、1例のDOCK8欠損患者、3例のXL-CGD患者、1例のAR-CGD患者並びに6例のADA欠損患者に由来する試料を含む、合計29例のPID患者に由来するDBSを解析した。

20

【0324】

immuno-SRM試薬：Triton X-100 (T9284-100mL)、TPCK-treated Worthington Trypsin (LS003740) 及び (3-[3-コールアミドプロピル=ジメチルアンモニオ]-1-プロパンソルホネート) (CHAPS) (型番：28300) 洗浄剤は、Fisher Scientific (Waltham, MA) から得た。重炭酸アンモニウム (Ambic) (A6141-25G) は、Sigma Aldrichから購入した。アセトニトリル (ACN) (型番：A955、Optima LC/MS grade)、酢酸 (AA) (型番：A11350、Optima LC/MS grade)、水 (型番：W6、Optima LC/MS grade)、ギ酸 (FA) (型番：A117、Optima LC/MS grade)、リン酸緩衝食塩液 (1倍濃度PBS; 型番：10010-023)、ジチオトレイトール (DTT) 及びトリス (ヒドロキシメチル) アミノメタン (TRIS) 緩衝液は、Fisher Scientific (Waltham, MA) から得た。

30

40

【0325】

同位体標識化内部標準 (IS) ペプチドは、Atlantic Peptides (Lewisburg, PA) 又はLife Technologies Corporation (Carlsbad, CA) から購入した。ISペプチドは、>95%まで精製され、安定重同位体により標識化されたC末端のリシン又はアルギニンを組み込むように合成された。標識化 (13C又は15N) は、+8 (Lys) 又は+10 (Arg) ドルトン (Da) の質量シフトを結果としてもたらす。アリコートは、使用まで、5% ACN/0.1% FA中、-80 °Cにおいて保管した。

【0326】

50

P I D D 内部標準 (I S) ペプチドは、H₂O中に1倍濃度のP B S + 1 5 %のA C N + 0 . 1 %のF A + 0 . 0 3 %のC H A P S中の5 0 0倍濃度混合物として保管し、使用の直前に希釈した。最終ペプチドの、原液ミックス中濃度及びペプチド捕捉実験を、表2に示す。

【 0 3 2 7 】

【表 5】

表2:各標的ペプチドについての、原液ペプチド濃度及び最終的な内部ペプチド濃度並びに試料1

例当たりのモノクローナル抗体ビーズの質量

	500倍濃度の原液濃度 (nM)	最適化最終濃度 (nM)	mAb ビーズの質量 (試料1例当たり μ g)
CYBB 509	5000	10	0.25
ADA 93	2500	5	0.25
DOCK8 1272	312.5	0.625	2
ATM 1561	1250	2.5	4
PRF 215	250	0.5	4
SH2D1A 19	250	0.5	6
CD42 128	20,000	20	1
CD42 154	5000	10	0.5
CD56 122	1250	2.5	2

10

20

30

40

50

【 0 3 2 8 】

シグネチャーペプチドの選択及び抗体の作製：候補シグネチャーペプチドの選択は、S I S C A P Aアッセイについて公表されているC P T A Cガイドライン (H o o f n a g l eら、C l i n C h e m、2 0 1 6、6 2 (1) : 4 8 ~ 6 9 頁) に従って行った。略述すると、候補物質は、トリプシン消化ペプチドを作出する、コンピュータ上のタンパク質消化により生成した。これらの配列は、長さ及び疎水性に基づき区別した。潜在的な切断の逸失、メチオニン及び公知の翻訳後修飾を有するペプチドは除外した。B L A S Tツールを使用して、最終候補ペプチドをプロテオームにおける固有性についてスクリーニングした。複数の候補ペプチドが存在した場合、最終ペプチドは、M S 応答に基づき選択した。抗体作製のための、最終的なペプチド選択は、M S 応答を、同等の濃度において比較することにより行った。シグネチャーペプチドについてのフラグメント化パターンを、図3に提示する。

【 0 3 2 9 】

抗体の作製は、以下の通りに実施した。ペプチド配列を、N末端システインと共に合成し、アジュバントタンパク質へとコンジュゲートさせてから、ウサギを免疫化した。力価及び活性が高度な末梢血単核細胞 (P B M C) を、動物から単離し、次いで、B細胞を培養した。次いで、単離応答B細胞のc D N Aをクローニングし、哺乳動物発現系において、さらなるスクリーニングのために、抗体を発現させた。B細胞の培養及び抗体クローンの発現の後、E L I S A及びi m m u n o - S R M法を使用して、モノクローナル発現に対する適性を決定するように、抗体について調べた。

【 0 3 3 0 】

代替的に、上記の通りに、ペプチドの合成及びアジュバントのコンジュゲーションを行ってから、マウスを免疫化した。応答動物に由来するB細胞を単離し、ハイブリドーマ細胞系を作製した。粗採血及びハイブリドーマ発生後の複数の段階において、E L I S A及びi m m u n o - S R M法を使用して、モノクローナル発現に対する適性を決定するよう

に、抗体について調べた。

【0331】

抗体ビーズ試薬の作製：Invitrogen (Carlsbad, CA) 製のプロテインGコート磁気ビーズ (Dynabeads; 型番：10004D) と共にインキュベートし、これを、まず、1倍濃度のPBS+0.03%のCHAPSにより洗浄し、保管緩衝液を除去する、磁気によるビーズの単離 (Millipore; 型番：20-4000) (Temecula, CA) を行うことにより、モノクローナル抗体 (mAb) ビーズを作製した。ビベッティングによりビーズを混合し、その後、磁石により単離した。この洗浄手順を、合計3回にわたり反復した。最後に、 μg 単位のmAb： μL 単位のビーズの比を1：2.5として、適量のmAb原液を、単離ビーズへと添加した。次いで、カップリングのために、抗体及びビーズを、 4°C において、一晚にわたりタンブリングした。最後に、固定化mAb連結ビーズを、1倍濃度のPBS+0.03%のCHAPSにより、2回にわたり洗浄し、 $0.4\mu\text{g}/\mu\text{L}$ の濃度において再懸濁させた。

10

【0332】

DBSの抽出、トリプシン消化及び免疫親和性富化：タンパク質の抽出及びトリプシン消化は、既に報告されている手順 (Collinsら、Frontiers in Immunology、2018、9 (2756); Collinsら、Frontiers in Immunology、2020、11) を改変して行った。直径6.35mmのパンチ2片を、DBSカードから採取し、Thermo Scientific (Chicago, IL) 製の96ウェルプレート (MASTERBLOCK、Greiner; 型番：786201) に入れた。これらのパンチを、 $300\mu\text{L}$ の50mMの重炭酸アンモニウム緩衝液中に0.1%のTriton X-100中に浸漬した。次いで、ジチオトレイトール (DTT) を、 H_2O 中に、0.2M DTTの濃度において添加した。ボルテックスの後、攪拌しながら、 37°C において、30分間にわたり、タンパク質の抽出を進めた。タンパク質抽出の後、 $300\mu\text{L}$ の抽出上清を除去し、新たなプレートへと移してから、 $60\mu\text{g}$ のトリプシンを添加し、 37°C において、2時間にわたるインキュベーションを行った。結果として得られるペプチド混合物を、ペプチドの免疫親和性富化のために直接使用した。

20

【0333】

消化されたペプチド混合物へと、 $15\mu\text{L}$ の1M TRIS (pH8; 型番：15568-025) 及び $15\mu\text{L}$ の1倍濃度内部標準ミックスを直接添加した。PIDDシグネチャーペプチド内部標準物質についての最終IS濃度を、表2に示す。次に、mAb-ビーズを、表2に一覧される質量において、直接添加した。抗ペプチド抗体によるペプチドの捕捉を可能とするように、結果として得られる溶液を、 4°C において、攪拌しながら、一晚にわたりインキュベートした。

30

【0334】

インキュベーションの後、96ウェル磁気プレート (Alpaca Magnum EX; 型番：A000380) (Beverly, MA) を使用して、mAb-ビーズをブルダウンし、1倍濃度PBS+0.01%CHAPSにより、2回にわたり洗浄して、オフターゲットペプチドを除去した。各洗浄の後、磁石により、mAb-ビーズを、回収してから、さらなる洗浄緩衝液により再懸濁させた。最終回洗浄の後、磁石により回収してから、5%AA+3%ACNを含有する、 $30\mu\text{L}$ の溶離水溶液を添加した。捕捉されたペプチドを、 1000rpm において、5分間にわたり、ビーズから溶離させた。最後に、磁石により、ビーズを回収し、溶離したペプチドを、解析のために、LC/MS用バイアル又は未使用の96ウェルプレートへと移した。4又は $5\times 3.125\text{mm}$ のパンチに由来する、必要量より少量のDBSが入手可能な試料について解析した。これらの場合には、抗体インプット量を除き、全ての容量を、状況に応じて調整した。

40

【0335】

液体クロマトグラフィー／質量分析：単離ペプチド混合物に対するLC-MS/MSは、Waters Xevo TQ-XS with Ionkey source and

50

dual M-Class gradient and loading chromatography pumps (Milford, MA) 上において実施した。クロマトグラフィー溶媒は、A: H₂O + 0.1% FA 及び B: ACN + 0.1% FA であった。最初のステップとして、ペプチドを、M-Class Trap Symmetry C18 カラム (300 µM × 25 mm, 100 Å, 5 µM) へと、A: B を、98:2 とする、20 µL / 分の一定流により、3 分間にわたりロードする。ローディングの後、試料流を逆転させる。ペプチドは、トラップカラムから溶離させ、150 µM × 100 mm BEH C18 ionkey (130 Å, 1.7 µM) を使用して分離する。勾配流条件は、20 分間及び 2.5 分間の両方の勾配について示す (表 3)。SRM トランジションは、Q1 四重極及び Q3 四重極の両方の単位分解能の範囲内において得た。滞留時間は、質量飛程の間の休止時間を、3 ミリ秒間として、5 ミリ秒間であり、全サイクル時間は、1.5 秒間であった。各ペプチドについての前駆体質量及びフラグメント質量は、最高強度のトランジションを生成するように選び出した。前駆体質量、フラグメント質量及び衝突エネルギーは、生成されるシグナルを最適化するように微調整した。各ペプチドについての内因性 SRM トレースを図 4 に示す。

10

【0336】

勾配設定値を、表 3 に示す。トランジションは、滞留時間を、10 ミリ秒間とし、質量飛程の間の休止時間を、5 ミリ秒間とする結果としてのサイクル時間を 0.75 秒間として、単位 / 単位分解能において得た。

20

【0337】

【表 6】

表 3: 標準及びハイスルーブット immuno-SRM 解析の両方についての、液体クロマトグラフィー条件

SCRI					
標準法			HT		
時間(分)	流量(µL/分)	Bの%	時間(分)	流量(µL/分)	Bの%
0	3	5	0	9	10
1	3	10	0.2	9	10
11	3	25	0.8	9	65
13	3	85	1	9	95
15	3	85	1.01	4	95
17	3	5	1.5	4	95
20	3	5	1.51	7	10
			1.7	7	10
			2	9	10
			2.5	9	10

30

40

【0338】

データ解析: SRM データは、Skyline (MacCoss Lab、オープンソースソフトウェア、Seattle, WA、World Wide Web: skyline.ms/project/home/begin.view) を使用して解析した。内因性シグネチャーペプチドの濃度は、内因性ペプチドシグナルを、ペプチド抽出物へと、既知の濃度において添加された、同位体 IS のシグナルと比較することにより生成した。統計学的解析は、Graphpad Prism (San Diego, CA) を使用して行った。ペプチドの還元は、各ペプチドについて、正常対照に対して比較された一元

50

ANOV Aを使用して解析した。

【0339】

方法の性能の評価：反応曲線を作成して、アッセイ直線性並びに検出限界及び定量限界を確立した。各試料について、正常対照DBSに由来するパンチ（2×6.35mmのパンチ）を抽出し、消化した。消化の後、試料をプールし、一貫した内因性ペプチドシグナルを生成するように、再アリコート分割した。アリコート分割された試料へと、8つの異なる濃度（0倍濃度、0.05倍濃度、0.1倍濃度、0.5倍濃度、1倍濃度、2倍濃度、5倍濃度及び50倍濃度）のISを添加した。各濃度は、三連において添加した。ISを添加した後、記載された通りに、immuno-SRMワークフローを完遂した。ペプチド溶離の後、LC-MS/MS解析のために、試料を、2つのバイアルへと分割し、2つの個別の勾配（20分間及び2.5分間）において流過させて、それぞれの解析値を比較した。反応曲線用試料を、標準勾配及びハイスループット（HT）勾配の両方において試行にかけた。

10

【0340】

アッセイのアッセイ内精度及びアッセイ間精度は、5つの個別の実験日において、内因性ペプチド濃度を定量することにより決定した。各日、全immuno-SRM工程を通して、5回の反復アッセイを行った。変動係数（CV）は、実験日の試料セット内及び実験日の試料セット間について決定した。CV用試料は、標準勾配及びHT勾配の両方を試行にかけた。

【0341】

20

内因性タンパク質及び内因性ペプチドの安定性について研究するために、同じDBSカードを、時間経過にわたり解析した。3つの個別のDBSカードを、RT及び37℃において保管し、-20℃において保持された試料と比較し、保管温度の効果を決定した。ペプチド濃度の測定は、インキュベーションの7日後に行った。各試料は、三連において解析した。

【0342】

患者試料の解析：患者試料は、患者及び対照を含有する、混合試料セットの作出により、盲検化方式において解析した。初期診断の確立のために、全試料セットを、20分間の標準勾配において試行にかけた。解析の後、診断カットオフに照らした比較により、患者状態を予測してから、盲検化を解除した。標準法と、HT法との一致について検討するために、2.5分間のHT勾配を使用して、17例の試料及び20例の正常対照のサブセットを解析した。

30

【0343】

結果

ペプチドの選択及び抗体の開発：代表的バイオマーカーペプチドとして選出されたシグネチャーペプチド配列を、分子量並びに定量的解析のために使用される親イオン及び娘イオンと共に、表4に一覧する。

【0344】

各配列に対して、モノクローナル抗体を作出した。最終的な抗体を、内因性シグネチャーペプチドを、高親和性により捕捉するそれらの能力及び解析物に対するそれらの干渉の欠如について選出した。

40

【0345】

50

【表 7】

表 4: 配列、質量並びに親イオン及びフラグメントイオンを含む、一次マーカー及び二次マーカーについてのシグネチャーペプチド情報。全ペプチド断片情報を、図 1 に示す。

疾患又は標的細胞	マーカーの種類	タンパク質	ペプチド	配列	質量 (Da)	親イオン (m/z)	フラグメントイオン (m/z)
X 連鎖慢性肉芽腫症	一次	CYBB	CYBB 509 - 521	TLYGRPNWDN EFK (配列番号 2)	1639.767	547.2670 +++	[y8] - 1049.4687+, [y4] - 537.2667+, [y12] - 769.8730++, [y11] - 713.3309++, [y10] - 631.7993++
アデノシンデアミナーゼ欠損症	一次	ADA	ADA 93 - 101	EGVVYVEVR (配列番号 11)	1049.173	525.2849 ++	[y7] - 863.4985+, [y6] - 764.4301+, [y5] - 665.3617+, [y3] - 403.2300+, [b3] - 286.1397+
DOCK8 欠損症	一次	DOCK8	DOCK8 1272 - 1283	TSGIVLSSLP YK (配列番号 12)	1264.466	632.8610 ++	[y10] - 1076.6350+, [y8] - 906.5295+, [y7] - 807.4611+, [y6] - 694.3770+, [y5] - 607.3450+, [b4] - 359.1925+
毛細血管拡張性運動失調症	一次	ATM	ATM 1561 - 1572	LLDPFPDHV FK (配列番号 7)	1426.658	476.2625 +++	[y7] - 841.4567+, [y11] - 657.3481++, [y10] - 600.8060++, [y9] - 543.2926++

10

20

30

40

50

家族性血球 貪食性リン パ組織球増 多症 2	一次	PRF-1	PRF 215-225	LISNYGTHFI R (配列番 号 5)	1320.495	440.90 68 +++	[y7] - 893.4628+, [y6] - 730.3995+ [y10] - 604.3146++, [y9] - 547.7725++
X 連鎖リン パ増殖性症 候群 1	一次	SAP	SH2D1A 19-32	LLLATGLDGS YLLR (配列 番号 3)	1504.771	752.94 03 ++	[y11] - 1165.6212+, [y10] - 1094.5840+ [y9] - 993.5364+, [y7] - 823.4308+ [y6] - 708.4039+, [b3] - 340.2595+ [b11] - 1104.5936+
血小板	二次	CD42	CD42 128 - 137	LTSLPLGALR (配列番号 13)	1040.254	520.82 68 ++	[y9] - 927.5622+, [y8] - 826.5145+, [y6] - 626.3984+, [y4] - 416.2616+
	二次	CD42	CD42 154 - 165	TLPPGLLTPT PK (配列番 号 14)	1234.483	617.87 39 ++	[y10] - 1020.6088+, [y9] - 923.5560+, [y8] - 826.5033+, [y10] - 510.8080++, [y9] - 462.2817++

10

20

30

NK 細胞	二次	CD56	CD56 122 - 130	NAPTPQEFR (配列番号 15)	1059.128	530.26 45 ++	[y7] - 874.4417+, [y6] - 777.3890+, [y5] - 676.3413+, [y4] - 579.2885+, [y7] - 437.7245++, [y6] - 389.1981++, [y5] - 338.6743++
-------	----	------	-------------------	---------------------------	----------	-----------------	--

40

50

【0346】

一次マーカーは、特異的関連PIDDについての直接的な診断のために使用する。二次マーカーは、造血関連標的についてのマーカーに関連する情報を提供する。

【0347】

方法の性能の評価：直線性、LOD、LOQ、標準勾配条件についてのアッセイ内CV及びアッセイ間CV並びに安定性を含む解析性能指数を、表5に示す。全てのペプチドは、17.6フェムトモルのLOD及び30フェムトモルのLOQを有したCD42 128を除き、10フェムトモル未満のLOD値及びLOQ値を有した。直線範囲のプロットを、図5A、5Bに示す。全てのペプチド濃度は、<20%のCVにより再現可能であった。典型的に、これは、試料の試行間の変動の許容限界である。HT勾配による解析についての解析性能指数を、表6に示す。LOD値が、2.5分間の試行と、20分間の試行との間において、同等であったのに対し、LOQ値は、HT法へと移行すると、CD56 122、ADA93及びCYBB509を除き、各場合において増大した。アッセイ内CVが、高速法と共に増大する傾向を示したのに対し、残りの数値は、DOCK8 1272を除く、全てのペプチドについて、20%未満にとどまった。

【0348】

加えて、CD42 128を除く全ての場合において、-20℃において保管された試料と比べた、RT又は37℃の7日間にわたる保管における、ペプチド濃度の変化は、20%未満であった。この血小板マーカーは、RT及び37℃において保管された場合に、それぞれ、25.5%及び27.9%の増大を示した。

【0349】

【表8】

表5:標準勾配によるPIDDについての解析性能指数

マーカーの種類	タンパク質	ペプチド	LOD (フェムトモル)	LOQ (フェムトモル)	ULOD (フェムトモル)	アッセイ内CV (平均、%)	アッセイ間CV (%)	相対差 (RT、%)	相対差 (37℃、%)
一次	CYBB	CYBB 509-521	4.2	7.5	7500.0	5.3	4.4	9.9	-19.0
一次	ADA	ADA 93-101	0.8	3.8	3750.0	7.9	13.5	15.8	18.4
一次	DOCK8	DOCK8 1272-1283	1.1	4.7	468.8	15.3	18.4	7.9	-9.6
二次	CD42	CD42 128-137	17.6	30.0	15000.0	5.4	10.9	25.5	27.9
二次	CD42	CD42 154-165	1.1	7.5	7500.0	6.1	5.8	14.0	-10.7
二次	CD56	CD56 122-130	2.7	3.8	1875.0	10.3	9.7	17.5	2.9

【0350】

一次マーカーは、関連PIDDについての直接的な診断のために使用する。二次マーカーは、造血関連標的についてのマーカーに関連する情報を提供する。

【0351】

10

20

30

40

50

【表 9】

表 6: 20 分間の標準勾配による LLOD、LLOQ 及び CV と、2.5 分間の HT 勾配による LLOD、LLOQ 及び CV との比較

マーカーの種類	ペプチド	LLOD(フェムトモル)		LLOQ(フェムトモル)		アッセイ内 CV(平均、%)		アッセイ間 CV(%)	
		20 分間	2.5 分間	20 分間	2.5 分間	20 分間	2.5 分間	20 分間	2.5 分間
一次	CYBB 509 - 521	4.2	0.6	7.5	7.5	5.3	7.6	4.4	3.2
一次	ADA 93 - 101	0.8	6.9	3.8	3.8	7.9	11.6	13.5	13.2
一次	DOCK8 1272 - 1283	1.1	1.6	4.7	18.8	15.3	29.5	18.4	11.0
二次	CD42 128 - 137	17.6	9.9	30.0	150.0	5.4	12.7	10.9	5.0
二次	CD42 154 - 165	1.1	2.0	7.5	15.0	6.1	7.2	5.8	4.5
二次	CD56 122 - 130	2.7	5.4	3.8	3.8	10.3	12.5	9.7	11.0

【0352】

一次マーカーは、関連PIDDについての直接的な診断のために使用する。二次マーカーは、造血関連標的についてのマーカーに関連する情報を提供する。

【0353】

正常対照の範囲：125例の正常対照試料についての、immuno-SRM解析を実施して、正常の範囲を設定した。これらの範囲を使用して、患者を同定しうる、診断カットオフ値を確立した。各状態における、各ペプチドについての平均値、標準偏差及び診断カットオフ値を、表7に示す。

【0354】

【表10】

表7: シグネチャーペプチド(n=125)についての平均正常濃度値及び現行の診断カットオフ

	平均±SD (ピコモル/L)	個体数	診断カットオフ (ピコモル/L)	診断カットオフ (SD)
CYBB 509	2056.2 ± 830.6	125	187.4	-2.25 SD
ADA 93	2914.0 ± 1321.6	176	469.1	-1.85 SD
DOCK8 1272	365.3 ± 134.7	175	62.2	-2.25 SD
CD42 128	11544.3 ± 4055.7	176	3433.0	-2.00 SD
CD42 154	18523.0 ± 7534.3	175	7447.6	-1.47 SD
CD56 122	2494.0 ± 804.8	175	482.0	-2.50 SD
ATM 1561	53.3 ± 19.54	50	14.2	-2.00 SD
PRF 215	38.8 ± 23.4	35.00	9.60	-1.25 SD

【0355】

患者試料：シグネチャーペプチド濃度、immuno-SRM並びに臨床診断、遺伝情報及び処置を、図6に示す。

【0356】

CD42 128について、7例中6例の非処置WAS患者が、診断カットオフを下回ったのに対し、研究における他の全ての患者は、正常レベルのCD42 128を有した(図7A)。CD42 154について、全ての非処置WAS患者は、規定された診断力

ットオフを下回った（図 7 B）。しかし、CD 4 2 1 5 4 は、偽陽性数及び検出可能なペプチドを伴わない試料の数を増大させた。これは、質量変化を引き起こし、ペプチドの検出に干渉する、公知の多型に潜在的に起因する。最後に、試料 2 0 - A 及び 2 0 - B は、治癒的 B M T の前後に、同じ患者から回収した。B M T の後、この患者は、各ペプチドについて、CD 4 2 1 2 8 レベル及び CD 4 2 1 5 4 レベルが、診断カットオフを上回った（図 7 A、7 B）。最後に、患者 1 4 は、CD 4 2 1 2 8 レベルが、診断カットオフを上回った。全ての非標的ペプチドは、これらの患者について、正常の範囲内にあり、他の患者は、CD 4 2 1 2 8 のレベルも、診断カットオフを下回らなかった。

【0357】

確認された X - C G D 患者の D B S は、C Y B B 濃度が、正常から低減されていることが見出された。X - C G D 患者における C Y B B の平均濃度は、4 6 . 9 ピコモル / L であった（図 8 A）。常染色体劣性（A R）- C G D 患者 2 4 は、C Y B B 濃度が、1 8 7 . 4 ピコモル / L C Y B B 5 0 9 の診断カットオフを大きく上回る、1 , 1 7 2 . 6 ピコモル / L であった。全ての非標的ペプチドは、これらの患者について、正常の範囲内にあった。

【0358】

D O C K 8 欠損症患者（D B S 2 5）（図 8 B）は、D O C K 8 1 2 7 2 ペプチド濃度が、1 8 . 2 ピコモル / L であった。これは、3 6 5 . 3 ピコモル / L（ $p < 0 . 0 5$ ）の正常対照平均及び 6 2 . 2 ピコモル / L の診断カットオフと比較した場合に、著明に低減されている。全ての非標的ペプチドは、この患者について、正常の範囲内にあり、他の患者は、D O C K 8 1 2 7 2 のカットオフレベルを下回らなかった。

【0359】

A D A 欠損症患者 2 6 ~ 3 1 に由来する D B S は、A D A 9 3 値が可変的であった（図 8 C）。患者 2 8、3 0 及び 3 1 の A D A 9 3 濃度は、4 6 9 . 1 ピコモル / L に設定された診断カットオフを大きく下回る、1 5 . 6 ピコモル / L、2 . 0 ピコモル / L 及び 2 . 3 ピコモル / L であった。患者 2 6、2 7 及び 2 9 のペプチド濃度は、カットオフレベルを上回った。患者 2 7 が、平均に近い 3 2 3 2 . 1 ピコモル / L の A D A 9 3 濃度を有したのに対し、患者 2 6 及び 2 9 は、ペプチド濃度を、それぞれ、6 5 4 0 . 7 ピコモル / L 及び 7 4 1 5 . 1 ピコモル / L に上昇させた。5 例の患者は、何らかの形態の処置を受けつつあった。患者 2 8 及び 3 0 は、P E G - A D A E R T を併用されており、患者 2 6、2 7 及び 2 9 は、これらの A D A 欠損症を管理するように、常套的な R B C 輸血を受けた。患者 3 1 は、非処置であり、A D A 欠損症であった。他の P I D D 患者も正常対照試料も、A D A 9 3 のレベルが、カットオフ濃度を下回らなかった。

【0360】

全ての患者試料は、N K 細胞マーカーである、CD 5 6 1 2 2 レベルが、正常対照により決定された診断カットオフを上回った（図 9）。

【0361】

患者試料についてのハイスループット（H T）解析：1 7 例の患者試料によるサブセットは、集団スクリーニングに適する、最適化された 2 . 5 分間の H T 勾配を使用して解析した。H T 解析により、さらなる偽陽性は創出されず、診断は、標準的 L C - M S / M S 法による診断とマッチした（図 1 0 A ~ 1 0 C）。高 C V が、D O C K 8 1 2 7 2 を、H T 法解析から除外する理由であった。

【0362】

本研究は、i m m u n o - S R M が、D B S 中に存在する低存在度のタンパク質を直接定量することにより、3 つの遺伝子的に規定された P I D D を有する患者を正確に識別する、高感度アッセイであることを裏付けた。A D A 欠損症、D O C K 8 欠損症及び X - C G D を有する患者は、同時にスクリーニングされうる。二次（すなわち、直接診断的ではない）タンパク質マーカーである、血小板についての CD 4 2 及び N K 細胞についての CD 5 6 の解析を介して、新たな、裏付けとなる情報が得られる。データはまた、本方法が、高感度であり、時間経過にわたり再現可能であり、直線性範囲が広く、容易に転換可能

であることも指し示す。

【0363】

全てのWAS患者は、遺伝子的に、かつ、生化学的に確認された症例であった。二次血小板マーカーである、CD42 128及びCD42 154が、WAS患者において低減されたことは、循環血小板の低減と符合した。患者試料14は、CD42 128のレベルが、低レベルながら、診断カットオフを上回る、唯一のWAS患者であることが見出された。患者14が、解析時に、脾臓摘出術又は血小板輸血を受けたのかどうかは不明である。したがって、CD42シグネチャーペプチドは、DBS中の血小板レベルを表す。興味深いことに、同じ患者を、治療的HSC Tの前（患者20-A）及び後（患者20-B）において解析したところ、二次血小板マーカーである、CD42 128及びCD42 154は、HSC T後における診断カットオフを上回って上昇した。

10

【0364】

X連鎖CGD患者もまた、CYBBシグネチャーペプチドについてのimmuno-SRM解析を使用して、たやすく識別された（図8A）。患者21～23についてのCYBB509濃度は、187.4ピコモル/Lの診断カットオフを、大きく下回った。この解析は、CYBB遺伝子において突然変異を有するX-CGD患者に特異的であるが、NADPH複合体内の他の構成要素の喪失によりもたらされる、疾患の常染色体劣性形態については特異的でない。これは、正常なCYBB509レベルを示した、AR-CGD患者24についての解析において明らかである（図6）。CGDのAR形態を同定するには、個々のNADPH構成要素に、CYBA又はNCF1-3を表す、他のシグネチャーペプチドを添加しうる。フローサイトメトリーによるNADPHオキシダーゼ測定は、静脈穿刺により採血された静脈血及び生存率が限定的な好中球を要求するため、DBSに由来するimmuno-SRMは、臨床スクリーニングのための、強力な代替的技術を表す。

20

【0365】

DOCK8欠損症についての一次マーカーについての解析は、immuno-SRMが、患者を、対照からたやすく差別化することを示す（図8B）。DOCK8 1272の解析のために、健常対照は、365.3±134.7ピコモル/Lの平均ペプチド濃度を示した。診断カットオフは、平均濃度を下回る、62.2ピコモル/L又は2.25SDに設定した。DBSから測定する場合に、これらの方法により解析されたDOCK8試料は、極低濃度のDOCK8 1272を有した。興味深いことに、本実施例において研究された患者は、フローサイトメトリーにより、10%のDOCK8陽性PBMCを有する、復帰突然変異表現型を有することが見出された。DOCK8欠損症の診断は、しばしば、復帰突然変異に起因して困難であり、特化したフローサイトメトリーワークフローを必要とするので、大半又は全ての患者表現型を明確に差別化することが可能である、頑健なアッセイであれば、復帰突然変異に関わらず、識別を、大幅に簡略化する（Jingら、The Journal of allergy and clinical immunology、2014、133（6）：1667～1675頁）。加えて、シーケンシングは、1つの対立遺伝子における、大きな欠失の、高頻度の存在に起因して、困難でありうる。immuno-SRMによる診断法は、このアッセイが、DBS内に存在する全ての細胞についてのグローバル解析であるため、復帰突然変異に対して、より耐性でありうる。したがって、ある特定のPBMCサブセットは、DOCK8の復帰突然変異の発現を呈しうるが、全体としての総タンパク質濃度は、劇的に低減される。かつての研究は、ほぼ全てのDOCK8患者が、極低度のDOCK8タンパク質発現を有することを示唆しているため（Engelhardtら、J Allergy Clin Immunol、2009、124（6）：1289～302 e4頁）、大半の患者は、immuno-SRMにより、陽性とスクリーニングされることが期待される。全ての他の患者が、正常レベルのDOCK8 1272を示すことは、このバイオマーカーが、DOCK8欠損症に特徴的であることを示唆する。

30

40

【0366】

1例のADA患者は、非処置であったが、2.3ピコモル/Lの、極めて低減されたA

50

ADA93濃度を有した。スクリーニングされた5例のADA欠損症患者は、それらの障害について、何らかの形態の酵素置換処置（ERT）を施されており、処置の形態は、患者を識別するimmuno-SRMの能力に影響を与えた（図8C）。患者28及び30は、PEG化ADA ERT（Adagen（登録商標）；pegademase bovine、Leadiant Biosciences, Inc.、Gaithersburg、MD）を施されていたにも拘わらず、シグネチャーペプチドであるADA93を使用して、適正に診断された。これらの患者において、ADAレベルは、15.6ピコモル/L及び2.0ピコモル/Lと、極めて低度であり（それぞれ、患者28及び30）、469.1ピコモル/Lのカットオフ値を大きく下回った。処置のために使用された組換えADA酵素は、ウシ由来であり、immuno-SRMによる内因性ヒトADAの定量に干渉しない（Booth及びGaspar、Biologics：targets & therapy、2009、3：349～358頁）。しかし、ブラジルからの患者26、27及び29は、RBCが、著明レベルのADAを有するので、外因性酵素を施すように、赤血球輸血により処置されていた（Fargora、British Journal of Haematology、2013、160（4）：547～554頁）。半減期を90日間とすると、毎週の間隔においてRBC輸血を受けるADA欠損患者は、それらの血液中に、安定レベルのRBC関連ヒトADAを有し、この結果として、immuno-SRMアッセイにおいて、正常の見かけを呈する。これは、immuno-SRMにより測定された、患者26、27及び29のそれぞれにおける、6540.7、3232.1及び7415.4ピコモル/LのADA93レベルと符合する。患者26におけるタンパク質レベルは実際、2914.0ピコモル/L ADA93の平均正常値より有意に高度であるが、これは、輸血時における、RBC数の増大に起因しうる。これらの結果は、immuno-SRMはまた、遺伝子治療若しくはBMTなど、処置の有効性を決定する、又は外因的に送達されたタンパク質治療剤の薬物動態プロファイルを測定するためのツールとしても機能しうることを示唆する。

【0367】

本実施例における、ADA処置のさらなる証拠は、正常NK細胞マーカーである、CD56 122の濃度の形を取る場合もある（図9）。ADA欠損症は、通常、患者におけるNK細胞濃度の低減を結果としてもたらす、SCIDのT/B/NK型である。患者28は、試料の回収時において、PEG-ADA（Adagen（登録商標））処置を受けつつあったが、これについては、処置により、患者におけるリンパ球濃度を増大させることが示された（Booth及びGaspar、Biologics：targets & therapy、2009、3：349～358頁）。同様に、患者26及び27における輸血処置は、絶対リンパ球数を増大させうる（Schmalstiegら、Pediatric Research、1977、11（4）：493～493頁）。まとめると、これらのデータは、治療的介入の成功及び造血系及び免疫系に対する潜在的帰結についての情報をもたらす。

【0368】

20分間の試行時間は、臨床診断ツールとして使用される、immuno-SRM解析に十分であるが、NBSに必要な試料スループットを達成するために、この解析時間は、著明に短縮される必要がある。この問題に取り組むために、2.5分間の試料試行時間を活用するHT勾配をデザインした。十分なペプチドシグナル及び短時間の解析的試行内における分離を維持するように、ペプチドトランジション及び保持時間のウィンドウを最適化した。全体として、MS走査速度のために、モニタリングされるトランジションの数を低減すること、したがって、全体としてのシグナルを低減することが必要であった。この低減にも拘わらず、HT法についての検出限界は、これらが有意に高値であった、ADA93、CD42 154及びCD56 122を除く、全ての場合において同様であった（表6）。これに対し、CYBB509、ADA93及びCD56 122を除く、全てのペプチドについて、LLOQは、数倍増大した。これらの結果も、同様に、HT解析による、モニタリングされたトランジションの減少、各ピークにわたり測定されたデータ点

の減少及びペプチド共溶離量の増大のための、全体としてのシグナルの低減に起因する。大半の場合において、アッセイ内CVは増大したが、DOCK8を除く、あらゆる場合において、20%を下回る変動を保持した。HT解析では、DOCK8 1272の濃度解析の再現が不良であったが、これは、ペプチド保持時間のシフト及び解像度の喪失に起因する。本勾配条件下において、DOCK8 1272は、NBSのためのシグネチャーペプチド候補物質として不良となり、標準条件下において解析される必要がある。HT解析のために、DOCK8についてのさらなる候補物質ペプチドが探索される。

【0369】

前出の試行に由来する、盲検化試料セットを、2.5分間のHT勾配法により解析した(図10A~10C)。この試料セット内において解析された患者について、表示の条件は、標準勾配の条件に合致した。これらの患者及び正常対照についての結果を、図10A~10Cに示す。一次マーカーであるCYBB509及びADA93について、HT解析により、偽陽性はもたらされなかった。これらの結果は、immuno-SRM及び本研究におけるペプチドバイオマーカーが、集団ベースのNBS研究に要求されるHT解析に適することを示唆する。

【0370】

これらの標的PIDD障害は、新生児スクリーニングのための、強力な潜在的候補物質を表す障害として選び出した。これらは、予防的抗生剤及びIV免疫グロブリンを含む、効果的処置、又はHSCト若しくは遺伝子治療を含む、治療選択肢が存在する、比較的高頻度の障害である。頑健な新生児スクリーニング法がなければ、しばしば、これらの比較的希少な先天性PIDDを疑い、適正な診断を確立し、効果的処置又は治療の手順に着手するための措置を講じる前に、多大な時間がかかる。生後1年以内のこの時期に、患者は、致死性の感染症及びそれらの非処置状態の、他の否定的な帰結に陥りやすい。NBSにより識別された家族についての遺伝子カウンセリングもまた、大きな価値を有しうる。これらの事実は、本研究に含まれるPIDDが、新生児スクリーニングのための、優れた候補疾患であり、患者集団及び医療システムに、著明な利益をもたらすことを示唆する。immuno-SRMは、操作上簡略、迅速、廉価であり、DBSに由来する単一の試行において、患者1例当たり複数の状態を含むように、マルチプレックス化されるため、PIDDについてのNBSスクリーニングのための、魅力的な潜在的プラットフォームである。医師に、参照先となる関連の増大をもたらすように、二次細胞マーカーを組み入れる場合、2.5分間のHT試行は、1分間当たり2状態又は1分間当たり3.2バイオマーカーの試行時間に相当する。

【0371】

immuno-SRMは、DBSから同時に、3例の先天性PIDDを、効果的に同定する一方、免疫系についてのさらなる関連を提供しうる。免疫不全症が疑われる場合、多数の比較的希少な免疫障害についての簡単な試験は、大きな診断的価値をもたらす。このimmuno-SRM PIDDパネルは、一晩にわたる、高度にマルチプレックス化されたアッセイにより、複数の状態について、明確な結果をもたらすことが可能であり、遺伝子産物が、高頻度には存在しない、他のPIDDへと、さらに拡張されうる。immuno-SRMによる抽出、消化及び富化は、操作が簡単であり、大半の場合、現行の臨床ワークフローに適する。DBSカードは、非侵襲的に回収され、室温において、容易に送付されうるので、DBSから抽出された小血液容量による、このアッセイの実施可能性は、重要かつ時宜に適う。PIDDを示唆する、immuno-SRMの結果は、さらなる試験及び遺伝シーケンシングに対する必要の決定において、計り知れない価値を有する。加えて、アッセイは、フローサイトメトリー又はリンパ球サブセット情報と同様の、免疫系についての関連を示す二次情報ももたらしうる。immuno-SRMは、しばしば、診断が困難な場合もあり、時間を費やす場合もある疾患について、明確な結果をもたらし、現行の臨床ワークフローに対する、頑健な補強である。

【0372】

〔仮想実施例2〕 毛細血管拡張性運動失調症(AT)を診断するための、ATMシグネ

10

20

30

40

50

チャーペプチドについての、immuno-SRMアッセイ

A Tを有する患者又はA Tを有することが疑われる患者に由来する、D B S（上記において記載された）、口腔スワブ試料、末梢血単核細胞（P B M C）又は白血球（W B C）を、正常対照に由来する、対応する試料と共に、実施例1及び本明細書の別の箇所において記載された通りに、シグネチャーペプチドである、A T M 7 9 8、A T M 1 5 4 4、A T M 1 5 6 1又はこれらの組合せを使用する、immuno-SRMにより解析する。

【0373】

口腔スワブ試料：管理治験審査委員会は、口腔スワブ試料についてのプロトコルを承認しており、全ての対象は、説明同意文書を提出している。正常対照についての口腔スワブ試料は、市販品の販売元から得られる。全ての口腔スワブ試料は、検査室内、 -20°C 又は -80°C において保管する。盲検試料は、送付者により提供されたIDにより標識化及び識別され、同意を経た患者試料は、受領時に、検査室IDが与えられる。Nylon Flocked Dry Swabs in Peel Pouches、Copan Diagnostics 502CS01は、Fisher Scientific (Chicago, IL; 型番: 23-600-951) から得る。2mL Cryogenic Storage Vials Internal Threadは、Fisher Scientific (Chicago, IL; 型番: 12-567-501) から得る。口腔スワブ試料の回収は、CHLA (2016年4月4日)、「Buccal Swab Collection Procedure」、CHLA-Clinical Pathology; 同上 (2016年7月27日)、「Buccal DNA Collection Instructions」、Pathway Genomics; (2017年12月14日)、「Instruction for Buccal Swab Sample Collection」、Otogenetics; PDXL (2017年11月28日)、「Buccal Swab collection procedure—PersonalizedDx Labs」[Video]、YouTube、On World Wide Web: youtube/3ftvHkfM71o?t=146及びCenters of Disease Control and Prevention (CDC) (2020年7月8日)、「Interim Guidelines for collecting, handling, and testing clinical specimens for Covid-19」、On World Wide Web: cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.htmlに記載されているプロトコルに従いうる。D B Sについて、上記において記載された通り、可溶化及び消化のために、細胞を含有する、口腔スワブの先端部を、チューブへと切り取る。

【0374】

末梢血単核細胞（P B M C）及び白血球（W B C）：P B M C及びW B Cは、Kerfootら、Proteomics Clin Appl、2012、6 (7~8) : 394~402; Grievinkら (2016)、Biopreserv Biobank、14 (5) : 410~415; Corkumら (2015)、BMC Immunol、16 : 48及びJiaら (2018)、Biopreserv Biobank、16 (2) : 82~91及びZhouら (2012)、Clinical and Vaccine Immunology、19 (7) : 1065~1074において記載されているプロトコルなど、当技術分野で公知のプロトコルにより回収されうる。単離されたP B M C又はW B Cは、D B Sについて、上記において記載された通り、可溶化させることができ、細胞由来のタンパク質は、消化することができる。

【0375】

immuno-SRMによる診断を、臨床診断と比較する。入手可能な場合、A T M 遺伝子についての遺伝情報及び処置情報を、各患者について得る。immuno-SRMアッセイは、X-CGD (CYBB131、CYBB509又はこれらの組合せ); S C I

10

20

30

40

50

D (IL2RG295、IL2RG316、CD3ε74、CD3δ24、CD3δ133又はこれらの組合せ) ; ADA欠損症 (ADA93) ; DOCK8欠損症 (Dock81272) ; XLP1 (SH2D1A19、SH2D1A110又はこれらの組合せ) ; FHL2 (PRF215、PRF441又はこれらの組合せ) ; CVID (CD1941、CD1955、CD19210、CD19505又はこれらの組合せ) ; 血小板レベル (CD42128、CD42154又はこれらの組合せ) ; NK細胞レベル (CD56122) ; T細胞レベル (CD3ε74、CD3δ24、CD3δ133又はこれらの組合せ) 又はこれらの組合せについて調べるためのシグネチャーペプチドを含む、他のシグネチャーペプチドと共にマルチプレックス化することができる。

【0376】

〔仮想実施例3〕 家族性血球貪食性リンパ組織球増多症2 (FHL2) を診断するための、PRFシグネチャーペプチドについての、immuno-SRMアッセイ

FHL2を有する患者又はFHL2を有することが疑われる患者に由来する、DBS、口腔スワブ試料、PBMC又はWBC (本明細書において記載された) を、正常対照に由来する、対応する試料と共に、実施例1及び本明細書の別の箇所において記載された通りに、シグネチャーペプチドである、PRF215及び／又はPRF441を使用する、immuno-SRMにより解析する。immuno-SRMによる診断を、臨床診断と比較する。入手可能な場合、PRF-1遺伝子についての遺伝情報及び処置情報を、各患者について得る。immuno-SRMアッセイは、X-CGD (CYBB131、CYBB509又はこれらの組合せ) ; SCID (IL2RG295、IL2RG316、CD3ε74、CD3δ24、CD3δ133又はこれらの組合せ) ; ADA欠損症 (ADA93) ; DOCK8欠損症 (Dock81272) ; XLP1 (SH2D1A19、SH2D1A110又はこれらの組合せ) ; AT (ATM798、ATM1544、ATM1561又はこれらの組合せ) ; CVID (CD1941、CD1955、CD19210、CD19505又はこれらの組合せ) ; 血小板レベル (CD42128、CD42154又はこれらの組合せ) ; NK細胞レベル (CD56122) ; T細胞レベル (CD3ε74、CD3δ24、CD3δ133又はこれらの組合せ) 又はこれらの組合せについて調べるためのシグネチャーペプチドを含む、他のシグネチャーペプチドと共にマルチプレックス化することができる。

【0377】

〔仮想実施例4〕 X連鎖リンパ増殖性症候群1 (XLP1) を診断するための、SH2D1A (SAP) シグネチャーペプチドについての、immuno-SRMアッセイ

XLP1を有する患者又はXLP1を有することが疑われる患者に由来する、DBS、口腔スワブ試料、PBMC又はWBC (本明細書において記載された) を、正常対照に由来する、対応する試料と共に、実施例1及び本明細書の別の箇所において記載された通りに、シグネチャーペプチドである、SH2D1A19及び／又はSH2D1A110を使用する、immuno-SRMにより解析する。immuno-SRMによる診断を、臨床診断と比較する。入手可能な場合、SAP遺伝子についての遺伝情報及び処置情報を、各患者について得る。immuno-SRMアッセイは、X-CGD (CYBB131、CYBB509又はこれらの組合せ) ; SCID (IL2RG295、IL2RG316、CD3ε74、CD3δ24、CD3δ133又はこれらの組合せ) ; ADA欠損症 (ADA93) ; DOCK8欠損症 (Dock81272) ; FHL2 (PRF215、PRF441又はこれらの組合せ) ; AT (ATM798、ATM1544、ATM1561又はこれらの組合せ) ; CVID (CD1941、CD1955、CD19210、CD19505又はこれらの組合せ) ; 血小板レベル (CD42128、CD42154又はこれらの組合せ) ; NK細胞レベル (CD56122) ; T細胞レベル (CD3ε74、CD3δ24、CD3δ133又はこれらの組合せ) 又はこれらの組合せについて調べるためのシグネチャーペプチドを含む、他のシグネチャーペプチドと共にマルチプレックス化することができる。

【0378】

〔仮想実施例5〕 分類不能型免疫不全症（CVID）を診断するための、CD19シグネチャーペプチドについての、immuno-SRMアッセイ

CVIDを有する患者又はCVIDを有することが疑われる患者に由来する、DBS、口腔スワブ試料、PBMC又はWBC（本明細書において記載された）を、正常対照に由来する、対応する試料と共に、本明細書において記載された通りに、シグネチャーペプチドである、CD19 41、CD19 55、CD19 210及び／又はCD19 505を使用する、immuno-SRMにより解析する。immuno-SRMによる診断を、臨床診断と比較する。入手可能な場合、CD19遺伝子についての遺伝情報及び処置情報を、各患者について得る。immuno-SRMアッセイは、X-CGD（CYBB131、CYBB509又はこれらの組合せ）；SCID（IL2RG295、IL2RG316、CD3ε74、CD3δ24、CD3δ133又はこれらの組合せ）；ADA欠損症（ADA93）；DOCK8欠損症（Dock8 1272）；FHL2（PRF215、PRF441又はこれらの組合せ）；AT（ATM798、ATM1544、ATM1561又はこれらの組合せ）；XLP1（SH2D1A19、SH2D1A110又はこれらの組合せ）；血小板レベル（CD42 128、CD42 154又はこれらの組合せ）；NK細胞レベル（CD56 122）；T細胞レベル（CD3ε74、CD3δ24、CD3δ133又はこれらの組合せ）又はこれらの組合せについて調べるためのシグネチャーペプチドを含む、他のシグネチャーペプチドと共にマルチプレックス化することができる。

10

20

〔0379〕

〔仮想実施例6〕 重症複合免疫不全症（SCID）を診断するための、IL2RG及び／又はCD3シグネチャーペプチドについての、immuno-SRMアッセイ

SCIDを有する患者又はSCIDを有することが疑われる患者に由来する、DBS、口腔スワブ試料、PBMC又はWBC（本明細書において記載された）を、正常対照に由来する、対応する試料と共に、本明細書において記載された通りに、シグネチャーペプチドである、IL2RG295、IL2RG316、CD3ε74、CD3δ24及び／又はCD3δ133を使用する、immuno-SRMにより解析する。immuno-SRMによる診断を、臨床診断と比較する。入手可能な場合、IL2RG、CD3ε、CD3δ及び／又はSCIDにおいて突然変異した他の遺伝子についての遺伝情報及び処置情報を、各患者について得る。immuno-SRMアッセイは、X-CGD（CYBB131、CYBB509又はこれらの組合せ）；ADA欠損症（ADA93）；DOCK8欠損症（Dock8 1272）；FHL2（PRF215、PRF441又はこれらの組合せ）；AT（ATM798、ATM1544、ATM1561又はこれらの組合せ）；XLP1（SH2D1A19、SH2D1A110又はこれらの組合せ）；CVID（CD19 41、CD19 55、CD19 210、CD19 505又はこれらの組合せ）；血小板レベル（CD42 128、CD42 154又はこれらの組合せ）；NK細胞レベル（CD56 122）；T細胞レベル（CD3ε74、CD3δ24、CD3δ133又はこれらの組合せ）又はこれらの組合せについて調べるためのシグネチャーペプチドを含む、他のシグネチャーペプチドと共にマルチプレックス化することができる。

30

40

〔0380〕

〔仮想実施例7〕 T細胞のレベルを測定するための、CD3シグネチャーペプチドについての、immuno-SRMアッセイ

対象に由来するDBS、口腔スワブ試料、PBMC又はWBC（本明細書において記載された）及び正常対照を、シグネチャーペプチドである、CD3ε74、CD3δ24及び／又はCD3δ133を使用して、任意の対象におけるT細胞のレベルを測定する、immuno-SRMにより解析する。特定の実施形態において、immuno-SRMアッセイは、シグネチャーペプチドである、CD3ε74、CD3δ24及び／又はCD3δ133を、SCIDについての診断を裏付ける二次バイオマーカーとして使用する。シグネチャーペプチドである、CD3ε74、CD3δ24及び／又はCD3δ133が、

50

S C I D についての診断を裏付ける二次バイオマーカーとして使用される場合、S C I D を診断する一次シグネチャーペプチドは、I L 2 R G 2 9 5、I L 2 R G 3 1 6、C D 3 ε 7 4、C D 3 δ 2 4 及び／又は C D 3 δ 1 3 3 を含む。i m m u n o - S R M アッセイは、X - C G D (C Y B B 1 3 1、C Y B B 5 0 9 又はこれらの組合せ) ; A D A 欠損症 (A D A 9 3) ; D O C K 8 欠損症 (D o c k 8 1 2 7 2) ; F H L 2 (P R F 2 1 5、P R F 4 4 1 又はこれらの組合せ) ; A T (A T M 7 9 8、A T M 1 5 4 4、A T M 1 5 6 1 又はこれらの組合せ) ; X L P 1 (S H 2 D 1 A 1 9、S H 2 D 1 A 1 1 0 又はこれらの組合せ) ; C V I D (C D 1 9 4 1、C D 1 9 5 5、C D 1 9 2 1 0、C D 1 9 5 0 5 又はこれらの組合せ) ; 血小板レベル (C D 4 2 1 2 8、C D 4 2 1 5 4 又はこれらの組合せ) ; N K 細胞レベル (C D 5 6 1 2 2) 又はこれらの組合せについて調べるためのシグネチャーペプチドを含む、他のシグネチャーペプチドと共にマルチプレックス化することができる。

10

【0381】

(X I I I) 結語：本明細書において開示された各実施形態は、その、特定の言明された要素、ステップ、成分又は構成要素を含む、これらから本質的になりうる、又はこれらからなりうる。したがって、「～を含む」又は「～を含むこと」という用語は、「～を含む、これらからなる、又はこれらから本質的になる」と復唱するように解釈されるべきである。「～を含む (c o m p r i s e) 」又は「～を含む (c o m p r i s e s) 」という移行用語は、「～を有するがこれらに限定されない」を意味し、指定されていない要素、ステップ、成分又は構成要素の、多量における包含もなお可能とする。「～からなること」という移行句は、指定されていない、任意の要素、ステップ、成分又は構成要素を除外する。「～から本質的になること」という移行句は、実施形態の範囲を、指定された要素、ステップ、成分又は構成要素及び実施形態に、実質的に影響を及ぼさない、要素、ステップ、成分又は構成要素に限定する。実質的な効果は、新生児から得られた D B S、本明細書において開示された抗体及び i m m u n o - S R M を利用して、X - C G D、X L P 1、F H L 2、A T、C V I D、A D A 欠損症及び／又は D O C K 8 欠損症を信頼できる形で診断する能力の、統計学的に有意な低減を引き起こす。

20

【0382】

そうでないことが指し示されない限りにおいて、本明細書及び特許請求の範囲において使用された、成分の数量、分子量、反応条件などの特性を表す、全ての数は、全ての場合において、「約」という用語により修飾されていると理解されるものとする。したがって、逆の指示がない限り、本明細書及び付属の特許請求の範囲に明示された数値パラメータは、本発明により得られることが求められた所望の特性に応じて変動しうる近似値である。少なくとも、同等物についての原則の適用を、特許請求の範囲に限定しようとする試みとしてではなく述べると、各数値パラメータは、少なくとも、報告された有効数字の桁数に照らして、通常の丸めの技法を適用することにより理解されるものとする。さらなる明確さが要求された場合、「約」という用語は、言明された数値又は範囲と共に使用された場合に、当業者により、この用語へと、合理的に帰せられた意味を有する、すなわち、言明された値から ± 2 0 % ; 言明された値から ± 1 9 % ; 言明された値から ± 1 8 % ; 言明された値から ± 1 7 % ; 言明された値から ± 1 6 % ; 言明された値から ± 1 5 % ; 言明された値から ± 1 4 % ; 言明された値から ± 1 3 % ; 言明された値から ± 1 2 % ; 言明された値から ± 1 1 % ; 言明された値から ± 1 0 % ; 言明された値から ± 9 % ; 言明された値から ± 8 % ; 言明された値から ± 7 % ; 言明された値から ± 6 % ; 言明された値から ± 5 % ; 言明された値から ± 4 % ; 言明された値から ± 3 % ; 言明された値から ± 2 % 又は言明された値から ± 1 % の範囲内の、言明された値又は範囲よりいくぶんか大きな値若しくは範囲又はいくぶんか小さな値若しくは範囲を描示する。

30

40

【0383】

広範囲にわたる本発明について説明する、数値範囲及びパラメータは、近似値であるが、具体例において明示された数値は、可能な限り正確に報告されている。しかし、任意の数値は、固有に、それらのそれぞれの試験測定値において見出された標準偏差から必然的

50

に生じる、ある特定の誤差を含有する。

【0384】

本発明について記載する文脈において（とりわけ、以下の特許請求の範囲の文脈において）使用された、用語「ある（a）」、「ある（an）」、「その」及び同様の指示対象は、本明細書においてそうでないことが指し示されない限り、又は、文脈により、明確に逆の記載がない限り、単数形及び複数形の両方を対象とすると理解されるものとする。本明細書における、値の範囲の列挙は、ある範囲内に収まる各個別の値に、個別に言及する簡略法として用いられることだけを意図するものである。本明細書において、そうでないことが指し示されない限りにおいて、各個別の値は、それが、本明細書において、個別に列挙された場合と同様に、本明細書へと組み込まれる。本明細書において記載された全ての方法は、本明細書においてそうでないことが指し示されない限り、又は、文脈により、明確に逆の記載がない限り、任意の適切な順序において実施されうる。本明細書において提供された、ありとあらゆる例又は例示的な表現（例えば、「など」）の使用は、本発明を、よりよく例示することだけを意図するものであり、別の形において特許請求されている、本発明の範囲に対して、限定を付与するものではない。本明細書における、いかなる表現も、任意の特許請求されていない要素を、本発明の実施に不可欠であると指し示すものとして理解されないものとする。

10

【0385】

本明細書において開示された、本発明の、代替的な要素又は実施形態の群分けは、限定として理解されないものとする。各群のメンバーは、個別に言及及び特許請求される場合もあり、本明細書において見出された、群の他のメンバー又は他の要素との、任意の組合せにおいて言及及び特許請求される場合もある。群の、1つ以上のメンバーが、簡便性及び／又は特許性を理由として、群内に組み入れられる場合もあり、群から削除される場合もあることが予期される。任意のこのような組入れ又は削除が生じる場合、本明細書は、改変された群を含有すると考えられ、したがって、付属の特許請求の範囲において使用された、全てのマーカッシュ群についての、文書による記載を実現する。

20

【0386】

本明細書において、本発明者らに公知である、本発明を実行するための、最良の方式を含む、本発明の、ある特定の実施形態が記載されている。当然ながら、前出の記載を読めば、これらの記載された実施形態に対する変動は、当業者に明らかとなる。本発明者は、当業者が、必要に応じて、このような変動を援用することを期待しており、本発明者らは、本発明が、本明細書において具体的に記載されたのとは別の形において実施されることを意図する。したがって、本発明は、本明細書に付属の特許請求の範囲において列挙された対象物に対する、全ての改変及びこれらの同等物を、適用可能な法規により許容されたものとして含む。さらに、本明細書においてそうでないことが指し示されない限り、又は、文脈により、明確に逆の記載がない限り、上記において記載された要素の、これらの全ての可能な変動における、任意の組合せは、本発明に包摂される。

30

【0387】

さらに、本明細書を通して、特許、出版刊行物、雑誌論文及び他の文書（本明細書において参照された材料）への、多くの参照がなされている。参照された材料の各々は、それらの参照された教示について、それらの全体において、参照により本明細書に個別に組み込まれる。

40

【0388】

本明細書において開示された、本発明の実施形態は、本発明の原理を例示することが理解されるものとする。援用されうる、他の改変も、本発明の範囲内にありうる。したがって、限定ではなく、例を目的とする、本発明の代替的な構成は、本明細書における教示に従い利用されうる。したがって、本発明は、示され、記載されている通りに、正確に限定されるわけではない。

【0389】

本明細書において示された詳細は、本発明の好ましい実施形態についての例として、例

50

示的な議論だけを目的とするものであり、本発明の、多様な実施形態の、原理及び概念的側面についての、最も有用であり、たやすく理解される記載であると考えられるものを提供することを大義として提示されている。この点で、図面及び／又は例と共に理解された記載は、当業者に、本発明のいくつかの形態が、実際に、どのようにして実施されるのかを明らかとするので、本発明の構造的詳細を、本発明についての根本的な理解に必要である以上に詳細に示す、いかなる試みもなされていない。

【0390】

本開示において使用された、定義及び説明は、例において、明確に、曖昧さを廃する形において改変されない限りにおいて、又は意味の適用が、任意の構築を、無意味又は本質的に無意味とする場合、将来における、任意の構築において、統制的であることを意味し、このことが意図される。用語の構築が、用語を無意味又は本質的に無意味とする場合、定義は、「Webster's Dictionary」、3版又は「Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology」(Attwood 編、Oxford University Press、Oxford、2006)など、当業者に公知の辞書から理解されるものとする。

【図面】

【図1-1】

疾患	標的タンパク質	ペプチド	配列	全質量 (平均) (モノ)	モノイオン質量		モノイオン質量 (m/z)		
					+	++	+++		
X連鎖遺伝性 肉芽腫症 (X-CGD)	CYBB	CYBB 131-147 (CYBB 131)	VNNSDPYS VALSELGD R (配列番号1)	1835.925 (平均) 1834.859 (モノ)	D [Y] 31 -	N [Y] 101 -	N [Y] 101 -	+++	
					1421.6807++	868.9079++	579.6077+++		
					P [Y] 121 -	N [Y] 151 -	N [Y] 151 -		
					1306.6638+	811.8885++	541.5934+++		
					Y [Y] 111 -	S [Y] 141 -	S [Y] 141 -		
					1209.6110+	754.8850++	503.5791+++		
					S [Y] 101 -	T [Y] 131 -	T [Y] 131 -		
					1046.5477+	711.3490++	474.5684+++		
					V [Y] 91 -	P [Y] 121 -	P [Y] 121 -		
					959.5156+	653.8355++	436.2261+++		
A [Y] 81 -	Y [Y] 111 -	Y [Y] 111 -							
860.4472+	605.3091++	403.8752+++							
L [Y] 71 -	S [Y] 101 -	S [Y] 101 -							
789.4101+	523.7775++	349.5207+++							
S [Y] 61 -	Y [Y] 91 -	Y [Y] 91 -							
676.3280+	480.2615++	320.5101+++							
E [Y] 51 -	A [Y] 81 -	A [Y] 81 -							
589.2940+	430.2722++	287.4873+++							
L [Y] 41 -	L [Y] 71 -	L [Y] 71 -							
460.2514+	395.2087++	263.8082+++							
G [Y] 31 -	S [Y] 61 -	S [Y] 61 -							
347.1674+	338.6667++	226.1135+++							
	E [Y] 51 -	E [Y] 51 -							
	295.1506++	197.1029+++							
	L [Y] 41 -	L [Y] 41 -							
	230.6293++	154.0887+++							
	G [Y] 31 -	G [Y] 31 -							
	174.0873++	116.3940+++							

FIG. 1

【図1-2】

疾患	標的 タンパク質	ペプチド	配列	全質量 (平均) (kDa)	モノイオン 質量	+	モノイオン質量 (m/z)	++
X連鎖遺伝性 肉芽腫症 (X-CGD)	CYBB	CYBB 131-147 (CYBB 131")	VNNSDPYS VALSELGD R (配列番号1)	1835.925 (平均) 1834.859 (kDa)	918.4421++	N [Y] 31 - 328.1615+ S [Y] 41 - 415.1936+ D [Y] 51 - 530.2205+ P [Y] 61 - 627.2733+ Y [Y] 71 - 790.3366+ S [Y] 81 - 877.3886+ Y [Y] 91 - 976.4371+ A [Y] 101 - 1047.4742+ L [Y] 111 - 1160.5582+ S [Y] 121 - 1247.5903+ E [Y] 131 - 1376.6329+ L [Y] 141 - 1489.7169+	N [Y] 31 - 164.5844++ S [Y] 41 - 208.1004++ D [Y] 51 - 265.6139++ P [Y] 61 - 314.1403++ Y [Y] 71 - 395.6719++ S [Y] 81 - 439.1880++ Y [Y] 91 - 482.1015++ A [Y] 101 - 524.2407++ L [Y] 111 - 580.7828++ S [Y] 121 - 624.2988++ E [Y] 131 - 688.8201++ L [Y] 141 - 745.3821++ G [Y] 151 - 773.8728++ D [Y] 161 - 831.5863++	

FIG. 1 続き

10

20

30

40

50

【図 1 - 3】

疾患	構的タンパク質	ペプチド	配列	全質量	親イオン質量	モノイオン質量 (m/z)
X連鎖性 肉芽腫症 (X-CGD)	CYBB	CYBB 509-521 ("CYBB 509")	TLYGRPNW DNEFKS (配列番号 2)	1639.767 (平均) 1638.768 (モノ)	820.3968++	L[y12]- +++
						L[y12]- +++
						L[y12]- +++
						L[y12]- +++
						L[y12]- +++
						L[y12]- +++
						L[y12]- +++
						L[y12]- +++
						L[y12]- +++
						L[y12]- +++
						L[y12]- +++
						L[y12]- +++
						L[y12]- +++
						L[y12]- +++
						L[y12]- +++
						L[y12]- +++

FIG. 1 続き

【図 1 - 4】

疾患	構的タンパク質	ペプチド	配列	全質量	親イオン質量	モノイオン質量 (m/z)
X連鎖性 肉芽腫症 (X-CGD)	CYBB	CYBB 509-521 ("CYBB 509")	TLYGRPNW DNEFK (配列番号 2)	1639.767 (平均) 1638.768 (モノ)	820.3968++	L[y12]- +++
						L[y12]- +++
						L[y12]- +++
						L[y12]- +++
						L[y12]- +++
						L[y12]- +++
						L[y12]- +++
						L[y12]- +++
						L[y12]- +++
						L[y12]- +++
						L[y12]- +++
						L[y12]- +++
						L[y12]- +++
						L[y12]- +++
						L[y12]- +++
						L[y12]- +++

FIG. 1 続き

【図 1 - 5】

疾患	構的タンパク質	ペプチド	配列	全質量	親イオン質量	モノイオン質量 (m/z)
X連鎖性 リンパ増殖性 症候群 1 (XLP1)	SAP	SH2D1A 19-32 ("SH2D1A 19")	LLLATGLDG SYLLR (配列番号 3)	1504.771 (平均) 1503.855 (モノ)	752.9403++	L[y13]- +++
						L[y13]- +++
						L[y13]- +++
						L[y13]- +++
						L[y13]- +++
						L[y13]- +++
						L[y13]- +++
						L[y13]- +++
						L[y13]- +++
						L[y13]- +++
						L[y13]- +++
						L[y13]- +++
						L[y13]- +++
						L[y13]- +++
						L[y13]- +++
						L[y13]- +++

FIG. 1 続き

【図 1 - 6】

疾患	構的タンパク質	ペプチド	配列	全質量	親イオン質量	モノイオン質量 (m/z)
X連鎖性 リンパ増殖性 症候群 1 (XLP1)	SAP	SH2D1A 19-32 ("SH2D1A 19")	LLLATGLDG SYLLR (配列番号 3)	1504.771 (平均) 1503.855 (モノ)	752.9403++	L[y13]- +++
						L[y13]- +++
						L[y13]- +++
						L[y13]- +++
						L[y13]- +++
						L[y13]- +++
						L[y13]- +++
						L[y13]- +++
						L[y13]- +++
						L[y13]- +++
						L[y13]- +++
						L[y13]- +++
						L[y13]- +++
						L[y13]- +++
						L[y13]- +++
						L[y13]- +++

FIG. 1 続き

10

20

30

40

50

【図 1 - 7】

FIG. 1 続き

疾患	標的 タンパク質	ペプチド	配列	全質量 (平均) (モノ)	親イオン 質量	モノ-イオン質量 (m/z)	
						+	++
X連鎖 リンパ増殖性 症候群 1 (XLP1)	SAP	SH2D1A 110-118 (SH2D1A 110')	STGGTTGIR (配列番号 4)	919.973 919.461 (モノ)	460.7434++	T [y8] ⁺ 836.4476+ Q [y7] ⁺ 366.7036++ G [y6] ⁺ 302.6743++ T [y5] ⁻ 547.3198+ T [y4] ⁻ 446.2722+ G [y3] ⁻ 345.2245+	T [y8] ⁺⁺ 279.4774+++ Q [y7] ⁺⁺ 244.8048+++ G [y6] ⁺⁺ 202.1186+++ T [y5] ⁻ 183.1115+++ T [y4] ⁻ 149.4289+++ G [y3] ⁻ 115.7463+++
						+	++
疾患	標的 タンパク質	ペプチド	配列	全質量 (平均) (モノ)	親イオン 質量	モノ-イオン質量 (m/z)	
						+	++
X連鎖 リンパ増殖性 症候群 1 (XLP1)	SAP	SH2D1A 110-118 (SH2D1A 110')	STGGTTGIR (配列番号 4)	919.973 919.461 (モノ)	460.7434++	Q [b3] ⁻ 317.1456+ G [b4] ⁻ 374.1670+ T [b5] ⁻ 475.2147+ T [b6] ⁻ 576.2624+ G [b7] ⁻ 633.2838+ I [b8] ⁻ 746.3679+	Q [b3] ⁻ 106.3867+++ G [b4] ⁻ 125.3939+++ T [b5] ⁻ 159.0764+++ T [b6] ⁻ 192.7590+++ G [b7] ⁻ 211.7861+++ I [b8] ⁻ 249.4608+++
						+	++

【図 1 - 8】

FIG. 1 続き

疾患	標的 タンパク質	ペプチド	配列	全質量 (平均) (モノ)	親イオン 質量	モノ-イオン質量 (m/z)	
						+	++
家族性血球 食食性リンパ 細胞増多症 2 (FHL2)	PRF-1	PRF 215- 228 (PRF 225)	LISNYGTHFI R (配列番号 5)	1320.495 1319.688 (モノ)	660.8566++	I [y10] ⁻ 1207.6218+ S [y9] ⁺ N [y8] ⁺ 1007.5057+ Y [y7] ⁻ 893.4628+ G [y6] ⁻ 730.3995+ T [y5] ⁻ 673.3780+ H [y4] ⁻ 572.3303+ F [y3] ⁻ 435.2714+	I [y10] ⁻ 604.3146++ S [y9] ⁺⁺ N [y8] ⁺⁺ 504.2565++ Y [y7] ⁻ 298.4825+++ G [y6] ⁻ 244.1380+++ T [y5] ⁻ 225.1309+++ H [y4] ⁻ 191.4483+++ F [y3] ⁻ 145.7620+++
						+	++
疾患	標的 タンパク質	ペプチド	配列	全質量 (平均) (モノ)	親イオン 質量	モノ-イオン質量 (m/z)	
						+	++
家族性血球 食食性リンパ 細胞増多症 2 (FHL2)	PRF-1	PRF 215- 228 (PRF 225)	LISNYGTHFI R (配列番号 5)	1320.495 1319.688 (モノ)	660.8566++	I [y10] ⁻ 1207.6218+ S [y9] ⁺ N [y8] ⁺ 1007.5057+ Y [y7] ⁻ 893.4628+ G [y6] ⁻ 730.3995+ T [y5] ⁻ 673.3780+ H [y4] ⁻ 572.3303+ F [y3] ⁻ 435.2714+	I [y10] ⁻ 604.3146++ S [y9] ⁺⁺ N [y8] ⁺⁺ 504.2565++ Y [y7] ⁻ 298.4825+++ G [y6] ⁻ 244.1380+++ T [y5] ⁻ 225.1309+++ H [y4] ⁻ 191.4483+++ F [y3] ⁻ 145.7620+++
						+	++

10

20

【図 1 - 9】

FIG. 1 続き

疾患	標的 タンパク質	ペプチド	配列	全質量 (平均) (モノ)	親イオン 質量	モノ-イオン質量 (m/z)	
						+	++
家族性血球 食食性リンパ 細胞増多症 2 (FHL2)	PRF-1	PRF 215- 225 (PRF 225')	LISNYGTHFI R (配列番号 5)	1320.495 1319.688 (モノ)	660.8566++	S [b3] ⁻ 314.2074+ N [b4] ⁻ 428.2504+ Y [b5] ⁻ 591.3137+ G [b6] ⁻ 716.7832+++ T [b7] ⁻ 819.3828+ H [b8] ⁻ 886.4417+ F [b9] ⁻ 1033.5102+ I [b10] ⁻ 1146.5942+	S [b3] ⁻ 105.4073+++ N [b4] ⁻ 143.4216+++ Y [b5] ⁻ 197.7761+++ G [b6] ⁻ 216.7832+++ T [b7] ⁻ 320.3568+++ H [b8] ⁻ 396.4581+++ F [b9] ⁻ 517.2587+++ I [b10] ⁻ 573.8007+++ 382.8696+++
						+	++
疾患	標的 タンパク質	ペプチド	配列	全質量 (平均) (モノ)	親イオン 質量	モノ-イオン質量 (m/z)	
						+	++
家族性血球 食食性リンパ 細胞増多症 2 (FHL2)	PRF-1	PRF 215- 225 (PRF 225')	LISNYGTHFI R (配列番号 5)	1320.495 1319.688 (モノ)	660.8566++	S [b3] ⁻ 314.2074+ N [b4] ⁻ 428.2504+ Y [b5] ⁻ 591.3137+ G [b6] ⁻ 716.7832+++ T [b7] ⁻ 819.3828+ H [b8] ⁻ 886.4417+ F [b9] ⁻ 1033.5102+ I [b10] ⁻ 1146.5942+	S [b3] ⁻ 105.4073+++ N [b4] ⁻ 143.4216+++ Y [b5] ⁻ 197.7761+++ G [b6] ⁻ 216.7832+++ T [b7] ⁻ 320.3568+++ H [b8] ⁻ 396.4581+++ F [b9] ⁻ 517.2587+++ I [b10] ⁻ 573.8007+++ 382.8696+++
						+	++

【図 1 - 10】

FIG. 1 続き

疾患	標的 タンパク質	ペプチド	配列	全質量 (平均) (モノ)	親イオン 質量	モノ-イオン質量 (m/z)	
						+	++
家族性血球 食食性リンパ 細胞増多症 2 (FHL2)	PRF-1	PRF 441- 449 (PRF 441')	LFFGGQEL R (配列番号 6)	1066.208 1065.550 (モノ)	533.7876++	F [y9] ⁺ 916.339+ F [y7] ⁺ 806.4155+ G [y6] ⁻ 659.3471+ G [y5] ⁻ 602.3257+ Q [y4] ⁻ 545.3042+ E [y3] ⁻ 417.2456+	F [y9] ⁺⁺ 319.895+++ F [y7] ⁺⁺ 269.4767+++ G [y6] ⁻ 220.4539+++ G [y5] ⁻ 201.4467+++ Q [y4] ⁻ 182.4396+++ E [y3] ⁻ 139.7534+++
						+	++
疾患	標的 タンパク質	ペプチド	配列	全質量 (平均) (モノ)	親イオン 質量	モノ-イオン質量 (m/z)	
						+	++
家族性血球 食食性リンパ 細胞増多症 2 (FHL2)	PRF-1	PRF 441- 449 (PRF 441')	LFFGGQEL R (配列番号 6)	1066.208 1065.550 (モノ)	533.7876++	F [b3] ⁻ 408.2282+ G [b4] ⁻ 465.2466+ 522.2711+ Q [b6] ⁻ 650.3297+ E [b7] ⁻ 716.3723+ L [b8] ⁻ 892.4563+	F [b3] ⁻ 136.7476+++ G [b4] ⁻ 155.7547+++ G [b5] ⁻ 174.7619+++ Q [b6] ⁻ 325.6685+++ E [b7] ⁻ 390.1698+++ L [b8] ⁻ 296.1570+++
						+	++

30

40

50

【図 1 - 1 1】

FIG. 1 続き

疾患	標的タンパク質	ペプチド	配列	全質量	親イオン質量	娘イオン質量	(m/z)
毛細血管拡張性運動失調症 (A T)	ATM	ATM 798-805 ("ATM 798")	IASGFFLR (配列番号 210)	910.08 (平均) 909.51 (モノ)	455.7809++	A [v7] -	A [v7] -
						797.4304+ S [v6] -	399.2189++
						G [v5] -	363.7003++
						639.3813+ F [v4] -	320.1843++
						582.3398+ F [v3] -	291.6736++
						435.2714+ F [v3] -	213.7920++
							218.1394++
毛細血管拡張性運動失調症 (A T)	ATM	ATM 798-805 ("ATM 798")	IASGFFLR (配列番号 210)	910.08 (平均) 909.51 (モノ)	455.7809++	S [b3] -	F [b6] -
						272.1805+ G [b4] -	238.6288++
						F [b5] -	312.1630++
						476.2504+ F [b5] -	368.7051++
						633.3118+ F [b5] -	
						736.4028+ L [b7] -	

【図 1 - 1 2】

FIG. 1 続き

疾患	標的タンパク質	ペプチド	配列	全質量	親イオン質量	娘イオン質量	(m/z)
毛細血管拡張性運動失調症 (A T)	ATM	ATM 1544-1550 ("ATM 1544")	YLVIDNK (配列番号 211)	864.01 (平均) 863.48 (モノ)	432.7449++	L [v6] -	L [v6] -
						701.4192+ V [v5] -	351.2132++
						588.3352+ I [v4] -	294.6712++
						489.2667+ D [v3] -	245.1370++
							376.1827++
毛細血管拡張性運動失調症 (A T)	ATM	ATM 1544-1550 ("ATM 1544")	YLVIDNK (配列番号 211)	864.01 (平均) 863.48 (モノ)	432.7449++	V [b3] -	I [b4] -
						376.2231+ I [b4] -	245.1572++
						288.8324+++ D [b5] -	202.1192+++
							302.6707++
						604.3341+ D [b5] -	240.1305+++
						N [b6] -	359.6921++
							718.3770+

【図 1 - 1 3】

FIG. 1 続き

疾患	標的タンパク質	ペプチド	配列	全質量	親イオン質量	娘イオン質量	(m/z)
毛細血管拡張性運動失調症 (A T)	ATM	ATM 1561-1572 ("ATM 1561")	LLDPFPDHY VFK (配列番号 7)	1426.668 (平均) 1425.755 (モノ)	476.2625+++	L [v11] -	L [v11] -
						657.3481++ D [v10] -	438.5678+++
						1200.6048+ P [v9] -	400.8731+++
						543.2926++ F [v8] -	362.5308+++
						494.7862++ F [v8] -	330.1799+++
						421.6220++ P [v7] -	281.5711+++
						744.4039+ D [v6] -	248.8062+++
						372.7056++ H [v5] -	
						629.3770+ V [v4] -	210.4638+++
						492.3180+ V [v3] -	164.7775+++
							131.7547+++

【図 1 - 1 4】

FIG. 1 続き

疾患	標的タンパク質	ペプチド	配列	全質量	親イオン質量	娘イオン質量	(m/z)
毛細血管拡張性運動失調症	ATM	ATM 1561-1572 ("ATM 1561")	LLDPFPDHY VFK (配列番号 7)	1426.668 (平均) 1425.755 (モノ)	476.2625+++	D [b3] -	D [b3] -
						342.2023+ P [b4] -	114.7390+++
						439.2551+ F [b5] -	147.0899+++
						586.3235+ P [b6] -	196.1127+++
						683.3763+ D [b7] -	228.4636+++
						798.4032+ H [b8] -	268.8059+++
						935.4621+ V [b9] -	312.6922+++
						1034.5306+ V [b10] -	345.5150+++
						1133.5990+ F [b11] -	378.5378+++
							427.5606+++

10

20

30

40

50

【図 1 - 1 5】

FIG. 1 続き

疾患	標的 遺伝子	ペプチド	配列	全質量	理論イオン 質量	実験イオン質量	(m/z)
分類不定型 免疫不全症 (CVID)	CD19	CD19 41- 54 ("CD19 41")	GSTGGPTQ QLTWSR (配列番号 8)	1533.598 (平均) 1532.711 (モノ)	767.3682++	T [y13]- 1476.7077+ S [y12]- 1375.6601+ D [y11]- 1288.6280+ G [y10]- 1173.6011+ T [y9]- 1115.5796+ T [y8]- 1019.5269+ Q [y7]- 918.4792+ Q [y6]- 790.4206+ L [y5]- 662.3620+ L [y4]- 545.2780+ V [y3]- 448.2303+	T [y13]- 738.8575+ S [y12]- 688.3337++ D [y11]- 644.8177++ G [y10]- 587.3042++ T [y9]- 549.7935++ T [y8]- 510.2671++ Q [y7]- 459.7432++ Q [y6]- 395.7139++ L [y5]- 331.6847++ T [y4]- 275.1428+ V [y3]- 224.6189++

【図 1 - 1 6】

FIG. 1 続き

疾患	検査の 方法	ヘプタド	配列	全質量	分子量	モノイオン 質量	質量電荷比 (m/z)
分類不確定 免疫不応症 (CVID)	CD19 2019	CD19.41- 54 (CD19 41)	GTSDDPTQ QLTVSR (配列番号 8)	1533.598 (理論) 1532.711 (実)	767.3682++	S [b3] 123.0579++ D [b4] 181.0713+- G [b5] 209.5821++ P [b6] 258.1084++ T [b7] 308.6323++ T [b8] 374.6159+ Q [b9] 436.6909++ L [b10] 985.4555+ 1086.5062+ W [b12] 1272.5855+ S [b13] 1533.598++	+++

10

20

【図 1 - 1 7】

FIG. 1 製也

[illegible]

数量	
----	--

疾患	標的タンパク質	ヘパトド	配列	全質量	糖イオン質量	糖P(オキシ)質量	(m/z)
分節不全型 免疫不全症 (CVID)	CD19	CD19 55-63	ESPLKPELK (配列番号 212)	1058.29 (平均)	P [D3] - 314.1487+	P [D3] - 157.5710++	P [D3] - 105.3831+++
		(CD19 55)		1057.62 (モノ)	D [d1] - 427.1304+	L [d4] - 143.0778+++	L [d4] - 143.0778+++
					K [d5] - 555.3137+	K [d5] - 278.1605++	K [d5] - 185.7761+++
					P [d6] - 652.3665+	P [d6] - 326.6869++	P [d6] - 218.1270+++
					F [d7] - 799.4349+	F [d7] - 400.2211++	F [d7] - 267.1498+++
						L [d8] - 912.5189+	L [d8] - 304.8445+++

【図 1 - 1 8】

FIG. 1 続き

疾患	種別 タンパク質	ペプチド	配列	全質量 (kDa)	分子量 (kDa)	アミノ酸組成		(m/z)
						+	++	
分断不全症 (CVID)	CD19	CD19 270-220 (CD19 270)	GPLSWTHV HPK (配列番号9)	1258.428 (平均) 1257.651 (モノ)	629.9382++	P[Y]01-	P[Y]01-	P[Y]01-
						401.6477+	601.3275++	401.2207+++
						L[Y]01-	L[Y]01-	L[Y]01-
						S[Y]01-	S[Y]01-	S[Y]01-
						991.5108+	496.2591++	331.7511+++
						904.4788+	452.7430++	302.7644+++
						718.3995+	359.7034++	240.1380+++
						617.3518+	309.1795++	206.4555+++
						480.2929+	240.6501++	160.7891+++
						401.6477+	201.3238++	136.7931+++

30

40

50

【図 1 - 1 9】

FIG. 1 続き

疾患	構造的 タンパク質	ペプチド	配列	全質量 (平均) (モノ)	観イオン 質量	残b-イオン質量	
						+	++
分類不能型 免疫不全症 (CVID)	CD19	CD19 210-220 (CD19 210)	GPLSWTHV HPK (配列番号 9)	1258.426 1257.651 (モノ)	629.8382++	L [b3] - 266.1656+ 344.5864++ 345.1976+ W [b5] - 541.2769+ T [b6] - 642.3246+ H [b7] - 779.3835+ V [b8] - 878.4519+ H [b9] - 1015.5108+ P [b10] - 1112.5636+	L [b3] - 344.5864++ 345.1976+ W [b5] - 271.1421++ 321.6659++ H [b7] - 390.1954++ 439.7296++ H [b9] - 508.2591++ P [b10] - 556.7854++

【図 1 - 2 0】

FIG. 1 続き

疾患	構造的 タンパク質	ペプチド	配列	全質量 (平均) (モノ)	観イオン 質量	残b-イオン質量	
						+	++
分類不能型 免疫不全症 (CVID)	CD19	CD19 505-514 L [b1] - 505	GLYAAPOL R (配列番号10)	1101.296 1100.623 (モノ)	551.3244++	L [b1] - 1044.6200+ 537.5360+ Y [b7] - 818.4519+ A [b6] - 655.3886+ A [b5] - 584.3515+ P [b4] - 513.3144+ Q [b3] - 416.2616+	L [b1] - 522.8137++ 348.8762++ 349.8356++ Y [b7] - 469.716++ 273.4888++ 219.1344++ 195.4553++ 257.1608++ 171.763++ 139.4254++

【図 1 - 2 1】

FIG. 1 続き

疾患	構造的 タンパク質	ペプチド	配列	全質量 (平均) (モノ)	観イオン 質量	残b-イオン質量	
						+	++
重症複合 免疫不全症 (SCID)	IL2RG	IL2RG 295-315 (IL2RG 295)	NLEDLVTEYH SK (配列番号 213)	2353.53 2352.10 (モノ)	1177.0584++	Y [b13] - 1436.6702+ H [b12] - G [b11] - 1139.5480+ N [b10] - 1082.5265+ F [b9] - 868.4636+ S [b8] - 821.4152+ A [b7] - 734.3832+ W [b6] - 663.461+ S [b5] - 477.2667+ G [b4] - 390.2347+ N [b3] - 333.2132+	L [b20] - 1120.0369++ E [b19] - 106.24+++ D [b18] - 986.3182+++ L [b17] - 941.4601++ V [b16] - 644.161++ T [b15] - 557.2584+++ E [b14] - 523.5758+++ Y [b13] - 449.3388++ H [b12] - 426.2072+++ G [b11] - 380.5209+++ N [b10] - 351.1937+++ F [b9] - 323.4994+++ S [b8] - 274.4786+++ W [b6] - 332.1767+++ S [b5] - 221.7869+++

【図 1 - 2 2】

FIG. 1 続き

疾患	構造的 タンパク質	ペプチド	配列	全質量 (平均) (モノ)	観イオン 質量	残b-イオン質量	
						+	++
重症複合 免疫不全症 (SCID)	IL2RG	IL2RG 295 -315 (IL2RG 295)	NLEDLVTEYH SK (配列番号 213)	2353.53 2352.10 (モノ)	1177.0584++	E [b3] - 357.1769+ D [b4] - 472.2038+ L [b5] - 342.6818++ T [b6] - 694.3563+ T [b7] - 785.4040+ E [b8] - 914.4466+ N [b9] - 1077.5098+ H [b10] - 1214.5688+ G [b11] - 1271.5903+ N [b12] - 1363.6332+	D [b4] - 236.6055++ L [b5] - 293.1478++ V [b6] - 305.4870+++ T [b6] - 356.8415+++ E [b8] - 457.7269++ Y [b9] - 538.2586++ N [b9] - 607.7980++ G [b11] - 636.2988++ N [b12] - 693.3202++ F [b13] - 719.4416++ S [b14] - 810.3705++ A [b15] - 845.8890++ W [b16] - 868.2820++ S [b17] - 982.4447++ G [b18] - 1010.9554++ V [b19] - 1060.4896++ S [b20] - 1104.0056++

【図 1 - 2 3】

疾患	構造的タンパク質	ペプチド	配列	全質量	親イオン質量	
					+	++
重症統合 免疫不全症 (SCID)	IL2RG	IL2RG 316-328 (IL2RG 316)	GLAESLQP DYSER (配列番号 214)	1464.55 (平均) 1463.69 (モノ)	L [Y12] - 1407.8750+ A [Y11] - 1284.6910+ E [Y10] - 1223.6539+ S [Y9] - 1094.5113+ L [Y8] - 1007.4793+ Q [Y7] - 894.3952+ P [Y6] - 766.3366+ D [Y5] - 666.2638+ Y [Y4] - 566.1569+ S [Y3] - 391.1936+	L [Y12] - 704.3412+ A [Y11] - 647.7391+ E [Y10] - 408.5228+ S [Y9] - 365.5086+ L [Y8] - 336.4979+ Q [Y7] - 298.8032+ P [Y6] - 256.1171+ D [Y5] - 223.7861+ Y [Y4] - 277.6321+ S [Y3] - 391.1936+

【図 1 - 2 4】

疾患	構造的タンパク質	ペプチド	配列	全質量	親イオン質量	
					+	++
重症統合 免疫不全症 (SCID)	IL2RG	IL2RG 316-328 (IL2RG 316)	GLAESLQP DYSER (配列番号 214)	1464.55 (平均) 1463.69 (モノ)	A [Y3] - 212.4499+ E [Y4] - 371.1925+ S [Y5] - 458.2245+ L [Y6] - 571.3086+ Q [Y7] - 699.3572+ P [Y8] - 798.4199+ D [Y9] - 911.4469+ Y [Y10] - 1074.5102+ S [Y11] - 1161.5422+ E [Y12] - 1290.5648+	S [Y5] - 229.9159+ L [Y6] - 266.1579+ Q [Y7] - 350.1872+ P [Y8] - 398.7136+ D [Y9] - 456.2271+ Y [Y10] - 537.7587+ S [Y11] - 661.2714+ E [Y12] - 646.7361+ S [Y11] - 387.8523+ E [Y12] - 430.8665+ Y [Y10] - 304.4871+ Y [Y10] - 358.8416+ S [Y11] - 387.8523+ E [Y12] - 430.8665+

【図 1 - 2 5】

疾患	構造的タンパク質	ペプチド	配列	全質量	親イオン質量	
					+	++
アデノシン デアミンナーゼ (ADA) 欠損症	ADA	ADA 93- 101 ("ADA 93")	EGVVVVEV R (配列番号 11)	1049.173 (平均) 1048.544 (モノ)	G [Y8] - 920.5200+ Y [Y7] - 832.529+ V [Y6] - 764.4301+ Y [Y5] - 665.3617+ V [Y4] - 502.2954+ E [Y3] - 403.2300+	G [Y9] - 460.7636+ V [Y7] - 432.529+ V [Y6] - 382.187+ Y [Y5] - 333.1845+ V [Y4] - 251.6528+ E [Y3] - 202.1186+
アデノシン デアミンナーゼ (ADA) 欠損症	ADA	ADA 93- 101 ("ADA 93")	EGVVVVEV R (配列番号 11)	1049.173 (平均) 1048.544 (モノ)	V [Y3] - 286.1397+ V [Y4] - 385.2082+ Y [Y5] - 548.2715+ V [Y6] - 647.3399+ E [Y7] - 763.825+ V [Y8] - 875.4509+	V [Y3] - 143.5735+ V [Y4] - 193.1077+ Y [Y5] - 274.6394+ V [Y6] - 324.1736+ E [Y7] - 438.2291+

【図 1 - 2 6】

疾患	構造的タンパク質	ペプチド	配列	全質量	親イオン質量	
					+	++
DOCK 8 欠損症	DOCK8	Dock8 1272- 1283 ("Dock8 1272")	TSGVLSSL PYK (配列番号 12)	1264.466 (平均) 1263.697 (モノ)	S [Y11] - 1163.6671+ G [Y10] - 1076.6350+ I [Y9] - 1019.6136+ V [Y8] - 906.5295+ L [Y7] - 807.4611+ S [Y6] - 694.3770+ S [Y5] - 607.3450+ L [Y4] - 520.3130+ P [Y3] - 407.2289+	S [Y11] - 582.3372+ G [Y10] - 538.8211+ I [Y9] - 510.3104+ V [Y8] - 453.7684+ L [Y7] - 344.2342+ S [Y6] - 347.6921+ S [Y5] - 304.1761+ L [Y4] - 260.6601+ P [Y3] - 204.1181+

10

20

30

40

50

【圖 1 - 2 7】

FIG. 1 続き

疾患	集約 分析の質	ペプチド	配列	全質量	スクイオン 質量	G [b3]	+	G [b3]	++	減b-イソウ質量 [m/z]	+++
DOCK8 欠損症	DOCK8	DOCK8 12/2- 1283 (DOCK8 12/2)	TSGVLSLL PYK (配列番号12)	1284.468 (453) 1283.697 (モノ)	632.8610++	G [b3] - 123.5579++ 1 [b4] - 160.0999++ V [b5] - 229.6341++ 1 [b4] - 286.7611++ S [b7] - 328.6521++ S [b8] - 373.2082++ L [b9] - 429.7502++ P [b10] - 478.2766++ Y [b11] - 559.0832++					

【圖 1 - 2 8】

FIG. 1 続き

構的細胞	構的性質	ヘプタド	配列	全質量	親、オン質量	塊一オン質量		+++
						+	++	
血小板	CD42	CD42	LTSIPLGAL	1040.254	570.8268++	T [v9] -	T [v9] -	
		128-137 ("CD42 128")	R (配列番号13)	(平均) 1039.828 (モノ)	927.5622+ S [v8] - 826.5145+ L [v7] - 739.4825+ L [v9] - 626.3884+ L [v9] - 529.3457+ G [v4] - 416.2816+ A [v3] -	464.2847++ S [v8] - 413.7609+ L [v7] - 370.2449+ 319.7028++ L [v9] - 265.1765+ G [v4] - 208.6344+ A [v3] -		

【圖 1 - 29】

FIG. 1 続き

[illegible]

【図 1 - 3 0】

FIG. 1 続き

構造的細胞	構造的タンパク質	ヘプタド	配列	全質量	糖イオン質量	+	糖イオン質量	(m/z)
血小板	CD42	CD42 154-165 (CD42 154')	TLPPGLTP TPK (配列番号14)	1234.483 (平均) 1233.723 (モノ)	617.8739++	P [b3] - 312.1918+ P [b4] - 409.2446+ G [b5] - 466.2660+ L [b6] - 579.3501+ L [b7] - 882.4341+ T [b8] - 783.4818+ P [b9] - 890.5346+ T [b10] - 961.5623+ P [b11] -	P [b3] - 156.5956++ P [b4] - 205.1259++ G [b5] - 233.6366++ L [b6] - 290.1787++ L [b7] - 346.7207++ T [b8] - 387.2445++ P [b9] - 445.7709++ T [b10] - 466.2348++ P [b11] -	+++

【図 1 - 3 1】

FIG. 1 続き

標的疾患 及び標的細胞	標的 タンパク質	ペプチド	配列	全質量 (平均) (モノ)	標イオン 質量	標b-イオン質量 (m/z)	
						+	++
ナチュラル キラ (NK)細胞	CD56	CD56 122-130 ("CD56 122")	NAPTPQEF R (配列番号15)	1059.128 (平均) 1058.504 (モノ)	530.2845++	A [v8] - 945.4789+	A [v8] - 473.2431++
						P [v7] - 874.4417+	P [v7] - 437.7245++
						T [v6] - 777.3890+	T [v6] - 389.1981++
						P [v5] - 676.3413+	P [v5] - 338.6743++
						Q [v4] - 520.4479++	Q [v4] - 260.4479++
						E [v3] - 451.2300+	E [v3] - 226.1186++
標的細胞	CD56	CD56 122-130 ("CD56 122")	NAPTPQEF R (配列番号15)	1059.128 (平均) 1058.504 (モノ)	530.2845++	P [b3] - 283.1401+	P [b3] - 142.0737++
						T [b4] - 324.678+	T [b4] - 162.675++
						P [b5] - 481.2405+	P [b5] - 241.1239++
						Q [b6] - 609.2991+	Q [b6] - 305.1532++
						E [b7] - 738.3417+	E [b7] - 369.6745++
						F [b8] - 895.4101+	F [b8] - 443.2087++

【図 1 - 3 2】

FIG. 1 続き

標的疾患 及び標的細胞	標的 タンパク質	ペプチド	配列	全質量 (平均) (モノ)	標イオン 質量	標b-イオン質量 (m/z)	
						+	++
重症統合 免疫不全症 (SCID) 及びT細胞	CD3ε	CD3ε 74 - 85 ("CD3ε 74")	NIGSDEDHL SLK (配列番号215)	1327.41 (平均) 1326.64 (モノ)	664.3281++	I [v11] - 1213.6059+	I [v11] - 607.3066++
						G [v10] - 1100.5218+	G [v10] - 550.7646++
						S [v9] - 1043.5004+	S [v9] - 522.2538++
						D [v8] - 956.4684+	D [v8] - 478.7378++
						E [v7] - 841.4414+	E [v7] - 421.2243++
						D [v6] - 712.3988+	D [v6] - 356.7030++
						H [v5] - 597.719+	H [v5] - 298.896++
						L [v4] - 460.3130+	L [v4] - 230.6601++
						S [v3] - 347.2289+	

【図 1 - 3 3】

FIG. 1 続き

標的疾患 及び標的細胞	標的 タンパク質	ペプチド	配列	全質量 (平均) (モノ)	標イオン 質量	標b-イオン質量 (m/z)	
						+	++
重症統合 免疫不全症 (SCID) 及びT細胞	CD3ε	CD3ε 74 - 85 ("CD3ε 74")	NIGSDEDHL SLK (配列番号215)	1327.41 (平均) 1326.64 (モノ)	664.3281++	G [b3] - 985.1657+	D [b5] - 244.4329++
						372.1878+	E [b6] - 308.6323++
						D [b9] - 487.2147+	D [b7] - 290.1192++
						H [b8] - 616.2573+	H [b8] - 327.8139++
						D [b7] - 731.2842+	L [b9] - 356.8246++
						S [b10] - 868.3432+	S [b10] - 434.6752++
						L [b11] - 961.4272+	L [b11] - 491.2172++
						S [b10] - 1181.5433+	S [b10] - 591.2753++

【図 1 - 3 4】

FIG. 1 続き

標的疾患 及び標的細胞	標的 タンパク質	ペプチド	配列	全質量 (平均) (モノ)	標イオン 質量	標b-イオン質量 (m/z)	
						+	++
重症統合 免疫不全症 (SCID) 及びT細胞	CD3ε	CD3ε 24 - 32 ("CD3ε 24")	PIEELEDR (配列番号216)	1113.23 (平均) 1112.57 (モノ)	557.2930++	P [v8] - 1000.4946+	P [v8] - 334.1697++
						I [v7] - 903.2418+	I [v7] - 452.2245++
						E [v6] - 868.3577+	E [v6] - 434.2411++
						E [v5] - 661.3151+	E [v5] - 331.1612++
						L [v4] - 532.2726+ [6]	L [v4] - 221.1099++
						E [v3] - 419.1865+ [5]	E [v3] - 210.0979++
重症統合 免疫不全症 (SCID) 及びT細胞	CD3ε	CD3ε 24 - 32 ("CD3ε 24")	PIEELEDR (配列番号216)	1113.23 (平均) 1112.57 (モノ)	557.2930++	L [b3] - 324.2282+	E [b4] - 227.1390++
						E [b4] - 324.2282+	E [b4] - 227.1390++
						L [b5] - 582.3134+	L [b5] - 348.2023++
						L [b6] - 895.3974+	E [b7] - 412.7236++
						E [b7] - 824.4400+	E [b7] - 470.2371++
						939.4670+	

10

20

30

40

50

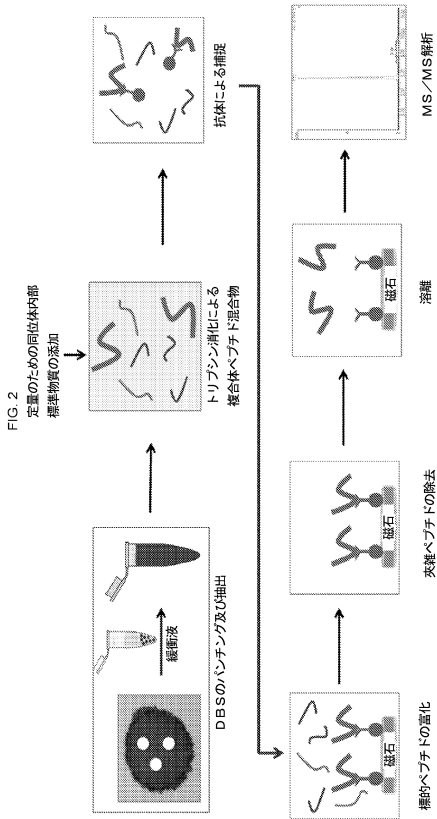
【図 1 - 3 5】

標的疾患 及び細胞	標的 タンパク質	ペプチド	配列	全質量 (平均) (モノ)	モノイオン質量 (m/z)		
					+	++	+++
重症複合 免疫不全症 (SCID) 及びT細胞	CD36	CD36 133 -144 ("CD36 133")	LSGAADTQ ALLR (配列番号217)	1215.37 1214.66 (モノ)	S [Y11]- 1102.5851+	S [Y11]- 551.7962++	S [Y11]- 368.1959+++
					G [Y10]- 1015.5531+	G [Y10]- 508.2802++	G [Y10]- 339.1892+++
					A [Y9]- 958.5316+	A [Y9]- 479.7694++	A [Y9]- 320.1821+++
					A [Y8]- 887.4945+	A [Y8]- 444.2509++	A [Y8]- 296.5030+++
					D [Y7]- 818.4574+	D [Y7]- 408.7323++	D [Y7]- 272.8240+++
					T [Y6]- 701.4304+	T [Y6]- 351.2169++	T [Y6]- 234.4617+++
					C [Y5]- 608.3828+	C [Y5]- 300.8500++	C [Y5]- 200.7391+++
					A [Y4]- 472.3242+	A [Y4]- 236.6657++	A [Y4]- 141.1472+++
					L [Y3]- 401.2871+	L [Y3]- 201.1472++	L [Y3]- 101.0736+++

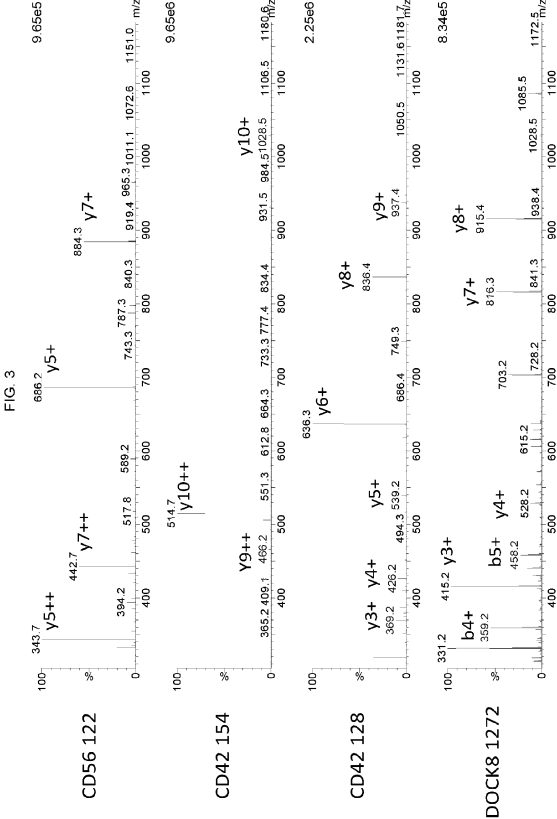
【図 1 - 3 6】

標的疾患 及び細胞	標的 タンパク質	ペプチド	配列	全質量 (平均) (モノ)	+	++	+++
					モノイオン 質量	モノイオン 質量	モノイオン 質量
重症複合 免疫不全症 (SCID) 及びT細胞	CD36	CD36 133 -144 ("CD36 133")	LSGAADTQ ALLR (配列番号217)	1215.37 1214.66 (モノ)	G [Y3]- 243.448+	A [Y5]- 203.448++	T [Y7]- 203.448+++
					A [Y4]- 329.1819+	D [Y6]- 258.1266++	Q [Y8]- 248.7889+++
					A [Y5]- 400.2191+	T [Y7]- 308.6505++	A [Y9]- 272.4680+++
					D [Y6]- 515.2460+	Q [Y8]- 372.6798++	L [Y10]- 310.1627+++
					T [Y7]- 616.2937+	A [Y9]- 408.1983++	L [Y11]- 347.8574+++
					Q [Y8]- 744.3523+	L [Y10]- 484.7404++	
					A [Y9]- 615.3894+	L [Y11]- 521.2824++	
					L [Y10]- 928.4734+		
					L [Y11]- 1041.5575+		

【図 2】



【図 3 - 1】



10

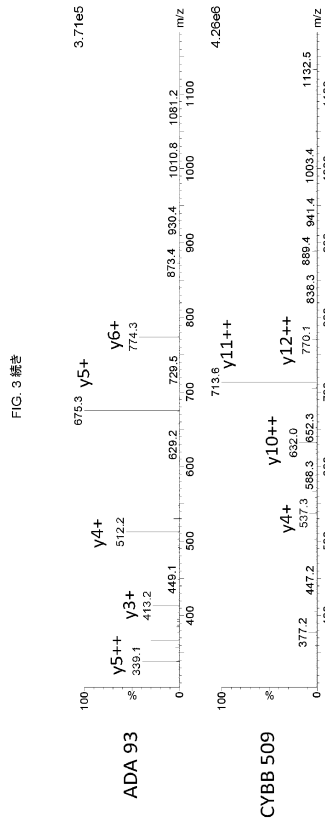
20

30

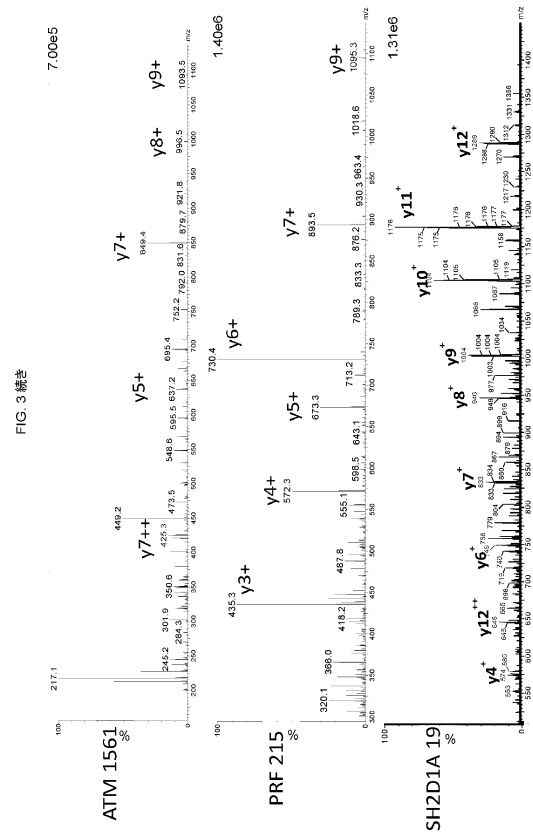
40

50

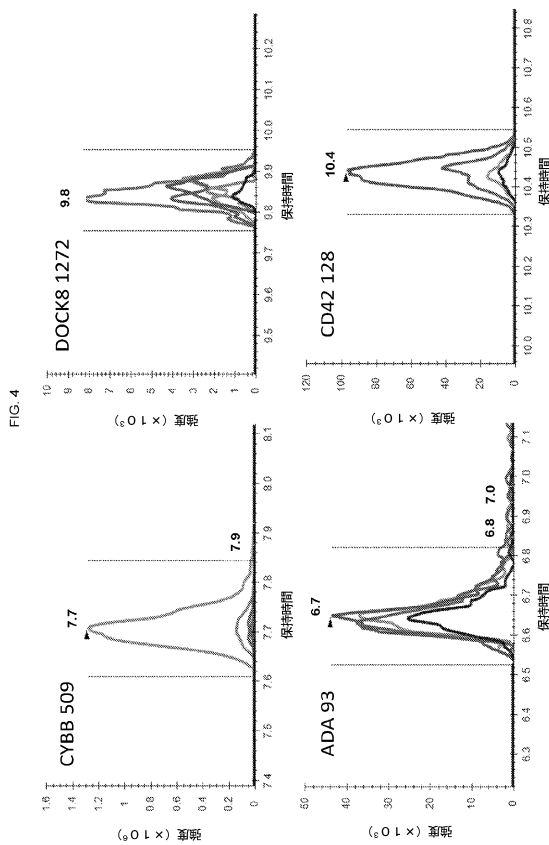
【図 3 - 2】



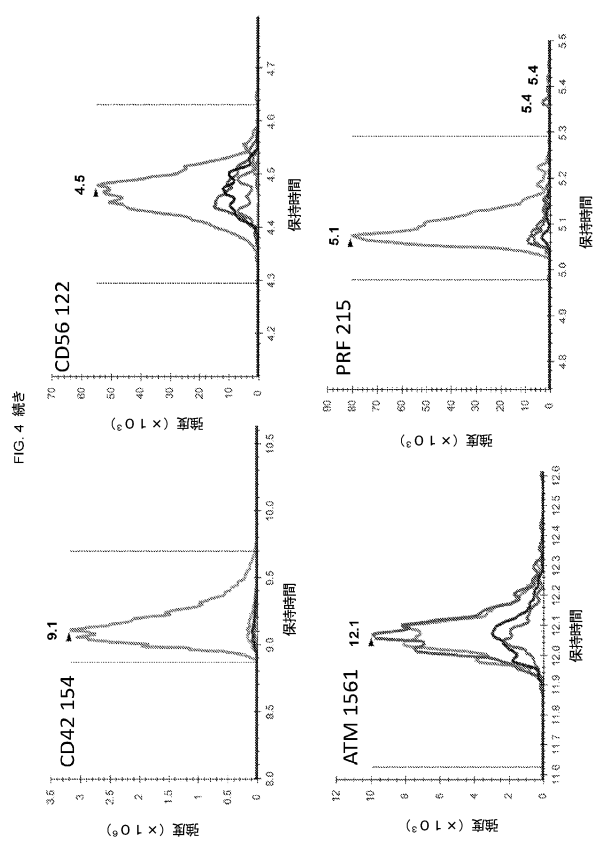
【図 3 - 3】



【図 4 - 1】



【図 4 - 2】



10

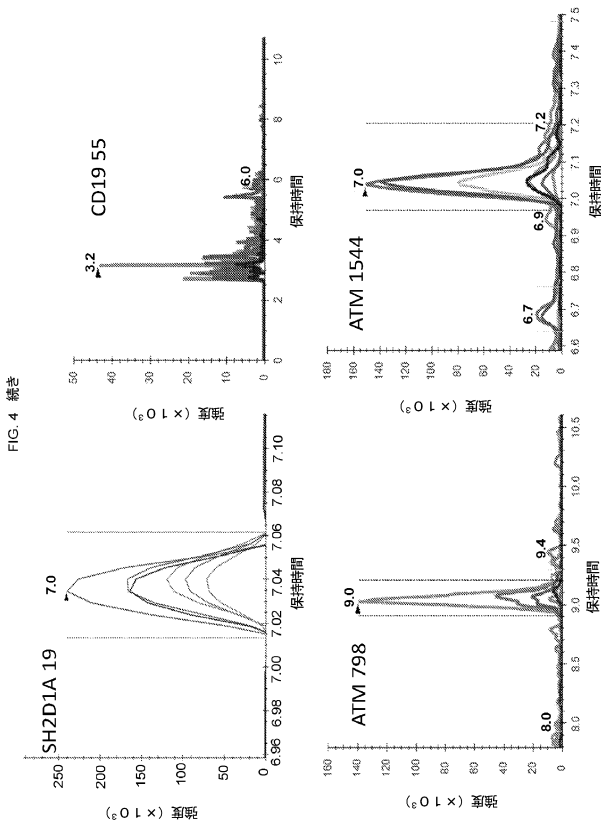
20

30

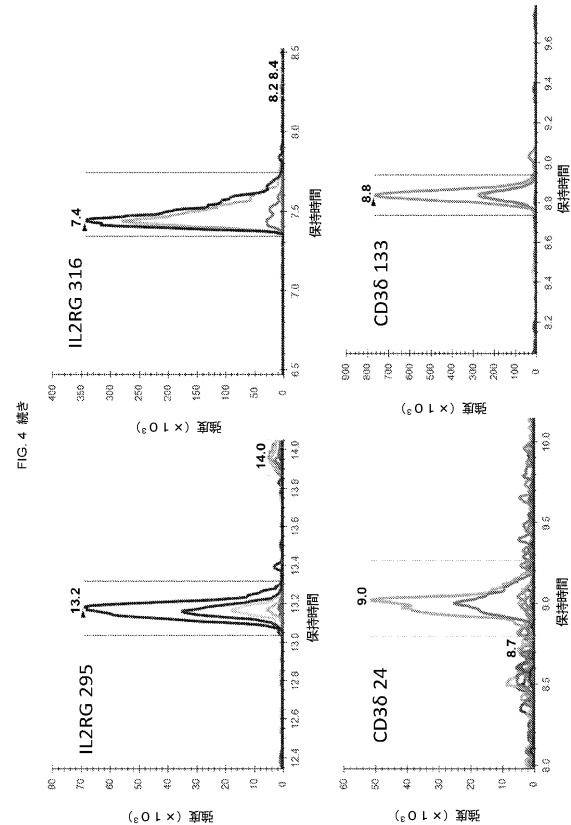
40

50

【図 4 - 3】



【図 4 - 4】

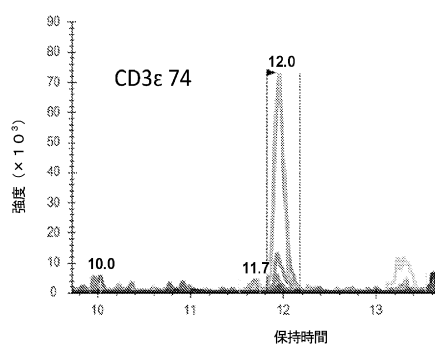


10

20

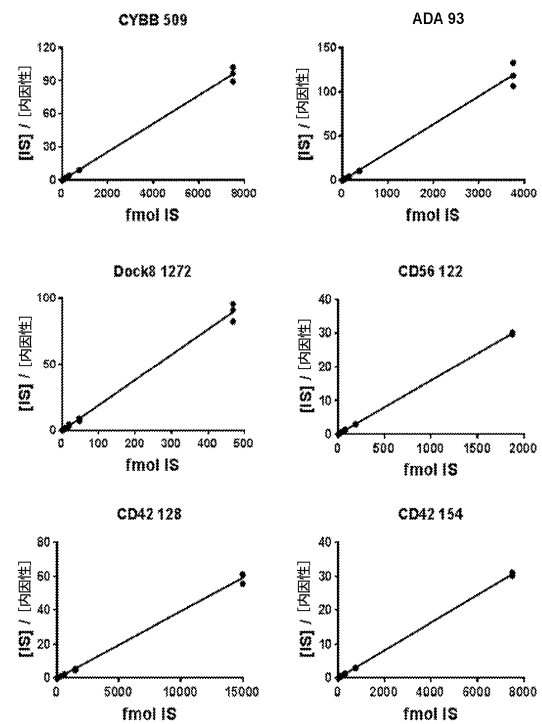
【図 4 - 5】

FIG. 4 続き



【図 5 A】

FIG. 5A



30

40

50

【図 5 B】

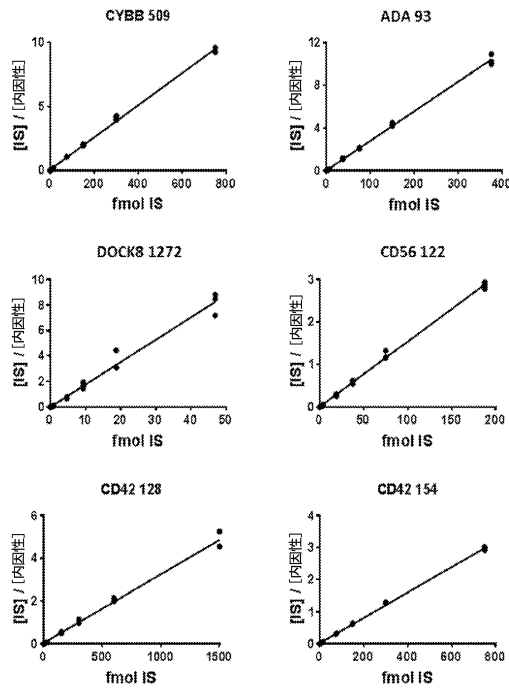


FIG. 5B

【図 6 - 1】

FIG. 6

Pt	CYBB 509 (ピコモル/L)	ADA 93 (ピコモル/L)	DOCK 8 1272 (ピコモル/L)	CD42 128 (ピコモル/L)	CD42 154 (ピコモル/L)	CD56 122 (ピコモル/L)	Immunoscreeningによる診断	臨床診断	遺伝子	突然変異	特記事項
1	3659.0	2039.7	432.1	16605.3	11732.6	4353.4	XLA	XLA	BTK	BTK c.1855C>G (p.P619A)	
2	2611.2	2992.8	430.4	17836.8	7.5	5413.0	XLA	XLA	BTK	該当なし	
3	4413.9	3586.6	533.5	25795.2	31025.1	4125.9	正常	XLA	BTK	BTK c.1630A>G (p.R544G)	
4	4554.5	4075.9	465.4	20989.1	12224.2	2284.1	XLA	XLA	BTK	BTK c.1573C>G (p.R525G)	5の兄弟
5	2959.7	4206.0	433.2	20434.3	10880.6	3618.6	XLA	XLA	BTK	BTK c.1573C>G (p.R525G)	4の兄弟
6	2306.6	1326.2	271.4	8547.4	28853.4	2620.2	XLA	XLA	BTK	BTK c.1889T>A (p.M630K)	
7	1088.1	1581.2	185.7	7326.9	22085.1	1253.4	XLA	XLA	BTK	BTK c.1940T>C (p.L647F)	
8	3699.9	1358.8	436.6	8761.7	24798.0	2776.1	XLA	XLA	BTK	BTK c.1587_1589delA (p.N520Tfs26*)	9の兄弟
9	3769.7	1930.7	556.9	15184.3	29843.1	3630.4	XLA	XLA	BTK	BTK c.1587_1589delA (p.N520Tfs26*)	8の兄弟
10	1221.0	1550.4	411.1	10008.0	28056.0	1759.2	XLA	XLA	BTK	BTK c.1940T>C (p.L647F)	
11	該当なし	1984.2	200.4	5411.2	7120.6	2117.6	XLA	XLA	BTK	BTK c.1567-13_1567-10delGTTT	
12	2500.8	4346.4	336.9	10056.7	13776.0	3386.2	XLA	正常	BTK	BTK c.1573C>G (p.R525G)	4及び5の母
13	該当なし	2759.6	321.7	7613.2	9465.4	2057.0	正常	正常	BTK	BTK c.1567-13_1567-10delGTTT	11の母
14	4483.9	7145.5	767.1	5979.4	3947.7	5481.1	WAS	WAS	WAS	WAS c.336_337insCC-F113Fs	
15	4995.4	2743.2	404.4	1399.3	2183.3	1665.3	WAS	WAS	WAS	WAS c.226_228delAAG	

10

20

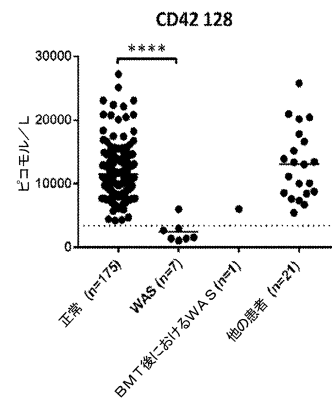
【図 6 - 2】

FIG. 6 続き

16	3512.9	3590.1	360.7	1545.6	2607.1	2447.1	WAS	WAS	WAS	WAS p.R34X (p.W252)	
17	該当なし	1725.6	75.5	2968.8	6607.8	1903.4	WAS	WAS	WAS	WAS c.756G>A (p.V75M)	
18	該当なし	4459.5	117.3	1057.2	5614.3	2270.5	WAS	WAS	WAS	WAS c.223G>A (p.R211*)	
19	該当なし	3108.3	512.7	2667.0	7372.3	4333.0	WAS	WAS	WAS	WAS c.631C>T (p.R211*)	HSCTの前
20	該当なし	3019.2	236.5	1378.3	2272.3	5674.2	WAS	WAS	WAS	WAS c.1453+21T>A	HSCTの後
21	30.2	5390.4	460.6	11137.4	18200.9	3973.5	X-CGD	X-CGD	CYBB	CYBB c.1010G>A (p.T1p337*)	
22	82.7	2836.4	360.7	13354.3	30910.7	4666.5	X-CGD	X-CGD	CYBB	該当なし	
23	27.9	1592.1	310.5	13046.6	11325.0	4261.9	X-CGD	X-CGD	CYBB	該当なし	
24	1172.6	2862.3	676.2	13438.6	29038.6	4359.1	正常	AR-CGD	該当なし	10%の複製異常を有する c.3531-9_3531-5insCA	
25	1546.7	1501.1	16.2	6708.9	13978.7	2732.6	DOCK 8 欠損症	DOCK 8 欠損症	DOCK 8	DOCK c.54-9_5351-5insCA	
26	1417.4	6540.7	408.2	20157.3	32062.6	3390.6	正常	ADA	ADA	ADA c.9C>2A>AG + c.755T>TA (p.L252LQ)	輸血
27	14972	3232.1	563.5	13920.0	8345.1	3128.6	正常	ADA	ADA	該当なし	輸血
28	1129.3	15.6	215.8	8421.4	18474.0	3661.6	ADA	ADA	ADA	該当なし	PEG化 ADA ERT
29	814.3	7415.4	281.7	15725.1	30726.4	5524.6	正常	ADA	ADA	該当なし	輸血
30	該当なし	2.0	該当なし	11084.6	該当なし	11084.6	ADA	ADA	ADA	該当なし	PEG化 ADA ERT
31	該当なし	2.3	該当なし	8870.9	該当なし	8870.9	ADA	ADA	ADA	該当なし	なし

【図 7 A】

FIG. 7A

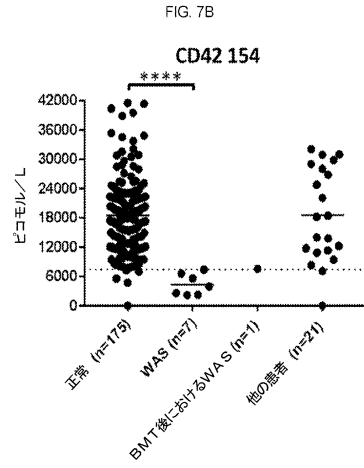


30

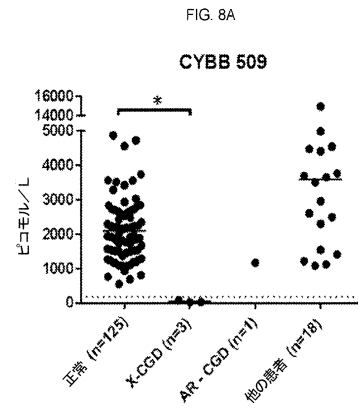
40

50

【図 7 B】

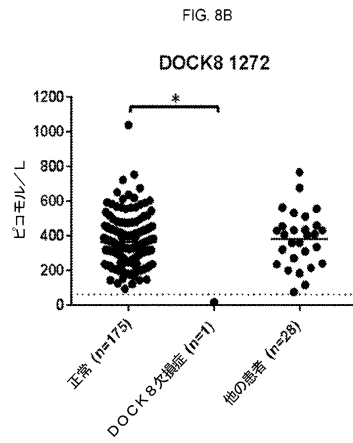


【図 8 A】

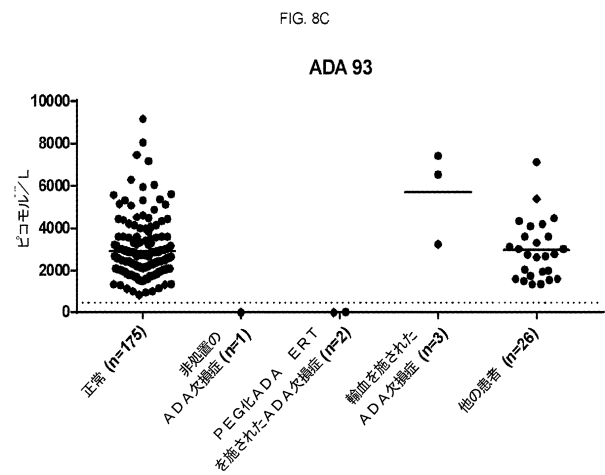


10

【図 8 B】



【図 8 C】



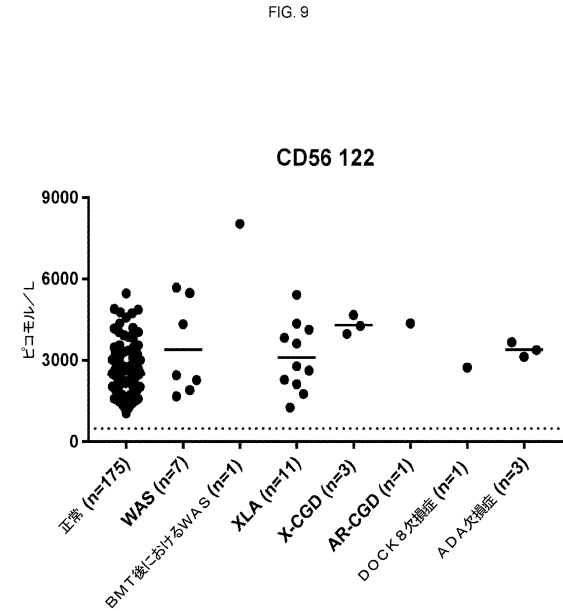
20

30

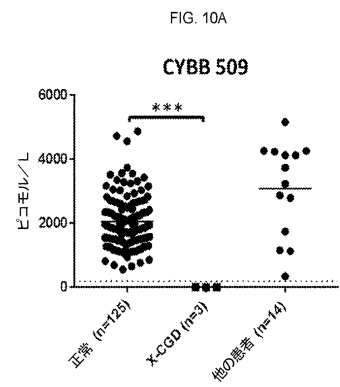
40

50

【図 9】

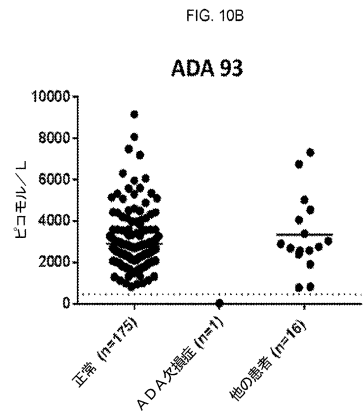


【図 10 A】



10

【図 10 B】



【図 10 C】

FIG. 10C

患者	HT	標準	
	immuno-SRM による診断	immuno-SRM による診断	臨床診断
21	XL-CGD	XL-CGD	XL-CGD
22	XL-CGD	XL-CGD	XL-CGD
23	XL-CGD	XL-CGD	XL-CGD
28	ADA欠損症	ADA欠損症	ADA欠損症

20

30

40

50

【図 1 1 - 1】

FIG. 11

> リーダー配列を伴う、抗CYBB509の重鎖コード配列(クローン:EB0611C-1E12-H2)
(リーダー配列に下線を付す)
ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTGCTCAAAGGTGTCCAGTGTGCAG
TCGTTGGAAGGAGTCCGGGGGAGGCGCTGGTCAAGCCTGGGGCATCCCTGACACTCAACCTG
CACAGCCTCTGGATTCTCCTTCACTGCTGATTTATGGATATGCTGGTCCGCCAGGCTCCA
GGGAAGGGGCTGGAAGTGGCTCGGATGCATTTATGCTGGTAGTAGTGTAGCACTTACTAC
GCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCACTCTCCAAACCTCTGTCGACCACGGTAGCTACTA
CAATGACCAAGTCTGACAGCCGCGGACACGGCCACCTATTCTGTCGAGAGGAATAAT
AATATTATAATCTTGGATTGTGGGGCCAGGCATACTGGTCACCGTCTCCTCAGGCGAAC
CTAAGCCTCCATCAGTCTTCCCACTGGCCCGCTGCTGCGGGGACACACCCAGCTCCACGG
TGACCTCTGGGCTGCTGCTGCTCAAGGCTACCTCCCGAGGCCAGTGACCGTGACCTGGAACCT
CGGGCACCTCTACCAATGGGGTAGCGACCTTCCCGTCCGTCGCGCAGTCTCAGGCCTCT
ACTCGCTGACGACGCTGGTGAGCGTGACCTCAAGCAGGCCAGCCCGTCACTCTGCAACGCTG
GCCCCACCGACGCCAACACCAAGTGGAACAGCCGTTGCGCCCTCGACATGCAAGCAAG
CCCATGTGCCCCACCCCTGAACCTCTCGGGGGGACCGTCTGTCTTCACTCTTCCCCCAAAA
CCCAAGGACACCCCTCATGATCTCACGACACCCCGCAGGTCACATCGCTGGTGGTGGACGTG
AGCCAGGATGACCCCGAGGTGCGATTACATGATACATAAACACAGCAGGAGTGGCGACCG
GCCCGGCCCGCTACGGGAGCAGGATTCACAGCAGCATCCGCGTGGTCCAGCACCT
CCCCATCGCCACCAAGGACTGGCTGAGGGGCAAGGATTCAGTGCAAAAGTCCACAAACA
GGCACTCCCGGCCCCCATCAGAGAAACCATCTCCAAGGCCAGAGGGCAGCCCTCGGAGC
CGAAGGTCTACACCATGGGCCCTCCCGGGAGGAGCTGAGCAGCAGGTCGGTCAGCCTG
ACCTGCATGATCAACGGCTTCTACCTCTCCGACATCTCGGTGGAAGTGGGAGAAAGACGGG
AAGGACAGGACAACCTACAAGACACCGCCGCGCTGTCGACAGCCAGCGGCTCCTACTT
CTCTTACAGCAAGCTCTCAGTCCCAAGCATGAGTGGCAGCGGGGCGACGCTTCTCACCTG
CTCGGTATGACAGAGGCGCTTGCAACCACTACTACACGCAAGTCCATCTCCCGCTCTCC
GGTAATGA (配列番号 22)

> リーダー配列を伴う、抗CYBB509の重鎖アミノ酸配列(リーダー配列に下線を付す)

METGLRWLLLVAVLKGVCQCSLEESGGGLVKPGASLTLCTASGFSFSRSYWCWVRQAPKG
GLEWLCIYAGSSGSTYYASWAKGRFTISKTSSTTVTLQMTSLTAADTATYFCARGNNIIIDL
WGPGLIVTVSSGQPKAPSVFPLAPCCGDTSPSSTVTLGCLVKGYLPEPVTVWNSGTLTNGVRT
FPSVRSSGLYSLSSVSVTSSQPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPMCPPPELLGGPS
VFIFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQDPEVQFTWYINNEQVTRARPLREQQFNSTIRVV
STLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPKVYTMGPPEELSSRSVSLTC
MINGFYPSDISEWEKNGKAEDNYKTTPAVLSDSGSYFLYSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMH
EALHNHYTQKSISRSPGK (配列番号 23)

> リーダー配列を伴わない、抗CYBB509の重鎖アミノ酸配列
QSLEESGGGLVKPGASLTLCTASGFSFSRSYWCWVRQAPKGLEWLCIYAGSSGSTYYA
SWAKGRFTISKTSSTTVTLQMTSLTAADTATYFCARGNNIIIDLWGPGLIVTVSSGQPKAPSV
FPLAPCCGDTSPSSTVTLGCLVKGYLPEPVTVWNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGLYSLSSVSV
TSSSOPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPMCPPPELLGGPSVFIFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVDVSDQDPEVQFTWYINNEQVTRARPLREQQFNSTIRVVSTLPIAHQDWLRGKEFKCK
VHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPKVYTMGPPEELSSRSVSLTCMINGFYPSDISEWEKNGKA
EDNYKTTPAVLSDSGSYFLYSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK
(配列番号 24)

【図 1 1 - 3】

FIG. 11 続き

> リーダー配列を伴う、抗CYBB509の軽鎖可変ドメインのコード配列(リーダー配列に下線を付す)

ATGGACACGAGGGGCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTGCTGCTGCTGCCCTCCAGGTGC
CACATTTGCCGCCGCTGCTGACCCAGACTCCATCTCCCGTGCTGCGAGCTGTGGGAGGCAC
AGTCACCATCAGTTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTACAATAACAATGCCTTATCTCGGTAT
CAGCAGAAACCGAGGCCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATGATGCATCCGATCTGGCACCT
GGGCTCCCATCGCGGTTACAGCGGCACTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCAACCATCAGC
GACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCGGTTATAGTGTGAGTAGTG
ATAATGCTTTCGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAC (配列番号 31)

> リーダー配列を伴う、抗CYBB509の軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列(リーダー配列に下線を付す)

MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATFAAVLTQTSPSPVSAAVGGTVTISCQASQSVYNNNLSWYQQK
PGQPPKLLIYDASDLAPGVPSPRFSGSGSGTFLTISDVQCDDAATYVCLGGYSVSSDNAFGG
GTEVVVN (配列番号 32)

> リーダー配列を伴う、抗PRF215の重鎖コード配列(クローン:EB0610D-9E12-H3)

(リーダー配列に下線を付す)

ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTGCTCAAAGGTGTCCAGTGTGCAG
TCGTTGGAAGGAGTCCGGGGGTCGCCCTGGTAACGCTCGAGGAACCCCTGACACTCACCTG
CACAGCCTCTGGATTCTCCCTCAGTAGGACACAACATGGGCTGGGTCGCGCCAGGCTCCAGG
GGAGGGGCTGGAAGTGGATCGGATCCATTAGTAGTAAGGGTAAGACATACTACACGACCTG
GGCGAAAGGTCGATTCAACCATCTCCAAAGCTCGACCCACGGTGGATCTGAAAATCAACCAG
TCCGACAACCGAGCACGCGCCACCTATTCTGTGCCAGATTATATTCTGGTAGTAATGGT
TATGAAACCATCTGGGGCCAGGCACCTGGTACCGTCTCCTTGGGCAACCTAAGGCT
CCATCAGCTCTTCCCACTGGCCCCCTGCTCGGGGGACACACCCAGCTCCACGGTAGCCCTG
GGCTGCCCTGGTCAAAGGCTACCTCCCGGAGCGAGTGACCGTGACCTGGAACCTCGGGCAC
CCTCAACCAATGGGGTAGCGACCTTCCCGTCCGTCGCGGACGTCTCAGGCCCTTACTCGCT
GAGCAGCGCTGGTGAGCGTGACCTCAAGCAGGCCAGCCCGTCACTGCAACGTGGGCCACC
GACCCACCAACACCAAGTGGAACAGACCGTTGCGCCCTCGACATGCAAGCAAGCCCATGT
GCCACCCCTTGAACCTCTGGGGGAGCGCTGTCTTCACTCTCCCCCAAAACCAAGG
ACACCCCTCATGATCTACGCAACCCCGAGGTCACATCGCTGGTGGTGGCAGGACG
GATGACCCCGAGGTGCAGTTACATGGTACATAAAACAGCAGGTCGCGACCCGCCCG
GCCCGCGCTACGGGAGCAGCATGTCAAAGCAGCAGTCCCGCTGGTGCACACCCCTCCCA
TCGCGCACAGGACTGCTGAGGGGCAAGGATTCAGAGTGCAAAGTCCACAAAGCGCA
CTCCCGGCCCCCATCAGAGAAACCATCTCCAAGGCCAGAGGGCAGCCCTGGAGCCGAA
GGTCTACACCATGGGCCCTCCCGGGAGGAGCTGAGCAGCAGGTCGGTCAAGCTGACCT
GCATGATCAACGGCTTCTACCTCTCCGACATCTCGGTGAGTGGGAGAAAGACGGGAAGG
CAGAGGACAACCTACAAGACACGCGGCCGTGCTGGACAGCGACGCTCTACTTCTCTCT
ACAGCAAGCTCTCAGTGCCACGAGTGAGTGGCAGCGGGGCGACGCTTTCACCTGCTCC
GTGATGCACGAGGCTTGCACAACCACTACACGCAAGTCCATCTCCCGCTCTCCGGGT
AAATGA (配列番号 40)

【図 1 1 - 2】

FIG. 11 続き

> リーダー配列を伴う、抗CYBB509の重鎖可変ドメインのコード配列(リーダー配列に下線を付す)

ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTGCTCAAAGGTGTCCAGTGTGCAG
TCGTTGGAAGGAGTCCGGGGGAGGCGCTGGTCAAGCCTGGGGCATCCCTGACACTCACCTG
CACAGCCTCTGGATTCTCCTTCAGTCGTAGTTATGGATATGCTGGGTCGCGCAGGCTCCA
GGGAAGGGGCTGGAAGTGGCTCGGATGCATTTATGCTGGTAGTAGTGTAGCACTTACTAC
GCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCACTCTCCAAACCTCTGTCGACCACGGTAGCTACTA
CAATGACCAAGTCTGACAGCCGCGGACACGGCCACCTATTCTGTGCGAGGAGGAATAAT
AATATTATAATCTTGGATTGTGGGGCCAGGCATACTGGTCACCGTCTCCTCA
(配列番号: 25)

> リーダー配列を伴う、抗CYBB509の重鎖可変ドメインのアミノ酸配列

(リーダー配列に下線を付す)

METGLRWLLLVAVLKGVCQCSLEESGGGLVKPGASLTLCTASGFSFSRSYWCWVRQAPKG
GLEWLCIYAGSSGSTYYASWAKGRFTISKTSSTTVTLQMTSLTAADTATYFCARGNNIIIDL
WGPGLIVTVSS (配列番号 26)

> リーダー配列を伴う、抗CYBB509/抗CYBB509の軽鎖コード配列

(クローン:EB0611C-1E12-K2)(リーダー配列に下線を付す)

ATGGACACGAGGGGCCCACTCAGCTGCTGGGGCTGCTGCTGCTGCCAGGTGC
CACATTTGCCGCCGCTGCTGACCCAGACTCCATCTCCCGCTGCTGACGCTGTGGGAGGCAC
AGTCACCAATCAGTTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTACAATAACAATGCCTTATCTGGTAT
CAGCAGAAACCGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATGATGCATCCGATCTGGCACCT
GGGCTCCCATCGCGGTTACGCGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGC
GACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCGGTTATAGTGTGAGTAGTG
ATAATGCTTTCGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAACGGTGTATCCAGTTGCACTACTGT
TCTCATCTTCCACCAAGCTGCTGATCAGGTGGCACTGGAAACAGTCACCATCGTGTGTGT
GGCGAATAAATACTTTCGGATGTCAACCGTCACTGGGAGGTGGATGGCACCCCAAAAC
AATGGCATCGAGAACAGTAAACACCGCAGAAATCTTGCAAGATTGATCTACACCTCAGC
AGCACTCTGACACTGACCAGCACACAGTACAACAGCCACAAGAGTACACCTCGCAAGGTG
ACCCAGGGCAGCAGCTCAGTCTGCAGAGCTTCAATAGGGGTGACTGTGAG (配列番号
28)

> リーダー配列を伴う、抗CYBB509の軽鎖アミノ酸配列(リーダー配列に下線を付す)

MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATFAAVLTQTSPSPVSAAVGGTVTISCQASQSVYNNNLSWYQQK
PGQPPKLLIYDASDLAPGVPSPRFSGSGSGTFLTISDVQCDDAATYVCLGGYSVSSDNAFGG
GTEVVVNQDVPVATVLPFPADQVATGTVTVICVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTGTIENSKTP
QNSADCTYNLSTLTSTQYNHKEYTKVKTQGTTSVQGSFNRGDC (配列番号 29)

> リーダー配列を伴わない、抗CYBB509の軽鎖アミノ酸配列

AVLTQTSPSPVSAAVGGTVTISCQASQSVYNNNLSWYQQKPGQPPKLLIYDASDLAPGVPSPR
FSGSGSGTFLTISDVQCDDAATYVCLGGYSVSSDNAFGGTEVVVNDPVPATVLPFPAD
QVATGTVTVICVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTGTIENSKTPQNSADCTYNLSTLTSTQYNS
HKEYTKVKTQGTTSVQGSFNRGDC (配列番号 30)

【図 1 1 - 4】

FIG. 11 続き

> リーダー配列を伴う、抗PRF215の重鎖アミノ酸配列(リーダー配列に下線を付す)

METGLRWLLLVAVLKGVCQCSVEESGGRLVTPGGTLTLCTASGFSLSRHNMGWVRQAPGE
GLEVMGSISSKGKTYTTWAKGRFTISKSTTVDLKITSPTTEDATYFCARLYSGSNGYETIWG
PGLTVTVSLGQPKAPSVFPLAPCCGDTSPSSTVTLGCLVKGYLPEPVTVWNSGTLTNGVRTFP
SVRQSSGLYSLSSVSVTSSQPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPMCPPPELLGGPSVF
IFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQDPEVQFTWYINNEQVTRARPLREQQFNSTIRVVST
LPIAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPKVYTMGPPEELSSRSVSLTCM
INGFYPSDISEWEKNGKAEDNYKTTPAVLSDSGSYFLYSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEA
LHNHYTQKSISRSPGK (配列番号 41)

> リーダー配列を伴わない、抗PRF215の重鎖アミノ酸配列

QSVEESGGRLVTPGGTLTLCTASGFSLSRHNMGWVRQAPGEGLEWIGSISKGKTYTTWA
KGRFTISKSTTVDLKITSPTTEDATYFCARLYSGSNGYETIWGPGTLTVTVSLGQPKAPSVFPL
APCCGSGDTFLTISDVQCDDAATYVCLGGYSVSSDNAFGGTEVVVNDPVPATVLPFPAD
SOPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPMCPPPELLGGPSVFIFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VVDVSDQDPEVQFTWYINNEQVTRARPLREQQFNSTIRVVSTLPIAHQDWLRGKEFKCKVHN
KALPAPIEKTISKARGQPLEPKVYTMGPPEELSSRSVSLTCMINGFYPSDISEWEKNGKAED
NYKTTPAVLSDSGSYFLYSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK
(配列番号: 42)

> リーダー配列を伴う、抗PRF215の重鎖可変ドメインのコード配列(リーダー配列に下線を付す)

ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTGCTCAAAGGTGTCCAGTGTGCAG
TCGTTGGAAGGAGTCCGGGGGTCGCCCTGGTAACGCTCGAGGAACCCCTGACACTCACCTG
CACAGCCTCTGGATTCTCCCTCAGTAGGACACAACATGGGCTGGGTCGCGCCAGGCTCCAGG
GGAGGGGCTGGAAGTGGATCGGATCCATTAGTAGTAAGGGTAAGACATACTACACGACCTG
GGCGAAAGGTGCAATTCACCATCTCCAAAGCTCGACACGGTGGATCTGAAAATCAGCAG
TCCGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTCTGTGCCAGATTATACTTGGTAGTAATGGT
TATGAAACCATCTGGGGCCAGGCAACCTGGTCAACGCTCTCCTTG (配列番号 43)

> リーダー配列を伴う、抗PRF215の重鎖可変ドメインのアミノ酸配列(リーダー配列に下線を付す)

METGLRWLLLVAVLKGVCQCSVEESGGRLVTPGGTLTLCTASGFSLSRHNMGWVRQAPGE
GLEWIGSISKGKTYTTWAKGRFTISKSTTVDLKITSPTTEDATYFCARLYSGSNGYETIWG
PGLTVTVSL (配列番号 44)

10

20

30

40

50

【図 1 1 - 5】

FIG. 11 続き

> リーダー配列を伴う、抗PRF215／抗CYB8509の軽鎖コード配列
(クローン: EB0610D-9E12-K1) (リーダー配列に下線を付す)

ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGCTCCCAAGTGC
CAGATGTGCCGATGTCGTGATGACCCAGACTCCATCCCCCGTGCTGCAGCTGTGGGAGG
CACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATGATAACAACAACCTTAGCCTGG
TATCAGCAGAAACCCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATGATGCATCCAACTGGCAT
CTGGGGTCCCATCGCGGTTACGCGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCA
GCGACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCGAATTTATTTCTAGTAG
TGGTGATTGTATTGTTTTCGGCGGAGGGACCGAGATGGTCTGCTAAAGGTGATCCAGTTGC
ACCTACTGTCTCATCTTCCCACCATCTGCTGATCTTGTGGCAACTGGAACAGTCACCATC
GTGTGTGTGGCGAATAAATCTTTCCCAGTGTCAACCGTCACTGGGAGGTGGATGGCAAC
ACCCAAACAACCTGGCATCGAGAACAAGTAAACACCCGAGAAATTCGCANATTGTACCTACA
ACCTCAGCAGCACTCTGACACTGACCAGCAGACAGTACAACAGCCACAAGAGTACACCT
GCAAGGTGACCCAGGGCAGCACTCAGTCTCCAGAGCTTCAATAGGGGTGACTGTTAG
(配列番号 46)

> リーダー配列を伴う、抗PRF215の軽鎖アミノ酸配列 (リーダー配列に下線を付す)

MDTRAPTQLLGLLLWLPGARCAADVMTQTPSPVSAAVGGTVTINCQASQSVYDNNNLAWYQ
KQPGQPPKKLIYDASKLASGVPSRFGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCLGEFISSSGDCIVF
GGGTEMVVKGDPVAPTVLIFPSPADLVATGTVTIVCVANKYFPDVTWVEVDGTTQTGTIENSK
TPQNSAXCTYNLSSTLTLTSTQYNSHKEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC (配列番号 47)

> リーダー配列を伴わない、抗PRF215の軽鎖アミノ酸配列

ADVMTQTPSPVSAAVGGTVTINCQASQSVYDNNNLAWYQKPGQPPKKLIYDASKLASGVP
SRFSGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCLGEFISSSGDCIVFGGGTEMVVKGDPVAPTVLIFP
SPADLVATGTVTIVCVANKYFPDVTWVEVDGTTQTGTIENSKTPQNSAXCTYNLSSTLTLTST
QYNSHKEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC (配列番号 48)

> リーダー配列を伴う、抗PRF215の軽鎖可変ドメインのコード配列 (リーダー配列に下線を付す)

ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGCTCCCAAGTGC
CAGATGTGCCGATGTCGTGATGACCCAGACTCCATCCCCCGTGCTGCAGCTGTGGGAGG
CACAGTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATGATAACAACAACCTTAGCCTGG
TATCAGCAGAAACCCAGGCCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATGATGCATCCAACTGGCAT
CTGGGTCCTCATCGCGTTACGCGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCA
GCGACGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCGAATTTATTTCTAGTAG
TGGTGATTGTATTGTTTTCGGCGGAGGGACCGAGATGGTCTGCTCAA (配列番号 49)

> リーダー配列を伴う、抗PRF215の軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列 (リーダー配列に下線を付す)

MDTRAPTQLLGLLLWLPGARCAADVMTQTPSPVSAAVGGTVTINCQASQSVYDNNNLAWYQ
KQPGQPPKKLIYDASKLASGVPSRFGSGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCLGEFISSSGDCIVF
GGGTEMVVK (配列番号 50)

【図 1 1 - 7】

FIG. 11 続き

> リーダー配列を伴う、抗ATM1561の重鎖可変ドメインのコード配列 (リーダー配列に下線を付す)

ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTGCGCTGTGCTCAAAGGTGTCCAGTGTCA
GAGCAGCTGGTGGAGTCCGGGGGAGGGCTGGTCCAGCCTGGGGGATCCCTGACACTCAC
CTGCAAAAGCCTCTGGATTTCAGTTTCAAGTAGCGGTGGAAATGTCTGGGTCGCGCAGGCTC
AGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGATGCAATTGTAATGGTGATGGTAGCACATACTTCGC
GACCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCACAGAACGTCGTCGACACCGGTGACTCTGCA
AATGACCACTGTGACAGCCGCGGACAGCCGCACTATTTCTGTTGGAGATATTGGGCCCT
GTGGGGCCAGGATACCTGGTCAACCTCTCCTCA (配列番号 61)

> リーダー配列を伴う、抗ATM1561の重鎖可変ドメインのアミノ酸配列 (リーダー配列に下線を付す)

METGLRWLLLVAVLKGVCQEQLVESGGGLVQPGGSLTLTCKASGDFSSGGMCWVRQAPG
KGLEWGCIVNGDGSTYFATWAKGRFTITRSTSTVTLQMTSLTAADTATYFCWRYWALWGPG
TLTVTSS (配列番号 62)

> リーダー配列を伴う、抗ATM1561の軽鎖コード配列 (クローン: EB0608D-4A10-K1)

ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGCTCCCAAGTGC
CACATTGTGCCATCTGATGACCCAGACTCCATCTCCAAAGTCTGTCCCTGTGGGAGGCACA
GTCACCATCAATTGCCAGGCCAGTGAGAGTCTTTATAATAACAACCGCTTAGCCTGGTTTC
AGCAGAAACCCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATTCTGCATCCACTCTGGCATCTG
GGGTCCCAGATAGGTTACGCGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCG
ATGTGGTGTGTGACGACGCTGCCACTTACTACTGCGTAGGAGGTAGAAGTCTGTGTTACTG
ATGTTATTGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGGCCGGTGGTCAAAGGTGATCCAGTTGCACCTA
CTGTCCCTCATCTTCCACCAAGCTGCTGATCAGGTGGCAACTGAAACAGTCACCATCGTGTG
TGTGGCGAATAAATACTTTCCCGATGTCAACCGTCACTGGGAGGTGGATGGCACCACCCA
AACAACTGGCATCGAGAACAGTAAACACCCGAGAAATCTGCAGATTGTACCTACAACCTC
AGCAGCACTGTGACACTGACCAGCACACAGTACAACAGCCACAAGAGTACACCTGCAAG
GTGACCCAGGGCAGCACTCAGTCTCCAGAGCTTCAATAGGGGTGACTGTTAG
(配列番号: 64)

> リーダー配列を伴う、抗ATM1561の軽鎖アミノ酸配列 (リーダー配列に下線を付す)

MDTRAPTQLLGLLLWLPGATFAIVMTQTPSSKSPVGGTVTINCQASLESYNNNRLAWFQK
PGQPPKKLIYASSTLASGVDRFSGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCVGGRSRVTDGIAFGG
GTEAVVKGDPVAPTVLIFPPADQVATEVTIVCVANKYFPDVTWVEVDGTTQTGTIENSKTPQNSADCTYNLSSTLTLTSTQYN
SHKEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC (配列番号 65)

> リーダー配列を伴わない、抗ATM1561の軽鎖アミノ酸配列

IVMTQTPSSKSPVGGTVTINCQASLESYNNNRLAWFQKPGQPPKKLIYASSTLASGVDRFS
GSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCVGGRSRVTDGIAFGGTEAVVKGDPVAPTVLIFPPAD
QVATEVTIVCVANKYFPDVTWVEVDGTTQTGTIENSKTPQNSADCTYNLSSTLTLTSTQYN
SHKEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC (配列番号 66)

【図 1 1 - 6】

FIG. 11 続き

> リーダー配列を伴う、抗ATM1561の重鎖コード配列 (クローン: EB0608D-4A10-H4)
(リーダー配列に下線を付す)

ATGGAGACTGGGCTGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTGCCTGTGCTCAAAGGTGTCCAGTGTCA
GAGCAGCTGGTGGAGTCCGGGGGAGGCCTGGTCCAGCCTGGGGGATCCCTGACACTCAC
CTGCAAAAGCCTCTGGATTTCGACTTCAGTAGCGGTGGAATGTGCTGGGTCGCGCAGGCTCC
AGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGATGCATTGTAATGGTGATGGTAGCACATACTTCGC
GACCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCACCAAGCTGCTGCAACCCAGCTGACTCTGCA
AATGACCACTGTGACAGCCGCGGACACGGCCACCTATTTCTGTTGAGATATTGGGCCTT
GTGGGGCCAGGTACCCTGGTACCCTGTCTCTCAGGGCAACCTAAGGCTCCATCAGTCTT
CCCACTGGCCCCCTGCTGCGGGGACACACCCAGCTCCACGGTGACCCTGGGCTGCCCTGG
TCAAAGGCTACCTCCCGGAGCCAGTGACCGTGACCTGGAAGCTGGGCAACCTCCACCAATG
GGGTACGCACTTCCCGTCCGTCGGCAGTCCCTCAGGCCTCTACTCGCTGAGCAGCGTG
GTGAGCGTGACCTCAAGCAGCCAGCCCGTCACTGCAACGTGAGCTGAGCCACCCAGCCACAA
CACCAAAGTGGACAAGACCGTTCGCCCTCGACATCGACAAGCCCATGTGCCACCCCC
TGAACCTCTGGGGGACCGCTGCTGCTTCATCTTCCCGCCAAACCCAAAGGACACCCCTCAT
GATCTCACGCAACCCCGAGGTACATCGGTGTGGTGGACGTGAGCGTGAAGGATGACCCCG
AGGTGCAGTTACATGGTACATAAACAACAGCAGCAGGTGGCGCACCGCCCGCGCGCTCA
CGGGAGCAGCAGTTCAACAGCAGCATCCGCGTGGTCAAGCCTCCCTCCCTCAGCGCACCA
GGACTGGCTGAGGGGCAAGGAGTTCAAGTCAAAAGTCCACAACAAGGACCTCCCGGCCCC
CCATCGAGAAAAACCATCTCCAAAGCCAGAGGGCAGCCCTGGAGCGGAAGGTCTACACCA
TGGGCCCTCCCGGGGAGGAGCTGAGCAGCAGGTTCGGTCAGCTGACCTGCATGATCAAC
GGCTTCTACCTTCCGACATCTCGGTGGAGTGGGAGAACGCGGAAGGCAGAGGACAA
CTACAAGACCAAGCCGCGCGCTGCTGGACAGCGACGGCTCCTACTCTCTACAGCAAGCT
CTCAGTGGCCACGAGTGAAGTGGCAGCGGGGCGACGCTTCCACCTGCTCCGTGATCAGC
AGGCCTTGCACAACCATACAGCAGAGAAGTCCATCTCCCGCTCTCCGGGTAAATGA
(配列番号: 58)

> リーダー配列を伴う、抗ATM1561の重鎖アミノ酸配列 (リーダー配列に下線を付す)

METGLRWLLLVAVLKGVCQEQLVESGGGLVQPGGSLTLTCKASGDFSSGGMCWVRQAPG
KGLEWGCIVNGDGSTYFATWAKGRFTITRSTSTVTLQMTSLTAADTATYFCWRYWALWGPG
TLTVTSSGQPKAPSVFLAPCCGDTFSSVTVLGCLVKGVLPPCTVTWVNSGTLNGVTRFSPV
ROSSGLYSLSVVSVTSSSQPVTCNVAPHATNTKVDKTVAPSTCSKPMCPPELLGSPSVFIF
PPKPKDITLMISRTPEVTCVVDVVSQDDPEVQFTWYINNEQVYRTAPMLREQQFNSTRIVSTLP
IAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAIEKTIKARGQPLEPKVYTMGPPREELSSRSVSLTMINGV
FYPSIDISVEWKNKAEDNYKTPPAVLDSGSGYFLYSKLSVPTSEWQRGDVFVTCVSMHEALH
NHYTQISRSRSPGK (配列番号 59)

> リーダー配列を伴わない、抗ATM1561の重鎖アミノ酸配列

QEQLVESGGGLVQPGGSLTLTCKASGDFSSGGMCWVRQAPGKGLEWGCIVNGDGSTYFA
TWAAGRFTITRSTSTVTLQMTSLTAADTATYFCWRYWALWGPTLVVSSGQPKAPSVFLA
PCCGDTFSSVTVLGCLVKGYLEPVPVTVWNSGTLNGVTRFSPVRQSSGLYSLSVVSVTSSV
QPVTCNVAPHATNTKVDKTVAPSTCSKPMCPPELLGSPSVFIFPPKPKDITLMISRTPEVTCV
VDVVSQDDPEVQFTWYINNEQVYRTAPMLREQQFNSTRIVSTLP
IAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAIEKTIKARGQPLEPKVYTMGPPREELSSRSVSLTMINGV
FYPSIDISVEWKNKAEDNYKTPPAVLDSGSGYFLYSKLSVPTSEWQRGDVFVTCVSMHEALH
NHYTQISRSRSPGK (配列番号: 60)

【図 1 1 - 8】

FIG. 11 続き

> リーダー配列を伴う、抗ATM1561の軽鎖可変ドメインのコード配列 (リーダー配列に下線を付す)

ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGCTCCCAAGTGC
CAGATTTCGCCATCTGATGACCCAGACTCCATCTTCAAGTCTGTCCCTGTGGGAGGCACA
GTCCACCATCAATTGCCAGGCCAGTGAGAGTCTTTATAATAACAACCGCTTAGCCTGGTTTC
AGCAGAAACCCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATTCTGCATCCACTCTGGCATCTG
GGGTCCCAGATAGGTTACGCGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATTACGCG
ATGTGGTGTGTGACGACGCTGCCACTTACTACTGCTGAGGAGGTAGAAGTCTGTTTACTG
ATGGTATTGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGCGGTGGTCAA (配列番号 67)

> リーダー配列を伴う、抗ATM1561の軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列 (リーダー配列に下線を付す)

MDTRAPTQLLGLLLWLPGATFAIVMTQTPSSKSPVGGTVTINCQASLESYNNNRLAWFQK
PGQPPKKLIYASSTLASGVDRFSGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCVGGRSRVTDGIAFGG
GTEAVVK (配列番号 68)

> リーダー配列を伴う、抗CD19 41の重鎖可変ドメインのコード配列 (リーダー配列に下線を付す)

ATGGCTTGGGTGTTGACCTTGCTATTCTGATGGCAGCTGCCCAAAGTATCCAAGCACAGA
TCCAGTTGGTGCACTGTGGACCTGAGCTGAAGAAGCCTGGAGAGCAGTCAAGATCTCCT
GCAAGGCTTCTGATTATACCTTACAGACTATTCAATACACTGGGTGAAGCAGGCTCCAGG
AAAGGTTTAAAGTGGCTGGGCTGGATAAACACTGAGACTGTGCGCAGCATCATGACGATT
GACTTCAGGGGACGGTTTTCGCTGTCTTTGAAACCTCTGCCAATACTGCCTATTGTCAGA
TCAACAACCTCAAAAATGAGGACGCGGCTACATATTTCTGTACTAGAGACTATAGTAGA
GGCGCTCTTGACTACTGGGGCAAGCACCACCTCTCAGACTCTCCTCA (配列番号 76)

> リーダー配列を伴う、抗CD19 41の重鎖可変ドメインのアミノ酸配列 (リーダー配列に下線を付す)

MAWWLTLFLMAAAQSIQAQIQLVQSGLPKPGETVKISCKASDYTFDYSIHWKQAPGKGL
KWLGMINTETVEPAYAVDRFRFALSLETSANTAYLQNNLNKNEADATYFCTRDYSREGVFDY
WGGQTTLVSS (配列番号 77)

> リーダー配列を伴う、抗CD19 41の軽鎖可変ドメインのコード配列 (リーダー配列に下線を付す)

ATGGATTACAGGCCCCAGGTTCTTATATTGCTGCTGCTATGGGTATCTGGTACCTGTGGGG
ACAATTGTGATGTCACTGCTCCTTCCCTCCCTGGCTGTGTGTCAGCAGGAGAGAAGGCTCACT
GAGCTGCAAATCCAGTCAAGATCTATTCAACAGTGAACCCGAAAGAACTACTTGGCTTGG
TACCAGCAGAAACCCAGGGCAGTCTCCTAAACTTCTGGTCTACTGGGCATCCACTAGGGAAT
CTGGGGTCCCTGATCGCTTCACAGGCACTGGGCTCTGGGACAGGATTTCAACTCTCACCATCA
GCAATTGTGACAGGCTGAAGACCTGGCGAGTTTATTATTGAAGCAATCCCTATAATCTTCCAC
GTTCCGCTGCTGGGCAAGCTGGAAGCTGAGTCAAGTCA (配列番号 79)

> リーダー配列を伴う、抗CD19 41の軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列 (リーダー配列に下線を付す)

MDSQAOVLILLIWLWSGTCGDNVMSQSPSSLASVAGEKVTMSCKSSQSLFNSRTRKNYLAWY
QKPGQSPKLLVYWASTRESGVDRFTGSGSGTDFLTISNVQAEALAVYCKQSYNLPTFGA
GTKLEL (配列番号 80)

【図 11 - 9】

FIG. 11 続き

> リーダー配列を伴う、抗ADA93の重鎖コード配列(クローン:EB0608A-3C12-H2)
(リーダー配列に下線を付す)
ATGGAGACTGGGCTGGCTTCTCTCGTGGCTGTGCTCAAGGGGTGCCAGTGTCAAG
GAGCAGCTGGAGAGTCCGGGGGAGACCTGGTCAAGCCTGGGTATCCTCGTACACTCAC
CTGCACAGCCTCTGGATTCTGCTTCACTAAAGCAGCTGGGAATGCTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATGCATGCAATTATGGTGATAGTCGTAGCGGATACTA
CGCAGACTGGGCCAAGGCCGATTACCACTCTCCAAAACCTCGTCAGCCAGGTGACTCT
GCAAAATGACCACTCTGACAGCCGCGGACAGCGCCACCTATTCTGTGCGAGAAATCTCGG
TAGCTTGTGGGCCACAGCCCTGGTCAACGCTCTCTCAGGGCAACCTAAGGCTCCATC
AGTCTTCCCACTGGCCCCCTGCTGCGGGGACACACCCAGCTCCACGGTGACCCCTGGGCT
GCCTGGTCAAAGGCTACCTCCCGGAGCCAGTGACCGTGACCTGGAACCTCGGCAACCTC
ACCAATGGGGTACGCACTTCCCGTCCGTCGCGGACGTCCTAGGCGCTCTACTCGCTGAGC
AGCGTGGTGAGCGTGACCTCAAAGCAGCCAGCCGCTCACTGCAACCTGGCCCAACCCAGC
CACCACACCAAAGTGGAACAAGACCGTTCGCCCTCGACATGCAAGCAAGCCATGTGCC
ACCCCTGAACTCTGGGGGGACCGTCTGCTTCACTTCCCCCAAAACCCAAAGGACAC
CCTCATGATCTCACGACCCCGGAGGTACATGCTGCTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGATGA
CCCCAGGTGCAAGTCCATGCTCGGTCTCGGTGGAGTGGGAGAGAAGCGGGGAAGCGAGAG
GACAACCTACAAGACACCGCGGCCGCTGCTGGACAGCGACGGCTCTCTACTTCTCTACAGC
AAGCTCTCAGTGCCACAGTGAAGTGGCAGCGGGGCGACGTCTTCACTGCTCGGTGAG
GCAGAGGGCTTGCACAACCACTACACGCGAGAAGTCCATCTCCCGCTCTCCGGGTAAATG
A (配列番号 88)

> リーダー配列を伴う、抗ADA93の重鎖アミノ酸配列(リーダー配列に下線を付す)
METGLRWLLVAVLKGVCQEQELESGGDLVKPGSSLLTCTASGFSFTNSDWECWWRQAP
KGLEWMIACIYGDSRSGYYASWAKGRFTISKTSSTTVTLQMTTLTAADTATYFCARNLGS
LWPGTLTVSSGQPKAPSVFPLAPCCGDTSPSTVLGCLVKGYLPEPVTVTWNSGLTNGV
RTPF SVRQSSGLYLSNVSVTSVSSGQPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPMCPPE
LLGGPSVFIFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQDPEVQFTWYINNEQVRTARPLRE
QQFNIRVQSLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAPIEKTIKARGQPLEPKVYTMGP
PREELSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKNKAEDNYKTPAVLSDSGSYFLYSLKSVPT
SEWQRGQDVFTCSVMHEA LHNHYTQKISRSPGK (配列番号 89)

> リーダー配列を伴わない、抗ADA93の重鎖アミノ酸配列
QEQELESGGDLVKPGSSLLTCTASGFSFTNSDWECWWRQAPKGLEWMIACIYGDSRSGYY
ASWAKGRFTISKTSSTTVTLQMTTLTAADTATYFCARNLGS LWPGTLTVSSGQPKAPSV
FPLAPCCGDTSPSTVLGCLVKGYLPEPVTVTWNSGLTNGV RTPF SVRQSSGLYLSNVSV
TSV SQPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPMCPPELLGGPSVFIFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVDVSDQDPEVQFTWYINNEQVRTARPLREQQFNIRVQSLPIAHQDWLRGKE
FKCKVHN KALPAPIEKTIKARGQPLEPKVYTMGP PREELSSRSVSLTCMINGFYPSDIS
VEWEKNKAED NYKTPAVLSDSGSYFLYSLKSVPTSEWQRGQDVFTCSVMHEA LHNHYT
QKISRSPGK (配列番号:90)

【図 11 - 11】

FIG. 11 続き

> リーダー配列を伴う、抗ADA93の軽鎖可変ドメインのコード配列(リーダー配列に下線を付す)

ATGGACACGAGGGGCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGCTCCCAAGGTGC
CACATTTGGCCCAAGTGTGACCCAGCACTCCCTCGTGTCTGGCGCTGTGGGAGGCAC
AGTCACCATCAACTGCCAGTCCAGTCAGAAATGTTGTTTTAAACAACCGCTTAGCCTGGTTT
AGCAAAACACGAGGCGACCTCCCAAGTCTGATCTACCAAGCATCCACTCTGGCATCTG
GGGTCCCAACCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTACCATATAGCG
ACCTGGAGTGTGACAGTCTGCCACTACTACTGCTCTAGGCAAGTTATGATTTAGATGAC
TGATTGTAATACTTTCCGGCGAGGAGCCGAGGTGCTGGTGCATAA (配列番号 97)

> リーダー配列を伴う、抗ADA93の軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列
(リーダー配列に下線を付す)

MDTRAPTQLLGLLLWLPGATFAQVLTQTPPSSVSAAVGGTVTINCQSSQNVFNRLAWFQQK
PGQPPLKLIYQASTLASGVPPRFKSGSGTQFTLTISDLECDAAITYCLGSYDCSSTDCNTFG
GGTEVVVK (配列番号 98)

> リーダー配列を伴う、抗DOCK8 1272の重鎖可変ドメインのコード配列
(ハイブリドーマ:SJSH5-1C2-2E)(リーダー配列に下線を付す)

ATGGAACTAAGTGGACTACTCTCTTTATCTGTGCGGTAACTCAGGGGTCTACTCAGAGGT
TCAGCTCCAGCAGTCTGGGACTGTGCTGGCAAGGCTGGGGCTTCAGTGAAGATGTCTTG
CAAGGCTCTGGCTACACCTTTACCGACTCTGATGTCACCTGGTAAACAGAGCGCTGG
ACAGGGTCTGGAATGGATTGGCGCTATTTTCCGTGAAATAGTAATCTAGATACAGCACTAG
AAGTTCAGAGGCAAGGCCAAACTGACTCGACATCACTGCGCAGCACTGCCTACATGGAAG
CTCAGACGCTTGACAAATGAGGACTCTGCGGCTCTATTACTGTGCCAGTATGATAACGCC
TTTG ACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCAGACTCTCCTCA (配列番号 108)

> リーダー配列を伴う、抗DOCK8 1272の軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列
(リーダー配列に下線を付す)

MFSNWILPFLSVTSGVYSEVQLQQSGTVLARPGASVKMSCKASGYFTFSYWMHWKQRPQG
GLEWGAIFPGNSNTRYNQKFKGAKLTAVTSASTAYMELSSLTNEDSAVYYCADDNAFDYWG
QGTLTLTVSS (配列番号 107)

> リーダー配列を伴う、抗DOCK8 1272の軽鎖可変ドメインのコード配列
(ハイブリドーマ:SJSH5-1C2-2E)(リーダー配列に下線を付す)

ATGGATTTTCAAGTGCAGATTTTCAAGCTCTCTGTTGTCAGTGCCTCAGTCATAATGACCA
AGGCAAAATGTTTCTACCCAGCTCTCCAGCAATCATGCTCGCTCTCCAGGGGAAAAGGTC
ACCATGACCTGCAGTGCAGCTCAAAGTGTAAAGTCAAGGATCTTGCACCTGACAGCAAG
AAGTCAGGAGCCTCCCCAAACTCTGGATTATGAGCACATCAACCTGCTCTCGAGATGCC
CTGATCGCTTCAGTGGCAGTGGGCTCTGGGCACTTACTCTCTCACAATCAGCAGCGTGG
AGACTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGCCAGCATATCATAGTACCCATTACGTTTCGG
CACGGGACAAAATTTGGAATAAAA (配列番号 109)

> リーダー配列を伴う、抗DOCK8 1272の軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列
(リーダー配列に下線を付す)

MDFQVQIFSLLSASVIMTRQQIVLTQSPAIMSASPEKVTMTCSASSSVSSRYLHWYQKSG
ASPKLWYGTSNLSSGVPRDFSGSGSTYSLTISSVETEDAAITYCQQYHSDPFTFGTGKLE
IK (配列番号 110)

【図 11 - 10】

FIG. 11 続き

> リーダー配列を伴う、抗ADA93の重鎖可変ドメインのコード配列(リーダー配列に下線を付す)

ATGGAGACTGGGCTGGCTTCTCTCGTGGTGTGCTGTGCTCAAGGGGTGCCAGTGTCAAG
GAGCAGCTGGAGAGTCCGGGGGAGACCTGGTCAAGCCTGGGTATCCTCGTACACTCAC
CTGCACAGCCTCTGGATTCTCTTCACTAAACGCACTGGGAATGCTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGCATGCAATTTATGGTGATGCTGATGCGGATACTA
CGCAGACTGGGCGAAAGGGCCGATTACCATCTCCAAAACCTCGTCAGCCACGGTGACTCT
GCAAAATGCACTCTGACAGCCGCGGACACCGCCACCTATTTCTGTGCGAGAAATCTCGG
TAGCTTGTGGGGCCAGCACCCCTGGTCACCGTCTCTCTCA (配列番号 91)

> リーダー配列を伴う、抗ADA93の重鎖可変ドメインのアミノ酸配列(リーダー配列に下線を付す)

METGLRWLLVAVLKGVCQEQELESGGDLVKPGSSLLTCTASGFSFTNSDWECWWRQAP
KGLEWMIACIYGDSRSGYYASWAKGRFTISKTSSTTVTLQMTTLTAADTATYFCARNLGS
LWPGTLTVSS (配列番号 92)

> リーダー配列を伴う、抗ADA93の軽鎖コード配列(クローン:EB0608A-3C12-K2)
(リーダー配列に下線を付す)

ATGGACACGAGGGGCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGCTCCCAAGGTGC
CACATTTGGCCCAAGTGTGCTGACCCAGACTCCATCTCCGTGTCTGCGGCTGTGGGAGGCAC
AGTCACCATCAACTGCCAGTCCAGTCAGAAATGTTGTTTTAAACAACCGCTTAGCCTGGTTT
AGCAAGAACACGAGGCGACCTCCCAACTCCTGATCTACCAAGGCATCCACTCTGGCATCTG
GGGTCCCAACCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATTAGCG
ACCTGGAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGCTAGGCAAGTTATGATTGTAGTAGTAC
TGATTGTAATACTTTCCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAAGGTGATCCAGTTGCACC
TACTGTCTCATCTTCCACCACTGCTGATCAGGTTGGCAACTGGAACAGTCACCATCTGCTG
TGTGTGGCGAATAAATACTTCCCAGTGTCAACCGTCACTGGGAGGTGGATGGCAACCAAC
CAAAACACTGGCATCGAGAACAGTAAACACCGCAGAATCTCGCAATTTAGCTCTACAAC
TCAGCAGCACTCTGACACTGACCAGCACACAGTACAACAGCCACAAAGAGTACACCTGCA
AGGTGACCCAGGGCACGACCTCAGTCTGCCAGAGCTTCAATAGGGGTGACTGTTAG
(配列番号:94)

> リーダー配列を伴う、抗ADA93の軽鎖アミノ酸配列(リーダー配列に下線を付す)

MDTRAPTQLLGLLLWLPGATFAQVLTQTPPSSVSAAVGGTVTINCQSSQNVFNRLAWFQQK
PGQPPLKLIYQASTLASGVPPRFKSGSGTQFTLTISDLECDAAITYCLGSYDCSSTDCNTFG
KGSGSGTQFTLTISDLECDAAITYCLGSYDCSSTDCNTFGGTEVVVKDPVAPTVLIFPPAA
DQVATGTVTIVCVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTGTIENSKT PQNSADCTYNLSSLLTSTQY
NSHKEYTKCKVTQGTTSVQSFNRGDC (配列番号 95)

> リーダー配列を伴わない、抗ADA93の軽鎖アミノ酸配列

QVLTQTPPSSVSAAVGGTVTINCQSSQNVFNRLAWFQQKPGQPPLKLIYQASTLASGVPPRF
KSGSGTQFTLTISDLECDAAITYCLGSYDCSSTDCNTFGGTEVVVKDPVAPTVLIFPPAA
DQVATGTVTIVCVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTGTIENSKT PQNSADCTYNLSSLLTSTQY
NSHKEYTKCKVTQGTTSVQSFNRGDC (配列番号 96)

【図 11 - 12】

FIG. 11 続き

> リーダー配列を伴う、抗CD42 128の重鎖可変ドメインのコード配列
(ハイブリドーマ:SJSH4 3B8-1b)(リーダー配列に下線を付す)

ATGGGATTCAGCAGGATTTTTCTCTCTCTGCTGCTCAGTACAGGTTGCCACTCCCAGG
CTTATCTACAGCAGTCTGGGGCTGTTCTGGTGAAGGCTGGGGCTCAGTGAAGATGTCT
GCAAGGCTCTGGCTACACATTTTCAGTTACAATATCAGTCTGGGTGAAGACAGACCATAG
ACAGGGCTCGGAATGGAATGGAGGTATTTATCCAGGAAATGGTGACACTTCTACAAATAG
AAGTTCAAAGGACAAGGCCACACTGACTGTTGCAAACTCCCAACACCGCCTACATGCAAC
TCAGGACCTGACATCTGAAGACTCTGCGGCTTTTTCTGTGCAAGCAGCGTACTAGGTA
CTGGGCGCAAGGCCACCACTCTCAGTCTCCTCA (配列番号 118)

> リーダー配列を伴う、抗CD42 128の重鎖可変ドメインのアミノ酸配列
(リーダー配列に下線を付す)

MGFSRIFLLSVTTGVHQAVLVQSGAVLVRPGASVKMSCKASGYFTSSYNIHWKQTPRQG
LEWGGIYPNGDTSYNKFKDKATLTVDKSSNTAYMHLSSLTSEDSAVFFCASDGRTRYWGQG
TTLTVSS (配列番号 119)

> リーダー配列を伴う、抗CD42 128の軽鎖可変ドメインのコード配列
(ハイブリドーマ:SJSH4 3B8-1b)(リーダー配列に下線を付す)

ATGAGTCTGCCAGTTCCTGTTCTGTTAGTGCTCTGGATTGGGACGCCAACCGTGAAG
TTGTGTGACCCAGCACTCCACTCACTTTGTCGGTTACCATTTGGAACAAGCAGCTCTCCATTT
TGAGCTCAAGTCAGAGCCTCTTAGCTAGTGATGGAAAGCATATTTGAATGGTTGTACAG
GAGGCCAGGCCAGTCTCAAAGCGCCTAATCTATCTGGTGTCTAACTGGACTCTGGAGT
CCCTGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGACAGATTTACACATGAAATCAGCAGAGT
GGAGGCTCAGCATTTGGGAGTTTATGTTGCTGGCAAGGTGCACATCTCCGCTCAGCTTC
GGTCTGGGACCAAGGCTGGAACCTGAAA (配列番号 121)

> リーダー配列を伴う、抗CD42 128の軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列(リーダー配列に下線を付す)

MSPAQFLFLLVLRDANGEVVMOTPLTLTVTGQAVSISCTSSQSLASDGKTLNWLRLRP
GQSPKRIYLVSKLDSGVPRFTGSGSGTDFLTKSRVEADLGVYCCWQGAHSPITFGAIGTR
LELK (配列番号 122)

> リーダー配列を伴う、抗CD42 154の重鎖可変ドメインのコード配列
(ハイブリドーマ:SJSH4-1H11c)(リーダー配列に下線を付す)

ATGGAGTGGAGCTGGATCTTTCTCTTTCTCTCTCAGAACTCAGAGGTGCTCTCTGAGG
TCAAGCTGCAACAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTCAGTGAAGATGTCT
GCAAGGCTCTGGATACACATTTCACTGGTACAAATGAGTCTGGGTGAAGCAGAGCCATGG
AAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAACATTAATCTAAGACTGGTGAATAAGTTATAACCAAG
AGTTTCAAAGGCGAAGGCCACATGACGATAAGCAGTCTCCAGCAGCAGCTACATGGAG
CTCCGCACTGACATCGGAAGATTCTCGAGCTTATTACTGTGTAAGATGGGGTGATATT
ATTTAGACCACTGGGGCCAAAGGCACCACTCTCACGGTCTCTCTCA (配列番号 130)

> リーダー配列を伴う、抗CD42 154の重鎖可変ドメインのアミノ酸配列
(リーダー配列に下線を付す)

MGWSWIFLFLSETAGVLEVLQSQGPVLVKGASVKMSCKASGYFTFGYNMHWKQSHG
KLEWMDINPKTGENSYNQKFKGKATLTIKSSYLYMELRSLTSEDSAVYVCVRWGVYLDH
WGQGTTLTVSS (配列番号 131)

【図 11 - 13】

FIG. 11 続き

> リーダー配列を伴う、抗CD42 154の軽鎖可変ドメインのコード配列
(ハイブリドーマ: SJSH4-1H11c) (リーダー配列に下線を付す)

ATGAGGTTCTCTGCTCAGCTTCTGGGGCTGCTTGTGCTCTGGATCCCTGGATCCACTGCA
GATATTGTGATGACGACGGCTGCATTCTCCAATCCAGTCACTCTTGGAAAGCTCAGCTTCCA
TCTCTCGAGGCTCTACTAAGAGTCTCCTATATAGTGATGGCATCACTTATTGTATTGGTAT
CTGCAGAGGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCTCCTGATATATCGGATGCCGACCTTGCCTCA
GGAGTCCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGTGCAGGAAGTATTTCACACTGAGAATCAGC
AGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGTGTTTATTACTGTGCTCAATGGTAGAATTCCCTCGA
CGTTCCGTTGGAGGCCAACAGCTGGAATCAA (配列番号 133)

> リーダー配列を伴う、抗CD42 154の軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列
(リーダー配列に下線を付す)

MRFSALQLGLLVLPWPGSDADIVMTQAAFSNPVLTGTSASISCRSTKSLLYSDGITYLYWYLQRP
GQSPQLIYRMSDLASGVPRDFSGSGSGDTFLRISRVEAEDVGVVYCAQMVEFPPTFGGGTK
LEIK (配列番号 134)

> リーダー配列を伴う、抗CD56 122の重鎖コード配列(クローン: EB0608C-3H4-H2)
(リーダー配列に下線を付す)

ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTGCTCAAAGGTGTCAGTGTCA
GCTTTGGAGAGTCCGGGGGAGACCTGGTCAAGCCTGGGGCATCCCTGACACTCACTG
CAAAGCCTCTGGGTAGACTTCAGTAGCAACTATACATGTGCTGGTGGCTCGCCAGGCTCC
AGGGAAGGGGCTGGAGTGGATGCCATTTATAGTAGTAGCTTAACACATGGTAGCC
GAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATTCTCCAAAAGCACCGCTACACACGGTGACTCT
GCAAAAGACCAAGTCTGACAGCCGGGACACGGCCACCTATTCTGTACGAGAGGGGGTG
GTGTTTATGTGTGGTCTGATTATGGTTTTTACTTCTACTTATGGGGCCCAAGCACCTGGTC
ACCGTCTCCTCCGGGCAACCTAAGGCTCCATCAGTCTTCCCACTGGCCCGCTGCTGCGGG
GACACACCCAGCTCCACGGTGACCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGAGCTACCTCCCGAGGCC
GAGTACGCCGTGACCTGGAATCGGGCACCCCTCAACCAATGGGGTACGCACTTCCGTCGCT
CCGGCAGTCTCAGGGCTCTACTCGCTGACGACGGTGGTAGCGTGAAGCTCAACAGCACC
AGCCCGTCACTGCAACGTGGCCCAACCCAGCCACCAACCAAGTGGACAAAGCCGTTG
CGCCCTCGACATCGACGAAGCCCATGTGCCACCCCTGAACTCCTGGGGGGAGCCGTCT
GTCTTCATCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCTCATGATCTCACGCAACCCGAGGCTCA
CATCGTGTGGTGGAGCTGACGCCAGGATACCCCGAGGTGCAAGTTACACATGGTACATAA
ACAAAGAGCAGGTCGCGCAGCCCGCCCGCCGCTACGGGAGCAGCAATTCACAGCACG
ATCCGCGTGTGTCAGCACCCCTCCCATCGCGCACCAAGGACTGGCTGAGGGGCAAGGAGTT
CAAGTGCAAAAGTCCACAAAGGCACTCCCGGCCCATCGAGAAACCACTCTCCAAAGC
CAGAGGGGAGCCCTCGAGGCCGAAGGTCTACACCATGGGCCCTCCCGGGAGGAGCTGA
GCAGCAGGTGGTGCAGCCTGACCTGCATGATCAACGGCTTCTACCCCTCCGACATCTCGG
TGGAGTGGGAAGAAAGCCGAAGGACAGGACAACTACAAGACCAACGCCGCGCTGCTG
GACAGCGACGGCTCCTACTTCTCTACAGCAAGCTCTCAGTGCACCAAGAGTGAAGTGGCAG
CGGGCGCAGCTTTCACCTGCTCGGTGATGCACAGGCCCTTGACACACCACTACACGCGAG
AAGTCCATCTCCGCTCTCCGGGTAAATGA (配列番号 142)

【図 11 - 15】

FIG. 11 続き

> リーダー配列を伴う、抗CD56 122の軽鎖コード配列(クローン: EB0608C-3H4-K2)
(リーダー配列に下線を付す)

ATGGACACGAGGGGCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTACTGCTCTGGCTCCCAAGGTGC
CAGATGTGCTGACATTGTGATGACCCAGACTCCATCTCCGTGGAGGCAGCTGTGGGAGG
CAGAGTCAACATCAAGTGCCAGGCCAGTCAAGACATTTGATAGTTGGTGTGCTGGTATCA
GCAGAAACAGGCGCAGCTCCCAAGCTCCTGATCTACAAGGCATCCACTCTGGAATCTGG
GTGCCATCTCGCGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCGA
CCTGGAGTGTGCCGATGCTGCCACTTACTTCTGTCAAAGCTATTATCTACTACTGGTAGT
GATAATGCTTTCCGGCGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAAGGTTGATCCAGTTGCACCTACT
GTCTCATCTTCCACCAAGCTGCTGATCAGGTGGCAACTGGAACAGTCAACCATCGTGTGT
GTGGCGAATAAATACTTTCCCGATGTCCAGCTCACTGGGAGGTGGATGGCAACACCCAA
ACAATGGCATTCGAGAACAGTAAACACCGCAGAAATTCGACAGATTGTACCTACAACTCA
GCAGACTCTGACACTGACCAAGCAGCAGATCAACAGCCACAAAGAGTACACCTGCAAGG
TGACCCAGGGCAGCACTCAGTCTGTCAGAGCTTCAATAGGGGTGACTGTTAG
(配列番号 148)

> リーダー配列を伴う、抗CD56 122の軽鎖アミノ酸配列(リーダー配列に下線を付す)

MDTRAPTQLLGLLLLWPGARCAIDIVMTQTPSSVEAPVGGTVTIKQASQSIDSWCAWYQQKP
GQPPKLLIYKASTLESQVPSRFKSGSGTEFTLTISDLECAADAITYFCQSYYPPTGSDNAGGG
TEVVVKGDPVAPTVLIFPPAADQVATGTVIVCVANKYFPDVTVTWVEVDGTTQTGTIENSKTPQ
NSADCTYNLSLTLTSTPQYNHKEYTKVTGTTSTVSQFNRGDC (配列番号 149)

> リーダー配列を伴わない、抗CD56 122の軽鎖アミノ酸配列
ADIVMTQTPSSVEAPVGGTVTIKQASQSIDSWCAWYQQKPGQPPKLLIYKASTLESQVPSRF
KSGSGTEFTLTISDLECAADAITYFCQSYYPPTGSDNAGGGTEVVVKGDPVAPTVLIFPPAAD
QVATGTVIVCVANKYFPDVTVTWVEVDGTTQTGTIENSKTPQNSADCTYNLSLTLTSTQYNS
HKEYTKVTVGTTSTVVQSFNRGDC (配列番号 150)

> リーダー配列を伴う、抗CD56 122の軽鎖可変ドメインのコード配列(リーダー配列に下線を付す)

ATGGACACGAGGGGCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTACTGCTCTGGCTCCCAAGGTGC
CAGATGTGCTGACATTGTGATGACCCAGACTCCATCTCCGTGGAGGCAGCTGTGGGAGG
CAGAGTCAACATCAAGTGCCAGGCCAGTCAAGACATTTGATAGTTGGTGTGCTGGTATCA
GCAGAAACAGGCGCAGCTCCCAAGCTCCTGATCTACAAGGCATCACTCTGGAATCTGG
GGTCCCATCTCGGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCA
CCTTGAAGTGTGCCGATGCTGCCACTTACTTCTGTCAAAGCTATTATCTACTACTGTTAGT
GATAATGCTTTCCGGCGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAAGGTTGATCCAGTTGCACCTACT

> リーダー配列を伴う、抗CD56 122の軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列
(リーダー配列に下線を付す)

MDTRAPTQLLGLLLLWLPGARCAIDIVMTQTPSSVEAPVGGTVTIKQASQSIDSWCAWYQQKP
GQPPKLLIYKASTLESQVPSRFKSGSGTEFTLTISDLECAADAITYFCQSYYPPTGSDNAGGG
TEVVVK (配列番号 152)

【図 11 - 14】

FIG. 11 続き

> リーダー配列を伴う、抗CD56 122の重鎖アミノ酸配列(リーダー配列に下線を付す)

METGLRWLLLVAVLKGVQCQSLEESGGDLVKPGASLTLTCKASGLDFSSNYYMCWVRQAPKG
GLEVMACYSSSLNTWYASWAKGRFTISKSTSLHVTLMQMTSLTAADTATYFCTRGGGVYAGD
YGFYFYLWPGTLVTVSSGQPKAPSVFPLAPCCGDTSPSSTVLGLCLVKGYLPEPVTVTVNSG
TLTNGVTRFPSVRQSSGLYSLSSVSVTSSSQPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCKPMPCCP
PELLGGPSVFIFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQDDPEVQFTWYINNEQVTRARPLPREQ
FNSTIRVVSSTLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAIEKTISKARGQPLEPKVYTMGPPREELS
RSVSLTCMINGFYPSDISVEWENKGAEDNYKTPAVLSDSGSYFLYSKLSVPTSEWQRGQDVF
TCSVMHEALHNHYTKSISRSPGK (配列番号 143)

> リーダー配列を伴わない、抗CD56 122の重鎖アミノ酸配列

WAKGRFTISKSTSLHVTLMQMTSLTAADTATYFCTRGGGVYAGDYGFYFYLWPGTLVTVSS
GQPKAPSVFPLAPCCGDTSPSSTVLGLCLVKGYLPEPVTVTVNSGTLTNGVTRFPSVRQSSGLY
SLSSVSVTSSSQPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCKPMPCCPELLGGPSVFIFPPKPKDTL
MISRTPEVTCVVDVDSQDDPEVQFTWYINNEQVTRARPLPREQFNSTIRVVSSTLPIAHQDWL
RGKEFKCKVHNKALPAIEKTISKARGQPLEPKVYTMGPPREELSRSRVSSTCMINGFYPSDISV
EWEKNKAEDNYKTPAVLSDSGSYFLYSKLSVPTSEWQRGQDVF TCSVMHEALHNHYTKSI
SRSPGK (配列番号 144)

> リーダー配列を伴う、抗CD56 122の重鎖可変ドメインのコード配列
(リーダー配列に下線を付す)

ATGGAGACTGGGCTGCGCTTCTCCTGGTCGCTGTGCTCAAAGGTGTCCAGTGTCA
TCTGTTGGAGAGTCCGGGGGAGACCTGGTCAAGCCTGGGGCATCCCTGACACTCACCTG
CAAAGCCTCTGGGTAGACTTCAGTAGCACTACTACATGTGCTGGTCCGCGCAGGCTCC
AGGGAAGGGCTGGAGTGGATCGCATGCATTTTATAGTAGTAGTCTTAACACATGGTAGCG
GAGTGGGGGAAAGGGCGATTACCATCTCCAAAAGCACCAAGCTACACACGGGTGACTCT
GCAATGGACCACTCTGACAGCCGCGGACACGGCCACTATTTCTGTACGAGAGGGGGTG
GTGTTTATGTTGGTCTGATTATGTTTTTACTTCTACTTATGGGGCCCGAGCCACCTGGTC
ACCGTCTCTCC (配列番号 145)

> リーダー配列を伴う、抗CD56 122の重鎖可変ドメインのアミノ酸配列
(リーダー配列に下線を付す)

METGLRWLLLVAVLKGVQCQSLEESGGDLVKPGASLTLTCKASGLDFSSNYYMCWVRQAPKG
GLEVMACYSSSLNTWYASWAKGRFTISKSTSLHVTLMQMTSLTAADTATYFCTRGGGVYAGD
YGFYFYLWPGTLVTVSS (配列番号 146)

【図 11 - 16】

FIG. 11 続き

> リーダー配列を伴う、抗SH2D1A(SAP) 19の重鎖コード配列
(クローン: EB0612B-2F4-H1) (リーダー配列に下線を付す)

ATGGAGACTGGGCTGCGCTTCTCCTGGTCGCTGTGCTCAAAGGTGTCCAGTGTCA
TCTGTCGGAGAGTCCGGGGGTGCGCTGCTCAGCCTGGAGGAACCCCTGACACTCACTG
CAGAGTCTCTGGAATCTTCCCTCAGCAGCTACGACATGAGCTGGTGGCGCAGGCTCCAGG
GAAGGGGCTGGAATGGATGGATTTGGTAATCTGCTGGTGGACATCTACGCGAGCTG
GGCAAAAGGCCGATTACCATCTCCGAACCTCGACCAACCGTGGATCTGAAGTACCA
TCTGACAGCCGCGGACACGGCCACCTATTTCTGTACCAAGAGGGCCCTGGTTGGATTAC
TCTAATATGTGGGGCCAGGCAACCCCTGGTCAACGCTCTCTAGGGCAACCTAAGGCTCC
ATCAGTCTTCCCATGCGCCCTGCTGCGGGACACACCCAGCTCCACGCTGACCCCTGG
CTCGCTCTGTCAAAGGCTACCTCCCGGAGCCAGTGACCGTGACTGGAATCTCGGCA
CTACCAATGGGTGACGACCTTCCCGCTCGTCCGCGACTCTCAGGCTCTACTCGCTG
GACAGCTGTGAGCGCTGACCTCAAGCAGCAGCCAGTCCGCTGCAAGCTGAGCCCTG
AGCACCACACCAAGTGGCAAGACCGTTGCGCCCTGACATGACGACAAAGCCATGTG
CCACCCCTGAACTCTGCGGCGACCGCTGCTGCTTCTCTCTCCCGCAAAACCGCAAGGA
CCAGCTCTATGATCTACGACCCCGGAGCTCAGTGCCTGCTGGTGGAGTGGACGAGG
ATGACCCGAGGCTGCAATGATGGTAGTAAACACAGCAGGACGTCGCGACCCCGCGC
CGCCGCTACGGGAGCAGGTTCAACAGCACAGTCCGCGTGGTCAAGCACCCTCCCATC
CGCCACCAAGGACTGGCTGAGGGGCAAGGATTCAGTGGAAAGTCCACAAAGGCACT
CCCGGCCCATCGAGAAACCATCTCCAAAGCCAGGAGGCGACCCCTGGAGCCGAAG
TCTACACCATGGGCCCTCCCGGGGAGGAGCTGAGCAGCAGGTCGTCGCTGACCTGACCTGC
ATGATCAACGGCTTCTACCTTCCGACATCTCGGTGGAGTGGGGAAGAAACGGGAAGGCA
GAGGACAACTACAGACCAACCGCCGCGCTGCTGAGACAGCAGCGCTCTACTTCTCTAC
AGCAAGCTCTCAGTGCCACGAGTGAAGTGGCAGCGGGGCGAGCTCTTCACTGCTGCTG
GATGACACGAGGCTGTCACAACTACACGCAAGTCCATCTCCCGCTCTCCGGGTAA
ATGA (配列番号 166)

> リーダー配列を伴わない、抗SH2D1A(SAP) 19の重鎖コード配列
(クローン: EB0612B-2F4-H1)

CAGTCTGCTGGAGAGTCCGGGGGTGCGCTGGTCAAGCCTGGAGGAACCCCTGACACTCAC
CTGCACTGCTCTGGAATCTCCTCAGCAGCTACGACATGAGCTGGTGGCGCAGGCTCC
AGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGATTTGGTAATCTGTTGGTACATATCTACGACATCTACGAG
CTGGGCAAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAACCTCGACACCGGTTGATCTGAGAATGAC
CAGTCTGACAGCCGCGGACACCGCCACCTATTTCTGTACCAAGGGGCCCTGGTTGGAT
TACTACTAATATGTGGGGCCAGGCAACCTGGTCAAGCTCTCCTAGGGCAACCTAAGGC
TCTCATGACTCTTCCACTGGCCCTCTGCTGGGGACACCTCCGCTGCTGACGACCTGACCT
GGGCTGCTGCTCAAAGGCTACCTCCCGGAGGCAAGTACCGCTGACCTGGAATCTCGGGA
CCTCAACCAATGGGTACCGCACTTCCCGTCCGTCGCGAGCTCTCAGGGCTCTACTCG
TGAGCAGCGTGGTGAAGCTGACCTCAAGCAGCCAGCCGCTGACCTGCAAGCTGGGGCAC
CCAGCCACCAACACCAAGTGGCAAGACCGTTGCGCCCTGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TGCCCAACCCCTGAACTCTGGGGGAGCGCTGCTGCTTCTTCTCCCGCAAAACCGCAAG
GACACCCCTCATGATCTCAGCAGCCCCCGAGGTACATGAGTGGTGGTGGAGCTGAGCCA
GAGTACCCCGGAGGTGCAATTCATGTGATACATAACAGCAGGAGTGGCGACCCCGCC
GGCGCGCTACGGGAGCAGCAGTTCAACAGCAGCATCGGCTGGTCAAGCAGCTCCCTCC
ATCGCGACACGAGGACTGGCTGAGGGGCAAGGATTCAGTGGAAAGTCCACAAAGGCACT
ACTCCCGGCCCATCGAGAAACCACTCTCCAAAGCAGAGGGGACCCCTGAGAGCCGA
AGGTCTACACCATGGGCCCTCCCGGGGAGGAGTGAAGCAGCAGGTGGTCAAGCTGACCT
TGATGATCAACGGCTTCTACCTTCCGACATCTCGGTTGGAGTGGGGAAGAAAGCGGAAG
GCAGAGGACAACTACAAGACCAACCGCGGCTGTCGAGCAGCAGCGCTCTACTTCTCT

【図 11 - 17】

FIG. 11 続き

CTACAGCAAGCTCTCAGTGCCACGAGTGAGTGGCAGCGGGCGACGTCTTCACTCGCTC
CGTGATGCACGAGGCGCTTGACAAACCACTACACGCAGAACTCCATCTCCCGCTCTCCGGG
TAAATGA (配列番号 167)

> リーダー配列を伴う、抗SH2D1A(SAP)19の重鎖アミノ酸配列(リーダー配列に下線を付す)

METGLRWLLVAVLKGVCQSLSESGGRLVTPGGTLTLCTVSGFLSSYDMSWVRQAPGKG
LEWIGFGNTGGSTYYASWAKGRFTISRTSTTVDLRMTSLTAADTATYFCTRAGPWITTNMVG
PGLTVTVSLGQPKAPSVFPLAPCCGDTPSSTVTLGCLVKGYLPEPVTVTWNSGTLTNGVRTFP
SVRQSSGLYSSVVSVTSSSQPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPMCPPELLLGGPSVF
IFPPKPKDLMISRTEPVTCTVVDVQDDPEVQFTWYINNEQVTRARPLREQQFNSTIRVVST
LPIAHQDWLRGKEFKVKHNKALPAIEKTISKARGQPLEPKVYTMGPPREELSSRSVSLTCMI
NGFYPSDISVEWKNKGAKEDNYKTTPAVLDSGSYFLYSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEA
LHNHYTQKSISRSPGK (配列番号 168)

> リーダー配列を伴わない、抗SH2D1A(SAP)19の重鎖アミノ酸配列
QSLEESGGRLVTPGGTLTLCTVSGFLSSYDMSWVRQAPGKLEWIGFGNTGGSTYYASWA
KGRFTISRTSTTVDLRMTSLTAADTATYFCTRAGPWITTNMVGPGTLTVSLGQPKAPSVF
LAPCCGDTPSSTVTLGCLVKGYLPEPVTVTWNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGLYSSVVSVTS
SSQPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPMCPPELLLGGPSVFIFPPKPKDLMISRTEPVT
CTVVDVQDDPEVQFTWYINNEQVTRARPLREQQFNSTIRVVSTLPIAHQDWLRGKEFKVKVH
NKALPAIEKTISKARGQPLEPKVYTMGPPREELSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWKNKGAK
EDNYKTTPAVLDSGSYFLYSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK
(配列番号169)

> リーダー配列を伴う、抗SH2D1A(SAP)19の重鎖可変ドメインのコード配列
(リーダー配列に下線を付す)

ATGGAGACGTGGGCTCGCGCTGGCTTCTCGTGGTGCCTCAAAGGTGTCAGTGCAG
TGCGTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCGCTGGTCAAGCTGGAGGAACCCCTGACACTCACCTG
CACAGTCTCGGATTCTCCCTCAGCAGCTACGACATGAGCTGGGTCGGCAGGCTCCAGG
GAAGGGCTGGAATGGATCGGATTGTGTAATCTGGTGGTAGCACATACACGCGAGCTG
GGCAAAAGGCCGATTACCAATCTCCAGAACCTCGACCAACGGTGGATCTGAGAATGACCA
TCTGACAGCCGCGGACACGGCCACCTATTCTGTACCAAGAGGGGCCCTGGTTGGATTAC
TACTAATATGTGGGGCCACGACCCCTGGTCAACCGTCTCCCTTA (配列番号 170)

> リーダー配列を伴わない、抗SH2D1A(SAP)19の重鎖可変ドメインのコード配列
CAGTGCCTGGAGGATCCGGGGGTCGCGTGGTCAAGCTGGAGGAACCCCTGACACTCAC
CTGCAAGCTCTCGGATTCTCCCTCAGCAGCTACGACATGAGCTGGTCCGCCAGGCTCC
AGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGATTGTGTAATCTGGTGGTAGCACATACACGCGAG
CTCGCGCAAAAGGCCGATTACCAATCTCCAGAACCTCGACCAACGGTGGATCTGAGAATG
CAGTCTGACAGCCGCGGACACGGCCACCTATTCTGTACCAAGAGGGGCCCTGGTTGGAT
TACTACTAATATGTGGGGCCACGACCCCTGGTCAACCGTCTCCCTTA (配列番号 171)

【図 11 - 19】

FIG. 11 続き

> リーダー配列を伴う、抗SH2D1A(SAP)19の重鎖可変ドメインのコード配列
(リーダー配列に下線を付す)

ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGTGCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGCTCCCAAGGTGC
CACATTTCGCSAAAGTGTGACCCAGCACACACACCCCTGTGCTGCAGCTGTGGGAGGCA
AGTCACCATCAGTGGCAGTCCAGTCAGAGTGTTATCGTAATAAGTGCTTACGCTGGTAT
CAGCAAAACACGCGGACGCTCCCAAGCTCTGATCTACAAGGCATCCACTCTGGCATCT
GGGTGCCATCGCGGTTACGCGGCACTGGATCTGGGACACAGTTCACTTTACCAATCAGC
GACCTGGAGTGTGACGATTCTGCCACTTACTACTGTGTAGGCTATTATAACTAATACTAA
TACAACACTCTTCGCGGAGGGACGAGGTGGTGGTCAAA (配列番号 178)

> リーダー配列を伴わない、抗SH2D1A(SAP)19の重鎖可変ドメインのコード配列
CAAGTGCTGACCCAGACACCATCCCTGTGTCTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCACCATC
AGTTGCCAGCTCCAGTCAGAGTGTTATCGTAATAAGTGCTTAGCCTGGTATCAGCAGAAAC
CAGGGACGCTCCCAAGCTCTGATCTACAAGGCATCCACTCTGGCATCTGGGCTCCCAT
CGCGGTTACAGCGGCACTGGATCTGGGACACAGTTCACTTTACCAATCAGCAGACCTGGAGT
GTGACGATTCTGCCACTTACTACTGTGTAGGCTATTATAACTAATACTAATACTAATCACTT
TCGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAA (配列番号 179)

> リーダー配列を伴う、抗SH2D1A(SAP)19の重鎖可変ドメインのアミノ酸配列
(リーダー配列に下線を付す)
MDTRAPTQLLLGLLWLPGATFAQVLVTQTPSPVSAAVGGTVTISCQSSQSVYRNKCLAWYQK
PGQPPKLLIYKASTLASGVPSRFSGSGTGFTFTISDLECDSDATYYCVGYNTNTNTTFFGG
GTEVVVK (配列番号 180)

> リーダー配列を伴わない、抗CYBB509の重鎖コード配列
(クローン:EB0611C-1E12-H2)

CAGTCGTTGGAGGAGTCCGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGGCATCCCTGACACTCAC
CTGCACAGCCTCTGGAATCTCTTCAGTCTGATGTTATGGATATGCTGGGTCCGCCAGGCT
CCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGCTCGGATGCAATTTAGCTGGTAGTAGTGGTAGCACTTAC
TACGCGAGCTGGCGAAAGGCCGATTACCATCTTCCAAACCTCTGCACACGGTGAATCT
CTACAAATGACCAAGTCTGACAGCGCGGACACGGCCACCTATTCTGTGCGAGAGAAAT
AATAATATTATACTTGGATTGTGGGGCCACGGCAATACTGGTCAACCGTCTCCCTCAGGGC
AACCTAAGGCTCCATCAGTCTTCCCACTGGCCCGCTGCTGCGGGAGCACACCCAGCTTCA
CGGTGACCCCTGGGCTGGTCAAGGCTACCTCCCGGAGCAGTGAACGTCAGCTGCACTG
CACTCGGGGACCCCTACCAATGGGATACGCACTTCCGCTCGGTCCGGGACGTCCTCAGGC
CTTACTCGCTGAGCAGCGTGGTGAAGCTGACCTCAAGCAGCCAGCCGCTACCTGCAAC
GTGGCCCAACCCAGCCACCAACCAAAAGTGAACAAGACCGTTCGCGCCCTGCAGATCGAC
CAAGCCCATGTGCGCCACCCCTGAACTCTCGGGGGAGACCGTCTGCTTCACTTCCCGGCA
AAAGCCCAAGGACACCCCTCATGATCTACAGCCGCCCGGAGGTACATGCGTGGTGGTGA
GGAAGCCAGGATGACCCAGGCTGAGCTGCACTGATACATAAACAACGAGGAGAGTGGC
CACCGCCCGGGCCCGCTACGGGAGCAGCAGTTCAACGACGACGATCCGCGTGGTGACGA
CCCTTCCCATCTCGGCAACCGGCTGAGTCAAGGCGCAAGGATTCAAAGTGCAAAAGTCCAC
AACAGGGAACCTCCCGCCCCATCGAGAAACCACTTCCAAAGCCAGAGGGGACCCCGCTG
GAGCGGAAGGTCTACACCATGGCGCTTCCCGGAGGAGCGTGAAGCAGAGCTCGGTACG
CCTGACCTGCATGATCAACGGCTTCTACCTCTCCGACATCTCGGTGGAGTGGGAAGAA
CGGGAAGGCAAGGACCACTCAAGCAACCGCGCCGCTGCTGGACAGCAGCGGCTCCT
ACTTCTCTACAGCAAGCTCTCAGTGCCACGAGTGAAGTGGCAGCGGGGCGACGCTCTTCA
CCTGCTCGGTGATGACAGGAGGCTTGCAACCAACTACACGCAAGAGTCCATCTCCCGCT
CTCCGGGTAATGA (配列番号 182)

【図 11 - 18】

FIG. 11 続き

> リーダー配列を伴う、抗SH2D1A(SAP)19の重鎖可変ドメインのアミノ酸配列
(リーダー配列に下線を付す)

METGLRWLLVAVLKGVCQSLSESGGRLVTPGGTLTLCTVSGFLSSYDMSWVRQAPGKG
LEWIGFGNTGGSTYYASWAKGRFTISRTSTTVDLRMTSLTAADTATYFCTRAGPWITTNMVG
PGLTVTVSL (配列番号 172)

> リーダー配列を伴う、抗SH2D1A(SAP)19の重鎖コード配列
(クローン:EB0612B-2F4-K1)(リーダー配列に下線を付す)

ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGTGCTGGGGCTCCTGCTGCTGGCTCCCAAGGTGC
CACATTTCGCSAAAGTGTGACCCAGACACCATCCCTGTGCTGCAAGCTGTGGGAGGCA
AGTACCATCAGTTCGCCAGTCCAGTCAGAGTGTTATCGTAATAAGTGCTTAGCTGCGTAT
CAGCAGAAACACGCGGACGCTCCCAAGCTCCTGATCTACAAGGCATCCACTCTGGCATCT
GGGTCCCATCGCGGTTCAAGCGGACGTGATCTGGGACACAGTTCACTTTACCATCAGC
CACTCGGATCTGACGATCTTCCCACTTACTACTGTGTAGGCTATTATAACTAATACTAA
TACAACACTTTTCCGCGGAGGACCGAGGTGGTGGTCAAAAGTGGATCCAGTTGCAACCT
GTGCTCATCTTCCCAACAGCTGCTGATCAGGTGGCAACTGGAACAGTCACCATCGTGTGT
GTGGCGAATAAATCTTCCCATGTCAACCGTCAACCTGACCTGTCACCTGCTGCTCATCT
ACAACCTGGCATCGAAGACAGTAAACACCGCAGAACTCTGCAGATTGACCTCAACACCTCA
CGAGCACTCTGACACTGACCAACACAGTACAACAGCCCAAGAGTACACCTGCAAGG
TGACCCAGGGCACGACCTCAGTCGTCAGAGCTTCAATAGGGGTGACTGTTAG (配列番号 174)

> リーダー配列を伴わない、抗SH2D1A(SAP)19の重鎖コード配列
(クローン:EB0612B-2F4-K1)

CAAGTGCTGACCCAGACACCATCCCTGTGTGCTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCACCATC
AGTTGCCAGTCCAGTCAGAGTGTTATCGTAATAAGTGCTTAGGCTGGTATCAGCAGAAAC
CAGGGACGCTCCCAAGCTCCTGATCTACAAGGCATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCAT
CGCGGTTACGCGGCACTGGATCTGGGACACAGTTCACTTTACCATCAGCGGACCTGGAGT
GTGACGATTCTGCCACTTACTACTGTGTAGGCTATTATAACTAATACTAATACTAATACTT
TCGCCGAGGGGACCGAGGTGGTGGTCAAAAGTGGATCCAGTTGCAACCTGCTGCTCATCT
TCCCAACAGCTGCTGATCAGGTGGCAACTGGAACAGTCACCATCGTGTGTGTGGCGAATA
AATACTTTCCCGATGTCAACCGTCACTGGGAGGTGGTGGCAGCCCAACCAACTGGCA
TCGAGAACAGTAAACACCGCAGAAATTCGCAAGTTGTAACCTCAACCTCAGCAGCACTCT
GACACTGACCAACACAGTACAACAGCCCAAGAGTACACTGCAAGGTGACCCAGGG
CAGCAGCTCAGTCGTCAGAGCTTCAATAGGGGTGACTGTTAG (配列番号 175)

> リーダー配列を伴う、抗SH2D1A(SAP)19の重鎖アミノ酸配列(リーダー配列に下線を付す)

MDTRAPTQLLLGLLWLPGATFAQVLVTQTPSPVSAAVGGTVTISCQSSQSVYRNKCLAWYQK
PGQPPKLLIYKASTLASGVPSRFSGSGTGFTFTISDLECDSDATYYCVGYNTNTNTTFFGG
GTEVVVKDPVAPTVLIFPPAADQVATGTVTIVCVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTGTGINSKTP
QNSADCTYNSLSTLLTSTQYNSHKEYTCKVTQGTTSVQGSFNRGDC (配列番号 176)

> リーダー配列を伴わない、抗SH2D1A(SAP)19の重鎖アミノ酸配列
QVLVTQTPSPVSAAVGGTVTISCQSSQSVYRNKCLAWYQKPGQPPKLLIYKASTLASGVPSR
FSGSGTGFTFTISDLECDSDATYYCVGYNTNTNTTFFGGTGTEVVVKDPVAPTVLIFPPAAD
QVATGTVTIVCVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTGTGINSKTPQNSADCTYNSLSTLLTSTQYNS
HKEYTCKVTQGTTSVQGSFNRGDC (配列番号 177)

【図 11 - 20】

FIG. 11 続き

> リーダー配列を伴わない、抗CYBB509の重鎖可変ドメインのコード配列

CAGTCGTTGGAGGAGTCCGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGGCATCCCTGACACTCAC
CTGCACAGCCTCTGGATTCTCCCTCAGTCTGATGTTATGGATATGCTGGGTCCGCCAGGCT
CCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGCTCGGATGCAATTTAGCTGGTAGTAGTGGTAGCACTTAC
TACGCGAGCTGGGGGAAAGGCCGATTACCATCTCCAAAGCTCGTGACACCGGTTGACT
CTCAAAATGACCAAGTCTGACAGCCCGGAGCACCGGCCACCTATTCTGTGCGAGAGGAAAT
AATAATATTAACTCTGGATTGTGGGGCCACGGCATACTGGTCACCGCTCTCCTCA
(配列番号183)

> リーダー配列を伴わない、抗CYBB509の重鎖コード配列(クローン:EB0611C-1E12-K2)

GCCGTGCTGACCCAGACTCCATCTCCCGTGTGCTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCACCATC
AGTTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTACAAATAACAATGCCATTATCCTGGTATCAGCAGAAAC
CAGGGACGCTCCCAAGCTCCTGATCTATGATGATCCGATCTGGCACTCCGACCTGGGTCCCAT
CGCGGTTACGCGGCACTGGATCTGGGACACAGTTCACTTCAACATCAGCAGACGTGCACT
GTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCGGTTATAGTGTGAGTAGTGATAATGCTTT
CGCGGAGGGGACCGAGGTGGTGGTCAACGGTATGCCAGTTGCACCTACTGTCCTCATCTT
CCCAACAGTGTGATCAGGTGGCAACTGGAACAGTCAACCATCTGTGTGTGGGCAATAA
ATACITTTCCGATGTCAACCGTCACTGGGAGGTGGATGGCAGCCCAACCAACTGGGAT
CGAGAACAGTAAACACCGCAGAAATTCGAGATTGTACCTACAACCTCAGCAGCACTCTG
ACACTGACCCAGCACAGTACAACAGCCCAAGAGTACACTGCAAGGTGACCCAGGGC
ACGACCTCAGTCTGACAGACTTCAATAGGGGTGACTGTTAG (配列番号 184)

> リーダー配列を伴わない、抗CYBB509の重鎖可変ドメインのコード配列

GCCGTGCTGACCCAGACTCCATCTCCCGTGTGCTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCACCATC
AGTTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTACAAATAACAATGCCATTATCCTGGTATCAGCAGAAAC
CAGGGACGCTCCCAAGCTCCTGATCTATGATGATCCGATCTGGCACTCCGACCTGGGTCCCAT
CGCGGTTACGCGGCACTGGATCTGGGACACAGTTCACTTCAACATCAGCAGACGTGCACT
GTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCGGTTATAGTGTGAGTAGTGATAATGCTTT
CGCGGAGGGGACCGAGGTGGTGGTCAAC (配列番号 185)

> リーダー配列を伴わない、抗PRF215の重鎖コード配列(クローン:EB0610D-9E12-H3)

CAGTCGTTGGAGGAGTCCGGGGTGGCTGGTCAAGCCTGGGAGGACCTGACACTCAC
CTGCACAGCCTCTGGATTCTCCCTCAGTAGGCAACAACTGGGCTGGGTCCGCCAGGCTCC
AGGGGAAGGGCTGGAGTGGATCGGATCCATTAGTAGTAAGGGTAAGACATACACAGC
CTGGGCGAAAGGTGCTGATTACCATCTCCAAAGCTCGACAGCCGGTGGATCTGAAATAC
CAGTCCGACAAACCGGAGGACCGGCCACCTATTCTGTGCCAGCTTATGTTGCTGGGTAAT
GGTTATGAACCACTTGGGGCCCAAGGACCCCTGGTCAACCGTCTTCCCGGGGCAACCTAAG
GCTTCATCAGTCTTCCCACTGGGCCCTGCTGCGGGGACACCCAGCTCAGCAGGTGACC
CTGGGCTGCTGGTCAAAGGCTACCTCCCGGAGGCAAGTCAACCGTGACCTGGAACCTCGGG
CACCTCAACAAATGGGGTACGCACTTCCCGTCCGTGCGGAGCTCGACATCAGCAGGCCCA
TGTCGCCACCCCTGAACTCTGGGGGGACCGCTCGTCTTCATCTTCCCGGGGCAACCA
AGGACACCCCTCATGATCTCAGCAGCCCGGAGGTGACAGTGGTGGTGGTGGTGGAGTGA
CAGGATGACCCGAGGTGCAATTACATGGTACATAAACACAGCAGACAGTGGCAGCCGCC
CGCCGCGCTGACGGGACGAGAGTTCAACAGCAGCAGTCCGCGTGGTGCAGCAGCCCTCC
CATCGCGCACCGAGGACTGGCTGAGGGGCAAGGAGTCAAGTGCAAGGTCCACACAAAGG

10

20

30

40

50

【図 1 1 - 2 1】

FIG. 11 続き

CACTCCCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAGAGGGCAGCCCCGTGGAGCCG
AAGGTCACACCATGGGCGCTCCCCGGGAGGAGCTGAGCAGCAGGCTCGGTGAGCTGCAC
CTGATGATCAACGGCTTCTACCCCTCCGACATCTCGGTGGAGTGGGAGAAAGACGGAA
GGCAGAGGCAACTACAAGACCACGCCGGCGCTGCTGGACAGCAGCGCTCTCACTTCC
TTCACAGCAAGCTCTCAAGTGGGCGGACAGTGAAGTGGGACGCGGGGCGACGCTTCCACTGCT
CCGTGATGCAGAGGCTTGCCAAACCATACACGCAGAAAGTCCATCTCCCGCTCTCCG
GTAAATGA (配列番号 186)

> リーダー配列を伴わない、抗PRF215の重鎖可変ドメインのコード配列

CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGTGCCTTGTGTAACGCCTGGAGGAACCTGACACTCAC
ACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATGATAACAACAACCTTAGCCTGGTATCAGC
AGAAACCAAGGCCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATGATGCACTCAAACTGGCATCTGGGG
TCCCATCGCGTTACGGCGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGAGC
TGCACTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCGAATTTATTTCTAGTAGTGGTGAT
TGATTGTTTTCGCGGAGGGACCGAGATGGTCTGCTCAAGGTGATCCAAGTTGCACTACT
GTCTCATCTTCCACCACTGCTGCTGATTTGTGGCACTGGAACAGTCACCATCGTGTGTG
TGGGGAATAAATACTTTTCCGAGTGTCACTGAGTGGGAGGTGGATGGCACCACCCAAA
CAACTGGCATCGAGAACAGTAAACACCCGAGAAATTCGCANATTGTACCTACAACTCGAC
GCACTCTGACACTGACCAAGCAGACAGTGAACAACAGCCACAAGAGTACACCTGCAAGGT
GACCCAGGGCAGACCTCAGTCGTCAGAGCTTCAATAGGGTGACTGTTAG
(配列番号188)

> リーダー配列を伴わない、抗PRF215の軽鎖コード配列(クローン:EB0610D-9E12-K1)

GCCGATGTCGTGATGACCCAGATCCATCCCCGTGTGTGCAAGCTGTGGGAGGCACAGTC
ACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATGATAACAACAACCTTAGCCTGGTATCAGC
AGAAACCAAGGCCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATGATGCACTCAAACTGGCATCTGGGG
TCCCATCGCGTTACGGCGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGAGC
TGCACTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCGAATTTATTTCTAGTAGTGGTGAT
TGATTGTTTTCGCGGAGGGACCGAGATGGTCTGCTCAAGGTGATCCAAGTTGCACTACT
GTCTCATCTTCCACCACTGCTGCTGATTTGTGGCACTGGAACAGTCACCATCGTGTGTG
TGGGGAATAAATACTTTTCCGAGTGTCACTGAGTGGGAGGTGGATGGCACCACCCAAA
CAACTGGCATCGAGAACAGTAAACACCCGAGAAATTCGCANATTGTACCTACAACTCGAC
GCACTCTGACACTGACCAAGCAGACAGTGAACAACAGCCACAAGAGTACACCTGCAAGGT
GACCCAGGGCAGACCTCAGTCGTCAGAGCTTCAATAGGGTGACTGTTAG
(配列番号188)

> リーダー配列を伴わない、抗PRF215の軽鎖可変ドメインのコード配列

GCCGATGTCGTGATGACCCAGATCCATCCCCGTGTGTGCAAGCTGTGGGAGGCACAGTC
ACCATCAATTGCCAGGCCAGTCAGAGTGTTTATGATAACAACAACCTTAGCCTGGTATCAGC
AGAAACCAAGGCCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATGATGCACTCAAACTGGCATCTGGGG
TCCCATCGCGTTACGGCGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGAGC
TGCACTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCGAATTTATTTCTAGTAGTGGTGAT
TGATTGTTTTCGCGGAGGGACCGAGATGGTCTGCTGCTCAAA (配列番号 189)

> リーダー配列を伴わない、抗ATM1561の重鎖コード配列(クローン:EB0608D-4A10-H4)

CAGGAGCAGCTGGTGGAGTCCGGGGGAGGCCTGGTCCAGCCTGGGGGATCCCTGACACT
CACTCGCAAAGCCTCTGGATTGCACTTCACTAGTACGGGTGGAAATGCTGGGTCCGCGCAGGC
TCCAGGGAAGGGGCTCGAGTGGATCGGATGATTAATAAGTGGATGGTAGCACAATTT
CGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCACAGAACGTCGTCGACCCAGCGTGACTCT
GCAAAATGACCACTGTGACACCGCGCGGACACCGCCACCTATTTCTGTTGGAGATATTGGC
CTTGTGGGGCCAGGTACCTCTGGTCACTGCTCTCAGGGCAACCTAAGGCTCCATCAGT
CTTCCCACTGGCCCCCTGCTGCGGGGACACACCCAGCTCCACGGTGACCTGGGCTGCC
TGGTCAAAAGGCTACCTCCCGGAGCCAGTGACCGTGACCTGGAACCTGGGCAACCTCACCA
ATGGGGTACGCACCTTCCCGCTCGCGGAGTCTCAGGCTCTACTCGCTGAGCAGCG

【図 1 1 - 2 3】

FIG. 11 続き

> リーダー配列を伴わない、抗CD19 41の重鎖可変ドメインのコード配列

CAGATCCAGTTGGTGCAGTCTGGACCTGAGCTGAAGAAGCCTGGAGAGACAGTCAAGATC
TCCTGCAAGGCTTCTGATTATACCTTACAGACATTTCAATACACTGGGTGAAGCAGGCTC
CAGGAAAGGCTTTAAAGTGGCTGGGTGGATAAACACTGAGACTGTTGAGCCAGCATATG
CAGTTGACTCTCAGGGGACGGTTTGGCGCTGCTTTTGGAAACCTCTGCCAATACTGCCATTTT
GCAGATCAACAACTCCAAAATGAGGACGCGGCTACATATTTCTGTACTAGAGACTATAGT
AGAAGGGGCTCTTTGACTACTGGGGCCAAAGGCACCACCTCTCACAGTCTCCTCA
(配列番号194)

> リーダー配列を伴わない、抗CD19 41の軽鎖可変ドメインのコード配列

GACAATGTGATGTGACAGTCTCCTTCTCCCTGGCTGTGTGACGAGGAGAGAAGGTCACTA
TGAGCTGCAAAATCCAGTTCAGAGTCTATTCAACAGTAGAACCCGAAAGAACTACTTGGCTTG
GTACAGGACAGAAACCAAGGCGACTCTCCTAAACTTCTGGTCTACTGGGCATCCACTAGGGA
ATCTGGGGTCCCTGATCGCTTCACAGGCACGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCAACAT
CAGCAATGTGACAGGCTGAAGCACTGGCAGTTTATTATTGTAAGCAATTCCTATAATCTTCCCA
CGTTCCGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA (配列番号 195)

> リーダー配列を伴わない、抗ADA93の重鎖コード配列(クローン:EB0608A-3C12-H2)

CAGGAGCAGCTGGAGGAGTCCGGGGGAGACCTGGTCAAGCCTGGGTATCCCTGACACT
CACCTGCACAGCCTCTGGATTCTCCTTCACTAACAGCGACTGGGAATGCTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGCATGCAATTTATGGTGATAGTCTAGCGGATA
CTACGCGAGCTGGGCGAAGGGCCGATTACCACTCTCCAAAACCTCGTCGACCCAGGCTGAC
TCTGCAAAATGACCACTCTGACAGCCGCGGACACGGCCACCTATTTCCTGTCGAGAAATCTC
GGTAGCTTGTGGGGCCAGGCACCTTGGTCACTGCTCTCAGGGCAACCTAAGGCTCC
ATCAGCTTTCCTCACTGGCCCCCTGCTGCGGGGACACACCCAGCTCCACGGTGACCTGG
GCTCGCTGTCGTAAGGCTACCTCCCGGAGCCAGTGACCGTGACCTGGAACCTGGGCAACC
CTACCAATGGGGTACGCACCTTCCCGTCCGTCGCGCAGCTCTCAGCGCTCTACTCGCTG
AGCAGCGTGGTGAGCGTGACCTCAAGCAGCCAGCCGCTCACCTGCAACGTGGGCCACCC
AGCCACCAACACCAAGTGGACAAAGCGTTGGCGCCTCGACATGACGCAAGGCCATCTGTG
CCACCCCTGAACTCTGGGGGGACCGTCTGCTTCACTCTCCCCCAAAACCCAAAGGA
CACCCCTCATGATCTACGACACCCCGAGGTACATGCGTGGTGGTGGAGCTGAGCCAGG
ATGACCCAGGCTGCAAGTTTACATGATCAATAAACAACGAGCAGGTGCGACCCGCGCGG
CGCGCTCAGGGAGGAGCAGTTCACACGACGATCCGCGTGGTGACGACCCCTCCCATC
CGCAGCCAGGACTGGCTGGGAGGCAAGGAGTTCAGTGGCAAAAGTCCACAAACAGGCACT
CCCGGGCCCATCGAGAAACCATCTCCAAGGCCAGAGGGCAGCCCTCGAGCGCAAGG
TCTACACATGGGCCCTCCCGGGAGGAGCTGACGACAGGTCGGTGACCTGACCTGACCTG
ATGATCAACGGCTTCTACCTTCCGACATCTCGTGGAAGTGGGAGAAAGCGGGAAGGCA
AGGACCAACTACAAGACACCGCGCGCTGTCGACAGCGACGGCTCCTACTTCTCTAC
AGCAAGCTCTGACTGCCACAGTAGTGGTGGCAGGGGGCAGCTTCTCACTGCTCCGT
GATGACAGAGGCTTGCACAAACCATACACGAGAGTCCATCTCCCGCTCTCCGGGTAA
ATGA (配列番号 196)

【図 1 1 - 2 2】

FIG. 11 続き

TGGTGAGCGTGACCTCAAGCAGCCAGCCGCTACCTGCAACGTGGGCCACCCAGCCACC
AACACCAAAAGTGGACAAGACCGTTGCGCCCTCGACATGCGACAGAGCCCATGTGCCAACCC
CTGAACTCCTGGGGGGACCGCTGTGCTTCATCTTCCGCCAAAACCCAAAGGACACCCCTC
ATGATCTCAGCCACCCCGGAGGTGACATGCGGTGGTGGTGGAGCTGAGCCAGGTGACCC
CGAGGTGCAAGTTACATGCTACATAAACACGAGCAGGTGGCGACCGCCGCGCGCGC
TACGGGAGCAGCAGTTCAACAGCAGCATCCGCGTGGTGACAGCCCTCCCCATCGCGAC
CAGGACTGGCTGAGGGGCAAGGAGTTCAAGTGCAAAAGTCCACAAACAGGCACCTCCCGGC
CCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAGAGGGCAGCCCTGGAGCCGAAGGTTACAC
CATGGGCCCTCCCGGGAGGAGCTGAGCAGCAGCTGGCTGACCCCTGACCTGCAATGATCA
ACGGCTTCTACCTTCCGACATCTCGGTGGAGTGGGAGAAAGCGGGAAGGCAGGAC
AACTACAAGACCCACGCGCGCGCTGCTGGACAGCGACGGCTCCTACTTCTCTACAGCAAG
CTCTCAGTGGCCACGAGTGAGTGGCAGCGGGGGCAGCTTTCACCTGCTCCGTGATGCA
CAGGGCTTGCACAACCATACACGAGAAAGTCCATCTCCCGCTCTCCGGGTAAATGA
(配列番号 190)

> リーダー配列を伴わない、抗ATM1561の重鎖可変ドメインのコード配列

CAGGAGCAGCTGGTGGAGTCCGGGGGAGGCCTGGTCCAGCCTGGGGGATCCCTGACACT
CACTTGCAAAAGCCTCTGGATTGCACTTCAAGTAGGCGTGGAAATGTGCTGGGTCCGCGAGGC
TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGGATGCAATTTGAAATGGTGATGGTAGCACAATCTT
CGCGACTGGGGGAAAGGCCGATTACCATCACCAAGAACCTGCTCGACCCAGGCTGACCTC
GCAAAATGACCAAGTCTGACAGCCGCGGACACGGCCACCTATTTCTGTTGGAGATATTGGGC
CTGTTGGGCCCCAGGTACCTGGTGAACCTGACTCCCTCTCCTCA (配列番号 191)

> リーダー配列を伴わない、抗ATM1561の軽鎖コード配列(クローン:EB0608D-4A10-K1)

ATCGTAGTACCCAGACTCCATCTTCCAAGTCTGTCCCTGTGGGAGGCACAGTCCACATCA
ATTCGACGGCCAGTGAGAGTCTTTTATAATAACAAACCCGCTTAGCCTGGTTTCAGCAGAAACC
AGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATTTGCACTCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCGAGA
TAGGTTCAAGCGGACGTGGATCTGGGACACAGTTCACTTCCACTCCAGCGATGGTGGTG
TGACACAGCTGCCACTTACTACTGCGTAGGAGGTAGAAGTCTGTTTACTGATGGTATTGCT
TTCGGCGGAGGGACCGGAGCGGTGGTCAAGGTTGACCTGACCTGCTGCTCCTCATC
TTCGCCACAGCTGCTGATCAGGTGGCAACTGAAACAGTACCATCTGCTGTGTGGCGAAT
AAATACTTTCCGATGTCAACCTGACCTGGGAGGTGGATGGCACCACCCAAACAACTGGC
ATCGAGAACAGTAAACACCCGAGAAATTCGCAAGTTGTACCTACAACTCAGCAGCACTC
TGACACTGACCCAGCACAGTACAACAGCCACAAGAGTACACTGCAAGGTGACCCAGG
GCACGACCTCAGTCGCTCCAGAGCTTCAATAGGGGTGACTGTTAG (配列番号 192)

> リーダー配列を伴わない、抗ATM1561の軽鎖可変ドメインのコード配列

ATCGGTGATGACCCAGACTCCATCTTCCAAGTCTGTCCCTGTGGGAGGCACAGTCAACCATCA
ATTGCGACGGCCAGTGAGAGTCTTTTATAATAACAAACCCGCTTAGCCTGGTTTCAGCAGAAACC
AGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATTTGCACTCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCGAGA
TAGGTTTCAAGCGGACGTGGATCTGGGACACAGTTCACTTCCACTCAGCAGCGATGGTGTG
TGACAGCCTGCCACTTACTACTGCGTAGGAGGTAGAAGTCTGTTTACTGATGGTATTGCT
TTCGGCGGAGGGACCGAGCGGTGGTCAAA (配列番号 193)

【図 1 1 - 2 4】

FIG. 11 続き

> リーダー配列を伴わない、抗ADA93の重鎖可変ドメインのコード配列

CAGGAGCAGCTGGAGGAGTCCGGGGGAGACCTGGTCAAGCCTGGGTATCCCTGACACT
CACCTGCACAGCCTCTGGATTCTCCTTCACTAACAGCGACTGGGAATGCTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGCATGCAATTTATGGTGATAGTCTAGCGGATA
CTCAGGAGCTGGGCGAAGGGCGGATTACCATCTCCAAAACCTCGCTGACCCAGCGTGAC
TCTGCAAAATGACCACTCTGACAGCCGCGGACACGGGCCACCTATTTCTGTCGAGAAATCTC
GGTAGCTTGTGGGGCCAGGCACCTGCTGACCGTCTCCTCA (配列番号 197)

> リーダー配列を伴わない、抗ADA93の軽鎖コード配列(クローン:EB0608A-3C12-K2)

CAAGTGCTGACCCAGACTCCATCTCCTGCTGTCTGCGGCTGTGGGAGGCACAGTCAACATC
AACTGCCAGTCCAGTCAGAATGTTGTTTTAACAAACCGCTTAGCCTGGTTTCAGCAGAAAC
CAGGGCAGCCTCCCAAACCTCCTGATCTACCAAGGCATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCAC
CGCGGTTCAAAGGCGAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCAACATTAGCGACCTGGAGT
GTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTGATTTAGTAGTACTGATTGTAAT
ACTTTGCGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAGGTGATCCAGTTGCACCTACTGTCTCTC
ATCTTCCCAACAGCTGCTGATCAGGTGSCAACTGGAACAGTCAACATCTGCTGTGTGGCGG
AATAAATACTTTCCGATGTCAACGCTACCTGGGAGGTGGATGGCACCACCCAAACAACTG
GCATCGAGAACAGTAAACACCCGAGAAATTCGCAAGATTGTACCTTACAACCTCAGCAGCAC
TCTGACACTGACCGACACAGATACAACAGCCACAAGAGTACACCTGCAAGGTGACCCA
GGGCAGCCTCAGTCGTCAGAGCTTCAATAGGGGTGACTGTTAG (配列番号 198)

> リーダー配列を伴わない、抗ADA93の軽鎖可変ドメインのコード配列

CAAGTGCTGACCCAGACTCCATCTCCTGCTGTCTGCGGCTGTGGGAGGCACAGTCAACATC
AACTGCCAGTCCAGTCAGAATGTTGTTTTAACAAACCGCTTAGCCTGGTTTCAGCAGAAAC
CAGGGCAGCCTCCCAAACCTCCTGATCTACCAAGGCATCCACTCTGGCATCTGGGGTCCAC
CGCGGTTCAAAGGCGAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCAACATTAGCGACCTGGAGT
GTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCAGTTGATTTAGTAGTACTGATTGTAAT
ACTTTGCGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAGGTGATCCAGTTGCACCTACTGTCTCTC
ATCTTCCCAACAGCTGCTGATCAGGTGSCAACTGGAACAGTCAACATCTGCTGTGTGGCGG
AATAAATACTTTCCGATGTCAACGCTACCTGGGAGGTGGATGGCACCACCCAAACAACTG
GCATCGAGAACAGTAAACACCCGAGAAATTCGCAAGATTGTACCTTACAACCTCAGCAGCAC
TCTGACACTGACCGACACAGATACAACAGCCACAAGAGTACACCTGCAAGGTGACCCA
GGGCAGCCTCAGTCGTCAGAGCTTCAATAGGGGTGACTGTTAG (配列番号 199)

> リーダー配列を伴わない、抗DOCK8 1272の重鎖可変ドメインのコード配列

(ハイブリドマ: SJSH5-1C2-2E)
GAGGTTCAAGTCCAGCAGTCTGGGAGCTGTGCTGGCAAGGCCTGGGGCTTCAGTGAAGAT
GTGACTGCAAGGCTCTGGGTACACCTTTACCAAGCTCTGGATGCACTGGTGAAGGTAAGG
GCTGGAAGAGGCTCTGGAATGGATTGGCGCTATTTTCCTGGAATAGTAATACAGATAC
AACCAGGATCTCAAGGGCAAGGCCAACTGACATGCTCACTTCTGCCAGCAGCTGCTC
ATGAGGCTCAGCAGCTGACAAATGAGGACTCTGCGGCTATTACTGTGCGCGATGATAAC
GCCTTTGACTACTGGGGCCAGGCGACCACTCTCAGAGTCTCCTCA (配列番号 200)

> リーダー配列を伴わない、抗DOCK8 1272の軽鎖可変ドメインのコード配列

(ハイブリドマ: SJSH5-1C2-2E)
CAAATTTGTTCTACCCAGCTCTCCAGCAATCATGTCTGCCTCTCCAGGGGAAAGGTCACCA
GTACCTGTCAGTGGCCAGCTCAAGTGTAAAGTTCCAGGATCTGGATGCACTGGTGAAGGTAAG
CAGGAGCGCTCCCCAACTCTGGATTATAGGACATCCAACCTGTCTTCTGGAGTCCCTGA
TGCCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTTCACTCTCAAACTGACATCTGCCAGCAGTGGAG
TGAAGTCACTGCCACTTATTACTGCCAGCAGTATCATAGTACCCATTACGTTCTGGCAGC
GGGAGCAAAATTGGAATAAAAA (配列番号 201)

10

20

30

40

50

【図 11 - 25】

FIG. 11 続き

> リーダー配列を伴わない、抗CD42 128の重鎖可変ドメインのコード配列
(ハイブリドマ: SJSH4 3B8-1b)
CAGGCTTATCTACAGCAGCTCTGGGGCTGTTCTGGTGAGGCCTGGGGCTCAGTGAAGATG
TCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACATTTTCCAGTTACAATATACACTGGGTAAAGCAGACAC
CTAGACAGGGCTGGAATGGATTGGAAGTATTTATCCAGGAAATGGTGACACTTCTTACAA
TAAGAA GTTCAAGGACAAGGCCACACTGACTGTTGACAAATCCTCCAACACCGCCTACATG
CACCTCAGCAGCCTGACATCTGAAGACTCTGCGGTCTTTTTCTGTGCAAGCGACGGTACTA
GGTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCTCTCA (配列番号 202)

> リーダー配列を伴わない、抗CD42 128の軽鎖可変ドメインのコード配列
(ハイブリドマ: SJSH4 3B8-1b)
GAAGTTGTGATGACCCAGACTCCACTCACTTTGTGCGTTACCATTTGGACAAGCAGTCTCCA
TTTCTTGTACGTCAAGTCAAGGCCTCTTAGCTAGTGATGGAAAGACATATTTGAATTGGTTG
TTACAGAGGCCAGGCCAGTCTCCAAGCGCCTAATCTATCTGGTGTCTAAACTGGACTCTG
GAGTCCCTGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACTGAAATCAGCA
GAGTGGAGGCTGACGATTTGGGAGTTATTGTTGCTGGCAAGGTGCACATTTCTCCGCTCA
CGTTGCGGTGCTGGGACCAAGGCTGGAACTGAAA (配列番号 203)

> リーダー配列を伴わない、抗CD42 154の重鎖可変ドメインのコード配列
(ハイブリドマ: SJSH4-1H11c)
GAGTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCACTGAAGATG
TCCTGTAAGGCTTCTGGATACACATTTCACTGGCTACAATATGCACTGGGTGAAGCAGAGCC
ATGGAAGAGCCTTGAGTGATTGGAGACATTAATCCTAAGACTGGTGAATAGTTATAA
CCAGAA GTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACGATAAGCAAGTCTCCAGCAGACGCTACAT
GGAGCTCCGCACTGTGACATCGGAAGATTCTGCACTCTATTACTGTGTAAGATGGGGTGTA
TATTATTAGACCACTGGGGCCAAGGCCACCACTCTCACGGTCTCTCTCA (配列番号 204)

> リーダー配列を伴わない、抗CD42 154の軽鎖可変ドメインのコード配列
(ハイブリドマ: SJSH4-1H11c)
GATATTGTGATGACGCAAGGCTGGATTCTCAATCCAGTCACTCTTGGAACTGCACTCTCCA
TCTCCTGCAAGTCTACTAAGAGTCTCCTATATAGTGATGGCATCACTTATTGTATTGGTAT
CTGCAGAGGCCAGGCCAGTCTCCTCAAGCTCCTGATATATCGGATGTCGACCTTGCCCTCA
GGAAGTCCAGACAGGTTTCACTGGCAGTGGGTACGGAAGTCACTGTTTCACTGAGAAATCAGC
AGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGTGTTTATTACTGTCTCAATGGTGAATTCCTCCGCA
CGTTGCGTGGAGGCCAAGCTGGAAATCAAA (配列番号 205)

> リーダー配列を伴わない、抗CD56 122の重鎖コード配列(クローン: EB0608C-3H4-H2)
CAGTCGTTGGAGGAGTCCGGGGGAGACCTGGTCAAGCCTGGGGCATCCCTGACACTCAC
CTGCAAAAGCCTCTGGGTAGACTTCAGTAGCAACTACTACATGTGCTGGGTCCGCGAGGC
TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGCATGCAATTTATAGTAGTAGTCTTAAACACATGGTAC
GCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAAAAGCACCAGCCTACACACGGTGA
CTGCAAAATGACCAAGTCTGACAGCCGCGGACAGGCCACCTATTTCTGTACGAGAGGGGGT
GGTGTATTATGTTGGTGTCTGATTATGGTTTTTACTTCTACTTATGGGGCCAGGCACCTGG
TCACCGTCTCCTCCGGCAACCTAAGGCTCCATCAGTCTTCCCACTGGCCCTGCTGCG
GGGACACACCCAGCTCCAGCTGACCTGGGCTGCCGTGGTCAAGGCTACCTCCCGGAG
CCAGTGAACGCTGACCTGGAAGTGGGCAACCTCACCATTGGGGTACGACCTTCCGCTCC
GTCCGGCAGTCTCAGGCTCTACTCGCTGAGCAGCGTGGTGAGCGTGAACCTCAAGCAG
CCAGCCGCTCACTGCAACGTGGCCACCCAGCCACCAACCAAAAGTGGACAAGACCGT

【配列表】

2023516733000001.app

【図 11 - 26】

FIG. 11 続き

TGCGCCCTCGACATCGACGCAAGCCCATGTGCCACCCCTGAACTCCTGGGGGGACCGT
CTGTCTTCTATCTTCCCCCAAACCCAAAGGACACCTCATGATCTACGCAACCCCGAGGT
CACATCGCTGGTGGGACGTGAGCCAGGATGACCCCGAGGTGCACTTACATGGTACAT
AAACAAACGACAGGTTGCCACCGCCCGCCCGCTACGGGAGCAGCAGTTCAACAGCA
CGATCCGCGTGGTCAAGCCTCCCATCGCGCACCAGGACTGGCTGAGGGGCAAGGAG
TTCAAGTGCAAAAGTCCACAACAAAGGCACTCCCGGCCCTCATCGAGAAAACCATCTCCAAA
GCCAGAGGGCAGCCCTGGAGCCGAAGGTCTACACCATGGGCCCTCCCGGGAGGAGCT
GAGCAGCAGGTGCGTCAAGCTGACCTGCATGATCAACGGCTTCTACCTTCCGACATCTC
GGTGAGTGGGAGAAAGACCGGAAGGCAAGGACAACTACAAGACCAACGCGCGCGCTGC
TGGACAGCGCAGCGCTCTACTTCTCTACAGCAAGCTCTCAGTGCCACGAGTGAGTGGC
AGCGGGGCGACGCTCTTCACTGCTCCGTGATGACAGAGGCCCTTGCACAACCACTACACGC
AGAAGTCCATCTCCCGCTCTCCGGGTAATGA (配列番号 206)

> リーダー配列を伴わない、抗CD56 122の重鎖可変ドメインのコード配列
CAGTCGTTGGAGGAGTCCGGGGGAGACCTGGTCAAGCCTGGGGCATCCCTGACACTCAC
CTGCAAAAGCCTCTGGGTAGACTTCAGTAGCAACTACTACATGTGCTGGGTCCGCGAGGC
TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGCATGCAATTTATAGTAGTAGTCTTAAACACATGGTAC
GCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAAAAGCACCAGCCTACACACGGTGA
CTGCAAAATGACCAAGTCTGACAGCCGCGGACAGGCCACCTATTTCTGTACGAGAGGGGGT
GGTGTATTATGTTGGTGTCTGATTATGGTTTTTACTTCTACTTATGGGGCCAGGCACCTGG
TCACCGCTCTCTCC (配列番号 207)

> リーダー配列を伴わない、抗CD56 122の軽鎖コード配列(クローン: EB0608C-3H4-K2)
GCTGACATTGTGATGACCCAGACTCCATCCTCCGTGGAGGCACCTGTGGGAGGCACAGTC
ACCATCAAGTGCCAGGCCAGTCAAGCATTGATAGTTGGTGTGCTGCTGATCAAGCAAGAA
CCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTACAAGGCATCCACTCTGGAATCTGGGGTCCCA
TCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTTCACCTCAACCATCAGCGACCTGGAG
TGTGCCGATGCTGCCACTTACTTCTGTCAAAGCTATTATCCTACTACTGGTAGTGATAATGC
TTTCGGCGGAGGGGACCGAGGTGGTGGTCAAAGGTGATCCAGTTGCACCTACTGTCTCAT
CTTCCCAACAGCTGCTGATCAGGTGGCACTGGAACAGTCAACATCTGTGTGTGGCGAA
TAAATACTTTCCCGATGTACCGTCACTGGGAGGTGGATGGCACCCACCAACAACTGG
CATCGAAGACAGTAAACACCCGAGAAATTTGCAAGATTGACCTACAACCTCAGCAGCACT
CTGCACTGACCAAGCACACAGTACAACAGCCACAAGAGTACACCTGCAAGGTGACCCAG
GGCAGCAGCTCAGTCTCAGAGCTTCAATAGGGGTGACTGTTAG (SEQ ID NO: 208)

> リーダー配列を伴わない、抗CD56 122の軽鎖可変ドメインのコード配列
GCTGACATTGTGATGACCCAGACTCCATCCTCCGTGGAGGCACCTGTGGGAGGCACAGTC
ACCATCAAGTGCCAGGCCAGTCAAGCATTGATAGTTGGTGTGCTGCTGATCAAGCAAGAA
CCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTACAAGGCATCCACTCTGGAATCTGGGGTCCCA
TCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTTCACCTCAACCATCAGCGACCTGGAG
TGTGCCGATGCTGCCACTTACTTCTGTCAAAGCTATTATCCTACTACTGGTAGTGATAATGC
TTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAAGGTGATCCAGTTGCACCTACTGTCTCAT
CTTCCCAACAGCTGCTGATCAGGTGGCACTGGAACAGTCAACATCTGTGTGTGGCGAA
TAAATACTTTCCCGATGTACCGTCACTGGGAGGTGGATGGCACCCACCAACAACTGG
CATCGAAGACAGTAAACACCCGAGAAATTTGCAAGATTGACCTACAACCTCAGCAGCACT
CTGCACTGACCAAGCACACAGTACAACAGCCACAAGAGTACACCTGCAAGGTGACCCAG
GGCAGCAGCTCAGTCTCAGAGCTTCAATAGGGGTGACTGTTAG (SEQ ID NO: 209)

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2021/020679

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - C07K 14/705; C07K 14/725; C07K 16/28; G01N 33/577 (2021.01)
CPC - C07K 14/7051; C07K 14/70592; C07K 14/70596; C07K 14/7155; C07K 16/2809; C07K 16/2839;
C07K 16/2893; C07K 16/2896; G01N 33/577 (2021.05)

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	WO 2014/037977 A1 (TOHOKU UNIVERSITY et al) 13 March 2014 (13.03.2014) entire document; see machine translation	35, 37-40
X	US 2010/0009463 A1 (HORNBECK et al) 14 January 2010 (14.01.2010) entire document	63, 65, 67, 87-90
Y		64, 66, 68
Y	US 2013/0137595 A1 (BATTELLE MEMORIAL INSTITUTE et al) 30 May 2013 (30.05.2013) entire document	64, 66, 68
A	US 2007/0099251 A1 (ZHANG et al) 03 May 2007 (03.05.2007) entire document	1-90
A	US 2014/0273275 A1 (BATTELLE MEMORIAL INSTITUTE) 18 September 2014 (18.09.2014) entire document	1-90

☐ 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

"D" document cited by the applicant in the international application

"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

25 May 2021

Date of mailing of the international search report

JUN 04 2021

Name and mailing address of the ISA/US
Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents
P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450

Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Harry Kim

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2021/020679

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

a. ☒ forming part of the international application as filed:

☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

☐ on paper or in the form of an image file.

b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

SEQ ID NOs: 1-21, 24, 27, 30, 33-39, 42, 45, 48, 51-57, 60, 63, 66, 69, 82-87, 90, 93, 96, 99, 100-105, 108, 111-117, 120, 123-129, 132, 135-141, 144, 147, 150, 153, 160-165, 169, 173, 177, 181, 210, 211, and 213-217 were searched.

フロントページの続き

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,N
E,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,IT,JO,JP,K
E,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,N
G,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,
TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T R I T O N

アメリカ合衆国、ワシントン・98105、シアトル、サンド・ポイント・ウェイ・ノースイース
ト・4800

(72)発明者 ダユハ、レムウィリン

アメリカ合衆国、ワシントン・98105、シアトル、サンド・ポイント・ウェイ・ノースイース
ト・4800

(72)発明者 イー、ファン

アメリカ合衆国、ワシントン・98105、シアトル、サンド・ポイント・ウェイ・ノースイース
ト・4800

F ターム (参考) 2G045 AA25 BB03 DA20 DA36 FB06 FB07 JA03
4B063 QA18 QQ08 QQ79 QR48 QS33
4H045 AA11 AA30 DA76 EA50 FA16 FA72 FA74