

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4334065号
(P4334065)

(45) 発行日 平成21年9月16日(2009.9.16)

(24) 登録日 平成21年7月3日(2009.7.3)

(51) Int.Cl.

F I

C O 7 K 14/00 (2006.01)

C O 7 K 14/00

C O 7 K 16/18 (2006.01)

C O 7 K 16/18 Z N A

G O 1 N 33/53 (2006.01)

G O 1 N 33/53 Z

G O 1 N 33/574 (2006.01)

G O 1 N 33/574 A

G O 1 N 33/543 (2006.01)

G O 1 N 33/543 5 O 1 J

請求項の数 5 (全 24 頁)

(21) 出願番号 特願平11-180461

(22) 出願日 平成11年6月25日(1999.6.25)

(65) 公開番号 特開2000-95799(P2000-95799A)

(43) 公開日 平成12年4月4日(2000.4.4)

審査請求日 平成17年12月20日(2005.12.20)

(31) 優先権主張番号 19828466:7

(32) 優先日 平成10年6月26日(1998.6.26)

(33) 優先権主張国 ドイツ(DE)

(73) 特許権者 591215177

ロシュ ダイアグノスティックス ゲーエ
ムベーパードイツ連邦共和国 68298 マンハイ
ム, サンドホファーシュトラッセ 116

(74) 代理人 100091096

弁理士 平木 祐輔

(74) 代理人 100096183

弁理士 石井 貞次

(72) 発明者 サビネ ナスバウム

ドイツ連邦共和国 ディー-82393
イッフェルドルフ,
ラベンコフストラッセ 5

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗体のフレームワーク領域から誘導される物質によるイムノアッセイの干渉の減少

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

配列番号1~8のペプチド配列または少なくとも6アミノ酸長を有するその部分配列を含む、抗体もしくはそのフラグメント、またはペプチドである物質を、サンプルから調製した試験調製物に添加して、イムノアッセイの干渉を減少させることを特徴とする、サンプル中のアナライトを検出するための免疫学的方法。

【請求項2】

アナライトが腫瘍マーカーである、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

イムノアッセイの干渉を減少させるための、検出される抗体の可変ドメインのフレームワーク領域に由来するペプチド配列を含む物質の使用であって、該物質が配列番号1~8のペプチド配列または少なくとも6アミノ酸長を有するその部分配列を含む、抗体もしくはそのフラグメント、またはペプチドである、前記使用。

【請求項4】

配列番号1~8のペプチド配列または少なくとも6アミノ酸長を有するその部分配列を含む、抗体もしくはそのフラグメント、またはペプチドである物質を試験調製物に加える、イムノアッセイの干渉を減少させるための方法。

【請求項5】

配列番号1~8のペプチド配列または少なくとも6アミノ酸長を有するその部分配列を含む、抗体もしくはそのフラグメント、またはペプチドである少なくとも1種の物質を含む

10

20

、イムノアッセイの干渉を減少させるための抑制剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、サンプル中のアナライト、特に腫瘍マーカーの検出のための免疫学的方法に関し、該方法においては、検出される抗体または免疫療法もしくはシンチグラフィーのために使用される抗体の可変ドメインのフレームワーク領域に由来するペプチド配列を含む物質を試験調製物に加えるものである。本発明はまた、イムノアッセイの干渉を減少させるためのそのような物質の使用、抑制剤及びそのような物質によるイムノアッセイの干渉を減少させるための方法に関する。

10

【0002】

【従来の技術】

診断の分野において、特に免疫学的検出方法は近年非常に重要になってきている。これらの方法により生体試料中のアナライトを検出することができる。これらのアナライトは例えば医療用薬剤、ホルモン、タンパク質、感染症要因物質、微生物、これらのアナライトに対する抗体等である。特に癌疾患の診断においては、疾患に応じて腫瘍抗原または腫瘍マーカー、例えばCEA(癌胚抗原)、PSA(前立腺特異的抗原)またはCA 125等を免疫学的に検出する。

【0003】

免疫学的検出反応はいずれも検出される物質(アナライト)と、アナライトと特異的に反応するかまたはそれに特異的に結合する少なくとも1種の特異的結合パートナーとの間の特異的結合を含む。アナライト及び特異的結合パートナーは、一般に抗原と抗体または抗体フラグメントとの複合体である特異的結合対を形成する。1種より多いアナライトまたは1種より多い結合パートナーは各反応において互いに反応することができる。

20

【0004】

これらの特異的結合反応を検出する方法としていくつかの可能性がある。一般には、特異的結合反応の結合パートナーの1つを標識する。通常の標識はクロモゲン、蛍光団、化学的または電気化学的発光が可能な物質、放射性同位体、ハプテン、酵素標識または別の特異的結合対を形成することができる物質、例えばビオチン/ストレプトアビジンである。

【0005】

イムノアッセイの重要な問題は、イムノアッセイの特異的結合パートナーとサンプル成分との間に起こり得る非特異的結合反応及び望ましくない相互作用である。そのような相互作用は一般にバックグラウンドシグナルを増加させ、シグナルの変化をより大きいものとし、従って対応する試験の感度と特異性と低下させる。非特異的相互作用のために起こる干渉の種類により偽陽性または偽陰性の結果が生じ得る。

30

これは、干渉因子がヒト血清に存在し、特に結合パートナーとして頻繁に使用されるイムノアッセイの免疫グロブリン試薬と相互に作用する場合にもあてはまり、従ってイムノアッセイに影響を与え得る。特に2種のモノクローナル抗体を使用するイムノアッセイにおいて、患者をさらに治療するにあたって重大な結果を招くような大きな測定誤差が起こり得る(Kinders及びHass (1990) Eur. J. Cancer 26 (5), 647-648; Boscato及びStuart (1988) Clin. Chem. 34 (1), 27-33)。

40

これらの干渉因子の多くはHAMA(ヒト抗マウス抗体)に分類され得、これは試験されるサンプル中に存在する抗体であり、試薬として使用される特異的な抗体に対するものである。HAMA干渉の呼称は、マウス免疫グロブリンとの接触によっておこるものではない抗体干渉、またはマウス免疫グロブリンに厳密に特異的でない抗体干渉について使用されることも多い。このHAMA干渉により、アナライトが存在しないにもかかわらず、例えば、通常のサンドイッチ検定において、固相に結合した抗体の標識された検出される抗体との非特異的架橋が起こり得る。そしてその結果として偽陽性シグナルが生じる。

【0006】

この問題はより重大なものとなっており、これは最近腫瘍の診断と治療において免疫シン

50

チグラフィーがますます頻繁に使用されるようになってきていることによる。この目的のために放射能により標識されたモノクローナル抗体が患者の血流中に注射される。そして標識された抗体は関連する腫瘍組織に特異的に結合する。その後放射能を例えばシンチレーションカメラにより測定することにより、腫瘍の位置を正確に決定することができる。免疫学的刺激療法は、モノクローナル抗体によるものについても、患者の組織中の腫瘍の制御のための腫瘍特異的抗体の形成を刺激するために頻繁に使用されている。

これらの方法を使用する場合、上記したように、非常に高く部分的に非常に特異的なHAMA力価が高い頻度で患者血清中に生じる(例えばKath. et al. (1996) *Oncology* 2, 287-296; Holz et al. (1996) *Clin. Immunother.* 5 (3), 214-222; White et al. (1997) *Europ. J. of Cancer* 33(5), 40; Baum et al. (1993) *Hybridoma* 12(5), 583-589; Donnerstag et al. (1995) *Int. J. Oncology* 6, 853-858; Livingston et al. (1995) *Vaccine Research* 4(2), 87-94; Jeweid et al. (1996) *Cancer* 78 (1), 157-168参照)。それらはまた、キメラ抗体を使用する試験においても干渉を引き起こし得る。ドイツで結腸癌の腫瘍治療において承認された抗体の重要な例は抗体17-1Aであり市販品としてはPanorexという名称が付けられている(Kath et al. (1996)、上出; Holz et al. (1996)、上出)。さらに、臨床試験において使用されている抗体のリストには、承認される可能性が非常に高い抗体を含む多くの別の治療剤が含まれている。CEA、CA125及びCA72.4に対する抗体が免疫学的シンチグラフィーにおいてすでに臨床的に使用されており、やはり使用される頻度が高まるであろうと予想されている。

【 0 0 0 7 】

これらの干渉因子の最新技術による除去には、試験において試薬として使用される抗体と同じ動物種の系統から誘導された非特異的免疫グロブリンまたはそのフラグメントがよく使用される。すなわち、代替の結合部位が干渉因子に提供され、そこにそれらが取り込まれ、アナライトと抗体の間の特異的免疫反応が阻害されないようにすることができる。試薬としてモノクローナルマウス抗体を使用するイムノアッセイにおける非特異的反応の除去のためのマウスまたはラットそれぞれの血清、及び腹水の添加がEP-A-O 174026に記載されている。そのような干渉を回避する別の可能性は、マウスから誘導された精製モノクローナルFabフラグメントまたはIgG分子の添加であり、これは米国特許第4,914,040号によれば、特に重合された形態で良好な抑制効果を発揮するとされている。

【 0 0 0 8 】

CEAの検出についての偽陽性反応を避けるために、異なるクラスのIgG分子(IgG1、IgG2a、IgG2b)の混合物の添加がWO 91/16627において推奨されている。しかし、既知量で一定の品質を有する種々の免疫グロブリン調製物を用意することは多くの実験時間を必要とし、またこれは主として抗体の定常領域に関するものである。

【 0 0 0 9 】

抗体の定常部における干渉ポテンシャルの減少は、そのままの免疫グロブリンの代わりにFabフラグメントを使用することによっても得られ、これは主として起こるFc干渉はこの場合Fc部の欠損のために起こる機会がないからである。最適な形態は、1つのマウス及び1つのヒト部分からなるFv領域を有するヒト化抗体であり、可変部においても干渉に対する感受性をさらに減少させ得る(Kuroki et al. (1995) *J. of Immunolog. Methods* 180, 81-91)。可変マウス領域とヒト定常領域を有するキメラ抗体の使用も、診断試験における干渉に対する感受性を低下させ得る。

【 0 0 1 0 】

最新の技術によれば、タンパク質、及び特に検出試薬として使用される抗体と免疫学的に関連する抗体を添加して、検出におけるアナライトの非特異的な増加または減少した値を回避することも記載されている(EP-A-O 296 544)。使用される試薬抗体に加えられる抗体の類似性により、これらの抗体に干渉する物質が選択的に捕捉される。抑制抗体を提供するために、使用される試薬抗体の抗原結合構造を切断するか、相補的な抗原構造により抗原結合構造をブロックするか、突然変異によって使用される試薬抗体の抗原構造を変えるか、または同じサブクラスの抗イディオタイプ抗体を使用することがEP-A-O 296 544にお

いて推奨されている。

しかし、最新技術の方法によっても、それまでに免疫療法により治療された患者のサンプルにおいて観察される干渉を過度の実験なしに排除することはできず、適用された治療抗体により非常に個別的である。

【0011】

【発明が解決しようとする課題】

従って本発明の目的は、アナライトの検出、特に腫瘍マーカーの検出のための改善された方法であって、HAMAのような非特異的物質による干渉を大幅に回避し、最新技術の方法より優れた方法を提供することであった。

【0012】

【課題を解決するための手段】

この目的は、サンプル中のアナライトの検出のための新規な免疫学的方法によって達成され、該方法においては、干渉を減少させるために、検出抗体または免疫学的療法もしくはシンチグラフィーに使用される抗体の可変ドメインのフレームワーク領域から誘導されるペプチド配列を含む物質が試験調製物に加えられる。

特に、使用される物質は、イムノアッセイにおいて試薬として使用される特異的検出抗体の少なくとも1種のFv領域にある配列及び/または構造的特徴を含み、または治療/免疫シンチグラフィーの配列に対応する配列及び/または構造的特徴を含み、HAMAによる干渉をほぼ完全に回避する。使用する物質が特異的な1種以上の抗体の重鎖のフレームワーク1またはフレームワーク3に存在する配列または構造的特徴を含む場合、特に良好な抑制効果が観察できる。

【0013】

【発明の実施の形態】

さらに説明するため、図1に種々の抗体の可変領域の重鎖配列を上から下に並べたものを挙げる。フレームワーク領域1(アミノ酸位置1~30)においては挙げた腫瘍抗体(OC125、B72.3、CD4及びPSA-M66)の間で非常に高い相同性が見られ、広範囲に同一性さえも見られる。フレームワーク領域3(アミノ酸位置69~100)についても同様である。この場合、単一の腫瘍抗体の可変領域の重鎖配列における相同性の程度も高い。しかし、腫瘍抗体の配列と、非腫瘍抗体MAB33及びTSH抗体(TSH=甲状腺刺激ホルモン)のフレームワーク領域1及び3のそれぞれの配列との間の相同性は同等に低い。抗体B72.3は、Xiang et al. 1990, Mol. Immunol. 27, p 809-817並びにJ. Immunology (1993), 151, 6559-6568に記載され、抗体MAB33は、Buckel et al. 1987, Gene 51, 13-19に記載されており、抗体TSH-A8はEP-A-0 378 175に、抗体OC125はTumor Biology (1996), 17, (1996), 196-219及び325-331、並びにHybridoma (1994) 13(5) 359-365に記載されている。

【0014】

最新の技術によれば、抗体の免疫学的関連は、抗体の可変領域における配列相同性に帰するとは認められていない。特に免疫学的シンチグラフィーまたはやはり腫瘍抗原指向モノクローナル抗体による免疫学的刺激療法により非常に高く特異的なHAMA力価を示す患者サンプルにおけるHAMA干渉については、本発明の溶液は最新の技術のものよりも優れており、これはそのようなモノクローナル抗体による治療が、特に種々の腫瘍マーカー試験において試験されるサンプル中で、イディオタイプによるものではないが、それらの間では類似した特別なHAMA干渉を生じることによる。

【0015】

抗体のフレームワーク領域は分子の可変部(Fv)に位置するが、抗原結合には実際には参加しない。これらは抗体の可変部の特徴的な折り畳みに必須であり、抗原結合部位のフレームワークと構造を維持する(例えばRoitt et al. (1989) Immunology, Gower Medical Publishing, London, New York, chapter 7, Antigen Recognitionを参照)。

【0016】

本発明の方法のためには、抑制物質として抗体が好ましく使用される。抗体及びそのフラグメントであって、それらのフレームワーク領域のアミノ酸配列が、試薬として使用され

10

20

30

40

50

る検出抗体または治療もしくは免疫学的シンチグラフィーに必要とされる抗体の配列に対応するものであるものの使用が非常に適していることが判明した。

【0017】

モノクローナル抗体B72.3(J. Immunology (1993), 151, 6559-6568)及びOC125 (Tumor Biology (1996), 17, 196-219及び325-331; Hybridoma (1994) 13(5), 359-365)が干渉を減少させるために特に好ましく使用される(ISOBM report: Tumor Biology 1996; 17:196-219も参照)。抗体B72.3及びOC125のものに等価な構造的特徴または結合特性を示す抗体も干渉の減少のために使用することができる。

使用する抗体の抑制効果には、フレームワーク領域1または3におけるアミノ酸配列及び折り畳み構造が必須である。それは図1に挙げた配列に対応するか、少なくともそれに非常に相関するものでなければならない。抑制抗体を使用したときに抑制効果が観察することができる場合、相関性は十分なものとされる。原則として、フレームワーク領域1及び/または3において、配列番号1~8に挙げたアミノ酸配列のうちの1種を有する抗体はいずれも干渉を減少させるのに適している。干渉の減少のために使用する抗体の起源と生産は任意に選択することができる。モノクローナル抗体は、腹水原料から得ることができ、または当業者に公知の方法に従ってバイオリアクター中で製造することができる。

抑制抗体は検出抗体と同じ生物から誘導することができるが、そうしなければならないということはない。

【0018】

本発明によれば、特に腫瘍マーカーの検出方法において、HAMA干渉を大幅に減少させ得る。腫瘍抗原はそのアミノ酸配列及び構造においてかなり異なっており、従って本発明の抑制剤による種々の腫瘍マーカー試験の干渉の減少は驚くべきことである。驚くべきことに、それどころか1種の配列相同試験により種々の腫瘍マーカー試験における干渉を抑制することが可能である。従って本発明の主題の1つは、干渉が減少した腫瘍マーカーの検出のための免疫学的方法であって、該方法は、検出される抗体または免疫療法もしくはシンチグラフィーのために使用される抗体の可変ドメインのフレームワーク領域から誘導されるペプチド配列を含む少なくとも1種の物質、好ましくは抗体を試験調製物に添加することによる。

腫瘍マーカーCA125、CA15-3、CA19-9、CEA、PSA(遊離及び複合体の形態)及びAFPの検出は、好ましく抑制される試験に属する。本発明によれば、腫瘍疾患に関連しないアナライト、例えば心臓血管疾患マーカー(トロポニンT またはミオグロビン)を検出する方法においても非常によく抑制される。

【0019】

用語「抗体」は、ポリクローナルまたはモノクローナル抗体を意味する。これは抗体全体、並びにイムノアッセイ及びその他の用途に通常使用されるそれらのフラグメント、例えばF(ab)'₂、Fab'またはFabフラグメントも意味する。抗体は当業者に公知の方法により生産され、また例えば遺伝子操作によって生産された抗体であってもよい。干渉の減少のために使用する全ての物質が検出抗体の可変ドメインFvのフレームワーク領域から得た1種のペプチド配列を含むことが重要である。

【0020】

用語「検出抗体」は、検出試薬として試験で使用される免疫グロブリン及びそのコンジュゲートをいう。通常のサンドイッチアッセイの場合、固相に結合され、アナライトに特異的に結合する抗体、ならびに一方でアナライトに特異的に結合し、他方で標識を有する検出抗体が検出抗体に属する。標識の検出に別の抗体が必要である場合(例えば酵素標識された抗ジゴキシゲニン抗体で検出されるジゴキシゲニン標識の場合等)、これらも検出抗体という。

【0021】

本発明によれば、フレームワーク領域の1またはいくつかのフラグメント、特に免疫グロブリン重鎖のFvドメインのフレームワーク領域1及び3のフラグメントも抑制物質として使用することができる。これらのフラグメントは、好ましくは、無傷の抗体の酵素消化、ま

10

20

30

40

50

たは当業者に公知の方法による化学反応で合成することができるペプチドである。
MAB OC125、B72.3、PSAまたはCD4のフレームワーク領域1及び3からのペプチド配列を含む
ペプチドは、免疫学的方法の干渉の減少のために使用する物質として適している。

【 0 0 2 2 】

フレームワーク領域1から：

QVQLQQSGPEASVKMSCKASGYIFT (配列番号1、MAB OC125から)

QVQLQQSDAEASVKISCKASGYTFT (配列番号2、MAB B72.3から)

QVQLQQSGAEASVKISCKATGYTFS (配列番号3、MAB <PSA>M66から)

QVHLQQSGPEPSVKMSCKASGYTFT (配列番号4、MAB <CD4>から)

フレームワーク-領域3から；

RATLTVDKSSSTAYMQLNSLT (配列番号5、MAB OC125から)

KATLTADKSSSTAYMQLNSLT (配列番号6、MAB B72.3から)

RATFTADSSNTAFMEFGSLT (配列番号7、MAB <PSA>M66から)

KAILTADKSSSTAYMEFSSLT (配列番号8、MAB <CD4>から)

【 0 0 2 3 】

少なくとも6つのアミノ酸長を有する前に挙げたペプチドの部分配列も干渉を減少させる
のに適している。これらのペプチド配列は、単離された形態で存在する必要はない。これ
らはまた、抗体の可変部から誘導されたものではない別のアミノ酸配列が隣接していても
よい。また、これらのペプチドは炭水化物または脂質残基が隣接していてもよい。ただし
、修飾条件は、抑制効果が維持され、修飾自体がイムノアッセイにおいて干渉を引き起
さないものである。

【 0 0 2 4 】

また、干渉を減少させるために使用するペプチドが対応する配列をいくつか含み、すなわ
ち多量体形態であり、従ってポリハプテンとして使用することができるということも考え
られる。これはポリハプテンの製造のために本発明のペプチドをいくつか1つの担体に結
合することを意味する。異なる本発明のペプチドを1つの担体に結合することもできる。
それ自体免疫学的反応に参加しない巨大分子、例えばウシ血清アルブミンのようなより大
きいタンパク質、ラテックス粒子、ポリスチレン、金またはデキストランを担体として使
用することができる。ポリハプテンの製造はWO 96/03652に記載された方法に類似したも
のとし得る。

【 0 0 2 5 】

本発明の干渉を減少させるための物質の利点は、HAMA干渉の除去のための時間とコストの
かかるサンプルの前処理、例えばPEG沈降、プロテインA/Gクロマトグラフィー、熱処理等
を省略することができるということである。

【 0 0 2 6 】

本発明によれば、試験手順及び試験フォーマットは、原則として任意に選択できる。当業
者に公知の均質及び不均質法が考えられる。好ましい試験フォーマットは、固相に直接ま
たは間接的に結合される1種の特異的結合パートナーを使用する不均質フォーマットであ
る。腫瘍マーカー試験において好ましく使用されるサンドイッチフォーマットにおける通
常の抗原検出がその例として挙げられる。サンドイッチフォーマットにおいては、アナラ
イト(本発明の場合は抗原)が固相に結合した抗体と標識抗体との間にサンドイッチのよう
に結合される。標識は、液相から固相を分離した後、いずれかの相において検出される。

【 0 0 2 7 】

別の不均質試験法の例は、固相に結合した抗原に結合したアナライト抗体の間接的な検出
である。この場合抗体は、標識された別の抗体がアナライト抗体に結合することによって
検出される。

【 0 0 2 8 】

本発明により抑制することができる別の試験フォーマットは、互いに特異的な2種の結合
パートナーまたは抗体によって形成される1種の固相結合した複合体による競合的な試験
手順であり、この場合、固相に直接結合されないパートナーが標識される。試験の要請に

10

20

30

40

50

従い抗原または抗体であるアナライトは、その濃度に従い複合体において標識された結合パートナーを置換する。固相を液相から分離した後に、標識をいずれかの相において検出する。この場合も、本発明の抑制物質は、検出試薬として使用される結合パートナー/抗体に対する干渉サンプル物質の非特異的な結合をブロックし、可能な限り誤った試験結果を回避する。

干渉を減少させるために使用されるサンプル調製物における抗体の最大濃度は、抗体の水溶性溶媒中の溶解性のみによって決まる。約10 µg/ml ~ 40 µg/mlの最小濃度、及び約2 mg/ml、好ましくは250 µg/mlの上限の抗体が適当であることが判った。

【0029】

本発明の物質の他に、必要に応じて別の抑制手段を使用することができる。そのような手段の1つは、例えばMAB33(Boehringer Mannheim社、ドイツ、番号1200 941)の添加、または同じ効果を有する他の抗体、ポリMAB33(ポリマーマウスIgG、Boehringer Mannheim社、ドイツ、番号1368 338)、RSA、塩、界面活性剤等の添加である。

【0030】

液相における試験試薬によるいわゆる湿式試験の他に、アナライトの免疫学的検出に適当な他の通常の乾式試験フォーマットはいずれも使用することができる。例えばEP-A-9 186 799に記載されたようなこれらの乾式試験または試験ストリップにおいては、試験成分を1つの担体上に適用する。この場合、免疫学的反応の前に本発明の抑制剤を乾燥した試験ストリップに適用する。

【0031】

好ましくは、本発明の抑制剤は、できるだけ早く該抑制剤と干渉非特異的物質との反応を可能とするために、検出試薬として使用される結合パートナーよりも前またはそれと同時にサンプルに加えるべきである。

【0032】

当業者に公知の通常の生物学的な液体はいずれも本発明により抑制されるイムノアッセイのサンプルとして使用することができる。サンプルとして好ましい物質は、全血、血清、血漿、尿、唾液等の体液である。

【0033】

本発明の別の主題は、検出される抗体または免疫療法もしくはシンチグラフィーのために使用される抗体の可変ドメインのフレームワーク領域から得たペプチド配列を含む少なくとも1種の物質を含む抑制剤である。抑制剤の別の成分として、当業者に公知の緩衝液、塩及び界面活性剤が挙げられる。抑制剤は、液体、水性剤または凍結乾燥品の形態とすることができる。

【0034】

本発明の別の主題は、イムノアッセイの干渉を減少させるための方法であって、該方法において特にHAMA効果の抑制のために、検出される抗体または免疫療法もしくはシンチグラフィーに使用される抗体の可変ドメインのフレームワーク領域から得たペプチド配列を含む物質を試験調製物に加える。

【0035】

【実施例】

本発明を以下の実施例によりさらに説明する。

〔実施例1〕

種々の抑制試薬によるCA125試験の干渉の減少

CA 125の検出は、Boehringer Mannheim社、ドイツのEnzymun-Test(登録商標) CA 125 II(番号1 289 004)にパッケージされた説明書に従って行う。試験原理は、ストレプトアビジン法に基づく1段階サンドイッチELISAである。CA125上の異なるエピトープを特異的に認識する2種のCA125特異的モノクローナル抗体を使用する。抗体の1つをビオチンで標識し、他の抗体をペルオキシダーゼで標識する。ビオチン化抗CA125抗体とペルオキシダーゼ(POD)で標識された抗CA125抗体を含むインキュベーション溶液とともに、サンプルをストレプトアビジンで被覆したプラスチックチューブに入れる。インキュベーションの間にビ

10

20

30

40

50

オチン化抗体は固相に結合する。サンプル中に存在するCA125はビオチン化抗体に結合する。PODで標識された抗体は、ビオチン化抗体に結合したCA125に結合する。

固相に結合したサンドイッチ複合体は、洗浄段階の後に指示反応によって検出する。このためにABTS(登録商標、2,2'-アジノ-ジ-[3-エチル-ベンゾチアゾリン-スルホン酸(6)]-ジアンモニウム塩)及び H_2O_2 を含む基質-クロモゲン溶液を調製物に加える。ペルオキシダーゼの酵素活性により、そして結合したPOD標識抗体の量に従い色素が形成され、これを測光測定する。

ビオチン化抗体とともに、40 $\mu g/ml$ の最新技術の種々の抑制剤及び比較のため、本発明の抑制試薬を試験調製物に加える。

【0036】

以下の物質、例としての本発明の溶液、MAB B72.3(無傷のIgG)、Trina社のHAMA抑制試薬(マウスIgG)、Scantibodies社のHAMA抑制試薬(HBR、モノクローナル抗ヒトIgM)、Boehringer Mannheim社、ドイツ、の抑制試薬MAB33(番号1 200 941)、Boehringer Mannheim社、ドイツ、の抑制試薬pMAB33(番号1 096 478)を抑制試薬として使用し、並びにPSA、AFP及びCEAに対する3種の腫瘍マーカー抗体を使用する。

【0037】

免疫シンチグラフィーを受けた卵巢癌患者の血清サンプル、並びに市販品として利用可能なHAMAパネル及び健康被検者の正常な血清(NS)の1つをサンプルとして使用する。表1は、種々の抑制試薬を添加したCA125試験の測定値を示す。1 POD単位(1 U)は25 及びpH 5において1分間で1 μmol のABTSを酸化する酵素活性に相当する。

【0038】

【表1】

CA125 試験により測定された値

	CA125 無添加 U/ml	CA125 + B72.3 U/ml	CA125 + Trina- 13 U/ml	CA125 + HBR U/ml	CA125 + MAB33 U/ml	CA125 + pMAB33 U/ml	CA125 + <PSA>-M66 U/ml	CA125 + <AFP>-MTu11 U/ml	CA125 + <CEA>-MTu3 U/ml
正常血清	16.42	23.4	20.64	15.48	14.62	15.12	9.25	12.5	7.16
B43.13 による 免疫シンチグラフィー (卵巢癌)	>496	107.4	124.68	143.05	434.29	433.36	221.04	350.42	369.78
B43.13 による 免疫シンチグラフィー (卵巢癌)	129	118.6	117.54	117.13	134.43	126.61	125.8	141.98	130.1
B43.13 による 免疫シンチグラフィー (卵巢癌)	262	96.5	106.65	117.31	158.04	160.89	111.9	157.97	158.63
市販品として利用 可能なHAMAパネル (Bioclinical Partners)	111.7	-	34.42	35.3	50.77	5.65	-	-	-
OC125による免 疫シンチグラフィー (卵巢癌)	>496	289.7	329.93	322.77	348.52	360.41	300.2	402.03	335.33
市販品として利用 可能なHAMAパネル (Starrate D)	382.2	22.2	115.05	137.75	95.6	111.84	114.6	129.03	120.02
B43.13 による 免疫シンチグラフィー (卵巢癌)	>496	158	404.09	420.97	>496	>496	-	-	-

【0039】

抑制試薬なしでは、CA125試験は陽性の測定値を示すが、これは偽陽性値である。モノクローナル抗体B72.3を使用した場合に最高のHAMA抑制、すなわち最も低い測定値が得られ

る。本発明による抑制剤はこのように明らかに最新技術のものよりも優れている。腫瘍マーカー抗体中では、配列相同性と同様に、PSA抗体が干渉の減少に最も適しているものであることが判った。

【0040】

〔実施例2〕

<CD4> M3-10、MAB33及びPanorex抗体によるCA125試験の干渉の減少

実施例1と同様にCA125の検出を行う。比較のために本発明の抑制試薬(ここではMAB B72.3)及び実施例1のように重合したもの及び重合していないMAB33、抗体<CD4> M3-10及びPanorex抗体を抑制試薬として使用する。抑制試薬は40 µg/mlの濃度で加える。

【0041】

【表2】

CA125 試験で測定された値

	CA125 無添加 U/ml	CA125 + B72.3 U/ml	R %	CA125 + Panorex U/ml	R %	CA125 + <CD4> U/ml	R %	CA125 + PMAB33 U/ml	R %	CA125 + MAB33 U/ml	R %
TMC1	43.05	42.88	99	44.73	104	38.98	90	47.97	111	40.41	94
TMC2	88.68	90.13	102	94.37	106	85.45	96	92.77	105	87.53	99
正常血清	21.13	19.43	92	21.99	104	18.22	72	23.19	110	21.39	104
市販品として 利用可能な HAMA パネル I (Bioclinical Partners)	60.83	39.47	65	50.8	84	40.41	66	48.3	80	42.58	70
B43.13 による 免疫シグナル (卵巣癌)	142.94	77.44	54	93.98	66	77.61	54	39.87	63	77.82	54
市販品として利用 可能な HAMA パネル (Starrate D)	408.08	38.62	9	57.06	14	42.63	10	57.16	14	67.83	17
市販品として利用 可能な HAMA パネル II (Bioclinical Partners)	>519	69.2	<13	513.82	<99	77.78	<15	111.72	<21	147.35	28
OC125 による免 疫シグナル (卵巣癌)	>519	358.66	<70	1350.1	-	465.88	90	>519	-	1189.08	-
B43.13 による 免疫シグナル (卵巣癌)	239.26	39.64	17	119.11	50	45.84	19	103.22	43	112.67	47
B43.13 による 免疫シグナル (卵巣癌)	211.88	43.73	21	71.92	34	62.07	29	33.91	40	108.34	51

%R: 抑制試薬の添加なしの試験に対する得られた回収量の百分率

TMC1及びTMC2: Boehringer Mannheim社、ドイツ、の腫瘍マーカー対照(番号1 489 666)、AFP、CEA、PSA、遊離PSA、CA125等を含む、2つの必要な値を有するヒト血清に基づく対照血清。

【0042】

配列が相同の<CD4>抗体を使用した場合、抗体B72.3と同等の抑制が得られるが、配列相同性がより低いPanorex抗体はかなり低い抑制効果(小さいシグナル減少のみ)を有することが示されている。さらに、最新技術の抑制試薬の効果はかなり低いことが明らかである。

【0043】

〔実施例3〕

種々の抑制試薬によるCEA試験の干渉の減少

CA125試験に加えて抑制効果の第二の判定基準を得るためにBoehringer Mannheim社のCEA-Enzymun(登録商標)試験(番号1448021)をマトリックスとして選択した。方法はパッケージされた説明書に記載される手順に従って行う。CA125試験におけるのと同様に、試験原理

はやはりビオチン-ストレプトアビジン技術に基づく1段階サンドイッチELISAである。CEA上の異なるエピトープを認識する2種のCEA-特異的モノクローナル抗体を使用する。抗体の1つをビオチンで標識し、他方をペルオキシダーゼで標識する。ビオチン化抗CEA抗体とペルオキシダーゼ(POD)で標識された抗CEA抗体とを含むインキュベーション溶液とともに、サンプルをストレプトアビジンで被覆したプラスチックチューブに入れる。インキュベーションの間にビオチン化抗体は固相に結合する。サンプル中に存在するCEAはビオチン化抗体に結合する。PODで標識された抗体は、ビオチン化抗体に結合したCEAに結合する。

【0044】

固相に結合したサンドイッチ複合体の検出は、実施例1及び2に記載した指示反応により行う。

実施例1及び2で挙げた試薬並びにOC125抗体を抑制試薬として使用する。それらは10 µg/mlの濃度で加える。

【0045】

【表3】

CEA 試験で測定された値

	CEA Enzymun ng/ml	CEA Enzymun + OC125 ng/ml	CEA Enzymun + B72.3 ng/ml	CEA Enzymun + HBR ng/ml	CEA Enzymun + MAB33 ng/ml
正常血清	0.79	1.01	-	1	1.1
B43.13による免疫シフト グラフィー(卵巣癌)	6.8	2.25	2.78	2.77	5.3
B43.13による免疫シフト グラフィー(卵巣癌)	7.84	3.01	3.62	3.4	6.09
市販品として利用可能な HAMAパネルIII (Bioclinical Partners)	>51.6	4.98	6.89	9.1	17.72
B43.13による免疫シフト グラフィー(卵巣癌)	13.7	3.9	-	5.32	8.14
市販品として利用可能な HAMA パネル (Starrate D)	5.77	2.94	2.8	2.1	3.95
市販品として利用可能な HAMA パネル II (Bioclinical Partners)	12.97	4.2	3.62	4.42	5.36
<CEA>による免疫シフト グラフィー(結腸癌)	48.62	10.45	9.28	8.67	19.8

【0046】

本発明の抑制試薬MAB B72.3及びOC125で得られる結果はほぼ同等なものである。いくつかのアミノ酸を除いて、これらの2つの抗体はフレームワーク領域1及び3において配列が相同である。最新技術による抑制効果の結果は明らかに劣っている。

【0047】

〔実施例4〕

種々の試験系の干渉の減少

比較のため、種々の腫瘍マーカー試験を示す。Enzymun(登録商標)試験法(実施例1~3参照)に基づくものと、Boehringer Mannheim社のElecsys(登録商標)法に基づくものである。全ての検出について、Elecsys(登録商標)法は、実施例3と同様に、アナライト(腫瘍マーカー)の上の異なるエピトープを認識する2種の抗体を使用する1段階サンドイッチ原理に基づくものである。固相は、ストレプトアビジンで被覆された磁気ラテックスビーズで形成され、これに腫瘍マーカーに特異的なビオチン化抗体が結合される。結合した腫瘍マーカーは、液相から固相を分離した後に、ルテニウム錯体で標識した第2の腫瘍マーカー特異的抗体から生じる電気化学的発光を測定することにより検出する。

【 0 0 4 8 】

ここでは、本発明の溶液の抑制効果を以下の種々のEnzymun(登録商標)及びElecsys(登録商標)試験、すなわちCEA-Enzymun(登録商標)(番号1448021); CEA Elecsys(登録商標)(番号1731629); CA125 Enzymun(登録商標)(番号1289004); CA125 Elecsys(登録商標)(番号1776223); AFP Elecsys(登録商標)(番号1731327); PSA 全Enzymun(登録商標)(番号1555332); PSA全Elecsys(登録商標)(番号 1731262); PSA遊離Enzymun(登録商標)(番号1776444); PSA遊離Elecsys(登録商標)(番号1820800)で試験した。

抑制試薬MAB B72.3は、40 µg/mlの濃度で加える。

サンプルは、免疫療法またはシンチグラフィーからの高力価HAMA血清である。

【 0 0 4 9 】

10

【表 4】

種々の試験系の干渉の減少

	CA125 Enz.	CA125 Enz. + B72.3	CA125 ECL	CA125 ECL + B72.3	AFP ECL	AFP ECL + B72.3	PSA 全 Enz.	PSA 全 Enz. + B72.3	PSA 全 ECL	PSA 全 ECL + B72.3	PSA 遊離 Enz.	PSA 遊離 Enz. + B72.3	PSA 遊離 ECL	PSA 遊離 ECL + B72.3
1 血清	339.1	24.9	21.6	-	16.98	12	1.62	0.21	0.73	0.21	0.35	0.12	0.73	0.15
2 血清	>496	52.7	72.71	46.6	6.36	2.81	0.48	0	1.21	0.36	1.04	0.28	2.6	0.21
3 血清	>496	370.2	186.6	133.1	4.73	1.87	0.75	0	1.12	0.17	1.62	0.32	4.93	0.27
4 血清	>496	82.3	59.6	30.1	16.07	5.9	1.3	0.13	1.7	0.52	2.84	0.39	13.1	0.44
5 血清	205.8	23.01	24.3	-	2.33	1.35	0.07	0	0.27	0.05	0.11	0.03	2.23	0.12
6 血清	181.1	28.65	29.62	-	2.03	1.52	0.07	0	0.38	0.1	0.25	0.08	3.57	0.24
7 血清	-	-	-	-	2	1.24	0.14	0	0.41	0.14	0.45	0.18	2.7	0.34

20

Enz.= Enzymun(登録商標)

ECL=Elecsys(登録商標)

【 0 0 5 0 】

CA125を使用する両方の試験で、B72.3の添加によるHAMA干渉のかなりの減少が示される。干渉ポテンシャルはAFP、全及び遊離PSAでも減少する。しかし遊離PSAの場合のElecsys(登録商標)試験の干渉感受性はEnzymun(登録商標)よりも高い。このように抑制効果は試験系に関係なく示される。

30

【 0 0 5 1 】

〔実施例5〕

トロポニン-T及びミオグロビン試験における干渉の減少

また、腫瘍マーカー以外のその他のパラメーターを用いて抑制効果を示すため、心血管マーカートロポニンT(番号1 731 351)、及びミオグロビン(番号1 820 788)を選択する。

試験原理は、実施例4に記載したElecsys(登録商標)試験に基づくものである。アナライト(トロポニンT及びミオグロビン)上の異なるエピトープを認識するトロポニンT及びミオグロビンのそれぞれに対する2種のモノクローナル抗体を使用する。モノクローナル抗体の一方をビオチンで標識し、他方をルテニウム錯体により標識し、その電気化学的発光を測定する。

40

抑制試薬MAB B72.3は100 µg/mlで試験調製物に加える。

【 0 0 5 2 】

【表 5】

トロポニン T 及びミオグロビンの検出のための試験の干渉の減少

	ミオグロビン			トロポニン T		
	(ng/ml)	(ng/ml)	R %	(ng/ml)	(ng/ml)	R %
対照 1	99.229	100.396	101	0.148	0.148	100
対照 2	1312.549	1283.688	98	7.261	7.325	101
B43.13 による免疫療法 (卵巣癌)	19.819	14.888	75	0.015	0.011	73
市販品として利用可能な HAMA パネル (Starrate D)	334.348	60.72	18	0.119	0.073	61
市販品として利用可能な HAMA パネル (Bioclinical Partners)	210.342	42.318	20	0.187	0.121	65
OC125 による免疫療法 (卵巣癌)	231.523	46.914	20	0.178	0.106	60
免疫シグナル <CEA> MAB	56.877	21.099	37	0.056	0.026	46
B43.13 による免疫療法 (卵巣癌)	31.062	19.403	62	0.061	0.031	51

10

【0053】

ここでもB72.3の添加によりシグナルが著しく低下し、偽陽性測定が回避されている。従

20

【0054】

【発明の効果】

本発明により、アナライトの検出、特に腫瘍マーカーの検出のための改善された方法が提供される。

【0055】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Roche Diagnostics GmbH

<120> Suppression of immunoassays by substances derived from
the framework regions of antibodies

10

<130> PA99-193

<150> GE 198 28 466.7

<151> 1998-6-26

<160> 14

20

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1

<211> 25

<212> PRT

<213> Unknown

30

<220>

<223> Peptide sequence from the framework region 1 of
the MAB OC125.

<400> 1

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Ala Ser Val Lys Met Ser

1

5

10

15

40

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr

20

25

<210> 2
<211> 25
<212> PRT
<213> Unknown

10

<220>
<223> Peptide sequence from the framework region 1 of
the MAB B72.3.

<400> 2
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Asp Ala Glu Ala Ser Val Lys Ile Ser
1 5 10 15
Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
20 25

20

<210> 3
<211> 25
<212> PRT
<213> Unknown

30

<220>
<223> Peptide sequence from the framework region 1 of
the MAB <PSA>M66.

<400> 3
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Ala Ser Val Lys Ile Ser
1 5 10 15

40

Cys Lys Ala Thr Gly Tyr Thr Phe Ser
20 25

<210> 4

<211> 25

<212> PRT

<213> Unknown

10

<220>

<223> Peptide sequence from the framework region 1 of
the MAB <CD4>.

<400> 4

Gln Val His Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Pro Ser Val Lys Met Ser
1 5 10 15
Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
20 25

20

<210> 5

<211> 21

<212> PRT

<213> Unknown

30

<220>

<223> Peptide sequence from the framework region 3 of
the MAB OC125.

<400> 5

Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln

40

1 5 10 15
Leu Asn Ser Leu Thr
20

<210> 6

<211> 21

<212> PRT

10

<213> Unknown

<220>

<223> Peptide sequence from the framework region 3 of
the MAB B72.3.

<400> 6

20

Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln
1 5 10 15
Leu Asn Ser Leu Thr
20

<210> 7

<211> 21

30

<212> PRT

<213> Unknown

<220>

<223> Peptide sequence from the framework region 3 of
the MAB <PSA>M66.

40

<400> 7

Arg Ala Thr Phe Thr Ala Asp Ser Ser Ser Asn Thr Ala Phe Met Glu
1 5 10 15
Phe Gly Ser Leu Thr
20

<210> 8

<211> 21

10

<212> PRT

<213> Unknown

<220>

<223> Peptide sequence from the framework region 3 of
the MAB <CD4>.

20

<400> 8

Lys Ala Ile Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Glu
1 5 10 15
Phe Ser Ser Leu Thr
20

<210> 9

30

<211> 114

<212> PRT

<213> Unknown

<220>

<223> Peptide sequence of the heavy chain of the variable
region of MAB OC125.

40

<400> 9

Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser
 1 5 10 15
 Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asp Tyr Tyr
 20 25 30
 Met Lys Trp Val Lys Gln Ser His Gly Arg Glu Trp Ile Gly Asp Ile
 35 40 45
 Asn Leu Asn Asn Gly Asp Thr Phe Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Gly Arg
 50 55 60
 Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu
 65 70 75 80
 Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser
 85 90 95
 Asp Asp Tyr Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
 100 105 110
 Ser Ser

10

20

<210> 10

<211> 114

<212> PRT

<213> Unknown

30

<220>

<223> Peptide sequence of the heavy chain of the variable
 region of MAB B72.3.

<400> 10

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Asp Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

40

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp His
 20 25 30
 Ala Ile His Trp Ala Lys Gln Lys Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Ser Pro Gly Asn Asp Asp Ile Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Lys Arg Ser Tyr Tyr Gly His Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
 100 105 110
 Ser Ser

10

20

<210> 11

<211> 119

<212> PRT

<213> Unknown

<220>

<223> Peptide sequence of the heavy chain of the variable
 region of MAB CD4.

30

<400> 11

Gln Val His Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Pro
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Val Val Ser Trp Met Gln Gln Arg Thr Gly Gln Val Leu Glu Trp Ile

40

35 40 45
 Gly Glu Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Ser Ala Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Ile Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Phe Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Phe Phe Cys
 85 90 95
 Ala Arg Arg Gly Asp Gly Ser Leu Gly Phe Ala His Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ala Ala
 115

10

<210> 12

<211> 117

20

<212> PRT

<213> Unknown

<220>

<223> Peptide sequence of the heavy chain of the variable
 region of MAB PSA-M66.

30

<400> 12

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Thr Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Ile Glu Trp Met Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Asp Phe Leu Pro Gly Ser Gly Ser Ser Tyr Phe Asn Glu Lys Phe

40

50 55 60
 Lys Gly Arg Ala Thr Phe Thr Ala Asp Ser Ser Ser Asn Thr Ala Phe
 65 70 75 80
 Met Glu Phe Gly Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Arg Gly Ala Gly Arg Val Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 100 105 110
 Leu Thr Val Ser Ala
 115

10

<210> 13

<211> 123

<212> PRT

<213> Unknown

20

<220>

<223> Peptide sequence of the heavy chain of the variable
 region of MAB33.

<400> 13

Glu Val Gln Gly Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30
 Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Thr Ile Ser Asp Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Asn Leu Tyr

30

40

65 70 75 80
 Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Lys Ala Tyr Tyr Gly Asn Tyr Gly Asp Ala Met Asp Tyr
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115 120

10

<210> 14

<211> 112

<212> PRT

<213> Unknown

<220>

20

<223> Peptide sequence of the heavy chain of the variable
 region of MAB TSH-A8.

<400> 14

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Asp Leu Val Lys Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Pro Ile Thr Ser Gly
 20 25 30
 Tyr Thr Trp His Trp Ile Arg Gln Phe Pro Cys Leu Glu Trp Met Gly
 35 40 45
 Tyr Met His Tyr Asn Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 50 55 60
 Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe Leu Gln
 65 70 75 80
 Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Glu Phe
 85 90 95
 Ser Ser Trp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ala
 100 105 110

30

40

【 0 0 5 6 】

【 配列表フリーテキスト 】

50

配列番号 1 : MAB OC125のフレームワーク領域 1 からのペプチド配列。
配列番号 2 : MAB B72.3のフレームワーク領域 1 からのペプチド配列。
配列番号 3 : MAB <PSA>M66のフレームワーク領域 1 からのペプチド配列。
配列番号 4 : MAB <CD4>のフレームワーク領域 1 からのペプチド配列。
配列番号 5 : MAB OC125のフレームワーク領域 3 からのペプチド配列。
配列番号 6 : MAB B72.3のフレームワーク領域 3 からのペプチド配列。
配列番号 7 : MAB <PSA>M66のフレームワーク領域 3 からのペプチド配列。
配列番号 8 : MAB <CD4>のフレームワーク領域 3 からのペプチド配列。
配列番号 9 : MAB OC125の可変領域の重鎖のペプチド配列。
配列番号 10 : MAB B72.3の可変領域の重鎖のペプチド配列。
配列番号 11 : MAB CD4の可変領域の重鎖のペプチド配列。
配列番号 12 : MAB PSA-M66の可変領域の重鎖のペプチド配列。
配列番号 13 : MAB33の可変領域の重鎖のペプチド配列。
配列番号 14 : MAB TSH-A8の可変領域の重鎖のペプチド配列。

【図面の簡単な説明】

【図 1】 種々の抗体の可変領域の重鎖の配列を示す。

10

【 図 1 】

種々の抗体の可変領域の重鎖の配列

[illegible]

フロントページの続き

- (72)発明者 エレン モエスナー
ドイツ連邦共和国 デー - 7 4 4 2 6
ルグ 4 ブエレールツェル, インメルスベ
- (72)発明者 ヘルムト レンツ
ドイツ連邦共和国 デー - 8 2 3 2 7
ン - ストラーセ 1 4 タッツィング, ヴォン - クエルマ
- (72)発明者 ジェラルド プラアスト
ドイツ連邦共和国 デー - 8 2 4 0 4
ゲ 6 シンデルスドルフ, ミッテルベッ

審査官 石丸 聡

- (56)参考文献 特開昭 6 4 - 0 2 8 5 6 0 (J P , A)
独国特許出願公開第 0 4 1 4 3 1 2 4 (D E , A 1)
Virology, vol. 200, pages 21-28 (1994)
Mol. Immunol., vol. 27, pages 809-817 (1990)
Br. J. Cancer, vol. 75, pages 837-844 (1997)
Anticancer Res., vol. 20, pages 5249-5252 (2000)
J. Immunol., vol. 151, pages 6559-6568 (1993)
Hybridoma, vol. 13, pages 359-366 (1994)

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

C07K 14/00
C07K 16/18
G01N 33/53
G01N 33/574
CA/BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)
GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq
UniProt/GeneSeq