

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2013-513107

(P2013-513107A)

(43) 公表日 平成25年4月18日 (2013.4.18)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/531 (2006.01)	GO 1 N 33/531 Z N A Z	4 H O 4 5
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 D	
CO 7 K 14/47 (2006.01)	CO 7 K 14/47	
GO 1 N 33/533 (2006.01)	GO 1 N 33/533	
GO 1 N 33/534 (2006.01)	GO 1 N 33/534	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 79 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2012-542067 (P2012-542067)	(71) 出願人	391008788
(86) (22) 出願日	平成22年11月17日 (2010.11.17)		アボット・ラボラトリーズ
(85) 翻訳文提出日	平成24年7月31日 (2012.7.31)		ABBOTT LABORATORIES
(86) 国際出願番号	PCT/US2010/056943		アメリカ合衆国 イリノイ州 アボット
(87) 国際公開番号	W02011/068676		パーク アボット パーク ロード 10
(87) 国際公開日	平成23年6月9日 (2011.6.9)		O
(31) 優先権主張番号	12/630,671	(74) 代理人	110001173
(32) 優先日	平成21年12月3日 (2009.12.3)		特許業務法人川口国際特許事務所
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(72) 発明者	アダムチツク, マチエイ
			アメリカ合衆国、イリノイ・60031、
			ガーニー、クウエイル・ヘブン・コート・
			174

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 自己抗体抗原結合を阻害するためのペプチド試薬及び方法

(57) 【要約】

本発明は、アナライトと反応性の内因的に産生された自己抗体を潜在的に含有している検査サンプル中の対象タンパク質を検出または定量するためのイムノアッセイ及びキットを提供する。

Ala Asp Gly Ser Ser Asp Ala Ala Arg Glu Pro Arg Pro Ala Pro Ala Pro Ile Arg Arg Arg
Ser Ser Asn Tyr Arg Ala Tyr Ala Thr Glu Pro His Ala Lys Lys Ser Lys Ile Ser Ala
Ser Arg Lys Leu Gln Leu Lys Thr Leu Leu Gln Ile Ala Lys Gln Glu Leu Glu Arg
Glu Ala Glu Glu Arg Arg Gly Glu Lys Gly Arg Ala Leu Ser Thr Arg Cys Glu Pro Leu
Glu Leu Ala Gly Leu Gly Phe Ala Glu Leu Gln Asp Leu Cys Arg Gln Leu His Ala Arg
Val Asp Lys Val Asp Glu Glu Arg Tyr Asp Ile Glu Ala Lys Val Thr Lys Asn Ile Thr Glu
Ile Ala Asp Leu Thr Gln Lys Ile Phe Asp Leu Arg Gly Lys Phe Lys Arg Pro Thr Leu Arg
Arg Val Arg Ile Ser Ala Asp Ala Met Met Gln Ala Leu Leu Gly Ala Arg Ala Lys Glu Ser
Leu Asp Leu Arg Ala His Leu Lys Gln Val Lys Lys Glu Asp Thr Glu Lys Glu Asn Arg
Glu Val Gly Asp Trp Arg Lys Asn Ile Asp Ala Leu Ser Gly Met Glu Gly Arg Lys Lys
Lys Phe Glu

FIG. 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

検査サンプル中の少なくとも 1 つのタンパク質の存在または量を測定するためのイムノアッセイにおいて使用するための試薬であって、前記試薬は少なくとも 5 連続アミノ酸残基を含み、前記タンパク質から誘導される少なくとも 1 つのペプチドを含み、更に前記試薬は内因性抗体と検査サンプル中のタンパク質間の相互作用を阻止するために使用される前記試薬。

【請求項 2】

タンパク質は心臓トロポニン I（配列番号 1）、心臓トロポニン T（配列番号 2）、甲状腺刺激ホルモン（TSH）（配列番号 3）、 β -ヒト絨毛性ゴナドトロピン（ β -HCG）（配列番号 4）、ミエロペルオキシダーゼ（MPO）（配列番号 5）、前立腺特異抗原（PSA）（配列番号 6）、ヒト B 型ナトリウム利尿ペプチド（hBNP）（配列番号 7）、ミオシン軽鎖 2（配列番号 8）、ミオシン-6（配列番号 9）及びミオシン-7（配列番号 10）からなる群から選択される請求項 1 に記載の試薬。

【請求項 3】

ペプチドは 5 連続アミノ酸～15 連続アミノ酸の長さを有する請求項 1 に記載の試薬。

【請求項 4】

タンパク質は心臓トロポニン I であり、ペプチドは

【化 1】

SSDAAREPRPAPAPI (配列番号 11), VDEERYDIEAKVTKN

(配列番号 12), DIEAKVTKNITEIAD (配列番号 13), LDLRAHLKQVKKEDT

(配列番号 14), および ALSGMEGRKKKFFES (配列番号 15)

からなる群から選択される配列由来の少なくとも 5 連続アミノ酸残基を含む配列を有する請求項 1 に記載の試薬。

【請求項 5】

検査サンプル中の心臓トロポニン I の存在または量を測定するためのイムノアッセイにおいて使用するための試薬であって、前記試薬は

【化 2】

SSDAAREPRPAPAPI (配列番号 11), VDEERYDIEAKVTKN (配列番号 12),

DIEAKVTKNITEIAD (配列番号 13), LDLRAHLKQVKKEDT

(配列番号 14), および ALSGMEGRKKKFFES (配列番号 15)

からなる群から選択される配列由来の少なくとも 5 連続アミノ酸残基を含む配列を有するペプチドを含む前記試薬。

【請求項 6】

検査サンプル中の少なくとも 1 つの対象タンパク質の検出方法であって、

- a. 少なくとも 1 つの対象タンパク質を含有していると疑われる検査サンプル、及び（1）対象抗体に結合する前記タンパク質から誘導される少なくとも 5 連続アミノ酸残基を含む少なくとも 1 つのペプチドであり、（2）検査サンプル中の内因性抗体と抗原間の相互作用を破壊する少なくとも 1 つの試薬を含む第 1 混合物を作成するステップ；
- b. 第 1 混合物、及び対象タンパク質と結合して第 1 特異的結合パートナータンパク質複合体を形成する抗体を含む第 1 特異的結合パートナーを含む第 2 混合物を作成するステップ；
- c. 第 2 混合物を、検出可能標識にコンジュゲートされている抗体を含み、更に第 1 特異的結合パートナータンパク質複合体に結合して第 1 特異的結合パートナータンパク質-第 2 特異的結合パートナー複合体を形成する第 2 特異的結合パートナーと接触させるステップ；及び

d. 検出可能標識より発生したシグナルまたは検出可能標識から放出されたシグナルを測定し、検査サンプル中の対象タンパク質を検出するステップ；

を含む検査サンプル中の少なくとも1つの対象タンパク質の前記検出方法。

【請求項7】

タンパク質は心臓トロポニンI、心臓トロポニンT、甲状腺刺激ホルモン（TSH）、 β -ヒト絨毛性ゴナドトロピン（ β -HCG）、ミエロペルオキシダーゼ（MPO）、前立腺特異抗原（PSA）、ヒトB型ナトリウム利尿ペプチド（hBNP）、ミオシン軽鎖2、ミオシン-6及びミオシン-7からなる群から選択される請求項6に記載の方法。

【請求項8】

検査サンプルは全血、血清または血漿である請求項6に記載の方法。

10

【請求項9】

第1特異的結合パートナータンパク質複合体を形成する前またはその後に、第1特異的結合パートナーを固相に固定化する請求項6に記載の方法。

【請求項10】

第1特異的結合パートナータンパク質-第2特異的結合パートナー複合体を形成する前またはその後に、第2特異的結合パートナーを固相に固定化する請求項6に記載の方法。

【請求項11】

検出可能標識は放射性標識、酵素標識、化学発光標識、蛍光標識、温度測定標識及びイムノポリメラーゼ連鎖反応標識からなる群から選択される請求項6に記載の方法。

20

【請求項12】

検出可能標識はアクリジニウム化合物である請求項6に記載の方法。

【請求項13】

更に、

a. 第2特異的結合パートナーと接触している第2混合物に対して過酸化水素源を生成または供給し；

b. ステップ（a）の混合物に塩基性溶液を添加し；

c. ステップ（b）で発生するまたは放出される光シグナルを測定し、サンプル中の対象タンパク質を検出する

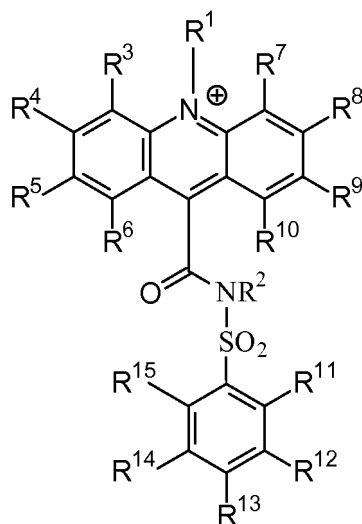
ことを含む請求項12に記載の方法。

30

【請求項14】

アクリジニウム化合物は、式I：

【化3】



40

(式中、

R¹ 及び R² は各々独立してアルキル、アルケニル、アルキニル、アリールまたはアルアルキル、スルホアルキル、カルボキシアルキル及びオキソアルキルからなる群から選択され；

R³ ~ R¹⁵ は各々独立して水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリールまたはアルアルキル、アミノ、アミド、アシル、アルコキシル、ヒドロキシル、カルボキシル、ハロゲン、ハライド、ニトロ、シアノ、スルホ、スルホアルキル、カルボキシアルキル及びオキソアルキルからなる群から選択され；

場合により、 X^- が存在するならばアニオンである)

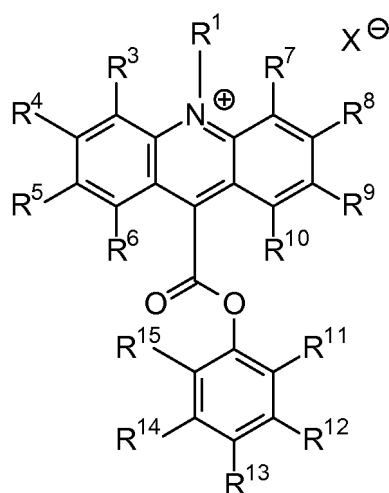
に記載の構造を有するアクリジニウム－９－カルボキサミドである請求項１２に記載の方法。

10

【請求項 15】

アクリジニウム化合物は、式 I I :

【化 4】



20

11

(式中、

30

R¹ はアルキル、アルケニル、アルキニル、アリールまたはアルアルキル、スルホアルキル、カルボキシアルキル及びオキシアルキルであり；

R³ ~ R¹⁵ は各々独立して水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリールまたはアルアルキル、アミノ、アミド、アシル、アルコキシル、ヒドロキシル、カルボキシル、ハロゲン、ハライド、ニトロ、シアノ、スルホ、スルホアルキル、カルボキシアルキル及びオキシアルキルからなる群から選択され；

場合により、 X^- が存在するならばアニオンである)

に記載の構造を有するアクリジニウム-9-カルボキシレートアリールエステルである請求項12に記載の方法。

40

【請求項 16】

試薬は 5 連続アミノ酸～15 連続アミノ酸の長さを有するペプチドである請求項 6 に記載の方法。

【請求項 17】

タンパク質は心臓トロポニン I であり、ペプチドは

【化 5】

SSDAAREPRPAPAPI (配列番号 11), VDEERYDIEAKVTKN

(配列番号12), DIEAKVTKNITEIAD (配列番号13), LDLRAHLKQVKKEDT

(配列番号 14), および ALSGMEGRKKKFES (配列番号 15)

からなる群から選択される配列由来の少なくとも 5 連続アミノ酸残基を含む配列を有する請求項 6 に記載の方法。

【請求項 18】

更に、対象タンパク質についての標準曲線を使用するかまたは参照標準と比較することによりステップ (d) におけるシグナルの量を検査サンプル中の 1 つ以上の対象タンパク質の量に関連づけることにより検査サンプル中の対象タンパク質の量を定量するステップを含む請求項 6 に記載の方法。

【請求項 19】

方法を自動システムまたは半自動システムにおいて使用するためにアレンジする請求項 7 に記載の方法。

10

【請求項 20】

請求項 1 に記載の試薬、対象タンパク質に結合する抗体を含む捕捉試薬、及び検査サンプル中の少なくとも 1 つの対象タンパク質を検出及び／または定量するための使用説明書を含む検査サンプル中の少なくとも 1 つの対象タンパク質を検出及び／または定量するためのキット。

【請求項 21】

更に、検出可能標識にコンジュゲートされている抗体を含むコンジュゲートを含む請求項 20 に記載のキット。

【請求項 22】

検出可能標識は放射性標識、酵素標識、化学発光標識、蛍光標識、温度測定標識及びイムノポリメラーゼ連鎖反応標識からなる群から選択される請求項 21 に記載のキット。

20

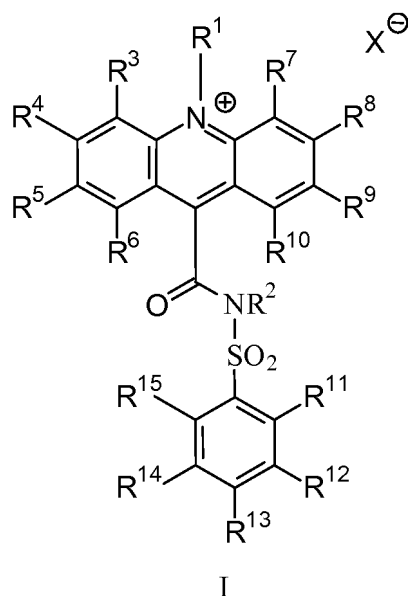
【請求項 23】

検出可能標識はアクリジニウム化合物である請求項 22 に記載のキット。

【請求項 24】

アクリジニウム化合物は、式 I :

【化 6】



30

40

(式中、

R¹ 及び R² は各々独立してアルキル、アルケニル、アルキニル、アリールまたはアルアルキル、スルホアルキル、カルボキシアルキル及びオキシアルキルからなる群から選択され；

R³ ~ R¹⁵ は各々独立して水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリールまたはアルアルキル、アミノ、アミド、アシル、アルコキシル、ヒドロキシル、カルボキシル、ハロゲン、ハライド、ニトロ、シアノ、スルホ、スルホアルキル、カルボキシアルキル

50

及びオキソアルキルからなる群から選択され；

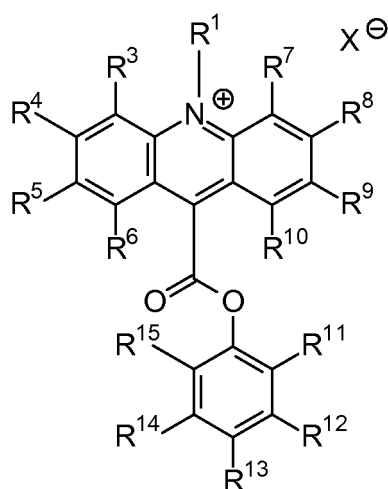
場合により、 X^- が存在するならばアニオンである）

に記載の構造を有するアクリジニウム－９－カルボキサミドである請求項２３に記載のキット。

【請求項２５】

アクリジニウム化合物は、式ⅡⅠ：

【化７】



Ⅱ

（式中、

R^1 はアルキル、アルケニル、アルキニル、アリールまたはアルアルキル、スルホアルキル、カルボキシアルキル及びオキソアルキルであり；

$R^3 \sim R^{15}$ は各々独立して水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリールまたはアルアルキル、アミノ、アミド、アシル、アルコキシル、ヒドロキシル、カルボキシル、ハロゲン、ハライド、ニトロ、シアノ、スルホ、スルホアルキル、カルボキシアルキル及びオキソアルキルからなる群から選択され；

場合により、 X^- が存在するならばアニオンである）

に記載の構造を有するアクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルである請求項２３に記載のキット。

【請求項２６】

更に、塩基性溶液を含む請求項２３に記載のキット。

【請求項２７】

塩基性溶液は少なくとも約１０のpHを有する溶液である請求項２６に記載のキット。

【請求項２８】

更に、過酸化水素源を含む請求項２３に記載のキット。

【請求項２９】

過酸化水素源はバッファーまたは過酸化水素を含有する溶液からなる請求項２８に記載のキット。

【請求項３０】

過酸化水素源は過酸化水素を生成する酵素からなる請求項２８に記載のキット。

【請求項３１】

過酸化水素を生成する酵素は、（Ｒ）－６－ヒドロキシニコチンオキシダーゼ、（Ｓ）－２－ヒドロキシ酸オキシダーゼ、（Ｓ）－６－ヒドロキシニコチンオキシダーゼ、３－ac i－ニトロプロパン酸オキシダーゼ、３－ヒドロキシアントラニル酸オキシダーゼ、４－ヒドロキシマンデル酸オキシダーゼ、６－ヒドロキシニコチン酸デヒドロゲナーゼ、アブシシンアルデヒドオキシダーゼ、アシル－C o A オキシダーゼ、アルコールオキシダ

ーゼ、アルデヒドオキシダーゼ、アミノオキシダーゼ、アミノオキシダーゼ（銅含有）、アミノオキシダーゼ（フラビン含有）、アリールアルコールオキシダーゼ、アリールアルデヒドオキシダーゼ、カテコールオキシダーゼ、コレステロールオキシダーゼ、コリンオキシダーゼ、コランバミンオキシダーゼ、シクロヘキシルアミノオキシダーゼ、シトクローム c オキシダーゼ、D-アミノ酸オキシダーゼ、D-アラビノノー 1, 4-ラクトンオキシダーゼ、D-アラビノノー 1, 4-ラクトンオキシダーゼ、D-アスパラギン酸オキシダーゼ、D-グルタミン酸オキシダーゼ、D-グルタミン酸（D-アスパラギン酸）オキシダーゼ、ジヒドロベンゾフェナントリジンオキシダーゼ、ジヒドロオロト酸オキシダーゼ、ジヒドロウラシルオキシダーゼ、ジメチルグリシンオキシダーゼ、D-マンニトールオキシダーゼ、エクジソンオキシダーゼ、エタノールアミノオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ、グルコースオキシダーゼ、グルタチオンオキシダーゼ、グリセロール-3-リン酸オキシダーゼ、グリシンオキシダーゼ、グリオキシル酸オキシダーゼ、ヘキソースオキシダーゼ、ヒドロキシフィタン酸オキシダーゼ、インドール-3-アセトアルデヒドオキシダーゼ、乳酸オキシダーゼ、L-アミノ酸オキシダーゼ、L-アスパラギン酸オキシダーゼ、L-ガラクトノラクトンオキシダーゼ、L-グルタミン酸オキシダーゼ、L-グロノラクトンオキシダーゼ、L-リシン 6-オキシダーゼ、L-リシンオキシダーゼ、長鎖アルコールオキシダーゼ、L-ピペコリン酸オキシダーゼ、L-ソルボースオキシダーゼ、リング酸オキシダーゼ、メタンチオールオキシダーゼ、モノアミノ酸オキシダーゼ、N⁶-メチルリシンオキシダーゼ、N-アシルヘキソサミンオキシダーゼ、NAD(P)Hオキシダーゼ、ニトロアルカンオキシダーゼ、N-メチル-L-アミノ酸オキシダーゼ、ヌクレオシドオキシダーゼ、シュウ酸オキシダーゼ、ポリアミノオキシダーゼ、ポリフェノールオキシダーゼ、ポリビニルアルコールオキシダーゼ、プレニルシステインオキシダーゼ、タンパク質-リシン 6-オキシダーゼ、プトレシンオキシダーゼ、ピラノースオキシダーゼ、ピリドキサル 5'-リン酸シンターゼ、ピリドキシン 4-オキシダーゼ、ピロロキノリン-キノンシンターゼ、ピルビン酸オキシダーゼ、ピルビン酸オキシダーゼ（CoA-アセチル化）、レチクリンオキシダーゼ、レチナールオキシダーゼ、リファマイシン B オキシダーゼ、サルコシンオキシダーゼ、第 2 級アルコールオキシダーゼ、亜硫酸オキシダーゼ、スーパーオキシドジスムターゼ、スーパーオキシドレダクターゼ、テトラヒドロベルベリンオキシダーゼ、チアミンオキシダーゼ、トリプトファン α, β-オキシダーゼ、尿酸オキシダーゼ（ウリカーゼ、尿酸オキシダーゼ）、バニリルアルコールオキシダーゼ、キサンチンオキシダーゼ、キシリトールオキシダーゼ及びその組合せからなる群から選択される請求項 30 に記載のキット。

10

20

30

【請求項 32】

タンパク質は心臓トロポニン I、心臓トロポニン T、甲状腺刺激ホルモン（TSH）、β-ヒト絨毛性ゴナドトロピン（β-HCG）、ミエロペルオキシダーゼ（MPO）、前立腺特異抗原（PSA）、ヒト B 型ナトリウム利尿ペプチド（hBNP）、ミオシン軽鎖 2、ミオシン-6 またはミオシン-7 である請求項 20 に記載のキット。

【請求項 33】

試薬は 5 連続アミノ酸～15 連続アミノ酸の長さを有するペプチドである請求項 20 に記載のキット。

40

【請求項 34】

タンパク質は心臓トロポニン I であり、ペプチドは
【化 8】

SSDAAREPRPAPAPI

(配列番号11), VDEERYDIEAKVTKN (配列番号12), DIEAKVTKNITEIAD

(配列番号13), LDLRAHLKQVKKEDT (配列番号14), および

ALSGMEGRKKKFES (配列番号15)

からなる群から選択される配列由来の少なくとも 5 連続アミノ酸残基を含む配列を有する

50

請求項 3 3 に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、検査サンプル中の対象タンパク質を検出するための方法及びキット、特に内因性抗アナライト抗体を含有しているかもしれないヒト検査サンプル中のタンパク質を検出するための方法及びキットに関する。

【背景技術】

【0002】

イムノアッセイ技術はここ数十年間知られており、現在生体サンプル中の標的アナライトを検出するための各種診断目的で医療で通常使用されている。イムノアッセイは抗体のその対応する抗原への非常に特異的な結合を利用しており、前記抗原が標的アナライトである。典型的には、抗体または抗原の定量は幾つかの形態の標識法（例えば、放射性または蛍光標識法）を用いて達成される。サンドイッチイムノアッセイは、サンプル中の標的アナライトを（しばしば、固体支持体に結合されている）抗体部位に結合させ、標識抗体を捕捉されているアナライトに結合させ、次いで結合した標識抗体の量を測定することを含み、アナライトがサンプル中に存在しないならば標識抗体は結合しないので標識は標的アナライトの濃度に比例してシグナルを発生する。

【0003】

この一般的アプローチの問題は、多くの患者が臨床対象のアナライトに対する循環内因性抗体、すなわち「自己抗体」を有していることである。例えば、心臓トロポニン、ミエロペルオキシダーゼ（MPO）、前立腺特異抗原（PSA）、甲状腺刺激ホルモン（TSH）、及び他の临床上重要なアナライトに対する自己抗体が記載されている。自己抗体は2つ以上のアナライト特異的抗体から構成される典型的なサンドイッチイムノアッセイにおいて干渉を生ずる。例えば、心臓トロポニン反応性自己抗体は通常の間断片特異的イムノアッセイを用いる c T n I の測定を干渉する恐れがある。よって、自己抗体からの干渉により、誤った結果が特に臨床診断のために確立されているカットオフ値の近くで生じ得、偽陰性の診断結果のリスク及び個人が適時に診断を得られないリスクが高まり得る。

【0004】

この問題に取り組むための1つのアプローチは、自己抗体と反応するアナライトエピトープと異なる特定エピトープに結合するアナライト特異的抗体を選択することである。この一般的アプローチの後、努力は自己抗体からの干渉を避けるために2、3及び4個のアナライト特異的抗体の数千の各種組合せの使用の探究に集中している。しかしながら、この努力の大部分は失敗した。複雑なタンパク質アナライトに対する自己抗体は多分特定サンプル内でポリクローナルであり、さまざまな個人由来のサンプルの中でより多様であることさえあることが今明らかである。多様なポリクローナル自己抗体からの干渉は、アナライトタンパク質配列の25%以下の少数しかアナライト特異的抗体に結合しないという所見を説明し得、よってこのアプローチを用いた失敗を説明し得る。

【0005】

サンプル中の自己抗体による干渉を相殺する新しいイムノアッセイ方法、特にアナライト検出または捕捉抗体の再設計を伴うことなく前記干渉を相殺する前記方法に対する要望が当業界にある。

【発明の概要】

【0006】

1つの実施形態では、本発明は、検査サンプル中の少なくとも1つのタンパク質の存在または量を測定するためのイムノアッセイにおいて使用するための試薬に関し、前記試薬は少なくとも5連続アミノ酸残基を含み、前記タンパク質から誘導される少なくとも1つのペプチドを含み、更に前記試薬は内因性抗体と検査サンプル中のタンパク質間の相互作用を阻止するために使用される。

【0007】

10

20

30

40

50

ある実施形態では、試薬が誘導されるタンパク質は、心臓トロポニン I（配列番号 1）、心臓トロポニン T（配列番号 2）、甲状腺刺激ホルモン（TSH）（配列番号 3）、 β -ヒト絨毛性ゴナドトロピン（ β -HCG）（配列番号 4）、ミエロペルオキシダーゼ（MPO）（配列番号 5）、前立腺特異抗原（PSA）（配列番号 6）、ヒト B 型ナトリウム利尿ペプチド（hBNP）（配列番号 7）、ミオシン軽鎖 2（配列番号 8）、ミオシン-6（配列番号 9）及びミオシン-7（配列番号 10）からなる群から選択され得る。

【0008】

ペプチドは、例えば試薬が誘導されるタンパク質のアミノ酸配列由来の 5 連続アミノ酸残基～15 連続アミノ酸残基のアミノ酸配列を有し得る。1 つの実施形態では、例えば試薬が誘導されるタンパク質は心臓トロポニン I であり、試薬は心臓トロポニン I の完全アミノ酸配列（配列番号 1）由来の少なくとも 5 連続アミノ酸残基を含むアミノ酸配列を有する。ある実施形態では、ペプチド試薬は、

【0009】

【化 1】

SSDAAREPRPAPAPI

(配列番号 11), VDEERYDIEAKVTKN (SE (配列番号 12), DIEAKVTKNITEIAD (配列番号 13),

LDLRAHLKQVKKEDT (配列番号 14), および ALSGMEGRKKKFES (配列番号 15)

からなる群から選択される配列、または少なくとも 5 連続アミノ酸残基からなるその配列を有する。

【0010】

別の実施形態では、本発明は、検査サンプル中の心臓トロポニン I の存在または量を測定するためのイムノアッセイにおいて使用するための試薬に関し、前記試薬は

【0011】

【化 2】

SSDAAREPRPAPAPI (配列番号 11), VDEERYDIEAKVTKN (配列番号 12),

DIEAKVTKNITEIAD (配列番号 13), LDLRAHLKQVKKEDT (配列番号 14), および

ALSGMEGRKKKFES (配列番号 15)

からなる群から選択される配列由来の少なくとも 5 連続アミノ酸残基を含む配列を有するペプチドを含む。

【0012】

別の実施形態では、本発明は、検査サンプル中の少なくとも 1 つの対象タンパク質を検出する方法に関し、前記方法は、

a. 少なくとも 1 つの対象タンパク質を含有すると疑われる検査サンプル、及び (1) 対象抗体に結合する前記タンパク質から誘導される少なくとも 5 連続アミノ酸残基を含む少なくとも 1 つのペプチドであり、(2) 検査サンプル中の内因性抗体と抗原間の相互作用を破壊する少なくとも 1 つの試薬を含む第 1 混合物を作成するステップ；

b. 第 1 混合物、及び対象タンパク質と結合して第 1 特異的結合パートナータンパク質複合体を形成する抗体を含む第 1 特異的結合パートナーを含む第 2 混合物を作成するステップ；

c. 第 2 混合物を、検出可能標識にコンジュゲートされている抗体を含み、更に第 1 特異的結合パートナータンパク質複合体に結合して第 1 特異的結合パートナータンパク質-第 2 特異的結合パートナー複合体を形成する第 2 特異的結合パートナーと接触させるステップ；

d. 検出可能標識より発生するまたは検出可能標識から放出されるシグナルを測定し、検査サンプル中の対象タンパク質を検出するステップ；

を含む。

【0013】

上記した方法において、タンパク質は、例えば心臓トロポニン I、心臓トロポニン T、甲状腺刺激ホルモン (TSH)、 β -ヒト絨毛性ゴナドトロピン (β -HCG)、ミエロペルオキシダーゼ (MPO)、前立腺特異抗原 (PSA)、ヒト B 型ナトリウム利尿ペプチド (hBNP)、ミオシン軽鎖 2、ミオシン-6 及びミオシン- γ からなる群から選択され得る。

【0014】

上記した方法において、検査サンプルは全血、血清または血漿であり得る。

【0015】

方法の 1 つの実施形態では、第 1 特異的結合パートナータンパク質複合体の形成前またはその後に、第 1 特異的結合パートナーを固相に固定化してもよい。加えて、第 1 特異的結合パートナータンパク質-第 2 特異的結合パートナー複合体の形成前またはその後に、第 2 特異的結合パートナーを固相に固定化してもよい。

10

【0016】

上記した方法において、検出可能標識は放射性標識、酵素標識、化学発光標識、蛍光標識、温度測定標識及びイムノポリメラーゼ連鎖反応標識からなる群から選択され得る。

【0017】

方法の 1 つの実施形態では、検出可能標識はアクリジニウム化合物である。アクリジニウム化合物を使用する場合、方法は更に

a. 第 2 特異的結合パートナーと接触している第 2 混合物に対して過酸化水素源を生成または供給し；

b. ステップ (a) の混合物に塩基性溶液を添加し；及び

c. ステップ (b) で発生または放出される光シグナルを測定し、サンプル中の対象タンパク質を検出する

ことを含み得る。

20

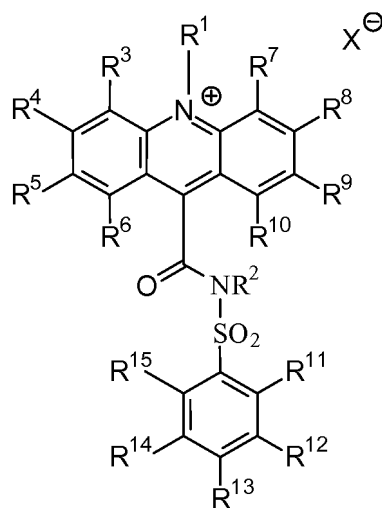
【0018】

上記した方法において任意のアクリジニウム化合物を使用し得る。例えば、アクリジニウム化合物は、式 I：

【0019】

【化 3】

30



40

I

(式中、

R^1 及び R^2 は各々独立してアルキル、アルケニル、アルキニル、アリールまたはアルアルキル、スルホアルキル、カルボキシアルキル及びオキシアルキルからなる群から選択され；

50

$R^3 \sim R^{15}$ は各々独立して水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリールまたはアルアルキル、アミノ、アミド、アシル、アルコキシル、ヒドロキシル、カルボキシル、ハロゲン、ハライド、ニトロ、シアノ、スルホ、スルホアルキル、カルボキシアルキル及びオキシアルキルからなる群から選択され；

場合により、 X^- が存在するならばアニオンである）
に記載の構造を有するアクリジニウム-9-カルボキサミドであり得る。

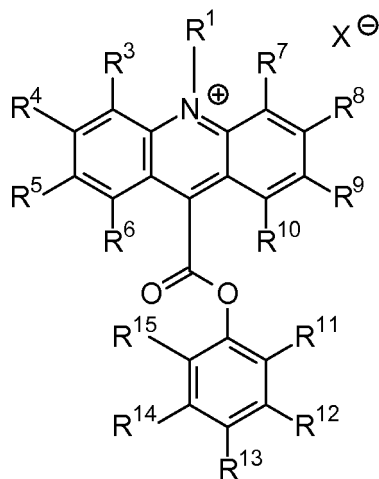
【0020】

或いは、アクリジニウム化合物は、式 I I：

【0021】

【化4】

10



20

II

（式中、

R^1 はアルキル、アルケニル、アルキニル、アリールまたはアルアルキル、スルホアルキル、カルボキシアルキル及びオキシアルキルであり；

$R^3 \sim R^{15}$ は各々独立して水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリールまたはアルアルキル、アミノ、アミド、アシル、アルコキシル、ヒドロキシル、カルボキシル、ハロゲン、ハライド、ニトロ、シアノ、スルホ、スルホアルキル、カルボキシアルキル及びオキシアルキルからなる群から選択され；

場合により、 X^- が存在するならばアニオンである）
に記載の構造を有するアクリジニウム-9-カルボキシレートアリールエステルであり得る。

30

【0022】

上記した方法において、試薬は5連続アミノ酸～15連続アミノ酸の長さを有するペプチドであり得る。

【0023】

方法の1つの実施形態では、ペプチドが誘導されるタンパク質は心臓トロポニンIであり、ペプチドは

40

【0024】

【化5】

SSDAAREPRPAPAPI

（配列番号11）、VDEERYDIEAKVTKN（S（配列番号12）、DIEAKVTKNITEIAD

（配列番号13）、LDLRAHLKQVKKEDT（S（配列番号14）、およびALSGMEGRKKKFES

（配列番号15）

50

からなる群から選択される配列由来の少なくとも5連続アミノ酸残基を含む配列を有する。

【0025】

上記した方法は、更に対象タンパク質についての標準曲線を使用するかまたは参照標準と比較することによりステップ(c)におけるシグナルの量を検査サンプル中の1つ以上の対象タンパク質の量と相関づけることにより検査サンプル中の対象タンパク質の量を定量するステップを含み得る。

【0026】

上記した方法を自動システムまたは半自動システムにおいて使用するためにアレンジしてもよい。

【0027】

更に別の実施形態では、本発明は、検査サンプル中の少なくとも1つの対象タンパク質を検出及び／または定量するためのキットに関し、前記キットは上記ペプチド試薬、対象タンパク質に結合する抗体を含む捕捉試薬、及び検査サンプル中の少なくとも1つの対象タンパク質を検出及び／または定量するための使用説明書を含む。

【0028】

上記したキットは、更に検出可能標識にコンジュゲートされている抗体を含むコンジュゲートを含み得る。

【0029】

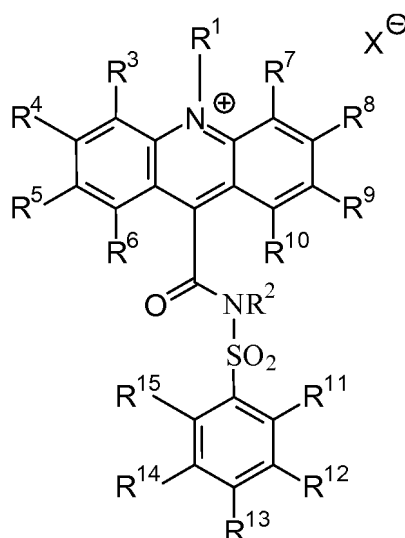
キットの1つの実施形態では、検出可能標識は放射性標識、酵素標識、化学発光標識、蛍光標識、温度測定標識及びイムノポリメラーゼ連鎖反応標識からなる群から選択され得る。

【0030】

上記したキット中に使用される検出可能標識はアクリジニウム化合物であり得る。任意のアクリジニウム化合物を使用し得る。例えば、アクリジニウム化合物は、式I：

【0031】

【化6】



I

(式中、

R^1 及び R^2 は各々独立してアルキル、アルケニル、アルキニル、アリールまたはアルアルキル、スルホアルキル、カルボキシアルキル及びオキシアルキルからなる群から選択され；

$R^3 \sim R^{15}$ は各々独立して水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリールまたはアルアルキル、アミノ、アミド、アシル、アルコキシル、ヒドロキシル、カルボキシル

、ハロゲン、ハライド、ニトロ、シアノ、スルホ、スルホアルキル、カルボキシアルキル及びオキソアルキルからなる群から選択され；

場合により、 X^- が存在するならばアニオンである）

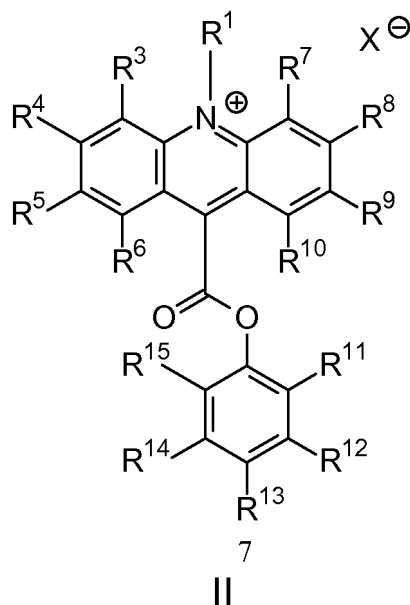
に記載の構造を有するアクリジニウム-9-カルボキサミドであり得る。

【0032】

或いは、アクリジニウム化合物は、式 I I：

【0033】

【化7】



10

20

（式中、

R^1 はアルキル、アルケニル、アルキニル、アリールまたはアルアルキル、スルホアルキル、カルボキシアルキル及びオキソアルキルであり；

$R^3 \sim R^{15}$ は各々独立して水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリールまたはアルアルキル、アミノ、アミド、アシル、アルコキシル、ヒドロキシル、カルボキシル、ハロゲン、ハライド、ニトロ、シアノ、スルホ、スルホアルキル、カルボキシアルキル及びオキソアルキルからなる群から選択され；

30

場合により、 X^- が存在するならばアニオンである）

に記載の構造を有するアクリジニウム-9-カルボキシレートアリールエステルであり得る。

【0034】

上記したキット中の検出可能標識としてアクリジニウム化合物を配合する場合、キットは場合により更に塩基性溶液を含む。塩基性溶液は、例えば少なくとも約10のpHを有する溶液であり得る。

【0035】

40

上記キットは更に過酸化水素源を含み得、過酸化水素源はバッファー、過酸化水素を含有する溶液または過酸化水素を生成する酵素であり得る。過酸化水素を生成する酵素を含有するキットでは、酵素は（R）-6-ヒドロキシニコチンオキシダーゼ、（S）-2-ヒドロキシ酸オキシダーゼ、（S）-6-ヒドロキシニコチンオキシダーゼ、3-acin-ニトロプロパン酸オキシダーゼ、3-ヒドロキシアントラニル酸オキシダーゼ、4-ヒドロキシマンデル酸オキシダーゼ、6-ヒドロキシニコチン酸デヒドロゲナーゼ、アブシシンアルデヒドオキシダーゼ、アシル-CoAオキシダーゼ、アルコールオキシダーゼ、アルデヒドオキシダーゼ、アミノオキシダーゼ、アミノオキシダーゼ（銅含有）、アミノオキシダーゼ（フラビン含有）、アリールアルコールオキシダーゼ、アリールアルデヒドオキシダーゼ、カテコールオキシダーゼ、コレステロールオキシダーゼ、コリンオキシダ

50

ーゼ、コランバミンオキシダーゼ、シクロヘキシルアミンオキシダーゼ、シトクローム c オキシダーゼ、D-アミノ酸オキシダーゼ、D-アラビノノー 1, 4-ラクトンオキシダーゼ、D-アラビノノー 1, 4-ラクトンオキシダーゼ、D-アスパラギン酸オキシダーゼ、D-グルタミン酸オキシダーゼ、D-グルタミン酸 (D-アスパラギン酸) オキシダーゼ、ジヒドロベンゾフェナントリジンオキシダーゼ、ジヒドロオロット酸オキシダーゼ、ジヒドロウラシルオキシダーゼ、ジメチルグリシンオキシダーゼ、D-マンニトールオキシダーゼ、エクジソンオキシダーゼ、エタノールアミンオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ、グルコースオキシダーゼ、グルタチオンオキシダーゼ、グリセロール-3-リン酸オキシダーゼ、グリシンオキシダーゼ、グリオキシル酸オキシダーゼ、ヘキソースオキシダーゼ、ヒドロキシフィタン酸オキシダーゼ、インドール-3-アセトアルデヒドオキシダーゼ、乳酸オキシダーゼ、L-アミノ酸オキシダーゼ、L-アスパラギン酸オキシダーゼ、L-ガラクトノラクトンオキシダーゼ、L-グルタミン酸オキシダーゼ、L-グロノラクトンオキシダーゼ、L-リシン 6-オキシダーゼ、L-リシンオキシダーゼ、長鎖アルコールオキシダーゼ、L-ピペコリン酸オキシダーゼ、L-ソルボースオキシダーゼ、リンゴ酸オキシダーゼ、メタンチオールオキシダーゼ、モノアミノ酸オキシダーゼ、N⁶-メチルリシンオキシダーゼ、N-アシルヘキソサミンオキシダーゼ、NAD (P) H オキシダーゼ、ニトロアルカンオキシダーゼ、N-メチル-L-アミノ酸オキシダーゼ、ヌクレオシドオキシダーゼ、シュウ酸オキシダーゼ、ポリアミンオキシダーゼ、ポリフェノールオキシダーゼ、ポリビニルアルコールオキシダーゼ、プレニルシステインオキシダーゼ、タンパク質-リシン 6-オキシダーゼ、プトレシンオキシダーゼ、ピラノースオキシダーゼ、ピリドキサル 5'-リン酸シンターゼ、ピリドキシン 4-オキシダーゼ、ピロキノリン-キノシンターゼ、ピルビン酸オキシダーゼ、ピルビン酸オキシダーゼ (CoA-アセチル化)、レチクリンオキシダーゼ、レチナールオキシダーゼ、リファマイシン B オキシダーゼ、サルコシンオキシダーゼ、第 2 級アルコールオキシダーゼ、亜硫酸オキシダーゼ、スーパーオキシドジスムターゼ、スーパーオキシドレダクターゼ、テトラヒドロベルベリンオキシダーゼ、チアミンオキシダーゼ、トリプトファン α , β -オキシダーゼ、尿酸オキシダーゼ (ウリカーゼ、尿酸オキシダーゼ)、バニリルアルコールオキシダーゼ、キサンチンオキシダーゼ、キシリトールオキシダーゼ及びその組合せからなる群から選択され得る。

10

20

30

【0036】

1つの実施形態では、上記したキットは、心臓トロポニン I、心臓トロポニン T、甲状腺刺激ホルモン (TSH)、 β -ヒト絨毛性ゴナドトロピン (β -HCG)、ミエロペルオキシダーゼ (MPO)、前立腺特異抗原 (PSA)、ヒト B 型ナトリウム利尿ペプチド (hBNP)、ミオシン軽鎖 2、ミオシン-6 及びミオシン-7 からなる群から選択されるタンパク質から誘導される試薬を含む。

【0037】

上記したキットにおいて、試薬は 5 連続アミノ酸 ~ 15 連続アミノ酸の長さを有するペプチドであり得る。

【0038】

上記したキットの 1つの実施形態では、試薬が誘導されるタンパク質は心臓トロポニン I であり、ペプチドは

40

【0039】

【化 8】

SSDAAREPRPAPAPI (配列番号 11), VDEERYDIEAKVTKN (配列番号 12),

DIEAKVTKNITEIAD (配列番号 13), LDLRAHLKQVKKEDT (配列番号 14) および

ALSGMEGRKKKFES (配列番号 15)

からなる群から選択される配列由来の少なくとも 5 連続アミノ酸残基を含む配列を有する。

50

【図面の簡単な説明】

【0040】

【図1】心臓トロポニンIのアミノ酸配列を示す。

【図2】心臓トロポニンTのアミノ酸配列を示す。

【図3】甲状腺刺激ホルモン(TSH)のアミノ酸配列を示す。

【図4】ヒト絨毛性ゴナドトロピンの β -サブユニット(β -HCG)のアミノ酸配列を示す。

【図5】ミエロペルオキシダーゼ(MPO)のアミノ酸配列を示す。

【図6】前立腺特異抗原(PSA)のアミノ酸配列を示す。

【図7】ヒトB型ナトリウム利尿ペプチド(hBNP)のアミノ酸配列を示す。

10

【図8】ミオシン軽鎖2のアミノ酸配列を示す。

【図9A】ミオシン-6のアミノ酸配列を示す。

【図9B】ミオシン-6のアミノ酸配列を示す。

【図9C】ミオシン-6のアミノ酸配列を示す。

【図10A】ミオシン-7のアミノ酸配列を示す。

【図10B】ミオシン-7のアミノ酸配列を示す。

【図10C】ミオシン-7のアミノ酸配列を示す。

【図11】5つの異なるペプチド試薬の各々及びその組合せについての濃度(nmol/mL)に対するシグナル/低コントロールの比(S/LC)のグラフを示す。

【図12】5つの異なるペプチド試薬の各々及びその組合せについての濃度(nmol/mL)に対するシグナル/低コントロールの比(S/LC)のグラフを示す。

20

【発明を実施するための形態】

【0041】

本発明は、検査サンプル中の対象タンパク質を検出するためのイムノアッセイ方法及びキット、特に対象タンパク質に対する内因性抗体を含有しているかもしれないヒト検査サンプル中のタンパク質を検出するための方法及びキットに関する。具体的には、本発明者らは、サンプル中の临床上重要なアナライトの免疫検出における自己抗体による干渉の問題を解決するための代替アプローチを発見した。前記アナライトは自己抗原、例えば心臓トロポニン、ミエロペルオキシダーゼ、前立腺特異抗原及び甲状腺刺激ホルモンを含む。より具体的には、代替アプローチは、対象のタンパク質、特に自己抗原から誘導されるペプチド試薬の使用を含む。ペプチド試薬は自己抗体のタンパク質への結合を阻害し、よって自己抗体によるタンパク質の免疫検出の干渉を防ぐ。このアプローチにより、特定の検出抗体または捕捉抗体を再設計する必要なくサンプル中に存在しているかもしれない自己抗体の存在が相殺され、余分な抗ヒトIgG検出コンジュゲートを使用する必要がなく、問題のサンプルを同定するための第2アッセイの必要が避けられる。

30

【0042】

A. 定義

本セクション及び本明細書中の全開示内容中に使用されているセクションヘッダーは限定的と意図されない。

【0043】

本明細書中で使用されている単数形“a”、“an”及び“the”は、文脈から明らかにそうでないことが示されていない限り複数形を含む。本明細書中の数値範囲の記述について、同程度の精度でその間に介在する各数が明白に考えられる。例えば、範囲6~9の場合6及び9に加えて数7及び8が考えられ、範囲6.0~7.0の場合数6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9及び7.0が明白に考えられる。

40

【0044】

a) アシル(及び他の化学構造基の定義)

本明細書中で使用されている用語「アシル」は、 $-C(O)R_a$ 基(ここで、 R_a は水素、アルキル、シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、フェニルまたはフェニルアル

50

キルである)を指す。アシルの代表例には、ホルミル、アセチル、シクロヘキシルカルボニル、シクロヘキシルメチルカルボニル、ベンゾイル、ベンジルカルボニル等が含まれるが、これらに限定されない。

【0045】

本明細書中で使用されている用語「アルケニル」は、2～10個の炭素を含有し且つ2個の水素の除去により形成される少なくとも1個の炭素-炭素二重結合を含む直鎖または分岐鎖炭化水素を意味する。アルケニルの代表例には、エテニル、2-プロペニル、2-メチル-2-プロペニル、3-ブテニル、4-ペンテニル、5-ヘキセニル、2-ヘプテニル、2-メチル-1-ヘプテニル及び3-デセニルが含まれるが、これらに限定されない。

10

【0046】

本明細書中で使用されている用語「アルキル」は、1～10個の炭素原子を含有する直鎖または分岐鎖炭化水素を意味する。アルキルの代表例には、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、sec-ブチル、イソブチル、tert-ブチル、n-ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、n-ヘキシル、3-メチルヘキシル、2,2-ジメチルペンチル、2,3-ジメチルペンチル、n-ヘプチル、n-オクチル、n-ノニル及びn-デシルが含まれるが、これらに限定されない。

【0047】

本明細書中で使用されている用語「アルキルラジカル」は、直鎖または分岐鎖炭化水素から誘導される一連の一般式 $C_n H_{2n+1}$ の一価の基を意味する。

20

【0048】

本明細書中で使用されている用語「アルコキシ」は、酸素原子を介して親分子部分に結合している本明細書中に定義されているアルキル基を意味する。アルコキシの代表例には、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、2-プロポキシ、ブトキシ、tert-ブトキシ、ペンチルオキシ及びヘキシルオキシが含まれるが、これらに限定されない。

【0049】

本明細書中で使用されている用語「アルキニル」は、2～10個の炭素原子を含有し且つ少なくとも1個の炭素-炭素三重結合を含む直鎖または分岐鎖炭化水素基を意味する。アルキニルの代表例には、アセチレニル、1-プロピニル、2-プロピニル、3-ブチニル、2-ペンチニル及び1-ブチニルが含まれるが、これらに限定されない。

30

【0050】

本明細書中で使用されている用語「アミド」は、カルボニル基(ここで、用語「カルボニル基」は $-C(O)-$ 基を指す)を介して親分子部分に結合しているアミノ基を指す。

【0051】

本明細書中で使用されている用語「アミノ」は、 $-NR_b R_c$ (ここで、 R_b 及び R_c は水素、アルキル及びアルキルカルボニルからなる群から独立して選択される)を意味する。

【0052】

本明細書中で使用されている用語「アルアルキル」は、本明細書中に定義されているアルキル基を介して親分子部分に結合しているアリール基を意味する。アリールアルキルの代表例には、ベンジル、2-フェニルエチル、3-フェニルプロピル及び2-ナフター-2-イルエチルが含まれるが、これらに限定されない。

40

【0053】

本明細書中で使用されている用語「アリール」は、フェニル基、或いは縮合環の1つ以上がフェニル基である二環式または三環式縮合環系を意味する。二環式縮合環系として、フェニル基がシクロアルケニル基、シクロアルキル基または別のフェニル基に縮合されているものが例示される。三環式縮合環系として、二環式縮合環系に本明細書中に定義されているシクロアルケニル基、シクロアルキル基または別のフェニル基に縮合されているものが例示される。アリールの代表例には、アントラセニル、アズレニル、フルオレニル、インダニル、インデニル、ナフチル、フェニル及びテトラヒドロナフチルが含まれるが、

50

これらに限定されない。本発明のアリール基は、場合によりアルコキシ、アルキル、カルボキシル、ハロ及びヒドロキシルからなる群から独立して選択される1～5個の置換基で置換されていてもよい。

【0054】

本明細書中で使用されている用語「カルボキシ」または「カルボキシル」は $-\text{CO}_2\text{H}$ または $-\text{CO}_2$ を指す。

【0055】

本明細書中で使用されている用語「カルボキシアルキル」は $-(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{H}$ または $-(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2-$ 基（ここで、 n は1～10である）を指す。

【0056】

本明細書中で使用されている用語「シアノ」は $-\text{CN}$ 基を意味する。

【0057】

本明細書中で使用されている用語「シクロアルケニル」は3～10個の炭素原子及び1～3個の環を有する非芳香族環式または二環式環系を指し、各5員環は1個の二重結合を有し、各6員環は1または2個の二重結合を有し、各7～8員環は1～3個の二重結合を有し、各9～10員環は1～4個の二重結合を有する。シクロアルケニル基の代表例には、シクロヘキセニル、オクタヒドロナフタレニル、ノルボルニレニル等が含まれる。シクロアルケニル基は場合によりアルコキシ、アルキル、カルボキシル、ハロ及びヒドロキシルからなる群から独立して選択される1～5個の置換基で置換されていてもよい。

【0058】

本明細書中で使用されている用語「シクロアルキル」は3～12個の炭素原子を有する飽和単環式、二環式または三環式炭化水素環系を指す。シクロアルキル基の代表例には、シクロプロピル、シクロペンチル、ビスシクロ[3.1.1]ヘプチル、アダマンチル等が含まれる。本発明のシクロアルキル基は場合によりアルコキシ、アルキル、カルボキシル、ハロ及びヒドロキシルからなる群から独立して選択される1～5個の置換基で置換されていてもよい。

【0059】

本明細書中で使用されている用語「シクロアルキルアルキル」は $-\text{R}_d\text{R}_e$ 基（ここで、 R_d はアルキレン基であり、 R_e はシクロアルキル基である）を意味する。シクロアルキルアルキル基の代表例はシクロヘキシルメチル等である。

【0060】

本明細書中で使用されている用語「ハロゲン」は $-\text{Cl}$ 、 $-\text{Br}$ 、 $-\text{I}$ または $-\text{F}$ を意味する。用語「ハライド」は、1つのパートがハロゲン原子であり、他のパートがハロゲンよりも余り電氣的陰性でない元素（例えば、アルキルラジカル）である二元化合物を意味する。

【0061】

本明細書中で使用されている用語「ヒドロキシル」は $-\text{OH}$ 基を意味する。

【0062】

本明細書中で使用されている用語「ニトロ」は $-\text{NO}_2$ 基を意味する。

【0063】

本明細書中で使用されている用語「オキシアルキル」は $-(\text{CH}_2)_n\text{C}(\text{O})\text{R}_a$ （ここで、 R_a は水素、アルキル、シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、フェニルまたはフェニルアルキルであり、 n は1～10である）を指す。

【0064】

本明細書中で使用されている用語「フェニルアルキル」はフェニル基で置換されているアルキル基を意味する。

【0065】

本明細書中で使用されている用語「スルホ」は $-\text{SO}_3\text{H}$ 基を意味する。

【0066】

本明細書中で使用されている用語「スルホアルキル」は $-(\text{CH}_2)_n\text{SO}_3\text{H}$ または

10

20

30

40

50

— (CH₂)_nSO₃⁻基（ここで、nは1～10である）を指す。

【0067】

b) アニオン

本明細書中で使用されている用語「アニオン」は無機または有機酸のアニオンを指し、前記酸の例には、塩酸、臭化水素酸、硫酸、メタンスルホン酸、ギ酸、酢酸、シュウ酸、コハク酸、酒石酸、マンデル酸、フマル酸、乳酸、クエン酸、グルタミン酸、アスパラギン酸、ホスフェート、トリフルオロメタンスルホン酸、トリフルオロ酢酸及びフルオロスルホン酸、並びにその組合せが含まれるが、これらに限定されない。

【0068】

c) 抗体

本明細書中で使用されている用語「抗体」は、実質的に免疫グロブリン遺伝子または免疫グロブリン遺伝子の断片によりエンコードされる1つ以上のポリペプチドから構成されるタンパク質を指し、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体及びその断片、並びに免疫グロブリン遺伝子配列から工学操作された分子を包含する。認識される免疫グロブリン遺伝子には、κ、λ、α、γ、δ、ε及びμ定常領域遺伝子、並びにミリアド免疫グロブリン可変領域遺伝子が含まれる。軽鎖はκまたはλとして分類される。重鎖はγ、μ、α、δまたはεとして分類され、これらはそれぞれ免疫グロブリンクラスIgG、IgM、IgA、IgD及びIgEを規定する。

【0069】

d) 過酸化水素を生成する酵素

本明細書中で使用されている用語「過酸化水素を生成する酵素」は、反応生成物として分子式H₂O₂を有する化合物、すなわち過酸化水素を生成し得る酵素を指す。過酸化水素を生成する酵素の非限定例を以下の表1にリストする。

【0070】

10

20

【表 1】

表 1

承認一般名	IUBMB 酵素命名法	好ましい基質
(R)-6-ヒト`ロキシニコチンオキシタ`セ`	EC 1.5.3.6	(R)-6-ヒト`ロキシニコチン
(S)-2-ヒト`ロキシ酸オキシタ`セ`	EC 1.1.3.15	(S)-2-ヒト`ロキシ酸
(S)-6-ヒト`ロキシニコチンオキシタ`セ`	EC 1.5.3.5	(S)-6-ヒト`ロキシニコチン
3-aci-ニトロフ`ロハ`ン酸オキシタ`セ`	EC 1.7.5.5	3-aci-ニトロフ`ロハ`ノエート
3-ヒト`ロキシアントラニル酸オキシタ`セ`	EC 1.10.3.5	3-ヒト`ロキシアントラニレート
4-ヒト`ロキシマンデ`ル酸オキシタ`セ`	EC 1.1.3.19	(S)-2-ヒト`ロキシ-2-(4-ヒト`ロキシ フェニル)アセート
6-ヒト`ロキシニコチン酸デ`ヒト`ロゲ`ナセ`	EC 1.17.3.3	6-ヒト`ロキシニコチネート
アブ`シシナルデ`ヒト`オキシタ`セ`	EC 1.2.3.14	アブ`シシナルデ`ヒト`
アシル-CoA オキシタ`セ`	EC 1.3.3.6	アシル-CoA
アルコールオキシタ`セ`	EC 1.1.3.13	第 1 級アルコール
アルデ`ヒト`オキシタ`セ`	EC 1.2.3.1	アルデ`ヒト`
アミノオキシタ`セ`		
アミノオキシタ`セ` (銅含有)	EC 1.4.3.6	第 1 級モノアミン、ジ`アミン及びヒスタミン
アミノオキシタ`セ` (フ`ルビン含有)	EC 1.4.3.4	第 1 級アミン
アリールアルコールオキシタ`セ`	EC 1.1.3.7	芳香族第 1 級アルコール (2-ナフチル)メタノール 3-メトキシベン`ゾ`ルアルコール
アリールアルデ`ヒト`オキシタ`セ`	EC 1.2.3.9	芳香族アルデ`ヒト`
ガテロールオキシタ`セ`	EC 1.1.3.14	ガテロール
コレステロールオキシタ`セ`	EC 1.1.3.6	コレステロール
コリンオキシタ`セ`	EC 1.1.3.17	コリン
コランバ`ミンオキシタ`セ`	EC 1.21.3.2	コランバ`ミン
シクロヘキシルアミノオキシタ`セ`	EC 1.4.3.12	シクロヘキシルアミン
シクロロム`C オキシタ`セ`	EC 1.9.3.1	
D-アミノ酸オキシタ`セ`	EC 1.4.3.3	D-アミノ酸
D-アラビ`ノノ-1, 4-ラクトンオキシタ`セ`	EC 1.1.3.37	D-アラビ`ノノ-1, 4-ラクトン
D-アラビ`ノノ-1, 4-ラクトンオキシタ`セ`	EC 1.1.3.37	D-アラビ`ノノ-1, 4-ラクトン
D-アスパ`ラギン酸オキシタ`セ`	EC 1.4.3.1	D-アスパ`ルテート
D-グルタミン酸オキシタ`セ`	EC 1.4.3.7	D-グルタメート
D-グルタミン酸 (D-アスパ`ラギン酸)オキシタ`セ`	EC 1.4.3.15	D-グルタメート
ジ`ヒト`ロベン`ゾ`フェナントリジ`ンオキシタ`セ`	EC 1.5.3.12	ジ`ヒト`ロサンギ`ナリン
ジ`ヒト`ロオロト酸オキシタ`セ`	EC 1.3.3.1	(S)-ジ`ヒト`ロオロテート
ジ`ヒト`ロウラシルオキシタ`セ`	EC 1.3.3.7	5, 6-ジ`ヒト`ロウラシル
ジ`メチルグ`リシンオキシタ`セ`	EC 1.5.3.10	N, N-ジ`メチルグ`リシン
D-マンニトールオキシタ`セ`	EC 1.1.3.40	マンニトール

10

20

30

40

エキシソンオキシダーゼ	EC 1.1.3.16	エキソソ
エタノールアミノオキシダーゼ	EC 1.4.3.8	エタノールアミン
ガラクトースオキシダーゼ	EC 1.1.3.9	D-ガラクトース
グルコースオキシダーゼ	EC 1.1.3.4	β -D-グルコース
グルタチオンオキシダーゼ	EC 1.8.3.3	グルタチオン
グリセロール-3-リン酸オキシダーゼ	EC 1.1.3.21	sn-グリセロール-3-ホスフェート
グリシンオキシダーゼ	EC 1.4.3.19	グリシン
グリオキシル酸オキシダーゼ	EC 1.2.3.5	グリオキシレート
ヘキソースオキシダーゼ	EC 1.1.3.5	D-グルコース D-ガラクトース D-マンノース マルトース ラクトース セロビオース
ヒドロキシフィタン酸オキシダーゼ	EC 1.1.3.27	L-2-ヒドロキシフィタネート
インドール-3-アセトアルデヒドオキシダーゼ	EC 1.2.3.7	(インドール-3-イル)アセトアルデヒド
乳酸オキシダーゼ		乳酸
L-アミノ酸オキシダーゼ	EC 1.4.3.2	L-アミノ酸
L-アスパラギン酸オキシダーゼ	EC 1.4.3.16	L-アスパルテート
L-ガラクトノラクトンオキシダーゼ	EC 1.3.3.12	L-ガラクトノ-1,4-ラクトン
L-グルタミン酸オキシダーゼ	EC 1.4.3.11	L-グルタメート
L-グロノラクトンオキシダーゼ	EC 1.1.3.8	L-グロノ-1,4-ラクトン
L-リシン 6-オキシダーゼ	EC 1.4.3.20	L-リシン
L-リシンオキシダーゼ	EC 1.4.3.14	L-リシン
長鎖アルコールオキシダーゼ	EC 1.1.3.20	長鎖アルコール
L-ヒペコリン酸オキシダーゼ	EC 1.5.3.7	L-ヒペコレート
L-ソルボースオキシダーゼ	EC 1.1.3.11	L-ソルボース
リンゴ酸オキシダーゼ	EC 1.1.3.3	(S)-マレート
メタンチオールオキシダーゼ	EC 1.8.3.4	メタンチオール
モノアミノ酸オキシダーゼ		
N ⁶ -メチルリシンオキシダーゼ	EC 1.5.3.4	6-N-メチル-L-リシン
N-アシルヘキサミンオキシダーゼ	EC 1.1.3.29	N-アセチル-D-グルコサミン N-グリコリルグルコサミン N-アセチルガラクトサミン N-アセチルマンノサミン
NAD(P)Hオキシダーゼ	EC 1.6.3.1	NAD(P)H
ニトロアルカンオキシダーゼ	EC 1.7.3.1	ニトロアルカン
N-メチル-L-アミノ酸オキシダーゼ	EC 1.5.3.2	N-メチル-L-アミノ酸
ヌクレオチドオキシダーゼ	EC 1.1.3.39	アデニン
シュウ酸オキシダーゼ	EC 1.2.3.4	オキサレート
ホリアミンオキシダーゼ	EC 1.5.3.11	1-N-アセチルスベルミン
ホリフェノールオキシダーゼ	EC 1.14.18.1	
ホリビニルアルコールオキシダーゼ	EC 1.1.3.30	ホリビニルアルコール
プレニルシステインオキシダーゼ	EC 1.8.3.5	S-プレニル-L-システイン

10

20

30

40

タンパク質-リン 6-オキシダーゼ	EC 1.4.3.13	ペプチジル-L-リシルペプチド
プロリンオキシダーゼ	EC 1.4.3.10	ブタン-1,4-ジアミン
ヒラノスオキシダーゼ	EC 1.1.3.10	D-グルコース D-キシロース L-ソルボース D-グルコース-1,5-ラク톤
ヒリトキサル 5'-リン酸シターゼ	EC 1.4.3.5	ヒリトキサミン 5'-ホスフェート
ヒリトキシ 4-オキシダーゼ	EC 1.1.3.12	ヒリトキシ
ヒドロキリンキノシンターゼ	EC 1.3.3.11	6-(2-アミノ-2-カルボキシエチル)-7,8-ジオキソ-1,2,3,4,5,6,7,8-オクタヒドロキノリン-2,4-ジカルボキシル
ヒルビン酸オキシダーゼ	EC 1.2.3.3	ヒルベート
ヒルビン酸オキシダーゼ (CoA-アセチル化)	EC 1.2.3.6	ヒルベート
レチクリンオキシダーゼ	EC 1.21.3.3	レチクリン
レチナルオキシダーゼ	EC 1.2.3.11	レチナル
リファマイシン B オキシダーゼ	EC 1.10.3.6	リファマイシン B
サルコシンオキシダーゼ	EC 1.5.3.1	サルコシン
第 2 級アルコールオキシダーゼ	EC 1.1.3.18	第 2 級アルコール
亜硫酸オキシダーゼ	EC 1.8.3.1	スルフィット
スーパーオキシドジスムターゼ	EC 1.15.1.1	スーパーオキシド
スーパーオキシドレダクターゼ	EC 1.15.1.2	スーパーオキシド
テトラヒドロペルリンオキシダーゼ	EC 1.3.3.8	(S)-テトラヒドロペルリン
チアミンオキシダーゼ	EC 1.1.3.23	チアミン
トリプトファン α , β -オキシダーゼ	EC 1.3.3.10	L-トリプトファン
尿酸オキシダーゼ (ウリカーゼ、尿酸オキシダーゼ)	EC 1.7.3.3	尿酸
バニリルアルコールオキシダーゼ	EC 1.1.3.38	バニリルアルコール
キサンチンオキシダーゼ	EC 1.17.3.2	キサンチン
キシリトールオキシダーゼ	EC 1.1.3.41	キシリトール

10

20

30

【0071】

e) 自己抗体

本明細書中で使用されているフレーズ「自己抗体」は、アナライトに結合する抗体であって、該抗体が産生される被験者において内因的に産生されるものを指す。

【0072】

f) 特異的結合パートナー

本明細書中で使用されているフレーズ「特異的結合パートナー」は特異的結合対のメンバー、すなわち分子の1つが化学的または物理的手段を介して第2分子に特異的に結合する2つの別々の分子である。従って、一般的イムノアッセイの抗原及び抗体特異的結合対に加えて、他の特異的結合対にはビオチンとアビジン、炭水化物とレクチン、相補的ヌクレオチド配列、エフェクター及び受容体分子、補因子と酵素、酵素阻害剤と酵素等が含まれ得る。更に、特異的結合対には、元の特異的結合対のアナログであるメンバー、例えばアナライトアナログが含まれ得る。免疫反応性特異的結合メンバーには、組換えDNA分子により形成されるものを含めた抗原、抗原断片、モノクローナル及びポリクローナルの両方の抗体及び抗体断片、並びにその複合体が含まれる。

40

【0073】

g) 特異的結合パートナータンパク質複合体

本明細書中で使用されているフレーズ「特異的結合パートナータンパク質複合体」は、対象タンパク質である抗原と抗体の組合せを指し、抗体とタンパク質は抗体上の抗原組

50

合せ部位と抗原エピトープ間の特異的非共有相互作用により結合されている。

【0074】

h) 検出可能標識

本明細書中で使用されている用語「検出可能標識」は、カップリングさせた1つ以上の分子の状態の変化の光学的、電氣的または他の物理的インジケーションにより測定可能なシグナルを発生する部分を指す。前記物理的インジケータは分光的、光化学的、生化学的、免疫化学的、電磁氣的、放射化学的及び化学的手段を包含し、非限定的に蛍光、化学蛍光、化学発光等が例示される。好ましい検出可能標識には、本明細書中の以下のセクションBに記載されている式Iに記載の構造を有するアクリジニウム-9-カルボキサミド及び本明細書中の以下のセクションBに記載されている式IIに記載の構造を有するアクリジニウム-9-カルボキシレーシアリールエステルのようなアクリジニウム化合物が含まれる。

10

【0075】

i) 被験者

本明細書中で使用されている用語「被験者」及び「患者」は、被験者が任意の形の治療を受けたかまたは現在受けているかに関係なく互換可能に使用されている。本明細書中で使用されている用語「被験者」は脊椎動物を指し、脊椎動物には哺乳動物（例えば、ウシ、ブタ、ラクダ、ラマ、ウマ、ヤギ、家兎、ヒツジ、ハムスター、モルモット、ネコ、イヌ、ラット及びマウス、非ヒト霊長類（例えば、カニクイザルのようなサル、チンパンジー等）、及びヒト）が含まれるが、これらに限定されない。好ましくは、被験者はヒトである。

20

【0076】

j) 検査サンプル

本明細書中で使用されている用語「検査サンプル」は、一般的には対象タンパク質について検査する及び／または対象タンパク質を含有すると疑われ、対象タンパク質に対する自己抗体も含んでいるかもしれない生体材料を指す。生体材料は任意の生体ソースから誘導され得るが、好ましくは対象タンパク質を含有していそうな体液である。生体材料の例には、便、全血、血清、血漿、赤血球、血小板、間質液、唾液、眼内液、脳脊髄液、汗、尿、腹水、粘液、鼻汁、唾液、滑液、腹腔液、腔液、月経分泌物、羊水、精液、土壌等が含まれるが、これらに限定されない。検査サンプルは生体ソースから入手したまま直接使用しても、またはサンプルの特性を修飾するために前処理した後使用してもよい。例えば、前処理には血液からの血漿の調製、粘性流体の希釈等が含まれる。前処理方法には、濾過、沈殿、希釈、蒸留、混合、濃縮、干渉成分の不活性化、試薬の添加、溶解等も含まれ得る。前処理方法を検査サンプルに対して使用する場合、前処理方法は対象タンパク質を未処理検査サンプル（例えば、すなわち、前処理方法にかけられていない検査サンプル）中の濃度に比例した濃度で検査サンプル中に残存させるような方法である。

30

【0077】

B. ペプチド試薬

自己抗原には、被験者において特定の病的状態または損傷に関連して内因的に産生されることが公知の多数のタンパク質が含まれる。自己抗体が同定されている自己抗原には、トロポニン、すなわち心臓トロポニンI（配列番号1）及び心臓トロポニンT（配列番号2）；甲状腺刺激ホルモン（TSH）（配列番号3）；ヒト絨毛性ゴナドトロピンのβ-サブユニット（β-HCG）（配列番号4）；ミエロペルオキシダーゼ（MPO）（配列番号5）；前立腺特異抗原（PSA）（配列番号6）；ヒトB型ナトリウム利尿ペプチド（hBNP）（配列番号7）；ミオシン軽鎖2（配列番号8）；ミオシン-6（配列番号9）及びミオシン-7（配列番号10）が含まれる。

40

【0078】

本発明のペプチド試薬は標的自己抗原のアミノ酸配列から誘導され、自己抗原に対する自己抗体による干渉を防ぐためにイムノアッセイフォーマットで使用され得る。より具体的には、ペプチド試薬は自己抗原と検査サンプル中に存在しているかもしれない自己抗原

50

に対する自己抗体間の相互作用を阻止するために使用される。各ペプチド試薬は単独で、または標的タンパク質から誘導される1つ以上の他のペプチド試薬と一緒に使用され得る。同一標的タンパク質から誘導される異なるペプチド試薬を組み合わせると、相乗的阻止効果が得られると考えられる。

【0079】

ペプチド試薬は標的自己抗原のアミノ酸配列由来の少なくとも5連続アミノ酸残基を含む。1つの実施形態では、ペプチド試薬は標的自己抗原のアミノ酸配列由来の5～15連続アミノ酸残基を含む。例えば、心臓トロポニンIを標的自己抗原として考えれば、ペプチド試薬は心臓トロポニンIのアミノ酸配列（図1；配列番号1）中のどこかに由来するの5～15連続アミノ酸残基の配列を含む。例えば、ペプチド試薬は以下のアミノ酸配列：ADGSS（残基1－5）、KFFES（残基205－209）またはKKKSKISASRKLQLK（残基35－49）、或いは心臓トロポニンIのアミノ酸配列（配列番号1）中のどこかに由来する5～15連続アミノ酸残基の他の配列を含み得る。表2には、心臓トロポニンI（配列番号1）由来の5連続アミノ酸残基から構成される典型的ペプチド試薬についてのアミノ酸配列がリストされている。追加のペプチド試薬は、表2中にリストされている5アミノ酸長配列のいずれか1つ＋前記5アミノ酸長配列に（タンパク質アミノ配列内のいずれかの側から）連続する配列番号1由来の多くとも全部で10個の追加連続アミノ酸残基を含む多くとも15アミノ酸残基の長さを有し得る。

【0080】

【表 2】

表 2:

Ala Asp Gly Ser Ser	Leu Leu Leu Gln Ile	Ala Arg Val Asp Lys
Asp Gly Ser Ser Asp	Leu Leu Gln Ile Ala	Arg Val Asp Lys Val
Gly Ser Ser Asp Ala	Leu Gln Ile Ala Lys	Val Asp Lys Val Asp
Ser Ser Asp Ala Ala	Gln Ile Ala Lys Gln	Asp Lys Val Asp Glu
Ser Asp Ala Ala Arg	Ile Ala Lys Gln Glu	Lys Val Asp Glu Glu
Asp Ala Ala Arg Glu	Ala Lys Gln Glu Leu	Val Asp Glu Glu Arg
Ala Ala Arg Glu Pro	Lys Gln Glu Leu Glu	Asp Glu Glu Arg Tyr
Ala Arg Glu Pro Arg	Gln Glu Leu Glu Arg	Glu Glu Arg Tyr Asp
Arg Glu Pro Arg Pro	Glu Leu Glu Arg Glu	Glu Arg Tyr Asp Ile
Glu Pro Arg Pro Ala	Leu Glu Arg Glu Ala	Arg Tyr Asp Ile Glu
Pro Arg Pro Ala Pro	Glu Arg Glu Ala Glu	Tyr Asp Ile Glu Ala
Arg Pro Ala Pro Ala	Arg Glu Ala Glu Glu	Asp Ile Glu Ala Lys
Pro Ala Pro Ala Pro	Glu Ala Glu Glu Arg	Ile Glu Ala Lys Val
Ala Pro Ala Pro Ile	Ala Glu Glu Arg Arg	Glu Ala Lys Val Thr
Pro Ala Pro Ile Arg	Glu Glu Arg Arg Gly	Ala Lys Val Thr Lys
Ala Pro Ile Arg Arg	Glu Arg Arg Gly Glu	Lys Val Thr Lys Asn
Pro Ile Arg Arg Arg	Arg Arg Gly Glu Lys	Val Thr Lys Asn Ile
Ile Arg Arg Arg Ser	Arg Gly Glu Lys Gly	Thr Lys Asn Ile Thr
Arg Arg Arg Ser Ser	Gly Glu Lys Gly Arg	Lys Asn Ile Thr Glu
Arg Arg Ser Ser Asn	Glu Lys Gly Arg Ala	Asn Ile Thr Glu Ile
Arg Ser Ser Asn Tyr	Lys Gly Arg Ala Leu	Ile Thr Glu Ile Ala
Ser Ser Asn Tyr Arg	Gly Arg Ala Leu Ser	Thr Glu Ile Ala Asp
Ser Asn Tyr Arg Ala	Arg Ala Leu Ser Thr	Glu Ile Ala Asp Leu
Asn Tyr Arg Ala Tyr	Ala Leu Ser Thr Arg	Ile Ala Asp Leu Thr
Tyr Arg Ala Tyr Ala	Leu Ser Thr Arg Cys	Ala Asp Leu Thr Gln
Arg Ala Tyr Ala Thr	Ser Thr Arg Cys Gln	Asp Leu Thr Gln Lys

10

20

30

Ala Tyr Ala Thr Glu	Thr Arg Cys Gln Pro	Leu Thr Gln Lys Ile
Tyr Ala Thr Glu Pro	Arg Cys Gln Pro Leu	Thr Gln Lys Ile Phe
Ala Thr Glu Pro His	Cys Gln Pro Leu Glu	Gln Lys Ile Phe Asp
Thr Glu Pro His Ala	Gln Pro Leu Glu Leu	Lys Ile Phe Asp Leu
Glu Pro His Ala Lys	Pro Leu Glu Leu Ala	Ile Phe Asp Leu Arg
Pro His Ala Lys Lys	Leu Glu Leu Ala Gly	Phe Asp Leu Arg Gly
His Ala Lys Lys Lys	Glu Leu Ala Gly Leu	Asp Leu Arg Gly Lys
Ala Lys Lys Lys Ser	Leu Ala Gly Leu Gly	Leu Arg Gly Lys Phe
Lys Lys Lys Ser Lys	Ala Gly Leu Gly Phe	Arg Gly Lys Phe Lys
Lys Lys Ser Lys Ile	Gly Leu Gly Phe Ala	Gly Lys Phe Lys Arg
Lys Ser Lys Ile Ser	Leu Gly Phe Ala Glu	Lys Phe Lys Arg Pro
Ser Lys Ile Ser Ala	Gly Phe Ala Glu Leu	Phe Lys Arg Pro Thr
Lys Ile Ser Ala Ser	Phe Ala Glu Leu Gln	Lys Arg Pro Thr Leu
Ile Ser Ala Ser Arg	Ala Glu Leu Gln Asp	Arg Pro Thr Leu Arg
Ser Ala Ser Arg Lys	Glu Leu Gln Asp Leu	
Ala Ser Arg Lys Leu	Leu Gln Asp Leu Cys	
Ser Arg Lys Leu Gln	Gln Asp Leu Cys Arg	
Arg Lys Leu Gln Leu	Asp Leu Cys Arg Gln	
Lys Leu Gln Leu Lys	Leu Cys Arg Gln Leu	
Leu Gln Leu Lys Thr	Cys Arg Gln Leu His	
Gln Leu Lys Thr Leu	Arg Gln Leu His Ala	
Leu Lys Thr Leu Leu	Gln Leu His Ala Arg	
Lys Thr Leu Leu Leu	Leu His Ala Arg Val	
Thr Leu Leu Leu Gln	His Ala Arg Val Asp	

10

20

30

【 0 0 8 1 】

心臓トロポニン T（配列番号 2）が標的自己抗原である場合、ペプチド試薬は心臓トロポニン T のアミノ酸配列（配列番号 2）中のどこかに由来する 5 ～ 15 連続アミノ酸残基の配列を含む。表 3 には、心臓トロポニン T（配列番号 2）由来の 5 連続アミノ酸残基から構成される典型的ペプチド試薬についてのアミノ酸配列がリストされている。追加のペプチド試薬は、表 3 中にリストされている 5 アミノ酸長配列のいずれか 1 つ + 前記 5 アミノ酸長配列に（タンパク質アミノ酸配列内のいずれかの側から）連続する配列番号 2 由来の多くとも全部で 10 個の追加連続アミノ酸残基を含む多くとも 15 アミノ酸残基の長さを有し得る。

40

【 0 0 8 2 】

【表 3】

表 3:

	Ser Asp Ile Glu Glu		Arg Ala Glu Glu Asp
	Asp Ile Glu Glu Val		Ala Glu Glu Asp Glu
	Ile Glu Glu Val Val		Glu Glu Asp Glu Glu
	Glu Glu Val Val Glu		Glu Asp Glu Glu Glu
	Glu Val Val Glu Glu		Asp Glu Glu Glu Glu
	Val Val Glu Glu Tyr		Glu Glu Glu Glu Glu
	Val Glu Glu Tyr Glu		Glu Glu Glu Glu Ala
	Glu Glu Tyr Glu Glu		Glu Glu Glu Ala Lys
	Glu Tyr Glu Glu Glu		Glu Glu Ala Lys Glu
	Tyr Glu Glu Glu Glu		Glu Ala Lys Glu Ala
	Glu Glu Glu Glu Gln		Ala Lys Glu Ala Glu
	Glu Glu Glu Gln Glu		Lys Glu Ala Glu Asp
	Glu Glu Gln Glu Glu		Glu Ala Glu Asp Gly
	Glu Gln Glu Glu Ala		Ala Glu Asp Gly Pro
	Gln Glu Glu Ala Ala		Glu Asp Gly Pro Met
	Glu Glu Ala Ala Val		Asp Gly Pro Met Glu
	Glu Ala Ala Val Glu		Gly Pro Met Glu Glu
	Ala Ala Val Glu Glu		Pro Met Glu Glu Ser
	Ala Val Glu Glu Glu		Met Glu Glu Ser Lys
	Val Glu Glu Glu Glu		Glu Glu Ser Lys Pro
	Glu Glu Glu Glu Asp		Glu Ser Lys Pro Lys
	Glu Glu Glu Asp Trp		Ser Lys Pro Lys Pro
	Glu Glu Asp Trp Arg		Lys Pro Lys Pro Arg
	Glu Asp Trp Arg Glu		Pro Lys Pro Arg Ser
	Asp Trp Arg Glu Asp		Lys Pro Arg Ser Phe
	Trp Arg Glu Asp Glu		Pro Arg Ser Phe Met
	Arg Glu Asp Glu Asp		
	Glu Asp Glu Asp Glu		
	Asp Glu Asp Glu Gln		

10

20

30

40

	Glu Asp Glu Gln Glu		
	Asp Glu Gln Glu Glu		
	Glu Gln Glu Glu Ala		
	Gln Glu Glu Ala Ala		
	Glu Glu Ala Ala Glu		
	Glu Ala Ala Glu Glu		
	Ala Ala Glu Glu Asp		
	Ala Glu Glu Asp Ala		
	Glu Glu Asp Ala Glu		
	Glu Asp Ala Glu Ala		
	Asp Ala Glu Ala Glu		
	Ala Glu Ala Glu Ala		
	Glu Ala Glu Ala Glu		
	Ala Glu Ala Glu Thr		
	Glu Ala Glu Thr Glu		
	Ala Glu Thr Glu Glu		
	Glu Thr Glu Glu Thr		
	Thr Glu Glu Thr Arg		
	Glu Glu Thr Arg Ala		
	Glu Thr Arg Ala Glu		
	Thr Arg Ala Glu Glu		

10

20

30

【 0 0 8 3 】

甲状腺刺激ホルモン（TSH）（配列番号3）が標的自己抗原である場合、ペプチド試薬はTSHのアミノ酸配列（配列番号3）中のどこかに由来する5～15連続アミノ酸残基の配列を含む。表3には、TSH（配列番号3）由来の5連続アミノ酸残基から構成される典型的ペプチド試薬についてのアミノ酸配列がリストされている。追加のペプチド試薬は、表4中にリストされている5アミノ酸長配列のいずれか1つ＋前記5アミノ酸長配列に（タンパク質アミノ酸配列内のいずれかの側から）連続する配列番号3由来の多くとも全部で10個の追加連続アミノ酸残基を含む多くとも15アミノ酸残基の長さを有し得る。

40

【 0 0 8 4 】

【表 4】

表 4:

	Thr Ala Leu Phe Leu		Met Thr Arg Asp Ile		Ser Cys Lys Cys Gly
	Ala Leu Phe Leu Met		Thr Arg Asp Ile Asn		Cys Lys Cys Gly Lys
	Leu Phe Leu Met Ser		Arg Asp Ile Asn Gly		Lys Cys Gly Lys Cys
	Phe Leu Met Ser Met		Asp Ile Asn Gly Lys		Cys Gly Lys Cys Asn
	Leu Met Ser Met Leu		Ile Asn Gly Lys Leu		Gly Lys Cys Asn Thr
	Met Ser Met Leu Phe		Asn Gly Lys Leu Phe		Lys Cys Asn Thr Asp
	Ser Met Leu Phe Gly		Gly Lys Leu Phe Leu		Cys Asn Thr Asp Tyr
	Met Leu Phe Gly Leu		Lys Leu Phe Leu Pro		Asn Thr Asp Tyr Ser
	Leu Phe Gly Leu Ala		Leu Phe Leu Pro Lys		Thr Asp Tyr Ser Asp
	Phe Gly Leu Ala Cys		Phe Leu Pro Lys Tyr		Asp Tyr Ser Asp Cys
	Gly Leu Ala Cys Gly		Leu Pro Lys Tyr Ala		Tyr Ser Asp Cys Ile
	Leu Ala Cys Gly Gln		Pro Lys Tyr Ala Leu		Ser Asp Cys Ile His
	Ala Cys Gly Gln Ala		Lys Tyr Ala Leu Ser		Asp Cys Ile His Glu
	Cys Gly Gln Ala Met		Tyr Ala Leu Ser Gln		Cys Ile His Glu Ala
	Gly Gln Ala Met Ser		Ala Leu Ser Gln Asp		Ile His Glu Ala Ile
	Gln Ala Met Ser Phe		Leu Ser Gln Asp Val		His Glu Ala Ile Lys
	Ala Met Ser Phe Cys		Ser Gln Asp Val Cys		Glu Ala Ile Lys Thr
	Met Ser Phe Cys Ile		Gln Asp Val Cys Thr		Ala Ile Lys Thr Asn
	Ser Phe Cys Ile Pro		Asp Val Cys Thr Tyr		Ile Lys Thr Asn Tyr
	Phe Cys Ile Pro Thr		Val Cys Thr Tyr Arg		Lys Thr Asn Tyr Cys
	Cys Ile Pro Thr Glu		Cys Thr Tyr Arg Asp		Thr Asn Tyr Cys Thr
	Ile Pro Thr Glu Tyr		Thr Tyr Arg Asp Phe		Asn Tyr Cys Thr Lys
	Pro Thr Glu Tyr Thr		Tyr Arg Asp Phe Ile		Tyr Cys Thr Lys Pro
	Thr Glu Tyr Thr Met		Arg Asp Phe Ile Tyr		Cys Thr Lys Pro Gln
	Glu Tyr Thr Met His		Asp Phe Ile Tyr Arg		Thr Lys Pro Gln Lys
	Tyr Thr Met His Ile		Phe Ile Tyr Arg Thr		Lys Pro Gln Lys Ser
	Thr Met His Ile Glu		Ile Tyr Arg Thr Val		Pro Gln Lys Ser Tyr
	Met His Ile Glu Arg		Tyr Arg Thr Val Glu		Gln Lys Ser Tyr Leu
	His Ile Glu Arg Arg		Arg Thr Val Glu Ile		Lys Ser Tyr Leu Val
	Ile Glu Arg Arg Glu		Thr Val Glu Ile Pro		Ser Tyr Leu Val Gly
	Glu Arg Arg Glu Cys		Val Glu Ile Pro Gly		Tyr Leu Val Gly Phe
	Arg Arg Glu Cys Ala		Glu Ile Pro Gly Cys		Leu Val Gly Phe Ser

10

20

30

40

	Arg Glu Cys Ala Tyr		Ile Pro Gly Cys Pro		Val Gly Phe Ser Val
	Glu Cys Ala Tyr Cys		Pro Gly Cys Pro Leu		
	Cys Ala Tyr Cys Leu		Gly Cys Pro Leu His		
	Ala Tyr Cys Leu Thr		Cys Pro Leu His Val		
	Tyr Cys Leu Thr Ile		Pro Leu His Val Ala		
	Cys Leu Thr Ile Asn		Leu His Val Ala Pro		
	Leu Thr Ile Asn Thr		His Val Ala Pro Tyr		
	Thr Ile Asn Thr Thr		Val Ala Pro Tyr Phe		
	Ile Asn Thr Thr Ile		Ala Pro Tyr Phe Ser		
	Asn Thr Thr Ile Cys		Pro Tyr Phe Ser Tyr		
	Thr Thr Ile Cys Ala		Tyr Phe Ser Tyr Pro		
	Thr Ile Cys Ala Gly		Phe Ser Tyr Pro Val		
	Ile Cys Ala Gly Tyr		Ser Tyr Pro Val Ala		
	Cys Ala Gly Tyr Cys		Tyr Pro Val Ala Leu		
	Ala Gly Tyr Cys Met		Pro Val Ala Leu Ser		
	Gly Tyr Cys Met Thr		Val Ala Leu Ser Cys		
	Tyr Cys Met Thr Arg		Ala Leu Ser Cys Lys		
	Cys Met Thr Arg Asp		Leu Ser Cys Lys Cys		

10

20

【 0 0 8 5 】

ヒト絨毛性ゴナドトロピンの β -サブユニット (β -HCG) (配列番号4) が標的自己抗原である場合、ペプチド試薬は β -HCGのアミノ酸配列 (配列番号4) 中のどこかに由来する5～15連続アミノ酸残基の配列を含む。表5には、 β -HCG (配列番号4) 由来の5連続アミノ酸残基から構成される典型的ペプチド試薬についてのアミノ酸配列がリストされている。追加のペプチド試薬は、表5中にリストされている5アミノ酸長配列のいずれか1つ+前記5アミノ酸長配列に (タンパク質アミノ酸配列内のいずれかの側から) 連続する配列番号4由来の多くとも全部で10個の追加連続アミノ酸残基を含む多くとも15アミノ酸残基の長さを有し得る。

30

【 0 0 8 6 】

【表5】

表 5:

	Glu Met Phe Gln Gly		Thr Ile Cys Ala Gly		Tyr Ala Val Ala Leu
	Met Phe Gln Gly Leu		Ile Cys Ala Gly Tyr		Ala Val Ala Leu Ser
	Phe Gln Gly Leu Leu		Cys Ala Gly Tyr Cys		Val Ala Leu Ser Cys

40

	Gln Gly Leu Leu Leu		Ala Gly Tyr Cys Pro		Ala Leu Ser Cys Gln
	Gly Leu Leu Leu Leu		Gly Tyr Cys Pro Thr		Leu Ser Cys Gln Cys
	Leu Leu Leu Leu Leu		Tyr Cys Pro Thr Met		Ser Cys Gln Cys Ala
	Leu Leu Leu Leu Leu		Cys Pro Thr Met Thr		Cys Gln Cys Ala Leu
	Leu Leu Leu Leu Leu		Pro Thr Met Thr Arg		Gln Cys Ala Leu Cys
	Leu Leu Leu Leu Ser		Thr Met Thr Arg Val		Cys Ala Leu Cys Arg
	Leu Leu Leu Ser Met		Met Thr Arg Val Leu		Ala Leu Cys Arg Arg
	Leu Leu Ser Met Gly		Thr Arg Val Leu Gln		Leu Cys Arg Arg Ser
	Leu Ser Met Gly Gly		Arg Val Leu Gln Gly		Cys Arg Arg Ser Thr
	Ser Met Gly Gly Thr		Val Leu Gln Gly Val		Arg Arg Ser Thr Thr
	Met Gly Gly Thr Trp		Leu Gln Gly Val Leu		Arg Ser Thr Thr Asp
	Gly Gly Thr Trp Ala		Gln Gly Val Leu Pro		Ser Thr Thr Asp Cys
	Gly Thr Trp Ala Ser		Gly Val Leu Pro Ala		Thr Thr Asp Cys Gly
	Thr Trp Ala Ser Lys		Val Leu Pro Ala Leu		Thr Asp Cys Gly Gly
	Trp Ala Ser Lys Glu		Leu Pro Ala Leu Pro		Asp Cys Gly Gly Pro
	Ala Ser Lys Glu Pro		Pro Ala Leu Pro Gln		Cys Gly Gly Pro Lys
	Ser Lys Glu Pro Leu		Ala Leu Pro Gln Val		Gly Gly Pro Lys Asp
	Lys Glu Pro Leu Arg		Leu Pro Gln Val Val		Gly Pro Lys Asp His
	Glu Pro Leu Arg Pro		Pro Gln Val Val Cys		Pro Lys Asp His Pro
	Pro Leu Arg Pro Arg		Gln Val Val Cys Asn		Lys Asp His Pro Leu
	Leu Arg Pro Arg Cys		Val Val Cys Asn Tyr		Asp His Pro Leu Thr
	Arg Pro Arg Cys Arg		Val Cys Asn Tyr Arg		His Pro Leu Thr Cys
	Pro Arg Cys Arg Pro		Cys Asn Tyr Arg Asp		Pro Leu Thr Cys Asp
	Arg Cys Arg Pro Ile		Asn Tyr Arg Asp Val		Leu Thr Cys Asp Asp
	Cys Arg Pro Ile Asn		Tyr Arg Asp Val Arg		Thr Cys Asp Asp Pro
	Arg Pro Ile Asn Ala		Arg Asp Val Arg Phe		Cys Asp Asp Pro Arg
	Pro Ile Asn Ala Thr		Asp Val Arg Phe Glu		Asp Asp Pro Arg Phe
	Ile Asn Ala Thr Leu		Val Arg Phe Glu Ser		Asp Pro Arg Phe Gln
	Asn Ala Thr Leu Ala		Arg Phe Glu Ser Ile		Pro Arg Phe Gln Asp
	Ala Thr Leu Ala Val		Phe Glu Ser Ile Arg		Arg Phe Gln Asp Ser
	Thr Leu Ala Val Glu		Glu Ser Ile Arg Leu		Phe Gln Asp Ser Ser
	Leu Ala Val Glu Lys		Ser Ile Arg Leu Pro		Gln Asp Ser Ser Ser

10

20

30

40

	Ala Val Glu Lys Glu		Ile Arg Leu Pro Gly		Asp Ser Ser Ser Ser
	Val Glu Lys Glu Gly		Arg Leu Pro Gly Cys		Ser Ser Ser Ser Lys
	Glu Lys Glu Gly Cys		Leu Pro Gly Cys Pro		Ser Ser Ser Lys Ala
	Lys Glu Gly Cys Pro		Pro Gly Cys Pro Arg		Ser Ser Lys Ala Pro
	Glu Gly Cys Pro Val		Gly Cys Pro Arg Gly		Ser Lys Ala Pro Pro
	Gly Cys Pro Val Cys		Cys Pro Arg Gly Val		
	Cys Pro Val Cys Ile		Pro Arg Gly Val Asn		
	Pro Val Cys Ile Thr		Arg Gly Val Asn Pro		
	Val Cys Ile Thr Val		Gly Val Asn Pro Val		
	Cys Ile Thr Val Asn		Val Asn Pro Val Val		
	Ile Thr Val Asn Thr		Asn Pro Val Val Ser		
	Thr Val Asn Thr Thr		Pro Val Val Ser Tyr		
	Val Asn Thr Thr Ile		Val Val Ser Tyr Ala		
	Asn Thr Thr Ile Cys		Val Ser Tyr Ala Val		
	Thr Thr Ile Cys Ala		Ser Tyr Ala Val Ala		

10

20

【 0 0 8 7 】

ミエロペルオキシダーゼ（MPO）（配列番号 5）が標的自己抗原である場合、ペプチド試薬は MPO のアミノ酸配列（配列番号 5）中のどこかに由来する 5 ～ 15 連続アミノ酸残基の配列を含む。表 6 には、MPO（配列番号 5）由来の 5 連続アミノ酸残基から構成される典型的ペプチド試薬についてのアミノ酸配列がリストされている。追加のペプチド試薬は、表 6 中にリストされている 5 アミノ酸長配列のいずれか 1 つ + 前記 5 アミノ酸長配列に（タンパク質アミノ酸配列内のいずれかの側から）連続する配列番号 5 由来の多くとも全部で 10 個の追加連続アミノ酸残基を含む多くとも 15 アミノ酸残基の長さを有し得る。

30

【 0 0 8 8 】

【表 6】

表 6:

	Gly Val Pro Phe Phe		Ala Val Leu Gly Glu		Phe Lys Gln Pro Val
	Val Pro Phe Phe Ser		Val Leu Gly Glu Val		Lys Gln Pro Val Ala
	Pro Phe Phe Ser Ser		Leu Gly Glu Val Asp		Gln Pro Val Ala Ala
	Phe Phe Ser Ser Leu		Gly Glu Val Asp Thr		Pro Val Ala Ala Thr
	Phe Ser Ser Leu Arg		Glu Val Asp Thr Ser		Val Ala Ala Thr Arg
	Ser Ser Leu Arg Cys		Val Asp Thr Ser Leu		Ala Ala Thr Arg Thr
	Ser Leu Arg Cys Met		Asp Thr Ser Leu Val		Ala Thr Arg Thr Ala

40

	Leu Arg Cys Met Val		Thr Ser Leu Val Leu		Thr Arg Thr Ala Val
	Arg Cys Met Val Asp		Ser Leu Val Leu Ser		Arg Thr Ala Val Arg
	Cys Met Val Asp Leu		Leu Val Leu Ser Ser		Thr Ala Val Arg Ala
	Met Val Asp Leu Gly		Val Leu Ser Ser Met		Ala Val Arg Ala Ala
	Val Asp Leu Gly Pro		Leu Ser Ser Met Glu		Val Arg Ala Ala Asp
	Asp Leu Gly Pro Cys		Ser Ser Met Glu Glu		Arg Ala Ala Asp Tyr
	Leu Gly Pro Cys Trp		Ser Met Glu Glu Ala		Ala Ala Asp Tyr Leu
	Gly Pro Cys Trp Ala		Met Glu Glu Ala Lys		Ala Asp Tyr Leu His
	Pro Cys Trp Ala Gly		Glu Glu Ala Lys Gln		Asp Tyr Leu His Val
	Cys Trp Ala Gly Gly		Glu Ala Lys Gln Leu		Tyr Leu His Val Ala
	Trp Ala Gly Gly Leu		Ala Lys Gln Leu Val		Leu His Val Ala Leu
	Ala Gly Gly Leu Thr		Lys Gln Leu Val Asp		His Val Ala Leu Asp
	Gly Gly Leu Thr Ala		Gln Leu Val Asp Lys		Val Ala Leu Asp Leu
	Gly Leu Thr Ala Glu		Leu Val Asp Lys Ala		Ala Leu Asp Leu Leu
	Leu Thr Ala Glu Met		Val Asp Lys Ala Tyr		Leu Asp Leu Leu Glu
	Thr Ala Glu Met Lys		Asp Lys Ala Tyr Lys		Asp Leu Leu Glu Arg
	Ala Glu Met Lys Leu		Lys Ala Tyr Lys Glu		Leu Leu Glu Arg Lys
	Glu Met Lys Leu Leu		Ala Tyr Lys Glu Arg		Leu Glu Arg Lys Leu
	Met Lys Leu Leu Leu		Tyr Lys Glu Arg Arg		Glu Arg Lys Leu Arg
	Lys Leu Leu Leu Ala		Lys Glu Arg Arg Glu		Arg Lys Leu Arg Ser
	Leu Leu Leu Ala Leu		Glu Arg Arg Glu Ser		Lys Leu Arg Ser Leu
	Leu Leu Ala Leu Ala		Arg Arg Glu Ser Ile		Leu Arg Ser Leu Trp
	Leu Ala Leu Ala Gly		Arg Glu Ser Ile Lys		Arg Ser Leu Trp Arg
	Ala Leu Ala Gly Leu		Glu Ser Ile Lys Gln		Ser Leu Trp Arg Arg
	Leu Ala Gly Leu Leu		Ser Ile Lys Gln Arg		Leu Trp Arg Arg Pro
	Ala Gly Leu Leu Ala		Ile Lys Gln Arg Leu		Trp Arg Arg Pro Phe
	Gly Leu Leu Ala Ile		Lys Gln Arg Leu Arg		Arg Arg Pro Phe Asn
	Leu Leu Ala Ile Leu		Gln Arg Leu Arg Ser		Arg Pro Phe Asn Val
	Leu Ala Ile Leu Ala		Arg Leu Arg Ser Gly		Pro Phe Asn Val Thr
	Ala Ile Leu Ala Thr		Leu Arg Ser Gly Ser		Phe Asn Val Thr Asp
	Ile Leu Ala Thr Pro		Arg Ser Gly Ser Ala		Asn Val Thr Asp Val
	Leu Ala Thr Pro Gln		Ser Gly Ser Ala Ser		Val Thr Asp Val Leu

10

20

30

40

	Ala Thr Pro Gln Pro		Gly Ser Ala Ser Pro		Thr Asp Val Leu Thr
	Thr Pro Gln Pro Ser		Ser Ala Ser Pro Met		Asp Val Leu Thr Pro
	Pro Gln Pro Ser Glu		Ala Ser Pro Met Glu		Val Leu Thr Pro Ala
	Gln Pro Ser Glu Gly		Ser Pro Met Glu Leu		Leu Thr Pro Ala Gln
	Pro Ser Glu Gly Ala		Pro Met Glu Leu Leu		Thr Pro Ala Gln Leu
	Ser Glu Gly Ala Ala		Met Glu Leu Leu Ser		Pro Ala Gln Leu Asn
	Glu Gly Ala Ala Pro		Glu Leu Leu Ser Tyr		Ala Gln Leu Asn Val
	Gly Ala Ala Pro Ala		Leu Leu Ser Tyr Phe		Gln Leu Asn Val Leu
	Ala Ala Pro Ala Val		Leu Ser Tyr Phe Lys		Leu Asn Val Leu Ser
	Ala Pro Ala Val Leu		Ser Tyr Phe Lys Gln		Asn Val Leu Ser Lys
	Pro Ala Val Leu Gly		Tyr Phe Lys Gln Pro		Val Leu Ser Lys Ser
	Leu Ser Lys Ser Ser		Glu Asp Gly Phe Ser		
	Ser Lys Ser Ser Gly		Asp Gly Phe Ser Leu		
	Lys Ser Ser Gly Cys		Gly Phe Ser Leu Pro		
	Ser Ser Gly Cys Ala		Phe Ser Leu Pro Tyr		
	Ser Gly Cys Ala Tyr		Ser Leu Pro Tyr Gly		
	Gly Cys Ala Tyr Gln		Leu Pro Tyr Gly Trp		
	Cys Ala Tyr Gln Asp		Pro Tyr Gly Trp Thr		
	Ala Tyr Gln Asp Val		Tyr Gly Trp Thr Pro		
	Tyr Gln Asp Val Gly		Gly Trp Thr Pro Gly		
	Gln Asp Val Gly Val		Trp Thr Pro Gly Val		
	Asp Val Gly Val Thr		Thr Pro Gly Val Lys		
	Val Gly Val Thr Cys		Pro Gly Val Lys Arg		
	Gly Val Thr Cys Pro		Gly Val Lys Arg Asn		
	Val Thr Cys Pro Glu		Val Lys Arg Asn Gly		
	Thr Cys Pro Glu Gln		Lys Arg Asn Gly Phe		
	Cys Pro Glu Gln Asp		Arg Asn Gly Phe Pro		
	Pro Glu Gln Asp Lys		Asn Gly Phe Pro Val		
	Glu Gln Asp Lys Tyr		Gly Phe Pro Val Ala		
	Gln Asp Lys Tyr Arg				
	Asp Lys Tyr Arg Thr				
	Lys Tyr Arg Thr Ile				

10

20

30

40

	Tyr Arg Thr Ile Thr				
	Arg Thr Ile Thr Gly				
	Thr Ile Thr Gly Met				
	Ile Thr Gly Met Cys				
	Thr Gly Met Cys Asn				
	Gly Met Cys Asn Asn				
	Met Cys Asn Asn Arg				
	Cys Asn Asn Arg Arg				
	Asn Asn Arg Arg Ser				
	Asn Arg Arg Ser Pro				
	Arg Arg Ser Pro Thr				
	Arg Ser Pro Thr Leu				
	Ser Pro Thr Leu Gly				
	Pro Thr Leu Gly Ala				
	Thr Leu Gly Ala Ser				
	Leu Gly Ala Ser Asn				
	Gly Ala Ser Asn Arg				
	Ala Ser Asn Arg Ala				
	Ser Asn Arg Ala Phe				
	Asn Arg Ala Phe Val				
	Arg Ala Phe Val Arg				
	Ala Phe Val Arg Trp				
	Phe Val Arg Trp Leu				
	Val Arg Trp Leu Pro				
	Arg Trp Leu Pro Ala				
	Trp Leu Pro Ala Glu				
	Leu Pro Ala Glu Tyr				
	Pro Ala Glu Tyr Glu				
	Ala Glu Tyr Glu Asp				
	Glu Tyr Glu Asp Gly				
	Tyr Glu Asp Gly Phe				

10

20

30

40

50

【 0 0 8 9 】

前立腺特異抗原（P S A）（配列番号 6）が標的自己抗原である場合、ペプチド試薬は P S A のアミノ酸配列（配列番号 6）中のどこかに由来する 5 ～ 1 5 連続アミノ酸残基の配列を含む。表 6 には、P S A（配列番号 6）由来の 5 連続アミノ酸残基から構成される典型的ペプチド試薬についてのアミノ酸配列がリストされている。追加のペプチド試薬は、表 7 中にリストされている 5 アミノ酸長配列のいずれか 1 つ + 前記 5 アミノ酸長配列に

(タンパク質アミノ配列内のいずれかの側から) 連続する配列番号 6 由来の多くとも全部で 10 個の追加連続アミノ酸残基を含む多くとも 15 アミノ酸残基の長さを有し得る。

【0090】

【表 7】

表 7:

	Trp Val Pro Val Val		Gly Val Leu Val His		Asp Met Ser Leu Leu
	Val Pro Val Val Phe		Val Leu Val His Pro		Met Ser Leu Leu Lys
	Pro Val Val Phe Leu		Leu Val His Pro Gln		Ser Leu Leu Lys Asn
	Val Val Phe Leu Thr		Val His Pro Gln Trp		Leu Leu Lys Asn Arg
	Val Phe Leu Thr Leu		His Pro Gln Trp Val		Leu Lys Asn Arg Phe
	Phe Leu Thr Leu Ser		Pro Gln Trp Val Leu		Lys Asn Arg Phe Leu
	Leu Thr Leu Ser Val		Gln Trp Val Leu Thr		Asn Arg Phe Leu Arg
	Thr Leu Ser Val Thr		Trp Val Leu Thr Ala		Arg Phe Leu Arg Pro
	Leu Ser Val Thr Trp		Val Leu Thr Ala Ala		Phe Leu Arg Pro Gly
	Ser Val Thr Trp Ile		Leu Thr Ala Ala His		Leu Arg Pro Gly Asp
	Val Thr Trp Ile Gly		Thr Ala Ala His Cys		Arg Pro Gly Asp Asp
	Thr Trp Ile Gly Ala		Ala Ala His Cys Ile		Pro Gly Asp Asp Ser
	Trp Ile Gly Ala Ala		Ala His Cys Ile Arg		Gly Asp Asp Ser Ser
	Ile Gly Ala Ala Pro		His Cys Ile Arg Asn		Asp Asp Ser Ser His
	Gly Ala Ala Pro Leu		Cys Ile Arg Asn Lys		Asp Ser Ser His Asp
	Ala Ala Pro Leu Ile		Ile Arg Asn Lys Ser		Ser Ser His Asp Leu
	Ala Pro Leu Ile Leu		Arg Asn Lys Ser Val		Ser His Asp Leu Met
	Pro Leu Ile Leu Ser		Asn Lys Ser Val Ile		His Asp Leu Met Leu
	Leu Ile Leu Ser Arg		Lys Ser Val Ile Leu		Asp Leu Met Leu Leu
	Ile Leu Ser Arg Ile		Ser Val Ile Leu Leu		Leu Met Leu Leu Arg
	Leu Ser Arg Ile Val		Val Ile Leu Leu Gly		Met Leu Leu Arg Leu
	Ser Arg Ile Val Gly		Ile Leu Leu Gly Arg		Leu Leu Arg Leu Ser

10

20

30

	Arg Ile Val Gly Gly		Leu Leu Gly Arg His		Leu Arg Leu Ser Glu
	Ile Val Gly Gly Trp		Leu Gly Arg His Ser		Arg Leu Ser Glu Pro
	Val Gly Gly Trp Glu		Gly Arg His Ser Leu		Leu Ser Glu Pro Ala
	Gly Gly Trp Glu Cys		Arg His Ser Leu Phe		Ser Glu Pro Ala Glu
	Gly Trp Glu Cys Glu		His Ser Leu Phe His		Glu Pro Ala Glu Leu
	Trp Glu Cys Glu Lys		Ser Leu Phe His Pro		Pro Ala Glu Leu Thr
	Glu Cys Glu Lys His		Leu Phe His Pro Glu		Ala Glu Leu Thr Asp
	Cys Glu Lys His Ser		Phe His Pro Glu Asp		Glu Leu Thr Asp Ala
	Glu Lys His Ser Gln		His Pro Glu Asp Thr		Leu Thr Asp Ala Val
	Lys His Ser Gln Pro		Pro Glu Asp Thr Gly		Thr Asp Ala Val Lys
	His Ser Gln Pro Trp		Glu Asp Thr Gly Gln		Asp Ala Val Lys Val
	Ser Gln Pro Trp Gln		Asp Thr Gly Gln Val		Ala Val Lys Val Met
	Gln Pro Trp Gln Val		Thr Gly Gln Val Phe		Val Lys Val Met Asp
	Pro Trp Gln Val Leu		Gly Gln Val Phe Gln		Lys Val Met Asp Leu
	Trp Gln Val Leu Val		Gln Val Phe Gln Val		Val Met Asp Leu Pro
	Gln Val Leu Val Ala		Val Phe Gln Val Ser		Met Asp Leu Pro Thr
	Val Leu Val Ala Ser		Phe Gln Val Ser His		Asp Leu Pro Thr Gln
	Leu Val Ala Ser Arg		Gln Val Ser His Ser		Leu Pro Thr Gln Glu
	Val Ala Ser Arg Gly		Val Ser His Ser Phe		Pro Thr Gln Glu Pro
	Ala Ser Arg Gly Arg		Ser His Ser Phe Pro		Thr Gln Glu Pro Ala
	Ser Arg Gly Arg Ala		His Ser Phe Pro His		Gln Glu Pro Ala Leu
	Arg Gly Arg Ala Val		Ser Phe Pro His Pro		Glu Pro Ala Leu Gly
	Gly Arg Ala Val Cys		Phe Pro His Pro Leu		Pro Ala Leu Gly Thr
	Arg Ala Val Cys Gly		Pro His Pro Leu Tyr		Ala Leu Gly Thr Thr
	Ala Val Cys Gly Gly		His Pro Leu Tyr Asp		Leu Gly Thr Thr Cys
	Val Cys Gly Gly Val		Pro Leu Tyr Asp Met		Gly Thr Thr Cys Tyr
	Cys Gly Gly Val Leu		Leu Tyr Asp Met Ser		Thr Thr Cys Tyr Ala
	Gly Gly Val Leu Val		Tyr Asp Met Ser Leu		Thr Cys Tyr Ala Ser
	Cys Tyr Ala Ser Gly		Gly Gly Lys Ser Thr		Thr Ile Val Ala Asn
	Tyr Ala Ser Gly Trp		Gly Lys Ser Thr Cys		Ile Val Ala Asn Pro
	Ala Ser Gly Trp Gly		Lys Ser Thr Cys Ser		
	Ser Gly Trp Gly Ser		Ser Thr Cys Ser Gly		

10

20

30

40

	Gly Trp Gly Ser Ile		Thr Cys Ser Gly Asp		
	Trp Gly Ser Ile Glu		Cys Ser Gly Asp Ser		
	Gly Ser Ile Glu Pro		Ser Gly Asp Ser Gly		
	Ser Ile Glu Pro Glu		Gly Asp Ser Gly Gly		
	Ile Glu Pro Glu Glu		Asp Ser Gly Gly Pro		
	Glu Pro Glu Glu Phe		Ser Gly Gly Pro Leu		
	Pro Glu Glu Phe Leu		Gly Gly Pro Leu Val		
	Glu Glu Phe Leu Thr		Gly Pro Leu Val Cys		
	Glu Phe Leu Thr Pro		Pro Leu Val Cys Asn		
	Phe Leu Thr Pro Lys		Leu Val Cys Asn Gly		
	Leu Thr Pro Lys Lys		Val Cys Asn Gly Val		
	Thr Pro Lys Lys Leu		Cys Asn Gly Val Leu		
	Pro Lys Lys Leu Gln		Asn Gly Val Leu Gln		
	Lys Lys Leu Gln Cys		Gly Val Leu Gln Gly		
	Lys Leu Gln Cys Val		Val Leu Gln Gly Ile		
	Leu Gln Cys Val Asp		Leu Gln Gly Ile Thr		
	Gln Cys Val Asp Leu		Gln Gly Ile Thr Ser		
	Cys Val Asp Leu His		Gly Ile Thr Ser Trp		
	Val Asp Leu His Val		Ile Thr Ser Trp Gly		
	Asp Leu His Val Ile		Thr Ser Trp Gly Ser		
	Leu His Val Ile Ser		Ser Trp Gly Ser Glu		
	His Val Ile Ser Asn		Trp Gly Ser Glu Pro		
	Val Ile Ser Asn Asp		Gly Ser Glu Pro Cys		
	Ile Ser Asn Asp Val		Ser Glu Pro Cys Ala		
	Ser Asn Asp Val Cys		Glu Pro Cys Ala Leu		
	Asn Asp Val Cys Ala		Pro Cys Ala Leu Pro		
	Asp Val Cys Ala Gln		Cys Ala Leu Pro Glu		
	Val Cys Ala Gln Val		Ala Leu Pro Glu Arg		
	Cys Ala Gln Val His		Leu Pro Glu Arg Pro		
	Ala Gln Val His Pro		Pro Glu Arg Pro Ser		
	Gln Val His Pro Gln		Glu Arg Pro Ser Leu		
	Val His Pro Gln Lys		Arg Pro Ser Leu Tyr		

10

20

30

40

	His Pro Gln Lys Val		Pro Ser Leu Tyr Thr		
	Pro Gln Lys Val Thr		Ser Leu Tyr Thr Lys		
	Gln Lys Val Thr Lys		Leu Tyr Thr Lys Val		
	Lys Val Thr Lys Phe		Tyr Thr Lys Val Val		
	Val Thr Lys Phe Met		Thr Lys Val Val His		
	Thr Lys Phe Met Leu		Lys Val Val His Tyr		
	Lys Phe Met Leu Cys		Val Val His Tyr Arg		
	Phe Met Leu Cys Ala		Val His Tyr Arg Lys		
	Met Leu Cys Ala Gly		His Tyr Arg Lys Trp		
	Leu Cys Ala Gly Arg		Tyr Arg Lys Trp Ile		
	Cys Ala Gly Arg Trp		Arg Lys Trp Ile Lys		
	Ala Gly Arg Trp Thr		Lys Trp Ile Lys Asp		
	Gly Arg Trp Thr Gly		Trp Ile Lys Asp Thr		
	Arg Trp Thr Gly Gly		Ile Lys Asp Thr Ile		
	Trp Thr Gly Gly Lys		Lys Asp Thr Ile Val		
	Thr Gly Gly Lys Ser		Asp Thr Ile Val Ala		

10

20

【 0 0 9 1 】

ヒトB型ナトリウム利尿ペプチド（hBNP）（配列番号7）が標的自己抗原である場合、ペプチド試薬はhBNPのアミノ酸配列（配列番号7）中のどこかに由来する5～15連続アミノ酸残基の配列を含む。表8には、hBNP（配列番号7）由来の5連続アミノ酸残基から構成される典型的ペプチド試薬についてのアミノ酸配列がリストされている。追加のペプチド試薬は、表8中にリストされている5アミノ酸長配列のいずれか1つ＋前記5アミノ酸長配列に（タンパク質アミノ酸配列内のいずれかの側から）連続する配列番号7由来の多くとも全部で10個の追加連続アミノ酸残基を含む多くとも15アミノ酸残基の長さを有し得る。

30

【 0 0 9 2 】

【表8】

表 8:

	Asp Pro Gln Thr Ala		Gly Lys Leu Ser Glu		Arg Ser Pro Lys Met
	Pro Gln Thr Ala Pro		Lys Leu Ser Glu Leu		Ser Pro Lys Met Val
	Gln Thr Ala Pro Ser		Leu Ser Glu Leu Gln		Pro Lys Met Val Gln
	Thr Ala Pro Ser Arg		Ser Glu Leu Gln Val		Lys Met Val Gln Gly
	Ala Pro Ser Arg Ala		Glu Leu Gln Val Glu		Met Val Gln Gly Ser

40

	Pro Ser Arg Ala Leu	Leu Gln Val Glu Gln	Val Gln Gly Ser Gly
	Ser Arg Ala Leu Leu	Gln Val Glu Gln Thr	Gln Gly Ser Gly Cys
	Arg Ala Leu Leu Leu	Val Glu Gln Thr Ser	Gly Ser Gly Cys Phe
	Ala Leu Leu Leu Leu	Glu Gln Thr Ser Leu	Ser Gly Cys Phe Gly
	Leu Leu Leu Leu Leu	Gln Thr Ser Leu Glu	Gly Cys Phe Gly Arg
	Leu Leu Leu Leu Phe	Thr Ser Leu Glu Pro	Cys Phe Gly Arg Lys
	Leu Leu Leu Phe Leu	Ser Leu Glu Pro Leu	Phe Gly Arg Lys Met
	Leu Leu Phe Leu His	Leu Glu Pro Leu Gln	Gly Arg Lys Met Asp
	Leu Phe Leu His Leu	Glu Pro Leu Gln Glu	Arg Lys Met Asp Arg
	Phe Leu His Leu Ala	Pro Leu Gln Glu Ser	Lys Met Asp Arg Ile
	Leu His Leu Ala Phe	Leu Gln Glu Ser Pro	Met Asp Arg Ile Ser
	His Leu Ala Phe Leu	Gln Glu Ser Pro Arg	Asp Arg Ile Ser Ser
	Leu Ala Phe Leu Gly	Glu Ser Pro Arg Pro	Arg Ile Ser Ser Ser
	Ala Phe Leu Gly Gly	Ser Pro Arg Pro Thr	Ile Ser Ser Ser Ser
	Phe Leu Gly Gly Arg	Pro Arg Pro Thr Gly	Ser Ser Ser Ser Gly
	Leu Gly Gly Arg Ser	Arg Pro Thr Gly Val	Ser Ser Ser Gly Leu
	Gly Gly Arg Ser His	Pro Thr Gly Val Trp	Ser Ser Gly Leu Gly
	Gly Arg Ser His Pro	Thr Gly Val Trp Lys	Ser Gly Leu Gly Cys
	Arg Ser His Pro Leu	Gly Val Trp Lys Ser	Gly Leu Gly Cys Lys
	Ser His Pro Leu Gly	Val Trp Lys Ser Arg	Leu Gly Cys Lys Val
	His Pro Leu Gly Ser	Trp Lys Ser Arg Glu	Gly Cys Lys Val Leu
	Pro Leu Gly Ser Pro	Lys Ser Arg Glu Val	Cys Lys Val Leu Arg
	Leu Gly Ser Pro Gly	Ser Arg Glu Val Ala	Lys Val Leu Arg Arg
	Gly Ser Pro Gly Ser	Arg Glu Val Ala Thr	Val Leu Arg Arg His
	Ser Pro Gly Ser Ala	Glu Val Ala Thr Glu	
	Pro Gly Ser Ala Ser	Val Ala Thr Glu Gly	
	Gly Ser Ala Ser Asp	Ala Thr Glu Gly Ile	
	Ser Ala Ser Asp Leu	Thr Glu Gly Ile Arg	
	Ala Ser Asp Leu Glu	Glu Gly Ile Arg Gly	
	Ser Asp Leu Glu Thr	Gly Ile Arg Gly His	
	Asp Leu Glu Thr Ser	Ile Arg Gly His Arg	
	Leu Glu Thr Ser Gly	Arg Gly His Arg Lys	

10

20

30

40

Glu Thr Ser Gly Leu	Gly His Arg Lys Met
Thr Ser Gly Leu Gln	His Arg Lys Met Val
Ser Gly Leu Gln Glu	Arg Lys Met Val Leu
Gly Leu Gln Glu Gln	Lys Met Val Leu Tyr
Leu Gln Glu Gln Arg	Met Val Leu Tyr Thr
Gln Glu Gln Arg Asn	Val Leu Tyr Thr Leu
Glu Gln Arg Asn His	Leu Tyr Thr Leu Arg
Gln Arg Asn His Leu	Tyr Thr Leu Arg Ala
Arg Asn His Leu Gln	Thr Leu Arg Ala Pro
Asn His Leu Gln Gly	Leu Arg Ala Pro Arg
His Leu Gln Gly Lys	Arg Ala Pro Arg Ser
Leu Gln Gly Lys Leu	Ala Pro Arg Ser Pro
Gln Gly Lys Leu Ser	Pro Arg Ser Pro Lys

10

【 0 0 9 3 】

20

ミオシン軽鎖 2（配列番号 8）が標的自己抗原である場合、ペプチド試薬はミオシン軽鎖 2 のアミノ酸配列（配列番号 8）中のどこかに由来する 5 ～ 15 連続アミノ酸残基の配列を含む。表 9 には、ミオシン軽鎖 2（配列番号 8）由来の 5 連続アミノ酸残基から構成される典型的ペプチド試薬についてのアミノ酸配列がリストされている。追加のペプチド試薬は、表 9 中にリストされている 5 アミノ酸長配列のいずれか 1 つ + 前記 5 アミノ酸長配列に（タンパク質アミノ酸配列内のいずれかの側から）連続する配列番号 8 由来の多くとも全部で 10 個の追加連続アミノ酸残基を含む多くとも 15 アミノ酸残基の長さを有し得る。

【 0 0 9 4 】

【表 9】

30

表 9:

Ala Pro Lys Lys Ala	Thr Phe Ala Ala Leu	Ala Phe Lys Val Phe
Pro Lys Lys Ala Lys	Phe Ala Ala Leu Gly	Phe Lys Val Phe Asp
Lys Lys Ala Lys Lys	Ala Ala Leu Gly Arg	Lys Val Phe Asp Pro
Lys Ala Lys Lys Arg	Ala Leu Gly Arg Val	Val Phe Asp Pro Glu
Ala Lys Lys Arg Ala	Leu Gly Arg Val Asn	Phe Asp Pro Glu Gly
Lys Lys Arg Ala Gly	Gly Arg Val Asn Val	Asp Pro Glu Gly Lys
Lys Arg Ala Gly Gly	Arg Val Asn Val Lys	Pro Glu Gly Lys Gly
Arg Ala Gly Gly Ala	Val Asn Val Lys Asn	Glu Gly Lys Gly Val

40

	Ala Gly Gly Ala Asn		Asn Val Lys Asn Glu		Gly Lys Gly Val Leu
	Gly Gly Ala Asn Ser		Val Lys Asn Glu Glu		Lys Gly Val Leu Lys
	Gly Ala Asn Ser Asn		Lys Asn Glu Glu Ile		Gly Val Leu Lys Ala
	Ala Asn Ser Asn Val		Asn Glu Glu Ile Asp		Val Leu Lys Ala Asp
	Asn Ser Asn Val Phe		Glu Glu Ile Asp Glu		Leu Lys Ala Asp Tyr
	Ser Asn Val Phe Ser		Glu Ile Asp Glu Met		Lys Ala Asp Tyr Val
	Asn Val Phe Ser Met		Ile Asp Glu Met Ile		Ala Asp Tyr Val Arg
	Val Phe Ser Met Phe		Asp Glu Met Ile Lys		Asp Tyr Val Arg Glu
	Phe Ser Met Phe Glu		Glu Met Ile Lys Glu		Tyr Val Arg Glu Met
	Ser Met Phe Glu Gln		Met Ile Lys Glu Ala		Val Arg Glu Met Leu
	Met Phe Glu Gln Thr		Ile Lys Glu Ala Pro		Arg Glu Met Leu Thr
	Phe Glu Gln Thr Gln		Lys Glu Ala Pro Gly		Glu Met Leu Thr Thr
	Glu Gln Thr Gln Ile		Glu Ala Pro Gly Pro		Met Leu Thr Thr Gln
	Gln Thr Gln Ile Gln		Ala Pro Gly Pro Ile		Leu Thr Thr Gln Ala
	Thr Gln Ile Gln Glu		Pro Gly Pro Ile Asn		Thr Thr Gln Ala Glu
	Gln Ile Gln Glu Phe		Gly Pro Ile Asn Phe		Thr Gln Ala Glu Arg
	Ile Gln Glu Phe Lys		Pro Ile Asn Phe Thr		Gln Ala Glu Arg Phe
	Gln Glu Phe Lys Glu		Ile Asn Phe Thr Val		Ala Glu Arg Phe Ser
	Glu Phe Lys Glu Ala		Asn Phe Thr Val Phe		Glu Arg Phe Ser Lys
	Phe Lys Glu Ala Phe		Phe Thr Val Phe Leu		Arg Phe Ser Lys Glu
	Lys Glu Ala Phe Thr		Thr Val Phe Leu Thr		Phe Ser Lys Glu Glu
	Glu Ala Phe Thr Ile		Val Phe Leu Thr Met		Ser Lys Glu Glu Val
	Ala Phe Thr Ile Met		Phe Leu Thr Met Phe		Lys Glu Glu Val Asp
	Phe Thr Ile Met Asp		Leu Thr Met Phe Gly		Glu Glu Val Asp Gln
	Thr Ile Met Asp Gln		Thr Met Phe Gly Glu		Glu Val Asp Gln Met
	Ile Met Asp Gln Asn		Met Phe Gly Glu Lys		Val Asp Gln Met Phe
	Met Asp Gln Asn Arg		Phe Gly Glu Lys Leu		Asp Gln Met Phe Ala
	Asp Gln Asn Arg Asp		Gly Glu Lys Leu Lys		Gln Met Phe Ala Ala
	Gln Asn Arg Asp Gly		Glu Lys Leu Lys Gly		Met Phe Ala Ala Phe
	Asn Arg Asp Gly Phe		Lys Leu Lys Gly Ala		Phe Ala Ala Phe Pro
	Arg Asp Gly Phe Ile		Leu Lys Gly Ala Asp		Ala Ala Phe Pro Pro
	Asp Gly Phe Ile Asp		Lys Gly Ala Asp Pro		Ala Phe Pro Pro Asp

10

20

30

40

	Gly Phe Ile Asp Lys		Gly Ala Asp Pro Glu		Phe Pro Pro Asp Val
	Phe Ile Asp Lys Asn		Ala Asp Pro Glu Glu		Pro Pro Asp Val Thr
	Ile Asp Lys Asn Asp		Asp Pro Glu Glu Thr		Pro Asp Val Thr Gly
	Asp Lys Asn Asp Leu		Pro Glu Glu Thr Ile		Asp Val Thr Gly Asn
	Lys Asn Asp Leu Arg		Glu Glu Thr Ile Leu		Val Thr Gly Asn Leu
	Asn Asp Leu Arg Asp		Glu Thr Ile Leu Asn		Thr Gly Asn Leu Asp
	Asp Leu Arg Asp Thr		Thr Ile Leu Asn Ala		Gly Asn Leu Asp Tyr
	Leu Arg Asp Thr Phe		Ile Leu Asn Ala Phe		Asn Leu Asp Tyr Lys
	Arg Asp Thr Phe Ala		Leu Asn Ala Phe Lys		Leu Asp Tyr Lys Asn
	Asp Thr Phe Ala Ala		Asn Ala Phe Lys Val		Asp Tyr Lys Asn Leu
	Tyr Lys Asn Leu Val				
	Lys Asn Leu Val His				
	Asn Leu Val His Ile				
	Leu Val His Ile Ile				
	Val His Ile Ile Thr				
	His Ile Ile Thr His				
	Ile Ile Thr His Gly				
	Ile Thr His Gly Glu				
	Thr His Gly Glu Glu				
	His Gly Glu Glu Lys				
	Gly Glu Glu Lys Asp				

10

20

30

【 0 0 9 5 】

ミオシン－6（配列番号9）が標的自己抗原である場合、ペプチド試薬はミオシン－6のアミノ酸配列（配列番号9）中のどこかに由来する5～15連続アミノ酸残基の配列を含む。表10には、ミオシン－6（配列番号9）由来の5連続アミノ酸残基から構成される典型的ペプチド試薬についてのアミノ酸配列がリストされている。追加のペプチド試薬は、表10中にリストされている5アミノ酸長配列のいずれか1つ＋前記5アミノ酸長配列に（タンパク質アミノ酸配列内のいずれかの側から）連続する配列番号9由来の多くとも全部で10個の追加連続アミノ酸残基を含む多くとも15アミノ酸残基の長さを有し得る。

【 0 0 9 6 】

40

【表 10】

表 10:

	Thr Asp Ala Gln Met		Leu Ser Arg Glu Gly		Leu Phe Asn Leu Lys
	Asp Ala Gln Met Ala		Ser Arg Glu Gly Gly		Phe Asn Leu Lys Glu
	Ala Gln Met Ala Asp		Arg Glu Gly Gly Lys		Asn Leu Lys Glu Arg
	Gln Met Ala Asp Phe		Glu Gly Gly Lys Val		Leu Lys Glu Arg Tyr
	Met Ala Asp Phe Gly		Gly Gly Lys Val Ile		Lys Glu Arg Tyr Ala
	Ala Asp Phe Gly Ala		Gly Lys Val Ile Ala		Glu Arg Tyr Ala Ala
	Asp Phe Gly Ala Ala		Lys Val Ile Ala Glu		Arg Tyr Ala Ala Trp
	Phe Gly Ala Ala Ala		Val Ile Ala Glu Thr		Tyr Ala Ala Trp Met
	Gly Ala Ala Ala Gln		Ile Ala Glu Thr Glu		Ala Ala Trp Met Ile
	Ala Ala Ala Gln Tyr		Ala Glu Thr Glu Asn		Ala Trp Met Ile Tyr
	Ala Ala Gln Tyr Leu		Glu Thr Glu Asn Gly		Trp Met Ile Tyr Thr
	Ala Gln Tyr Leu Arg		Thr Glu Asn Gly Lys		Met Ile Tyr Thr Tyr
	Gln Tyr Leu Arg Lys		Glu Asn Gly Lys Thr		Ile Tyr Thr Tyr Ser
	Tyr Leu Arg Lys Ser		Asn Gly Lys Thr Val		Tyr Thr Tyr Ser Gly
	Leu Arg Lys Ser Glu		Gly Lys Thr Val Thr		Thr Tyr Ser Gly Leu
	Arg Lys Ser Glu Lys		Lys Thr Val Thr Val		Tyr Ser Gly Leu Phe
	Lys Ser Glu Lys Glu		Thr Val Thr Val Lys		Ser Gly Leu Phe Cys
	Ser Glu Lys Glu Arg		Val Thr Val Lys Glu		Gly Leu Phe Cys Val
	Glu Lys Glu Arg Leu		Thr Val Lys Glu Asp		Leu Phe Cys Val Thr
	Lys Glu Arg Leu Glu		Val Lys Glu Asp Gln		Phe Cys Val Thr Val
	Glu Arg Leu Glu Ala		Lys Glu Asp Gln Val		Cys Val Thr Val Asn
	Arg Leu Glu Ala Gln		Glu Asp Gln Val Leu		Val Thr Val Asn Pro
	Leu Glu Ala Gln Thr		Asp Gln Val Leu Gln		Thr Val Asn Pro Tyr
	Glu Ala Gln Thr Arg		Gln Val Leu Gln Gln		Val Asn Pro Tyr Lys
	Ala Gln Thr Arg Pro		Val Leu Gln Gln Asn		Asn Pro Tyr Lys Trp
	Gln Thr Arg Pro Phe		Leu Gln Gln Asn Pro		Pro Tyr Lys Trp Leu
	Thr Arg Pro Phe Asp		Gln Gln Asn Pro Pro		Tyr Lys Trp Leu Pro
	Arg Pro Phe Asp Ile		Gln Asn Pro Pro Lys		Lys Trp Leu Pro Val
	Pro Phe Asp Ile Arg		Asn Pro Pro Lys Phe		Trp Leu Pro Val Tyr
	Phe Asp Ile Arg Thr		Pro Pro Lys Phe Asp		Leu Pro Val Tyr Asn
	Asp Ile Arg Thr Glu		Pro Lys Phe Asp Lys		Pro Val Tyr Asn Ala
	Ile Arg Thr Glu Cys		Lys Phe Asp Lys Ile		Val Tyr Asn Ala Glu

10

20

30

40

	Arg Thr Glu Cys Phe		Phe Asp Lys Ile Gln		Tyr Asn Ala Glu Val
	Thr Glu Cys Phe Val		Asp Lys Ile Gln Asp		Asn Ala Glu Val Val
	Glu Cys Phe Val Pro		Lys Ile Gln Asp Met		Ala Glu Val Val Ala
	Cys Phe Val Pro Asp		Ile Gln Asp Met Ala		Glu Val Val Ala Ala
	Phe Val Pro Asp Asp		Gln Asp Met Ala Met		Val Val Ala Ala Tyr
	Val Pro Asp Asp Lys		Asp Met Ala Met Leu		Val Ala Ala Tyr Arg
	Pro Asp Asp Lys Glu		Met Ala Met Leu Thr		Ala Ala Tyr Arg Gly
	Asp Asp Lys Glu Glu		Ala Met Leu Thr Phe		Ala Tyr Arg Gly Lys
	Asp Lys Glu Glu Phe		Met Leu Thr Phe Leu		Tyr Arg Gly Lys Lys
	Lys Glu Glu Phe Val		Leu Thr Phe Leu His		Arg Gly Lys Lys Arg
	Glu Glu Phe Val Lys		Thr Phe Leu His Glu		Gly Lys Lys Arg Ser
	Glu Phe Val Lys Ala		Phe Leu His Glu Pro		Lys Lys Arg Ser Glu
	Phe Val Lys Ala Lys		Leu His Glu Pro Ala		Lys Arg Ser Glu Ala
	Val Lys Ala Lys Ile		His Glu Pro Ala Val		Arg Ser Glu Ala Pro
	Lys Ala Lys Ile Leu		Glu Pro Ala Val Leu		Ser Glu Ala Pro Pro
	Ala Lys Ile Leu Ser		Pro Ala Val Leu Phe		Glu Ala Pro Pro His
	Lys Ile Leu Ser Arg		Ala Val Leu Phe Asn		Ala Pro Pro His Ile
	Ile Leu Ser Arg Glu		Val Leu Phe Asn Leu		Pro Pro His Ile Phe
	Pro His Ile Phe Ser		Arg Gly Lys Lys Asp		Thr Gly Lys Leu Ala
	His Ile Phe Ser Ile		Gly Lys Lys Asp Asn		Gly Lys Leu Ala Ser
	Ile Phe Ser Ile Ser		Lys Lys Asp Asn Ala		Lys Leu Ala Ser Ala
	Phe Ser Ile Ser Asp		Lys Asp Asn Ala Asn		Leu Ala Ser Ala Asp
	Ser Ile Ser Asp Asn		Asp Asn Ala Asn Ala		Ala Ser Ala Asp Ile
	Ile Ser Asp Asn Ala		Asn Ala Asn Ala Asn		Ser Ala Asp Ile Glu
	Ser Asp Asn Ala Tyr		Ala Asn Ala Asn Lys		Ala Asp Ile Glu Thr
	Asp Asn Ala Tyr Gln		Asn Ala Asn Lys Gly		Asp Ile Glu Thr Tyr
	Asn Ala Tyr Gln Tyr		Ala Asn Lys Gly Thr		Ile Glu Thr Tyr Leu
	Ala Tyr Gln Tyr Met		Asn Lys Gly Thr Leu		Glu Thr Tyr Leu Leu
	Tyr Gln Tyr Met Leu		Lys Gly Thr Leu Glu		Thr Tyr Leu Leu Glu
	Gln Tyr Met Leu Thr		Gly Thr Leu Glu Asp		Tyr Leu Leu Glu Lys
	Tyr Met Leu Thr Asp		Thr Leu Glu Asp Gln		Leu Leu Glu Lys Ser
	Met Leu Thr Asp Arg		Leu Glu Asp Gln Ile		Leu Glu Lys Ser Arg

10

20

30

40

	Leu Thr Asp Arg Glu		Glu Asp Gln Ile Ile		Glu Lys Ser Arg Val
	Thr Asp Arg Glu Asn		Asp Gln Ile Ile Gln		Lys Ser Arg Val Ile
	Asp Arg Glu Asn Gln		Gln Ile Ile Gln Ala		Ser Arg Val Ile Phe
	Arg Glu Asn Gln Ser		Ile Ile Gln Ala Asn		Arg Val Ile Phe Gln
	Glu Asn Gln Ser Ile		Ile Gln Ala Asn Pro		Val Ile Phe Gln Leu
	Asn Gln Ser Ile Leu		Gln Ala Asn Pro Ala		Ile Phe Gln Leu Lys
	Gln Ser Ile Leu Ile		Ala Asn Pro Ala Leu		Phe Gln Leu Lys Ala
	Ser Ile Leu Ile Thr		Asn Pro Ala Leu Glu		Gln Leu Lys Ala Glu
	Ile Leu Ile Thr Gly		Pro Ala Leu Glu Ala		Leu Lys Ala Glu Arg
	Leu Ile Thr Gly Glu		Ala Leu Glu Ala Phe		Lys Ala Glu Arg Asn
	Ile Thr Gly Glu Ser		Leu Glu Ala Phe Gly		Ala Glu Arg Asn Tyr
	Thr Gly Glu Ser Gly		Glu Ala Phe Gly Asn		Glu Arg Asn Tyr His
	Gly Glu Ser Gly Ala		Ala Phe Gly Asn Ala		Arg Asn Tyr His Ile
	Glu Ser Gly Ala Gly		Phe Gly Asn Ala Lys		Asn Tyr His Ile Phe
	Ser Gly Ala Gly Lys		Gly Asn Ala Lys Thr		Tyr His Ile Phe Tyr
	Gly Ala Gly Lys Thr		Asn Ala Lys Thr Val		His Ile Phe Tyr Gln
	Ala Gly Lys Thr Val		Ala Lys Thr Val Arg		Ile Phe Tyr Gln Ile
	Gly Lys Thr Val Asn		Lys Thr Val Arg Asn		Phe Tyr Gln Ile Leu
	Lys Thr Val Asn Thr		Thr Val Arg Asn Asp		Tyr Gln Ile Leu Ser
	Thr Val Asn Thr Lys		Val Arg Asn Asp Asn		Gln Ile Leu Ser Asn
	Val Asn Thr Lys Arg		Arg Asn Asp Asn Ser		Ile Leu Ser Asn Lys
	Asn Thr Lys Arg Val		Asn Asp Asn Ser Ser		Leu Ser Asn Lys Lys
	Thr Lys Arg Val Ile		Asp Asn Ser Ser Arg		Ser Asn Lys Lys Pro
	Lys Arg Val Ile Gln		Asn Ser Ser Arg Phe		Asn Lys Lys Pro Glu
	Arg Val Ile Gln Tyr		Ser Ser Arg Phe Gly		Lys Lys Pro Glu Leu
	Val Ile Gln Tyr Phe		Ser Arg Phe Gly Lys		Lys Pro Glu Leu Leu
	Ile Gln Tyr Phe Ala		Arg Phe Gly Lys Phe		Pro Glu Leu Leu Asp
	Gln Tyr Phe Ala Ser		Phe Gly Lys Phe Ile		Glu Leu Leu Asp Met
	Tyr Phe Ala Ser Ile		Gly Lys Phe Ile Arg		Leu Leu Asp Met Leu
	Phe Ala Ser Ile Ala		Lys Phe Ile Arg Ile		Leu Asp Met Leu Leu
	Ala Ser Ile Ala Ala		Phe Ile Arg Ile His		Asp Met Leu Leu Val
	Ser Ile Ala Ala Ile		Ile Arg Ile His Phe		Met Leu Leu Val Thr

10

20

30

40

Ile Ala Ala Ile Gly	Arg Ile His Phe Gly	Leu Leu Val Thr Asn
Ala Ala Ile Gly Asp	Ile His Phe Gly Ala	Leu Val Thr Asn Asn
Ala Ile Gly Asp Arg	His Phe Gly Ala Thr	Val Thr Asn Asn Pro
Ile Gly Asp Arg Gly	Phe Gly Ala Thr Gly	Thr Asn Asn Pro Tyr
Gly Asp Arg Gly Lys	Gly Ala Thr Gly Lys	Asn Asn Pro Tyr Asp
Asp Arg Gly Lys Lys	Ala Thr Gly Lys Leu	Asn Pro Tyr Asp Tyr
Pro Tyr Asp Tyr Ala	Tyr Gly Asn Met Lys	Val Thr Lys Gly Gln
Tyr Asp Tyr Ala Phe	Gly Asn Met Lys Phe	Thr Lys Gly Gln Ser
Asp Tyr Ala Phe Val	Asn Met Lys Phe Lys	Lys Gly Gln Ser Val
Tyr Ala Phe Val Ser	Met Lys Phe Lys Gln	Gly Gln Ser Val Gln
Ala Phe Val Ser Gln	Lys Phe Lys Gln Lys	Gln Ser Val Gln Gln
Phe Val Ser Gln Gly	Phe Lys Gln Lys Gln	Ser Val Gln Gln Val
Val Ser Gln Gly Glu	Lys Gln Lys Gln Arg	Val Gln Gln Val Tyr
Ser Gln Gly Glu Val	Gln Lys Gln Arg Glu	Gln Gln Val Tyr Tyr
Gln Gly Glu Val Ser	Lys Gln Arg Glu Glu	Gln Val Tyr Tyr Ser
Gly Glu Val Ser Val	Gln Arg Glu Glu Gln	Val Tyr Tyr Ser Ile
Glu Val Ser Val Ala	Arg Glu Glu Gln Ala	Tyr Tyr Ser Ile Gly
Val Ser Val Ala Ser	Glu Glu Gln Ala Glu	Tyr Ser Ile Gly Ala
Ser Val Ala Ser Ile	Glu Gln Ala Glu Pro	Ser Ile Gly Ala Leu
Val Ala Ser Ile Asp	Gln Ala Glu Pro Asp	Ile Gly Ala Leu Ala
Ala Ser Ile Asp Asp	Ala Glu Pro Asp Gly	Gly Ala Leu Ala Lys
Ser Ile Asp Asp Ser	Glu Pro Asp Gly Thr	Ala Leu Ala Lys Ala
Ile Asp Asp Ser Glu	Pro Asp Gly Thr Glu	Leu Ala Lys Ala Val
Asp Asp Ser Glu Glu	Asp Gly Thr Glu Asp	Ala Lys Ala Val Tyr
Asp Ser Glu Glu Leu	Gly Thr Glu Asp Ala	
Ser Glu Glu Leu Met	Thr Glu Asp Ala Asp	
Glu Glu Leu Met Ala	Glu Asp Ala Asp Lys	
Glu Leu Met Ala Thr	Asp Ala Asp Lys Ser	
Leu Met Ala Thr Asp	Ala Asp Lys Ser Ala	
Met Ala Thr Asp Ser	Asp Lys Ser Ala Tyr	
Ala Thr Asp Ser Ala	Lys Ser Ala Tyr Leu	
Thr Asp Ser Ala Phe	Ser Ala Tyr Leu Met	

10

20

30

40

Asp Ser Ala Phe Asp	Ala Tyr Leu Met Gly
Ser Ala Phe Asp Val	Tyr Leu Met Gly Leu
Ala Phe Asp Val Leu	Leu Met Gly Leu Asn
Phe Asp Val Leu Gly	Met Gly Leu Asn Ser
Asp Val Leu Gly Phe	Gly Leu Asn Ser Ala
Val Leu Gly Phe Thr	Leu Asn Ser Ala Asp
Leu Gly Phe Thr Ser	Asn Ser Ala Asp Leu
Gly Phe Thr Ser Glu	Ser Ala Asp Leu Leu
Phe Thr Ser Glu Glu	Ala Asp Leu Leu Lys
Thr Ser Glu Glu Lys	Asp Leu Leu Lys Gly
Ser Glu Glu Lys Ala	Leu Leu Lys Gly Leu
Glu Glu Lys Ala Gly	Leu Lys Gly Leu Cys
Glu Lys Ala Gly Val	Lys Gly Leu Cys His
Lys Ala Gly Val Tyr	Gly Leu Cys His Pro
Ala Gly Val Tyr Lys	Leu Cys His Pro Arg
Gly Val Tyr Lys Leu	Cys His Pro Arg Val
Val Tyr Lys Leu Thr	His Pro Arg Val Lys
Tyr Lys Leu Thr Gly	Pro Arg Val Lys Val
Lys Leu Thr Gly Ala	Arg Val Lys Val Gly
Leu Thr Gly Ala Ile	Val Lys Val Gly Asn
Thr Gly Ala Ile Met	Lys Val Gly Asn Glu
Gly Ala Ile Met His	Val Gly Asn Glu Tyr
Ala Ile Met His Tyr	Gly Asn Glu Tyr Val
Ile Met His Tyr Gly	Asn Glu Tyr Val Thr
Met His Tyr Gly Asn	Glu Tyr Val Thr Lys
His Tyr Gly Asn Met	Tyr Val Thr Lys Gly

10

20

30

【 0 0 9 7 】

ミオシンー 7（配列番号 10）が標的自己抗原である場合、ペプチド試薬はミオシンー 7 のアミノ酸配列（配列番号 10）中のどこかに由来する 5～15 連続アミノ酸残基の配列を含む。表 11 には、ミオシンー 7（配列番号 10）由来の 5 連続アミノ酸残基から構成される典型的ペプチド試薬についてのアミノ酸配列がリストされている。追加のペプチド試薬は、表 11 中にリストされている 5 アミノ酸長配列のいずれか 1 つ + 前記 5 アミノ酸長配列に（タンパク質アミノ酸配列内のいずれかの側から）連続する配列番号 10 由来の多くとも全部で 10 個の追加連続アミノ酸残基を含む多くとも 15 アミノ酸残基の長さを有し得る。

40

【 0 0 9 8 】

【表 1 1】

表 11:

	Gly Asp Ser Glu Met		Val Ser Arg Glu Gly		Leu Tyr Asn Leu Lys
	Asp Ser Glu Met Ala		Ser Arg Glu Gly Gly		Tyr Asn Leu Lys Asp
	Ser Glu Met Ala Val		Arg Glu Gly Gly Lys		Asn Leu Lys Asp Arg
	Glu Met Ala Val Phe		Glu Gly Gly Lys Val		Leu Lys Asp Arg Tyr
	Met Ala Val Phe Gly		Gly Gly Lys Val Thr		Lys Asp Arg Tyr Gly
	Ala Val Phe Gly Ala		Gly Lys Val Thr Ala		Asp Arg Tyr Gly Ser
	Val Phe Gly Ala Ala		Lys Val Thr Ala Glu		Arg Tyr Gly Ser Trp
	Phe Gly Ala Ala Ala		Val Thr Ala Glu Thr		Tyr Gly Ser Trp Met
	Gly Ala Ala Ala Pro		Thr Ala Glu Thr Glu		Gly Ser Trp Met Ile
	Ala Ala Ala Pro Tyr		Ala Glu Thr Glu Tyr		Ser Trp Met Ile Tyr
	Ala Ala Pro Tyr Leu		Glu Thr Glu Tyr Gly		Trp Met Ile Tyr Thr
	Ala Pro Tyr Leu Arg		Thr Glu Tyr Gly Lys		Met Ile Tyr Thr Tyr
	Pro Tyr Leu Arg Lys		Glu Tyr Gly Lys Thr		Ile Tyr Thr Tyr Ser
	Tyr Leu Arg Lys Ser		Tyr Gly Lys Thr Val		Tyr Thr Tyr Ser Gly
	Leu Arg Lys Ser Glu		Gly Lys Thr Val Thr		Thr Tyr Ser Gly Leu
	Arg Lys Ser Glu Lys		Lys Thr Val Thr Val		Tyr Ser Gly Leu Phe
	Lys Ser Glu Lys Glu		Thr Val Thr Val Lys		Ser Gly Leu Phe Cys
	Ser Glu Lys Glu Arg		Val Thr Val Lys Glu		Gly Leu Phe Cys Val
	Glu Lys Glu Arg Leu		Thr Val Lys Glu Asp		Leu Phe Cys Val Thr
	Lys Glu Arg Leu Glu		Val Lys Glu Asp Gln		Phe Cys Val Thr Val
	Glu Arg Leu Glu Ala		Lys Glu Asp Gln Val		Cys Val Thr Val Asn
	Arg Leu Glu Ala Gln		Glu Asp Gln Val Met		Val Thr Val Asn Pro
	Leu Glu Ala Gln Thr		Asp Gln Val Met Gln		Thr Val Asn Pro Tyr
	Glu Ala Gln Thr Arg		Gln Val Met Gln Gln		Val Asn Pro Tyr Lys
	Ala Gln Thr Arg Pro		Val Met Gln Gln Asn		Asn Pro Tyr Lys Trp
	Gln Thr Arg Pro Phe		Met Gln Gln Asn Pro		Pro Tyr Lys Trp Leu
	Thr Arg Pro Phe Asp		Gln Gln Asn Pro Pro		Tyr Lys Trp Leu Pro
	Arg Pro Phe Asp Leu		Gln Asn Pro Pro Lys		Lys Trp Leu Pro Val

10

20

30

40

	Pro Phe Asp Leu Lys		Asn Pro Pro Lys Phe		Trp Leu Pro Val Tyr
	Phe Asp Leu Lys Lys		Pro Pro Lys Phe Asp		Leu Pro Val Tyr Thr
	Asp Leu Lys Lys Asp		Pro Lys Phe Asp Lys		Pro Val Tyr Thr Pro
	Leu Lys Lys Asp Val		Lys Phe Asp Lys Ile		Val Tyr Thr Pro Glu
	Lys Lys Asp Val Phe		Phe Asp Lys Ile Glu		Tyr Thr Pro Glu Val
	Lys Asp Val Phe Val		Asp Lys Ile Glu Asp		Thr Pro Glu Val Val
	Asp Val Phe Val Pro		Lys Ile Glu Asp Met		Pro Glu Val Val Ala
	Val Phe Val Pro Asp		Ile Glu Asp Met Ala		Glu Val Val Ala Ala
	Phe Val Pro Asp Asp		Glu Asp Met Ala Met		Val Val Ala Ala Tyr
	Val Pro Asp Asp Lys		Asp Met Ala Met Leu		Val Ala Ala Tyr Arg
	Pro Asp Asp Lys Gln		Met Ala Met Leu Thr		Ala Ala Tyr Arg Gly
	Asp Asp Lys Gln Glu		Ala Met Leu Thr Phe		Ala Tyr Arg Gly Lys
	Asp Lys Gln Glu Phe		Met Leu Thr Phe Leu		Tyr Arg Gly Lys Lys
	Lys Gln Glu Phe Val		Leu Thr Phe Leu His		Arg Gly Lys Lys Arg
	Gln Glu Phe Val Lys		Thr Phe Leu His Glu		Gly Lys Lys Arg Ser
	Glu Phe Val Lys Ala		Phe Leu His Glu Pro		Lys Lys Arg Ser Glu
	Phe Val Lys Ala Lys		Leu His Glu Pro Ala		Lys Arg Ser Glu Ala
	Val Lys Ala Lys Ile		His Glu Pro Ala Val		Arg Ser Glu Ala Pro
	Lys Ala Lys Ile Val		Glu Pro Ala Val Leu		Ser Glu Ala Pro Pro
	Ala Lys Ile Val Ser		Pro Ala Val Leu Tyr		Glu Ala Pro Pro His
	Lys Ile Val Ser Arg		Ala Val Leu Tyr Asn		Ala Pro Pro His Ile
	Ile Val Ser Arg Glu		Val Leu Tyr Asn Leu		Pro Pro His Ile Phe
	Pro His Ile Phe Ser		Arg Ser Lys Lys Asp		Gly Lys Leu Ala Ser
	His Ile Phe Ser Ile		Ser Lys Lys Asp Gln		Lys Leu Ala Ser Ala
	Ile Phe Ser Ile Ser		Lys Lys Asp Gln Ser		Leu Ala Ser Ala Asp
	Phe Ser Ile Ser Asp		Lys Asp Gln Ser Pro		Ala Ser Ala Asp Ile
	Ser Ile Ser Asp Asn		Asp Gln Ser Pro Gly		Ser Ala Asp Ile Glu
	Ile Ser Asp Asn Ala		Gln Ser Pro Gly Lys		Ala Asp Ile Glu Thr
	Ser Asp Asn Ala Tyr		Ser Pro Gly Lys Gly		Asp Ile Glu Thr Tyr
	Asp Asn Ala Tyr Gln		Pro Gly Lys Gly Thr		Ile Glu Thr Tyr Leu
	Asn Ala Tyr Gln Tyr		Gly Lys Gly Thr Leu		Glu Thr Tyr Leu Leu
	Ala Tyr Gln Tyr Met		Lys Gly Thr Leu Glu		Thr Tyr Leu Leu Glu

10

20

30

40

	Tyr Gln Tyr Met Leu	Gly Thr Leu Glu Asp	Tyr Leu Leu Glu Lys
	Gln Tyr Met Leu Thr	Thr Leu Glu Asp Gln	Leu Leu Glu Lys Ser
	Tyr Met Leu Thr Asp	Leu Glu Asp Gln Ile	Leu Glu Lys Ser Arg
	Met Leu Thr Asp Arg	Glu Asp Gln Ile Ile	Glu Lys Ser Arg Val
	Leu Thr Asp Arg Glu	Asp Gln Ile Ile Gln	Lys Ser Arg Val Ile
	Thr Asp Arg Glu Asn	Gln Ile Ile Gln Ala	Ser Arg Val Ile Phe
	Asp Arg Glu Asn Gln	Ile Ile Gln Ala Asn	Arg Val Ile Phe Gln
	Arg Glu Asn Gln Ser	Ile Gln Ala Asn Pro	Val Ile Phe Gln Leu
	Glu Asn Gln Ser Ile	Gln Ala Asn Pro Ala	Ile Phe Gln Leu Lys
	Asn Gln Ser Ile Leu	Ala Asn Pro Ala Leu	Phe Gln Leu Lys Ala
	Gln Ser Ile Leu Ile	Asn Pro Ala Leu Glu	Gln Leu Lys Ala Glu
	Ser Ile Leu Ile Thr	Pro Ala Leu Glu Ala	Leu Lys Ala Glu Arg
	Ile Leu Ile Thr Gly	Ala Leu Glu Ala Phe	Lys Ala Glu Arg Asp
	Leu Ile Thr Gly Glu	Leu Glu Ala Phe Gly	Ala Glu Arg Asp Tyr
	Ile Thr Gly Glu Ser	Glu Ala Phe Gly Asn	Glu Arg Asp Tyr His
	Thr Gly Glu Ser Gly	Ala Phe Gly Asn Ala	Arg Asp Tyr His Ile
	Gly Glu Ser Gly Ala	Phe Gly Asn Ala Lys	Asp Tyr His Ile Phe
	Glu Ser Gly Ala Gly	Gly Asn Ala Lys Thr	Tyr His Ile Phe Tyr
	Ser Gly Ala Gly Lys	Asn Ala Lys Thr Val	His Ile Phe Tyr Gln
	Gly Ala Gly Lys Thr	Ala Lys Thr Val Arg	Ile Phe Tyr Gln Ile
	Ala Gly Lys Thr Val	Lys Thr Val Arg Asn	
	Gly Lys Thr Val Asn	Thr Val Arg Asn Asp	
	Lys Thr Val Asn Thr	Val Arg Asn Asp Asn	
	Thr Val Asn Thr Lys	Arg Asn Asp Asn Ser	
	Val Asn Thr Lys Arg	Asn Asp Asn Ser Ser	
	Asn Thr Lys Arg Val	Asp Asn Ser Ser Arg	
	Thr Lys Arg Val Ile	Asn Ser Ser Arg Phe	
	Lys Arg Val Ile Gln	Ser Ser Arg Phe Gly	
	Arg Val Ile Gln Tyr	Ser Arg Phe Gly Lys	
	Val Ile Gln Tyr Phe	Arg Phe Gly Lys Phe	
	Ile Gln Tyr Phe Ala	Phe Gly Lys Phe Ile	
	Gln Tyr Phe Ala Val	Gly Lys Phe Ile Arg	

10

20

30

40

	Tyr Phe Ala Val Ile		Lys Phe Ile Arg Ile		
	Phe Ala Val Ile Ala		Phe Ile Arg Ile His		
	Ala Val Ile Ala Ala		Ile Arg Ile His Phe		
	Val Ile Ala Ala Ile		Arg Ile His Phe Gly		
	Ile Ala Ala Ile Gly		Ile His Phe Gly Ala		
	Ala Ala Ile Gly Asp		His Phe Gly Ala Thr		
	Ala Ile Gly Asp Arg		Phe Gly Ala Thr Gly		
	Ile Gly Asp Arg Ser		Gly Ala Thr Gly Lys		
	Gly Asp Arg Ser Lys		Ala Thr Gly Lys Leu		
	Asp Arg Ser Lys Lys		Thr Gly Lys Leu Ala		

10

【0099】

ペプチド試薬のいずれか1つが場合によりN末端及び／またはC末端で修飾されてもよい。N末端修飾には、例えばアセチル化 [A c]、ベンジルオキシカルボニル [C b z]、ビオチン [B t n]、シンナモイル化 [C i n n]、ダブルシル [D a b c]、ダブルシル [D a b s]、シンナモイル化 [C i n n]、ダブルシル [D a b c]、ダブルシル [D a b s]、ダンシル [D a n s]、ジニトロフェニル [D n p]、フルオレセイン [F l c]、FMOC [F m o c]、ホルミル化 [F o r m]、リサミンローダミン [L i s s]、ミリストイル化 [M y r s]、N-メチル [N m e]、パルミトイル化 [P a l m]、ステロイル化 [S t e r] 及び7-メトキシクマリン酢酸 [M c a] が含まれる。C末端修飾には、例えばアミド [N H 2]、4-Branch MAP樹脂 [M A P C] 及びヒドロキシル [O H] が含まれる。

20

【0100】

そこからペプチド試薬を誘導しようとするタンパク質、よって出発アミノ酸配列を考えると、一方または両方の末端に対する修飾を有するペプチドを含めたペプチドまたは複数のペプチドのライブラリーは容易に商業的に利用可能な外注ペプチド合成サービスにより作成され得る。前記サービスは、現在例えばSigma-Genosys (PEPscreen (登録商標)として)、Invitrogen及びGeneTeL Laboatoriesからルーチンに利用可能である。

30

【0101】

本発明に記載のペプチド試薬は、当業者が認識している幾つかの検出方法のいずれかにより自己抗体の標的タンパク質に対する結合の阻害について試験し得る。典型的には、ペプチド試薬は濃度の異なる幾つかの溶液を調製するために希釈剤を用いて作成される。各溶液を選択した量の公知量の自己抗体及び標的タンパク質を含有する検査サンプルと組み合わせる。検出可能標識及び標的タンパク質に対する特異的結合パートナー（すなわち、抗体）を含む検出コンジュゲートも添加する。検出コンジュゲートより発生するシグナルを使用して、ペプチド試薬の各希釈物の標的タンパク質に対する自己抗体の結合に関する相対的阻害活性を定量し得る。

40

【0102】

例えば、各々が標的タンパク質から誘導される異なるアミノ酸配列を有する各ペプチド試薬の等モル量の出発溶液を得、次いで予め選択した異なる濃度（典型的には、nmol/mL範囲）の溶液を得るために適当なプレインキュベーション希釈剤を用いて希釈し得る。標的タンパク質（典型的には、組換えタンパク質）をマイクロプレート上に適当なバッファー溶液を用いてコーティングし、標的タンパク質をプレートに結合させるのに十分な条件下で、例えば38℃で約1時間維持し得る。次いで、タンパク質にウシ血清アルブミン及びスクロースのPBS中溶液を順次用いてオーバーコーティングし得る。マウス抗

50

ヒト I g G を当業界で公知の標識法に従って検出可能標識で標識することにより検出コンジュゲートを作成し得る。例えば、検出可能標識は化学発光化合物（例えば、アクリジニウム化合物）であり得るが、これに限定されない。

【0103】

次いで、阻害剤ペプチド試薬の各希釈物を標的自己抗原に対する内因性自己抗体を公知量含有する検査サンプルと好ましくは約 1 : 1 の容量比で混合する。生じた溶液をマイクロプレート中に配置し、密封し、ペプチド試薬の自己抗体に対する結合を得るのに十分な条件で、例えば室温で約 6 ~ 24 時間維持する。ポジティブ及び低コントロールである検査サンプルを適当なプレインキュベーション希釈剤で希釈し、マイクロプレートに例えば 3 組配置する。プレートを結合を得るのに十分な条件で、例えば 37 °C で少なくとも約 2 時間インキュベートし、プレートを適当なバッファー（例えば、ARCHITECT（登録商標）洗浄バッファー）で洗浄する。次いで、検出コンジュゲートをプレートに添加する。例えば、検出コンジュゲートは検出可能標識にコンジュゲートされているマウス抗ヒト I g G 特異的モノクローナル抗体であり得る。プレートを再び検出コンジュゲートを標的自己抗原に結合させるのに十分な条件で、例えば 37 °C で約 1 時間インキュベートした後、洗浄バッファーを用いて最終洗浄する。

【0104】

検出のために、マイクロプレートを選択した具体的標識及び検出方法に適した方法に従って処理する。例えば、アクリジニウム化合物が検出可能標識である検出コンジュゲートを用いる場合には、マイクロプレートをマイクロプレートリーダー（例えば、Mithras マイクロプレートリーダー、Berthold Technologies Inc、テネシー州オークリッジ）に充填し、適当な温度（例えば、28 °C）で平衡化する。プレートリガー溶液及びトリガー溶液を順次添加した後、各ウェルからの化学発光シグナルを数秒間記録する。次いで、生じた化学発光シグナルを記録する。シグナルのデータ分析は、各ペプチド試薬による阻害の相対強度を示すために各ペプチド試薬の濃度に対するシグナル対低コントロールの比（S / L C）のプロットとしてシグナルを比較することを含み得る。

【0105】

C. 検査サンプル中の対象タンパク質を検出するためのイムノアッセイ

本発明は、標的タンパク質に対する自己抗体が存在するか存在しないかもしれない検査サンプル中の対象のタンパク質アナライトを検出するためのイムノアッセイにおける本明細書中に開示されているペプチド試薬の使用方法にも関する。対象のタンパク質アナライトは典型的には自己抗原である。本明細書中の他の所に記載されているように、それに対する自己抗体が発表されているタンパク質である自己抗原の例には、心臓トロポニン、ミエロペルオキシダーゼ（MPO）、前立腺特異抗原（PSA）及び甲状腺刺激ホルモン（TSH）が含まれるが、これらに限定されない。本明細書中に記載されているペプチド試薬及び関連方法は、まだそれに対する自己抗体は発表されていないが、その自己抗体がタンパク質の免疫検出を干渉する恐れがある診断対象の他のタンパク質の検出にも適用され得る。

【0106】

本発明の方法は、被験者から検査サンプルを採取し、その後サンプル中に存在しているかもしれないアナライトに対する自己抗体の存在を相殺しながら、免疫検出を用いて対象タンパク質、特に臨床対象の自己抗原の存在を検出することを含む。これは、サンプル中に存在しているかもしれない自己抗体のタンパク質への結合を阻害するタンパク質から誘導されるペプチド試薬を提供することにより部分的に達成される。

【0107】

イムノアッセイ方法

本発明の方法が多様のフォーマットで実施されるイムノアッセイに適用され得ることは認識されている。各種イムノアッセイフォーマットが対象タンパク質の検出そのもの及びペプチド試薬の阻害強度を評価するための本明細書中に開示されているペプチド試薬の検

査の両方に対して適用され得る。イムノアッセイの概説は、全文を参照により本明細書に組み入れるMETHODS IN CELL BIOLOGY, VOLUME 37: ANTIBODIES IN CELL BIOLOGY, Asai編, Academic Press Inc., New York (1993)、及びBASIC AND CLINICAL IMMUNOLOGY, 第7版, Stites & Terr編(1991)中にある。

【0108】

本発明に記載のペプチド試薬は、タンパク質に対する自己抗体が存在しているかもしれない検査サンプル中の少なくとも1つの対象タンパク質（抗原）の免疫検出を助ける。本明細書中の他の所に記載されているように、ペプチド試薬が誘導されるタンパク質は、例えば心臓トロポニンI、心臓トロポニンT、甲状腺刺激ホルモン（TSH）、 β -ヒト絨毛性ゴナドトロピン（ β -HCG）、ミエロペルオキシダーゼ（MPO）、前立腺特異抗原（PSA）、ヒトB型ナトリウム利尿ペプチド（hBNP）、ミオシン軽鎖2、ミオシン-6及びミオシン-7からなる群から選択され得る。典型的には、検査サンプルは例えば全血、血清または血漿であるが、対象タンパク質に対する自己抗体をも含み得る対象タンパク質を含有していると疑われる任意の生体材料、好ましくは体液であり得る。

【0109】

使用に際し、本明細書中に開示されている少なくとも1つのペプチド試薬を検査サンプルと組合せて、第1混合物を形成する。よって、第1混合物は少なくともペプチド試薬を含み、ある量の標的タンパク質及び標的タンパク質に対する自己抗体を含有しているかもしれない。標的タンパク質及び該タンパク質に対する内因性自己抗体がサンプル中に存在している場合、ペプチド試薬は検査サンプル中の自己抗体とタンパク質間の相互作用を破壊し、すなわち阻止して、別の結合パートナーと特異的に結合しない標的タンパク質が残る。次いで、前記方法を典型的なサンドイッチイムノアッセイフォーマットに従って進行させる。例えば、次いで第1混合物を第1特異的結合パートナー（すなわち、対象タンパク質と特異的に結合する抗体）と組み合わせることにより第2混合物を作成する。タンパク質及び抗体対が第1特異的結合パートナータンパク質複合体を形成する。次いで、第2混合物に検出コンジュゲート（すなわち、検出可能標識にコンジュゲートされている抗体）を導入する。検出コンジュゲートの抗体もタンパク質の特異的結合パートナー（すなわち、第2特異的結合パートナー）である。検出コンジュゲートの抗体は第1特異的結合パートナータンパク質複合体に結合して、第1特異的結合パートナー、タンパク質及び第2特異的結合パートナーを含む免疫検出複合体を形成する。ペプチド試薬がサンプル中に存在している自己抗体の標的タンパク質に対する結合を防ぐので、ペプチド試薬により自己抗体が免疫検出複合体の形成を干渉するのが防止される。シグナルが検出コンジュゲート上の検出可能標識より発生しまたは検出可能標識から放出され、シグナルは検査サンプル中の対象タンパク質の存在を検出するために使用する。検出コンジュゲートより発生したシグナルは、免疫検出複合体の形成速度（ k_1 ）対免疫検出複合体の解離速度（ k_2 ）より調べられる対象タンパク質の濃度に比例する。

【0110】

方法は、例えばアクリジニウム化合物の検出可能標識としての使用を含み得る。アクリジニウム化合物を使用する場合、方法は更に第2混合物に対して過酸化水素源を生成または供給し、生じた混合物に塩基性溶液を添加し、発生または放出される光シグナルを測定し、サンプル中の対象タンパク質を検出することを含む。過酸化水素源はバッファー、過酸化水素を含有する溶液または過酸化水素を生成する酵素であり得る。塩基性溶液は例えば少なくとも約10のpHを有する溶液である。

【0111】

方法は場合により固相の使用を含み得る。例えば、第1特異的結合パートナータンパク質複合体を形成する前またはその後に、第1特異的結合パートナーを固相上に固定化してもよい。第1特異的結合パートナータンパク質-第2特異的結合パートナー複合体を形成する前またはその後に、第2特異的結合パートナーを固相上に固定化してもよい。使

用する場合、固相は使用しようとする抗体を結合させるのに十分な表面親和性を有する適当な材料であり得、多数の形態、例えば磁気粒子、ビーズ、試験管、マイクロタイタープレート、キュベット、膜、足場分子、水晶、フィルム、濾紙、ディスクまたはチップの形態をとり得る。有用な固相材料には、天然高分子炭水化物及びその合成的に修飾、架橋または置換した誘導体、例えば寒天、アガロース、架橋アルギン酸、置換及び架橋グアーガム、セルロースエステル、特に硝酸及びカルボン酸とのセルロースエステル、混合セルロースエステル及びセルロースエーテル；窒素を含有する天然ポリマー、例えば架橋または修飾ゼラチンを含めたタンパク質及び誘導体；天然炭化水素ポリマー、例えばラテックス及びゴム；合成ポリマー、例えばポリエチレン、ポリプロピレン、ポリスチレン、ポリ塩化ビニル、ポリ酢酸ビニル及びその部分加水分解誘導体を含めたビニルポリマー、ポリアクリルアミド、ポリメタクリレート、上記重縮合物のコポリマー及びターポリマー（例えば、ポリエステル、ポリアミド、及びポリウレタンまたはポリエポキシドのような他のポリマー）；無機材料、例えば硫酸バリウム、硫酸カルシウム、炭酸カルシウムを含めたアルカリ土類金属及びマグネシウムの硫酸塩または炭酸塩、アルカリ金属及びアルカリ土類金属、アルミニウム及びマグネシウムのケイ酸塩；及びアルミニウムまたはケイ素の酸化物または水和物、例えばクレー、アルミナ、タルク、カオリン、ゼオライト、シリカゲルまたはガラス（これらの材料は上記ポリマー材料と一緒にフィルターとして使用され得る）；並びに上記クラスの混合物またはコポリマー、例えば既存の天然ポリマーに対する合成ポリマーの重合を開始することにより得られるグラフトコポリマーが含まれる。これらの材料はすべて適当な形状（例えば、フィルム、シート、チューブ、粒子またはプレート）で使用され得、または適切な不活性担体（例えば、紙、ガラス、プラスチックフィルム、ファブリック等）上にコーティング、結合またはラミネートしてもよい。ニトロセルロースはモノクローナル抗体を含めた各種の試薬に対して優れた吸収及び吸着特性を有している。ナイロンも類似の特性を有しており、適当である。

10

20

【0112】

或いは、固相はマイクロ粒子を構成し得る。本発明において有用なマイクロ粒子は適当なタイプの粒状材料から当業者により選択され得、ポリスチレン、ポリメチルアクリレート、ポリプロピレン、ラテックス、ポリテトラフルオロエチレン、ポリアクリロニトリル、ポリカーボネート、または類似の材料から構成されるものが含まれる。更に、マイクロ粒子は磁性または常磁性マイクロ粒子、例えばカルボキシル化磁性マイクロ粒子であり得る。本発明の方法は、固相がマイクロ粒子からなる自動及び半自動システムを含めたマイクロ粒子テクノロジーを利用するシステムにおいて使用するためにアレンジされ得る。前記システムには、それぞれ欧州特許出願公開Nos. EP 0 425 633及びEP 0 424 634に対応する係属中の米国特許出願No. 425, 651及び米国特許No. 5, 089, 424、並びに米国特許No. 5, 006, 309に記載されている

30

【0113】

特定実施形態では、固相は1つ以上の電極を含む。抗体を1つ以上の電極に対して直接または間接的に固定し得る。1つの実施形態では、例えば、第1特異的結合パートナーの抗体を磁性または常磁性マイクロ粒子に固定し得、その後マグネットを用いて電極表面の近傍に配置する。1つ以上の電極が固相として働くシステムは、検出が電気化学的相互作用に基づいている場合に有用である。このタイプの典型的システムは、例えば米国特許No. 6, 887, 714（2005年5月3日発行）に記載されている。基本的方法を電気化学的検出に関して更に以下に記載する。

40

【0114】

固相の選択に影響を与える他の考慮すべき要件には、標識実体の非特異的結合を最小限とする能力及び使用する標識化システムとの適合性が含まれる。例えば、蛍光標識と一緒に使用される固相はシグナル検出できるように十分に低いバックグラウンド蛍光を有していなければならない。

【0115】

よって、本発明によれば、対象タンパク質の存在を検出するための本発明のイムノアッ

50

セイは固体支持体であり得る固相を用いる不均一アッセイである。イムノアッセイは、例えば外因性抗体を固相上に固定化することにより実施され、前記外因性抗体が対象タンパク質上の少なくとも1つのエピトープと反応性であり、第1特異的結合パートナーとして機能する。ペプチド試薬を検査サンプルに導入する。次いで、第1特異的結合パートナーを対象タンパク質へ特異的結合させ、よって固相に結合されている第1特異的結合パートナータンパク質複合体を形成するのに十分な条件下で検査サンプルを第1特異的結合パートナーと接触させる。検査サンプルが少なくとも1つのタンパク質に対する自己抗体を含有している場合、ペプチド試薬は対象タンパク質と自己抗体間の相互作用を阻止する。固相に結合した第1特異的結合パートナータンパク質複合体を、検査サンプル中に存在している対象タンパク質に対して検出コンジュゲートの特異的結合させるのに十分な条件下で検出コンジュゲートと接触させる。こうして、第1特異的結合パートナータンパク質複合体及び検出コンジュゲートを含む免疫検出複合体が形成される。

10

【0116】

典型的には、検出コンジュゲートは検出可能標識を含む。使用する検出アプローチに応じて、免疫検出複合体の光学的、電氣的または状態変化シグナルを測定する。よって、免疫検出複合体は典型的には、形成されると物理的検出及び／または定量を受けやすいシグナルを発生する分子のコンフィギュレーションである。イムノアッセイは例示の目的で一連のステップを含むと上記されているが、検査サンプルを第1（捕捉）抗体及び第2（検出）抗体と同時に、または任意の順序で逐次接触させてもよい。接触順序に関係なく、自己抗体がサンプル中に存在しているならば、ペプチド試薬は対象タンパク質の検査サンプル中に存在している自己抗体との相互作用を阻止する。

20

【0117】

本発明に記載のサンドイッチイムノアッセイの1つのフォーマットでは、検出は第1特異的結合パートナー、対象タンパク質及び第2特異的結合パートナー（検出コンジュゲート）を含む固相固定した免疫検出複合体からのシグナルを検出することを含む。1つの実施形態では、免疫検出複合体を典型的には洗浄により固相から分離し、結合した標識からのシグナルを検出する。本発明に記載のサンドイッチイムノアッセイの別のフォーマットでは、免疫検出複合体は固相固定した複合体を残しており、その後検出される。

【0118】

抗体

本発明に記載のイムノアッセイでは、第1特異的結合パートナーはポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト抗体、親和性成熟した抗体または抗体断片を含めた抗体であり得る。同様に、第2抗体はポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト抗体、親和性成熟した抗体または抗体断片であり得る。

30

【0119】

モノクローナル抗体はタンパク質／抗原に対して非常に特異性であるが、好ましくはポリクローナル抗体ができるだけ多くのタンパク質／抗原を固定化するための捕捉（第1）抗体として使用され得る。この後、タンパク質／抗原に対して本質的に高い結合特異性を有するモノクローナル抗体を検出（第2）抗体として使用し得ることが好ましい。いずれの場合も、第1特異的結合パートナーとして働く抗体及び第2特異的結合パートナーとして働く抗体は、好ましくは1つの抗体の妨害または1つの抗体による他の抗体により認識されるエピトープとの干渉を避けるためにタンパク質上の2つの非重複エピトープを認識する。各抗体が他の抗体の結合を干渉することなく、使用する複数の抗体が対象タンパク質上の異なるエピトープに同時に結合できることが好ましい。

40

【0120】

ポリクローナル抗体は、免疫原を適当な非ヒト哺乳動物（例えば、マウスまたは家兎）に注射（例えば、皮下または筋肉内注射）することにより産生される。一般的に、免疫原は標的抗原（対象タンパク質）に対して比較的高い親和性を有する高力価の抗体の産生を誘導しなければならない。

【0121】

50

所望ならば、抗原を当業界で公知のコンジュゲーション技術により担体タンパク質にコンジュゲートしてもよい。通常使用されている担体には、キーホールインペットヘモシアニン (K L H)、サイログロブリン、ウシ血清アルブミン (B S A) 及び破傷風トキシイドが含まれる。次いで、コンジュゲートは動物を免疫化するために使用される。

【0122】

次いで、動物から採取した血液サンプルから抗体を得る。ポリクローナル抗体を産生するために使用される技術は、文献 (例えば、Methods of Enzymology, "Production of Antisera With Small Doses of Immunogen: Multiple Intradermal Injections", Langoneら編 (Acad. Press, 1981) を参照されたい) に広く記載されている。動物より産生されたポリクローナル抗体を、例えば標的抗原が結合しているマトリックスに結合させ、マトリックスから溶離させることにより更に精製してもよい。当業者はポリクローナル及びモノクローナル抗体を精製及び／または濃縮するために免疫学分野で一般的な各種技術を知っている (例えば、Coliganら (1991) Unit 9, Current Protocols in Immunology, Wiley Interscienceを参照されたい)。

【0123】

多くの用途に対して、モノクローナル抗体 (mAb) が好ましい。mAbを分泌するハイブリドーマを産生するために使用される一般的方法は公知である (Kohler and Milstein (1975) Nature, 256: 495)。簡単に説明すると、Kohler and Milsteinが記載しているように、技術はメラノーマ、奇形癌、或いは頸部、グリオームまたは肺の癌を有する5人の別々の癌患者の限局排出リンパ節からリンパ球を単離し、細胞をプールし、細胞をSHFP-1と融合することを含む。癌細胞株に結合する抗体の産生についてハイブリドーマをスクリーニングする。mAbの中での特異性の確認は、対象mAbの基本的反応パターンを調べるためにELISAのようなルーチンのスクリーニング技術を用いて実施され得る。

【0124】

本明細書中で使用されている用語「抗体」は、ファージディスプレイテクノロジーを用いて産生／選択され得る抗原に結合する抗体断片、例えば一本鎖抗体 (scFvまたはその他) を包含する。細菌 (バクテリオファージまたはファージ) を感染させるウイルスの表面上で抗体断片を発現する能力により、例えば 10^{10} 以上の非結合クロンのライブラリーから単一結合抗体断片を単離することができる。ファージ (ファージディスプレイ) の表面上で抗体断片を発現させるために、抗体断片遺伝子をファージ表面タンパク質をエンコードする遺伝子 (例えば、pIII) に挿入し、抗体断片-pIII融合タンパク質をファージ表面上で提示する (McCaffertyら (1990) Nature, 348: 552-554; Hoogenboomら (1991) Nucleic Acids Res., 19: 4133-4137)。

【0125】

ファージの表面上の抗体断片は機能性であるので、ファージを有する抗原結合抗体断片を抗原親和性クロマトグラフィーにより非結合ファージから分離し得る (McCaffertyら (1990) Nature, 348: 552-554)。抗体断片の親和性に応じて、1回の親和性選択で20~1,000,000倍の濃縮係数が得られる。しかしながら、細菌を溶離ファージで感染させることにより、より多くのファージが増殖し、別の回の選択にかけられ得る。このようにして、1回で1000倍の濃縮が2回の選択で1,000,000倍になり得る (McCaffertyら (1990) Nature, 348: 552-554)。よって、濃縮が低くても (Marksら (1991) J. Mol. Biol., 222: 581-597)、複数回の親和性選択によりまれなファージが単離され得る。抗原に対するファージ抗体ライブラリーの選択により濃縮が生ずるので、選択回数が3~4回くらいの少数の後でも大部分のクローンが抗原に結合する。よって、比較的少数 (数百) のクロンのみを抗原に対する結合について分析すればすむ。

【0126】

ヒト抗体は、ファージに対して比較的大きく多様なV遺伝子レパートリーを提示することにより前免疫化することなく産生され得る（Marksら（1991）J. Mol. Biol., 222:581-597）。1つの実施形態では、ヒト末梢血リンパ球中に存在する天然VH及びVLレパートリーをPCRにより非免疫化ドナーから単離する。V遺伝子レパートリーはPCRを用いてランダムに一緒にスプライスすると、scFv遺伝子レパートリーが生成され得、これをファージベクターにクローン化すると3000万個のファージ抗体のライブラリー（Id.）が作成される。単一「ナイプ」ファージ抗体ライブラリーから、ハプテン、多糖及びタンパク質を含めた17以上の異なる抗原に対する結合抗体断片が単離された（Marksら（1991）J. Mol. Biol., 222:581-597; Marksら（1993）Bio/Technology, 10:779-783; Griffithsら（1993）EMBO J., 12:725-734; Clacksonら（1991）Nature, 352:624-628）。ヒトサイログロブリン、免疫グロブリン、腫瘍壊死因子及びCEAを含めた自己タンパク質に対する抗体が産生された（Griffithsら（1993）EMBO J., 12:725-734）。抗体断片は選択のために使用される抗原に対して非常に特異的であり、1nM~100nMの範囲の親和性を有する（Marksら（1991）J. Mol. Biol., 222:581-597; Griffithsら（1993）EMBO J., 12:725-734）。大型ファージ抗体ライブラリーにより、大部分の抗原に対してより高い結合親和性を有する抗体がより多く単離される。

10

20

【0127】

当業者は容易に認識しているように、抗体は多数の商用サービス（例えば、Berkeley Antibody Laboratories, Bethyl Laboratories, Anawa、Eurogenetec等）により作成され得る。

【0128】

検出システムー概説

先に検討したように、本発明に記載のイムノアッセイは、典型的には対象タンパク質に対して特異的な抗体を含む第2特異的結合パートナーを用いる。ある実施形態では、第2特異的結合パートナーは抗体にコンジュゲートされている検出可能標識を含み、検出コンジュゲートとして機能する。

30

【0129】

検出コンジュゲート中に使用するのに適した検出可能標識には、分光的、光化学的、生化学的、免疫化学的、電気的、光学的または化学的手段により検出され得る部分を有する化合物または組成物が含まれる。前記標識には、例えば放射性標識、酵素標識、化学発光標識、蛍光標識、温度測定標識及びイムノポリメラーゼ連鎖反応標識が含まれる。

【0130】

よって、例えば光学シグナルを用いるイムノアッセイでは、光学シグナルを化学発光、蛍光、燐光、電気化学発光、紫外吸収、可視吸収、赤外吸収、屈折、表面プラズモン共鳴のタンパク質濃度依存変化として測定する。電気シグナルを用いるイムノアッセイでは、電気シグナルを電流、抵抗、電位、質量電荷比またはイオンカウントのタンパク質濃度依存変化として測定する。状態変化シグナルを用いるイムノアッセイでは、状態変化シグナルをサイズ、溶解度、質量または共鳴のタンパク質濃度依存変化として測定する。

40

【0131】

より具体的には、標識は例えば酵素、オリゴヌクレオチド、ナノ粒子化学発光団、蛍光団、蛍光クエンチャー、化学発光クエンチャーまたはビオチンであり得る。本発明に記載の有用な標識には、磁気ビーズ（例えば、Dynabeads（商標））；蛍光染料（例えば、フルオレセイン、テキサスレッド、ローダミン、緑色蛍光タンパク質）等（例えば、Molecular Probes, 米国オレゴン州ユージーンを参照されたい）；化学発光化合物、例えばアクリジニウム（例えば、アクリジニウム-9-カルボキサミド）、フェナントリジニウム、ジオキセタン、ルミノール等；放射標識（例えば、³H、¹

50

²⁵I、³⁵S、¹⁴Cまたは³²P)；触媒、例えば酵素（例えば、ホースラディッシュペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、β-ガラクトシダーゼ、及びELISAにおいて通常使用されているその他）；及び比色標識、例えば金コロイド（例えば、直径40～80nmの大きさの金粒子は高い効率で緑色光を散乱する）、または着色ガラスまたはプラスチック（例えば、ポリスチレン、ポリプロピレン、ラテックス等）ビーズが含まれる。前記標識の使用を教示する特許には、米国特許Nos. 3, 817, 837、3, 850, 752、3, 939, 350、3, 996, 345、4, 277, 437、4, 275, 149及び4, 366, 241が含まれる。

【0132】

生体サンプルと接触させる前、その間またはその後、標識を検出抗体に結合して検出コンジュゲートを形成してもよい。所謂「直接標識」は、アッセイに使用する前に直接検出抗体に結合または取り込まれる検出可能標識である。直接標識は当業者に公知の多数の手段により検出抗体に結合または取り込まれ得る。

【0133】

対照的に、所謂「間接標識」は、典型的にはアッセイ中の幾つかの時点で検出抗体に結合させる。多くの場合、間接標識を使用前に検出剤に結合または取り込まれる部分に結合させる。よって、例えば、アッセイで使用する前に検出抗体をビオチニル化し得る。アッセイ中、アビジンコンジュゲートした蛍光団はビオチンを有する検出剤に結合して、容易に検出される標識を形成する。

【0134】

間接標識法の別の例では、免疫グロブリン定常領域に特異的に結合し得るポリペプチド（例えば、ポリペプチドAまたはポリペプチドG）も抗体を検出するための標識として使用され得る。これらのポリペプチドはストレプトコッカス細菌の細胞壁の通常成分である。これらは、各種種由来の免疫グロブリン定常領域と強い非免疫原反応性を示す（一般的に、Kronvalら（1973）J. Immunol., 111:1401-1406、及びAkerstrom（1985）J. Immunol., 135:2589-2542を参照されたい）。よって、前記ポリペプチドを標識し、アッセイ混合物に添加し得、ここで捕捉及び検出抗体、並びに自己抗体に結合し、すべてが標識され、サンプル中に存在しているタンパク質及び自己抗体に寄与する複合シグナルが与えられる。

【0135】

本発明において有用な幾つかの標識は、検出可能なシグナルを発生させるために1つ以上の追加の試薬を使用しなければならないことがある。ELISAでは、例えば酵素標識（例えば、β-ガラクトシダーゼ）は検出可能なシグナルを発生させるために基質（例えば、X-gal）の添加を必要とする。直接標識としてアクリジニウム化合物を用いるイムノアッセイ検出方法では、塩基性溶液及び過酸化水素源を添加する。

【0136】

検出システムー典型的フォーマット

化学発光イムノアッセイ：典型的実施形態では、上記した方法において検出コンジュゲートの一部としての直接標識として化学発光化合物を使用する。化学発光化合物はアクリジニウム化合物であり得る。アクリジニウム化合物を検出可能標識として使用する場合、上記した方法は更に、検査サンプルを第1特異的結合パートナー及び第2特異的結合パートナーと接触させると生ずる混合物（検出コンジュゲート）に過酸化水素源を生成または供給し、光シグナルを発生させるために混合物に少なくとも1つの塩基性溶液を添加することを含み得る。次いで、混合物により発生または放出された光シグナルを測定して、検査サンプル中の対象タンパク質を検出する。

【0137】

過酸化水素源は、バッファー溶液または過酸化水素を含有する溶液、或いは検査サンプルに添加したとき過酸化水素を生成する酵素であり得る。過酸化水素を生成する酵素は、例えば（R）-6-ヒドロキシニコチンオキシダーゼ、（S）-2-ヒドロキシ酸オキシダーゼ、（S）-6-ヒドロキシニコチンオキシダーゼ、3-ac-ニトロプロパン酸

10

20

30

40

50

オキシダーゼ、3-ヒドロキシアントラニル酸オキシダーゼ、4-ヒドロキシマンデル酸オキシダーゼ、6-ヒドロキシニコチン酸デヒドロゲナーゼ、アブシシンアルデヒドオキシダーゼ、アシル-CoAオキシダーゼ、アルコールオキシダーゼ、アルデヒドオキシダーゼ、アミノオキシダーゼ、アミノオキシダーゼ（銅含有）、アミノオキシダーゼ（フラビン含有）、アリールアルコールオキシダーゼ、アリールアルデヒドオキシダーゼ、カテコールオキシダーゼ、コレステロールオキシダーゼ、コリンオキシダーゼ、コランバミンオキシダーゼ、シクロヘキシルアミノオキシダーゼ、シトクロームcオキシダーゼ、D-アミノ酸オキシダーゼ、D-アラビノノ-1, 4-ラクトンオキシダーゼ、D-アラビノノ-1, 4-ラクトンオキシダーゼ、D-アスパラギン酸オキシダーゼ、D-グルタミン酸オキシダーゼ、D-グルタミン酸（D-アスパラギン酸）オキシダーゼ、ジヒドロベンゾフェナントリジンオキシダーゼ、ジヒドロオロツト酸オキシダーゼ、ジヒドロウラシルオキシダーゼ、ジメチルグリシンオキシダーゼ、D-マンニトールオキシダーゼ、エクジソンオキシダーゼ、エタノールアミノオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ、グルコースオキシダーゼ、グルタチオンオキシダーゼ、グリセロール-3-リン酸オキシダーゼ、グリシンオキシダーゼ、グリオキシル酸オキシダーゼ、ヘキソースオキシダーゼ、ヒドロキシフィタン酸オキシダーゼ、インドール-3-アセトアルデヒドオキシダーゼ、乳酸オキシダーゼ、L-アミノ酸オキシダーゼ、L-アスパラギン酸オキシダーゼ、L-ガラクトノラクトンオキシダーゼ、L-グルタミン酸オキシダーゼ、L-グロノラクトンオキシダーゼ、L-リシン6-オキシダーゼ、L-リシンオキシダーゼ、長鎖アルコールオキシダーゼ、L-ピペコリン酸オキシダーゼ、L-ソルボースオキシダーゼ、リンゴ酸オキシダーゼ、メタンチオールオキシダーゼ、モノアミノ酸オキシダーゼ、N⁶-メチルリシンオキシダーゼ、N-アシルヘキソサミンオキシダーゼ、NAD(P)Hオキシダーゼ、ニトロアルカンオキシダーゼ、N-メチル-L-アミノ酸オキシダーゼ、ヌクレオシドオキシダーゼ、シュウ酸オキシダーゼ、ポリアミノオキシダーゼ、ポリフェノールオキシダーゼ、ポリビニルアルコールオキシダーゼ、プレニルシステインオキシダーゼ、タンパク質-リシン6-オキシダーゼ、プトレシンオキシダーゼ、ピラノースオキシダーゼ、ピリドキサル5'-リン酸シンターゼ、ピリドキシン4-オキシダーゼ、ピロロキノリン-キノンシンターゼ、ピルビン酸オキシダーゼ、ピルビン酸オキシダーゼ（CoA-アセチル化）、レチクリンオキシダーゼ、レチナールオキシダーゼ、リファマイシンBオキシダーゼ、サルコシンオキシダーゼ、第2級アルコールオキシダーゼ、亜硫酸オキシダーゼ、スーパーオキシドジスムターゼ、スーパーオキシドレダクターゼ、テトラヒドロベルベリンオキシダーゼ、チアミンオキシダーゼ、トリプトファン α , β -オキシダーゼ、尿酸オキシダーゼ（ウリカーゼ、尿酸オキシダーゼ）、バニルアルコールオキシダーゼ、キサントシンオキシダーゼ、キシリトールオキシダーゼ及びその組合せからなる群から選択され得る。

【0138】

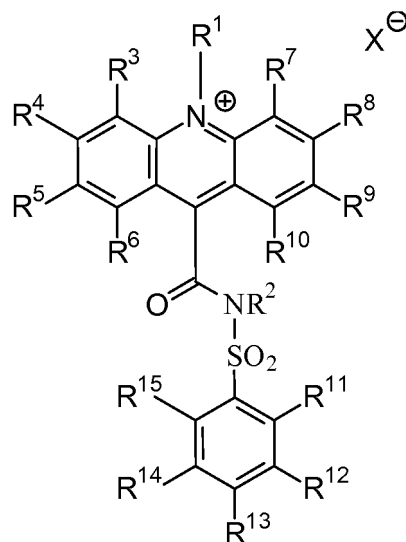
塩基性溶液はトリガー溶液として役立ち、少なくとも1つの塩基性溶液及び検出可能標識を添加する順序は臨界的でない。方法において使用される塩基性溶液は少なくとも1つの塩基を含有し、10以上、好ましくは12以上のpHを有する溶液である。塩基性溶液の例には、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム、水酸化アンモニウム、水酸化マグネシウム、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、水酸化カルシウム、炭酸カルシウム及び炭酸水素カルシウムが含まれるが、これらに限定されない。検査サンプルに添加される塩基性溶液の量はアッセイで使用する塩基性溶液の濃度に依存する。使用する塩基性溶液の濃度に基づいて、当業者は本明細書に記載されている方法において使用しようとする塩基性溶液の量を容易に決定することができる。

【0139】

検出可能標識としてアクリジニウム化合物を用いる本発明に記載の化学発光イムノアッセイにおいて、好ましくはアクリジニウム化合物はアクリジニウム-9-カルボキサミドである。具体的には、アクリジニウム-9-カルボキサミドは、式I：

【0140】

【化 9】



10

I

(式中、

20

R^1 及び R^2 は各々独立してアルキル、アルケニル、アルキニル、アリールまたはアルアルキル、スルホアルキル、カルボキシアルキル及びオキシアルキルからなる群から選択され；

$R^3 \sim R^{15}$ は各々独立して水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリールまたはアルアルキル、アミノ、アミド、アシル、アルコキシル、ヒドロキシル、カルボキシル、ハロゲン、ハライド、ニトロ、シアノ、スルホ、スルホアルキル、カルボキシアルキル及びオキシアルキルからなる群から選択され；

場合により、 X^- が存在するならばアニオンである）
に記載の構造を有する。

【0141】

30

アクリジニウム 9-カルボキサミドの製造方法は、Mattingly, P. G., J. Biolumin. Chemilumin., 6, 107-114 (1991); Adamczyk, M., Chen, Y.-Y., Mattingly, P. G., Pan, Y., J. Org. Chem., 63, 5636-5639 (1998); Adamczyk, M., Chen, Y.-Y., Mattingly, P. G., Moore, J. A., Shreder, K., Tetrahedron, 55, 10899-10914 (1999); Adamczyk, M., Mattingly, P. G., Moore, J. A., Pan, Y., Org. Lett., 1, 779-781 (1999); Adamczyk, M., Chen, Y.-Y., Fishpaugh, J. R., Mattingly, P. G., Pan, Y., Shreder, K., Yu, Z., Bioconjugate Chem., 11, 714-724 (2000); Mattingly, P. G., Adamczyk, M., Luminescence Biotechnology: Instruments and Applications, Dyke, K. V. 編, CRC Press, Boca Raton, p. 77-105 (2002); Adamczyk, M., Mattingly, P. G., Moore, J. A., Pan, Y., Org. Lett., 5, 3779-3782 (2003); 並びに米国特許 Nos. 5,468,646, 5,543,524 及び 5,783,699 (前記製造方法に関する教示のために各々の全文を参照により本明細書に組み入れる) に記載されている。

40

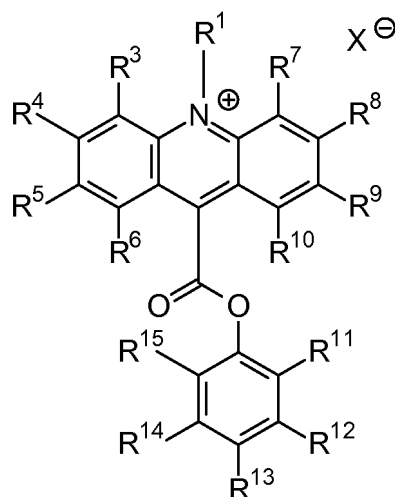
【0142】

50

或いは、アクリジニウム化合物はアクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルであり得る。アクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルは式 I I :

【 0 1 4 3 】

【 化 1 0 】



10

II

20

(式中、

R¹ はアルキル、アルケニル、アルキニル、アリールまたはアルアルキル、スルホアルキル、カルボキシアルキル及びオキシアルキルであり；

R³ ~ R¹⁵ は各々独立して水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリールまたはアルアルキル、アミノ、アミド、アシル、アルコキシル、ヒドロキシル、カルボキシル、ハロゲン、ハライド、ニトロ、シアノ、スルホ、スルホアルキル、カルボキシアルキル及びオキシアルキルからなる群から選択され；

場合により、X⁻が存在するならばアニオンである）に記載の構造を有し得る。

【 0 1 4 4 】

30

本発明において使用され得る上記式 I I を有するアクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルの例には、10－メチル－９－（フェノキシカルボニル）アクリジニウムフルオロスルホネート（ミネソタ州アナーバーに所在の Cayman Chemical から入手可能）が含まれるが、これに限定されない。アクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルの製造方法は、McCapra, F. ら, Photochem. Photobiol., 4, 1111-21 (1965) ; Razavi, Z. ら, Luminescence, 15: 245-249 (2000) ; Razavi, Z. ら, Luminescence, 15: 239-244 (2000) ; 及び米国特許 No. 5, 241, 070 (前記製造方法に関する教示のために各々の全文を参照により本明細書に組み入れる) に記載されている。

40

【 0 1 4 5 】

少なくとも1つのアクリジニウム化合物に加えて、インジケータ溶液は少なくとも1つの界面活性剤を含み得る。本発明では、水に溶解させたとき水の表面張力を低下させ、有機化合物の溶解度を上昇させる界面活性剤が使用され得る。使用され得る界面活性剤の例は1つ以上の非イオン性またはイオン性界面活性剤（例えば、アニオン性、カチオン性または双イオン性界面活性剤）である。使用され得る非イオン性界面活性剤には、トウキルフェノキシポリエトキシエタノール（トリトン X-100, Sigma Aldrich, ミズーリ州セントルイス）、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート（トウイーン 20）、ノニルフェノールポリオキシエチレンエーテル（ノニデット P 10）、デシルジメチルホスフィンオキシド（APO-10）、シクロヘキシル-n-エチル-

50

β -D-マルトシド、シクロヘキシル-n-ヘキシル- β -D-マルトシド、シクロヘキシル-n-メチル- β -D-マルトシド、n-デカノイルスクロース、n-デシル- β -D-グルコピラノシド、n-デシル-p-D-マルトピラノシド、n-デシル- β -D-チオマルトシド、ジギトニン、n-ドデカノイルスクロース、n-ドデシル- β -D-グルコピラノシド、n-ドデシル- β -D-マルトシド、ポリオキシエチレン(10)ドデシルエーテル(ゲナポールC-100)、イソトリデカノールポリグリコールエーテル(ゲナポールX-80)、イソトリデカノールポリグリコールエーテル(ゲナポールX-100)、ヘプタン-1, 2, 3-トリオール、n-ヘプチル- β -D-グルコピラノシド、n-ヘプチル- β -D-チオグルコピラノシド及びその組合せ含まれるが、これらに限定されない。使用され得るイオン性界面活性剤の例には、コール酸ナトリウム、ケノデオキシコール酸、コール酸、デヒドロコール酸、ドクサートナトリウム、ドクサートナトリウム塩、グリココール酸水和物、グリコデオキシコール酸一水和物、グリコリチオコール酸エチルエステル、N-ラウロイルサルコシナトリウム塩、N-ラウロイルサルコシン、ドデシル硫酸リチウム、プロピオン酸カルシウム、1-オクタンスルホン酸ナトリウム塩、1-ブタンスルホン酸ナトリウム、ケノデオキシコール酸ナトリウム、コール酸ナトリウム水和物、1-デカンスルホン酸ナトリウム、1-デカンスルホン酸ナトリウム、デオキシコール酸ナトリウム、デオキシコール酸ナトリウム一水和物、ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム、ドデシル硫酸ナトリウム、グリコケノデオキシコール酸ナトリウム、グリココール酸ナトリウム水和物、1-ヘプタンスルホン酸ナトリウム、ヘキサンスルホン酸ナトリウム、1-ノナンスルホン酸ナトリウム、オクチル硫酸ナトリウム、ペンタンスルホン酸ナトリウム、1-プロパンスルホン酸ナトリウム水和物、タウロデオキシコール酸ナトリウム水和物、タウロヒドロキシコール酸ナトリウム水和物、タウロウルソデオキシコール酸ナトリウム、タウロコール酸ナトリウム塩水和物、タウロリチオコール酸3-スルフェートジナトリウム塩、トリトン(登録商標)X-200、トリトン(登録商標)QS-15、トリトン(登録商標)QS-44、トリトン(登録商標)XQS-20、トリズマ(登録商標)ドデシルスルフェート、ウルソデオキシコール酸、臭化アルキルトリメチルアンモニウム、アンプロリウム塩酸塩、塩化ベンザルコニウム、水酸化ベンゼトニウム、塩化ベンジルジメチルヘキサデシルアンモニウム、臭化ベンジルドデシルジメチルアンモニウム、コリンp-ートルエンスルホネート塩、臭化ジメチルジオクタデシルアンモニウム、臭化ドデシルエチルジメチルアンモニウム、臭化ドデシルトリメチルアンモニウム、臭化エチルヘキサデシルジメチルアンモニウム、ジラール試薬、臭化ヘキサデシルピリジニウム、塩化ヘキサデシルピリジニウム一水和物、塩化ヘキサデシルピリジニウム一水和物、臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム、p-ートルエンスルホン酸ヘキサデシルトリメチルアンモニウム、臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム、p-ートルエンスルホン酸ヘキサデシルトリメチルアンモニウム、ハイアミン(登録商標)1622、塩化メチルベンゼトニウム、臭化ミリスチルトリメチルアンモニウム、臭化オキシフェノニウム、N, N', N'-ポリオキシエチレン(10)-N-タロー-1, 3-ジアミノプロパン、臭化テトラヘプチルアンモニウム、臭化テトラキス(デシル)アンモニウム、臭化トソゾニウム、並びにルビカット(商標)FC370、ルビカット(商標)HM552、ルビカット(商標)HOLD、ルビカット(商標)MS370、ルビカット(商標)PQ11PN及びその組合せ(すべてミズーリ州セントルイスに所在のSigma Aldrichから入手可能)が含まれる。

【0146】

場合により、少なくとも1つの塩基性溶液、過酸化水素源及び検出可能標識の1つ以上を添加する前に検査サンプルを処理してもよい。前記処理には、希釈、限外濾過、抽出、沈殿、透析、クロマトグラフィー及び消化が含まれ得る。前記処理は、本明細書中に先に検討したように検査サンプルが受け得るまたは検査サンプルに施され得る前処理に加えてまたは別になされ得る。更に、前記処理方法が検査サンプルに対して使用されるならば、処理方法は対象タンパク質が検査サンプル中に未処理の検査サンプル(例えば、すなわち、前記処理方法が施されていない検査サンプル)の濃度に比例した濃度で残存するような

10

20

30

40

50

方法である。

【0147】

本明細書中に先に簡単に記述したように、検査サンプル、少なくとも1つの塩基性溶液、過酸化水素源及び検出可能標識を添加して混合物を形成する時期及び順次は臨界的でない。加えて、少なくとも1つの塩基性溶液、過酸化水素源及び検出可能標識により形成される混合物を場合によりある時間インキュベートしてもよい。例えば、混合物を約1秒～約60分間インキュベートしてもよい。具体的には、混合物を約1秒～約18分間インキュベートしてもよい。

【0148】

化学発光検出可能標識を使用する場合には、少なくとも1つの塩基性溶液、過酸化水素源及び検出可能標識を検査サンプルに添加した後、検出可能なシグナル、すなわち化学発光シグナルが発生する。混合物より発生したシグナルを一定時間検出する。好ましくは、混合物を形成すると同時にシグナルを検出する。検出期間は約0.01～約360秒間、より好ましくは約0.1～約30秒間、最も好ましくは約0.5～約5秒間の範囲であり得る。発生した化学発光シグナルは当業者に公知のルーチンの技術を用いて検出され得る。

10

【0149】

よって、本発明に記載の化学発光イムノアッセイでは、化学発光検出可能標識を使用し、検査サンプルに添加し、塩基性溶液及び検出可能標識を添加した後に発生する化学発光シグナルは検査サンプル中の対象タンパク質の存在を示し、そのシグナルを検出し得る。検査サンプル中の対象タンパク質の量または濃度は発生したシグナルの強度に基づいて定量され得る。具体的には、検査サンプル中に含まれる対象タンパク質の量は発生したシグナルの強度に比例する。具体的には、存在する対象タンパク質の量は、発生した光の量を対象タンパク質についての標準曲線との比較に基づいて、または参照標準に対する比較により定量され得る。標準曲線は公知濃度の対象タンパク質に対する連続希釈物または溶液を用いて質量分光法により、重量測定により、当業界で公知の他の技術により作成し得る。

20

【0150】

蛍光偏光イムノアッセイ (FP IA) : 典型的実施形態では、本発明に記載の蛍光偏光イムノアッセイ (FP IA) では蛍光標識を使用する。一般的に、蛍光偏光技術は、特徴的波長の平面偏光により励起されたとき蛍光標識は別の特徴的波長で所与の媒体での標識の回転率に反比例する入射光に対する偏光度を保持している光 (すなわち、蛍光) を放出するという原理に基づいている。この性質の結果、強制回転を有する標識 (例えば、比較的少ない回転率を有する別の溶液成分に結合する標識) は溶液中に遊離しているときよりも放出された光の比較的高い蛍光度を保持する。

30

【0151】

この技術は本発明に記載のイムノアッセイにおいて、例えば蛍光標識した実体が所与の平面で放出される光の強度の変化が検出され得るように大きさが十分に異なる複合体を形成するように試薬を選択することにより使用され得る。例えば、標識した心臓トロポニン抗体 (すなわち、第2特異的結合パートナー) が第1特異的結合パートナーに結合した1つ以上の心臓トロポニン抗原により結合されると、結合が容易に検出される遊離の標識心臓トロポニン抗体に比して生じた複合体は十分に大きく、その回転は十分に制約される。

40

【0152】

FP IAにおいて有用な蛍光団には、フルオレセイン、アミノフルオレセイン、カルボキシフルオレセイン等、好ましくは5-及び6-アミノメチルフルオレセイン、5-及び6-アミノフルオレセイン、6-カルボキシフルオレセイン、5-カルボキシフルオレセイン、チオウレアフルオレセイン及びメトキシトリアジノリルアミノフルオレセイン、並びに類似の蛍光誘導体が含まれる。蛍光偏光アッセイを実施し得る市販の自動計器の例には、IMxシステム、TDxシステム及びTDxFLxシステム (すべて、イリノイ州アボットパークに所在のAbbott Laboratoriesから入手可能) が含

50

まれる。

【0153】

走査プローブ顕微鏡法（SPM）：イムノアッセイのための走査プローブ顕微鏡法（SPM）の使用も本発明のイムノアッセイ方法を容易にアレンジできるテクノロジーである。SPMでは、特に原子間力顕微鏡法では、自己抗体を結合できるだけでなく、走査に適した表面を有している固相に捕捉抗体を固定させる。捕捉抗体を例えばプラスチックまたは金属表面に吸着させ得る。或いは、捕捉抗体を誘導化プラスチック、金属、シリコンまたはガラスに対して当業者に公知の方法に従って共有結合させてもよい。捕捉抗体を結合させた後、検査サンプルを固相と接触させ、走査プローブ顕微鏡を使用して固相固定した複合体を検出し、定量する。SPMを使用すると、イムノアッセイシステムにおいて典型的に使用されている標識の必要が排除される。前記システムは参照により本明細書に組み入れる米国特許出願No. 662, 147に記載されている。

10

【0154】

微小電気機械システム（MEMS）：本発明に記載のイムノアッセイは微小電気機械システム（MEMS）を用いても実施され得る。MEMSは、対象タンパク質を都合良く検出できるように機械素子、光学素子及び純流体素子をエレクトロニクスと組合せたシリコン上に集積化した顕微鏡構造である。本発明において使用するのに適した典型的なMEMSデバイスはProtiverrisのマルチカンチレバアレーである。このアレーは、特別に設計したシリコンマイクロカンチレバを化学機械的に作動させ、その後マルチカンチレバ偏向を光学的に検出することに基づく。一方の側を結合パートナーでコーティングすると、マイクロカンチレバは相補的分子を含有する溶液に曝したとき曲がる。この曲がり（偏向）の程度を光学的に検出すると、マイクロカンチレバに結合した相補的分子の量を測定することができる。

20

【0155】

電気化学的検出システム：他の実施形態では、本発明に記載のイムノアッセイは電気化学的検出を用いて実施され、この技術は当業者に公知である。電気化学的検出は、多くの場合電流を測定し、記録するデバイスに接続させた1つ以上の電極を使用する。この技術は、携帯式電気化学的検出器具及び内蔵アッセイ特異的試薬カートリッジを含む多数の市販されているデバイス、例えばI-STAT（登録商標）（Abbott Laboratories, イリノイ州アボットパーク）システムにおいて実現され得る。例えば、本発明では、基本的トリガー溶液は内蔵ヘモグロビン試薬カートリッジ中に収容され得、検査サンプルを添加すると検査サンプル中のヘモグロビンの量に比例する電流が少なくとも1つの電極で発生する。電気化学的検出のための基本的手順は、例えばHeinemannとその同僚が記載している。これは、一次抗体（Ab, ラット抗マウスIgG）を免疫化し、その後抗原（Ag, マウスIgG）、酵素標識にコンジュゲートされている二次抗体（AP-Ab, ラット抗マウスIgG及びアルカリホスファターゼ）、及びp-アミノフェニルホスフェート（PAPP）を含有する一連の溶液に曝すことを伴っていた。APはPAPPをp-アミノフェノール（PAP_R, “R”は還元形態を酸化形態PAP_O、キノニンミンと区別するために意図される）に変換し、これはAPが最適活性を示すpH9.0で酸素及び水の還元を干渉しない電位で電気化学的に可逆的である。その前駆体のフェニルホスフェートがしばしば酵素基質として使用されているフェノールとは異なり、PAP_Rは電極汚損を生じない。PAP_Rは空気及び光酸化を受けるが、これらは小規模で短い時間枠で容易に防止される。20 µl ~ 360 µLの範囲のPAPP容量を用いるマイクロ電気化学的イムノアッセイでPAP_Rについてのピコモル検出限界及びIgGについてのフェムトグラム検出限界が達成されたと既に報告されている。電気化学的検出を用いるキャピラリーイムノアッセイでは、今までに報告されている最低検出限界は70 µLの容量及び30分または25分のアッセイ時間を用いて3000分子のマウスIgGである。

30

40

【0156】

本発明に記載の電気化学的検出を用いる典型的実施形態では、対象タンパク質と反応す

50

る第1特異的結合パートナーとして働く抗体を固相である電極の表面に固定化し得る。次いで、電極を例えばヒト由来の検査サンプルと接触させる。サンプル中のタンパク質は第1特異的結合パートナー（例えば、抗体）に結合して、固相固定した複合体を形成する。ペプチド試薬により、サンプル中に存在している自己抗体が標的タンパク質と相互作用し、よって標的タンパク質の第1特異的結合パートナーへの結合を干渉するのが防止される。固相固定化した複合体を検出可能標識を含む検出コンジュゲートと接触させる。第1特異的結合パートナー、タンパク質及び検出コンジュゲートを含む免疫検出複合体が形成されると、検出可能標識によりシグナルが発生し、次いでシグナルを検出する。

【0157】

各種電気化学的検出システムが米国特許No. 7, 045, 364（2006年5月16日発行；参照により本明細書に組み入れる）、米国特許No. 7, 045, 310（2006年5月16日発行；参照により本明細書に組み入れる）、米国特許No. 6, 887, 714（2005年5月3日発行；参照により本明細書に組み入れる）、米国特許No. 6, 682, 648（2004年1月27日発行；参照により本明細書に組み入れる）、米国特許No. 6, 670, 115（2003年12月30日発行；参照により本明細書に組み入れる）に記載されている。

【0158】

D. キット

本発明は、自己抗体を含有しているかもしれない検査サンプルを対象タンパク質の存在についてアッセイするためのキットをも提供する。本発明に記載のキットは、1つ以上の本発明に記載のイムノアッセイを実施するために有用な1つ以上の試薬を含む。キットは通常1つ以上の別々の組成物として、または場合により複数の試薬が相容性の場合には混合物として試薬を収容する1つ以上の容器を含むパッケージを含む。検査キットはユーザーの視点から望ましい他の材料、例えばバッファー、希釈剤、標準物質、及び／またはサンプルプロセッシング、洗浄またはアッセイの他のステップを実施する際に有用な他の材料をも含む。

【0159】

ある実施形態では、検査サンプル中の少なくとも1つの対象タンパク質を検出及び／または定量するための検査キットは、対象タンパク質に結合する抗体を含む捕捉試薬；及び検査サンプル中の少なくとも1つの対象タンパク質を検出及び／または定量するための使用説明書を含む。キットは更に検出可能標識にコンジュゲートされている抗体を含むコンジュゲートを含み得る。

【0160】

ある実施形態では、検査キットは対象タンパク質に対して特異的なヒト化モノクローナル抗体を含み得る。この成分は本発明に記載のイムノアッセイにおいてポジティブコントロールとして使用され得る。所望ならば、この成分を検査キット中に複数の濃度で配合して、検査サンプル中で検出されるシグナルを比較し得る標準曲線の作成を容易とし得る。或いは、標準曲線はキット中に設けられている1つのヒト化モノクローナル抗体溶液の希釈物を調製することにより作成され得る。

【0161】

本発明に記載のキットは、対象タンパク質から誘導される配列を有する1つ以上のペプチド試薬、対象タンパク質上の少なくとも1つのエピトープに結合する抗体（第1特異的結合パートナー）、第1特異的結合パートナーを結合し得る固相、対象タンパク質上の少なくとも1つのエピトープに結合する第2抗体、及び対象タンパク質を検出または定量するための使用説明書を含み得る。ある実施形態では、本発明に記載の検査キットは固相を磁気粒子、ビーズ、試験管、マイクロタイタープレート、キュベット、膜、足場分子、水晶、フィルム、濾紙、ディスクまたはチップのような材料として含み得る。

【0162】

本発明に記載の検査キットは、第1及び第2特異的結合パートナーとして、例えば対象タンパク質に対する非ヒトモノクローナル抗体を含み得る。キットは、第2特異的結合パ

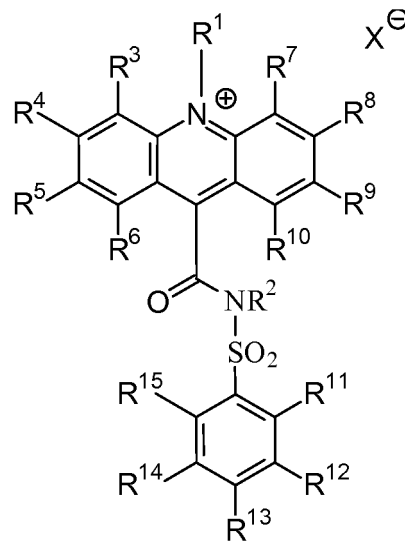
ートナーとして、検出コンジュゲートを与えるべく抗体にコンジュゲートされ得るまたはコンジュゲートされている検出可能標識をも含み得る。

【0163】

ある実施形態では、検査キットは、少なくとも1つの直接標識として、酵素、オリゴヌクレオチド、ナノ粒子化学発光団、蛍光発光団、蛍光クエンチャー、化学発光クエンチャーまたはビオチンであり得る検出可能標識を含む。幾つかの実施形態では、直接標識はアクリジニウム化合物、例えば式 I :

【0164】

【化11】



I

(式中、

R^1 及び R^2 は各々独立してアルキル、アルケニル、アルキニル、アリールまたはアルアルキル、スルホアルキル、カルボキシアルキル及びオキシアルキルからなる群から選択され；

$R^3 \sim R^{15}$ は各々独立して水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリールまたはアルアルキル、アミノ、アミド、アシル、アルコキシル、ヒドロキシル、カルボキシル、ハロゲン、ハライド、ニトロ、シアノ、スルホ、スルホアルキル、カルボキシアルキル及びオキシアルキルからなる群から選択され；

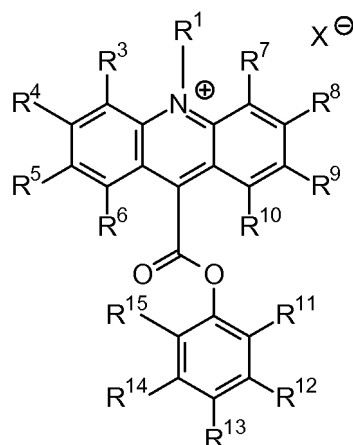
場合により、 X^- が存在するならばアニオンである)
に記載のアクリジニウム-9-カルボキサミドである。

【0165】

或いは、アクリジニウム化合物は、式 II :

【0166】

【化 1 2】



II

(式中、

R^1 はアルキル、アルケニル、アルキニル、アリールまたはアルアルキル、スルホアルキル、カルボキシアルキル及びオキシアルキルであり；

$R^3 \sim R^{15}$ は各々独立して水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリールまたはアルアルキル、アミノ、アミド、アシル、アルコキシル、ヒドロキシル、カルボキシル、ハロゲン、ハライド、ニトロ、シアノ、スルホ、スルホアルキル、カルボキシアルキル及びオキシアルキルからなる群から選択され；

場合により、 X^- が存在するならばアニオンである)

に記載の構造を有するアクリジニウム-9-カルボキシレートアリールエステルであり得る。

【0167】

本発明に記載のアクリジニウム化合物を含む検査キットは塩基性溶液をも含み得る。例えば、塩基性溶液は少なくとも約10のpHを有する溶液であり得る。ある実施形態では、本発明に記載の検査キットは更に過酸化水素源、例えばバッファー溶液、過酸化水素を含有する溶液または過酸化水素を生成する酵素を含み得る。例えば、検査キットはある量の(R)-6-ヒドロキシニコチンオキシダーゼ、(S)-2-ヒドロキシ酸オキシダーゼ、(S)-6-ヒドロキシニコチンオキシダーゼ、3-ac-ニトロプロパン酸オキシダーゼ、3-ヒドロキシアントラニル酸オキシダーゼ、4-ヒドロキシマンデル酸オキシダーゼ、6-ヒドロキシニコチン酸デヒドロゲナーゼ、アブシシンアルデヒドオキシダーゼ、アシル-CoAオキシダーゼ、アルコールオキシダーゼ、アルデヒドオキシダーゼ、アミノオキシダーゼ、アミノオキシダーゼ(銅含有)、アミノオキシダーゼ(フラビン含有)、アリールアルコールオキシダーゼ、アリールアルデヒドオキシダーゼ、カテコールオキシダーゼ、コレステロールオキシダーゼ、コリンオキシダーゼ、コランバミンオキシダーゼ、シクロヘキシルアミノオキシダーゼ、シトクロームcオキシダーゼ、D-アミノ酸オキシダーゼ、D-アラビノノー1,4-ラクトンオキシダーゼ、D-アラビノノー1,4-ラクトンオキシダーゼ、D-アスパラギン酸オキシダーゼ、D-グルタミン酸オキシダーゼ、D-グルタミン酸(D-アスパラギン酸)オキシダーゼ、ジヒドロベンゾフェナントリジンオキシダーゼ、ジヒドロオロト酸オキシダーゼ、ジヒドロウラシルオキシダーゼ、ジメチルグリシンオキシダーゼ、D-マンニトールオキシダーゼ、エクジソンオキシダーゼ、エタノールアミノオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ、グルコースオキシダーゼ、グルタチオンオキシダーゼ、グリセロール-3-リン酸オキシダーゼ、グリシンオキシダーゼ、グリオキシル酸オキシダーゼ、ヘキソースオキシダーゼ、ヒドロキシフィタン酸オキシダーゼ、インドール-3-アセトアルデヒドオキシダーゼ、乳酸オキシダーゼ、L-アミノ酸オキシダーゼ、L-アスパラギン酸オキシダーゼ、L-ガラクト

ノラクトンオキシダーゼ、L-グルタミン酸オキシダーゼ、L-グロノラクトンオキシダーゼ、L-リシン6-オキシダーゼ、L-リシンオキシダーゼ、長鎖アルコールオキシダーゼ、L-ピペコリン酸オキシダーゼ、L-ソルボースオキシダーゼ、リンゴ酸オキシダーゼ、メタンチオールオキシダーゼ、モノアミノ酸オキシダーゼ、N⁶-メチルリシンオキシダーゼ、N-アシルヘキソサミンオキシダーゼ、NAD(P)Hオキシダーゼ、ニトロアルカンオキシダーゼ、N-メチル-L-アミノ酸オキシダーゼ、ヌクレオシドオキシダーゼ、シュウ酸オキシダーゼ、ポリアミンオキシダーゼ、ポリフェノールオキシダーゼ、ポリビニルアルコールオキシダーゼ、プレニルシステインオキシダーゼ、タンパク質-リシン6-オキシダーゼ、プトレシンオキシダーゼ、ピラノースオキシダーゼ、ピリドキサル5'-リン酸シンターゼ、ピリドキシン4-オキシダーゼ、ピロロキノリン-キノシンシンターゼ、ピルビン酸オキシダーゼ、ピルビン酸オキシダーゼ(CoA-アセチル化)、レチクリンオキシダーゼ、レチナールオキシダーゼ、リファマイシンBオキシダーゼ、サルコシンオキシダーゼ、第2級アルコールオキシダーゼ、亜硫酸オキシダーゼ、スーパーオキシドジスムターゼ、スーパーオキシドレダクターゼ、テトラヒドロベルベリンオキシダーゼ、チアミンオキシダーゼ、トリプトファン α , β -オキシダーゼ、尿酸オキシダーゼ(ウリカーゼ、尿酸オキシダーゼ)、バニルアルコールオキシダーゼ、キサンチンオキシダーゼ、キシリトールオキシダーゼ及びその組合せから選択される過酸化水素を生成する酵素を含み得る。

【0168】

ある実施形態では、本発明に記載の検査キットは対象の特定アナライト、すなわち心臓トロポニン、甲状腺刺激ホルモン(TSH)、 β -ヒト絨毛性ゴナドトロピン(β -HCG)、ミエロペルオキシダーゼ(MPO)、前立腺特異抗原(PSA)、ヒトB型ナトリウム利尿ペプチド(BNP)、ミオシン軽鎖2、ミオシン-6及びミオシン-7の1つを検出または定量するために構成される。前記実施形態では、検査キットは対象タンパク質から誘導される配列を有する少なくとも1つのペプチド試薬、各々が選択した対象タンパク質上のエピトープに結合する第1抗体及び第2抗体、すなわち各々が心臓トロポニン、甲状腺刺激ホルモン(TSH)、 β -ヒト絨毛性ゴナドトロピン(β -HCG)、ミエロペルオキシダーゼ(MPO)、前立腺特異抗原(PSA)、ヒトB型ナトリウム利尿ペプチド(BNP)、ミオシン軽鎖2、ミオシン-6及びミオシン-7の1つの上のエピトープに結合する第1抗体及び第2抗体を含む。

【0169】

好ましくは、本発明に記載の検査キットは1つ以上の本発明のイムノアッセイを実施するための使用説明書を含む。本発明のキット中に含まれている使用説明書は包装材料に貼り付けても、添付文書として挿入してもよい。使用説明書は典型的には筆記または印刷した文書であるが、それらに限定されない。使用説明書を保存し、最終使用者に通知し得る媒体が本発明により考えられる。媒体には電子記憶媒体(例えば、磁気ディスク、テープ、カートリッジ、チップ)、光学媒体(例えば、CD-ROM)等が含まれるが、これらに限定されない。本明細書中で使用されている用語「使用説明書」は使用説明書を伝えるインターネットサイトのアドレスを含み得る。

【0170】

E. 本発明の方法のアレンジ

本発明は、例えばTnI、CKMB及びBNPを含めた幾つかの心臓マーカーについてサンドイッチイムノアッセイを実施する共有するAbbott Point of Care(i-STAT(商標))電気化学イムノアッセイシステムに対して適用され得る。イムノセンサー及び使い捨て検査デバイスでのその操作方法は、各々を参照により本明細書に組み入れる共有する特許公開Nos. US 20030170881、US 20040018577、US 20050054078及びUS 20060160164に記載されている。電気化学的及び他のタイプのイムノセンサーの製造についての追加バックグラウンドは参照により本明細書に組み入れる共有する米国特許No. 5,063,081中に見つけることができる。

【0171】

非限定的例として、本発明の実施例を提示する。

【実施例】

【0172】

[実施例1]

心臓トロポニンIに対する抗cTnI自己抗体結合の阻害 (E L N R e f E 0 0 0 7 7 7 - 2 5 3)

阻害剤作業溶液：表12にリストされている (S i g m a - G e n o s y s , P E P スクリーンカスタムライブラリーから入手した) ペプチドを $240 \text{ nmol} / \text{mL} \sim 0 \text{ nmol} / \text{mL}$ の範囲の溶液を与えるために A x S Y M (登録商標) トロポニンI A D V プレインキュベーション希釈剤で希釈した。表12にリストされているペプチドの等モル混合物を調製し、希釈して、 $240 \text{ nmol} / \text{mL} \sim 0 \text{ nmol} / \text{mL}$ の範囲の溶液を与えた。

10

【0173】

【表12】

表 12. 心臓トロポニンIに対する抗cTnI自己抗体結合のペプチド阻害剤

ペプチド#	アミノ末端	配列	カルキ末端
1	[Btn]	SSDAAREPRPAPAPI	[NH2]
2	[Btn]	VDEERYDIEAKVTKN	[NH2]
3	[Btn]	DIEAKVTKNITEIAD	[NH2]
4	[Btn]	LDLRAHLKQVKKEDT	[NH2]
5	[Btn]	ALSGMEGRKKKFES	[NH2]

20

【0174】

マイクロプレート作成：白色高結合性平底96ウェルポリスチレンマイクロプレート (C o s t a r) をリン酸バッファー ($100 \mu\text{L}$, 0.2 M , $\text{pH} 8$, $4 \mu\text{g} / \text{mL}$) 中組換えヒト心臓トロポニンI (c T n I, B i o s P a c i f i c, カリフォルニア州エメリビル) で 38°C で1時間コーティングした後、ウシ血清アルブミン及びP B S 中 $2\% \text{ w t} / \text{v}$ スクロースで順次オーバーコーティングした。

30

【0175】

化学発光検出コンジュゲート：マウス抗ヒトI g G (サブタイプI g G 2 b, κ) を化学発光アクリジニウム-9-カルボキサミドで標識した。この抗体はヒトI g MまたはI g A、或いは家兎、ヒツジまたはヤギI g Gに対して有意な反応性を有さないが、すべてのヒトI g Gサブタイプを認識した。

40

【0176】

サンプル：高レベルの心臓トロポニンIに対する内因性抗体を含有しているヒト血清サンプルを各阻害剤希釈物と1:1混合した。溶液を黒色ポリプロピレンマイクロプレートに配置し、密封し、周囲温度で一晩保存した。

【0177】

アッセイプロトコル：サンプル、ポジティブ及び低コントロール ($10 \mu\text{L}$) を A x S Y M (登録商標) トロポニンI A D V プレインキュベーション希釈剤 ($90 \mu\text{L}$) で希釈し、マイクロプレートに3組配置した。 37°C で2時間インキュベートした後、プレートを A R C H I T E C T (登録商標) 洗浄バッファー ($6 \times$, $350 \mu\text{L}$) で洗浄した。次いで、マウス抗ヒトI g G特異的モノクローナルアクリジニウムコンジュゲート (1

50

00 μ L) を添加し、プレート を 37℃ で 1 時間 インキュベート した後、ARCHITECT (登録商標) 洗浄バッファー (6×, 350 μ L) で最終洗浄した。

【0178】

化学発光検出：マイクロプレート を 28℃ で平衡化した Mithras マイクロプレートリーダー (Berthold Technologies Inc, テネシー州オークリッジ) に充填した。ARCHITECT (登録商標) プレトリガー溶液 (100 μ L) 及び ARCHITECT (登録商標) トリガー溶液 (100 μ L) を順次添加した後、各ウェルからの化学発光シグナルを 2 秒間記録した。

【0179】

シグナル対低コントロールの比 (S/LC) のプロット (図 11) は、ペプチド # 5 がマイクロプレート上の cTnI 抗原に対する内因性抗体の結合を最大に阻害するが、ペプチドの混合物も相乗的阻害効果を与えたことを示した。

10

【0180】

[実施例 2]

心臓トロポニン I に対する抗 cTnI 自己抗体結合の阻害 (ELN Ref E000777-272)

実施例 1 の手順を表 13 にリストされているペプチドを用いて繰り返した。

【0181】

[表 13]

表 13. 心臓トロポニン I に対する抗 cTnI 自己抗体結合のペプチド阻害剤

20

ペプチド #	アミノ 末端	配列	カルキ 末端
1	[Ac]	SSDAAREPRPAPAPI	[NH2]
2	[Ac]	VDEERYDIEAKVTKN	[NH2]
3	[[Ac]	DIEAKVTKNITEIAD	[NH2]
4	[Ac]	LDLRAHLKQVKKEDT	[NH2]
5	[[Ac]	ALSGMEGRKKKFES	[OH]

30

【0182】

シグナル対低コントロールの比 (S/LC) のプロット (図 12) は、この実験でペプチド # 5 がマイクロプレート上の cTnI 抗原に対する内因性抗体の結合を最大に阻害するが、ペプチドの混合物も相乗的阻害効果を与えたことを示した。

【0183】

当業者は、ペプチド試薬及び関連方法は目的を実施し、先に挙げた目的及び作用効果及び本発明において固有の目的及び作用効果を得るためにうまくアレンジされることを容易に認識している。本明細書中に記載されている分子複合体、方法、手順、処理、分子、特定化合物は今のところ好ましい実施形態の代表であり、典型であり、本発明の範囲を限定するとして意図されない。本発明の範囲及び趣旨を逸脱することなく本明細書中に開示されている本発明に対して各種置換及び修飾を加え得ることは当業者には容易に自明である。

40

【0184】

明細書中に挙げている特許及び刊行物はすべて本発明が属する業界の当業者のレベルを示す。すべての特許及び刊行物は、各刊行物が具体的且つ個別に参照により組み入れると指示されていたのと同程度に参照により本明細書に組み入れられる。

【0185】

本明細書中に例示的に記載されている本発明は、本明細書中に具体的に開示されてい

50

い1つ以上の要素、1つ以上の限定なしに実施され得る。よって、例えば、本明細書中の各々の場合、用語“comprising”、“consisting essentially of”及び“consisting of”は2つの他の用語のいずれかで置換され得る。使用されている用語及び表現は記載の点で非限定的に使用され、示し、記載されている要件またはその一部の均等物を除外する用語及び表現の使用を意図しないが、各種修飾は特許請求されている本発明の範囲内で可能であることが認識される。よって、本発明を好ましい実施形態及び任意の要件により具体的に開示してきたが、本明細書中に開示されている概念の修飾及び変更は当業者により行われ得ること及び前記修飾及び変更は添付の特許請求の範囲により規定される本発明の範囲内であると考えられると理解されるべきである。

10

【図 1】

Ala Asp Gly Ser Ser Asp Ala Ala Arg Glu Pro Arg Pro Ala Pro Ala Pro Ile Arg Arg Arg
Ser Ser Asn Tyr Arg Ala Tyr Ala Thr Glu Pro His Ala Lys Lys Lys Ser Lys Ile Ser Ala
Ser Arg Lys Leu Gln Leu Lys Thr Leu Leu Gln Ile Ala Lys Gln Glu Leu Glu Arg
Glu Ala Glu Glu Arg Arg Gly Glu Lys Gly Arg Ala Leu Ser Thr Arg Cys Gln Pro Leu
Glu Leu Ala Gly Leu Gly Phe Ala Glu Leu Gln Asp Leu Cys Arg Gln Leu His Ala Arg
Val Asp Lys Val Asp Glu Glu Arg Tyr Asp Ile Glu Ala Lys Val Thr Lys Asn Ile Thr Glu
Ile Ala Asp Leu Thr Gln Lys Ile Phe Asp Leu Arg Gly Lys Phe Lys Arg Pro Thr Leu Arg
Arg Val Arg Ile Ser Ala Asp Ala Met Met Gln Ala Leu Leu Gly Ala Arg Ala Lys Glu Ser
Leu Asp Leu Arg Ala His Leu Lys Gln Val Lys Lys Glu Asp Thr Glu Lys Glu Asn Arg
Glu Val Gly Asp Trp Arg Lys Asn Ile Asp Ala Leu Ser Gly Met Glu Gly Arg Lys Lys
Lys Phe Glu

FIG. 1

【図 2】

Ser Asp Ile Glu Glu Val Val Glu Glu Tyr Glu Glu Glu Glu Gln Glu Glu Ala Ala Val Glu
Glu Glu Glu Asp Trp Arg Glu Asp Glu Asp Glu Gln Glu Glu Ala Ala Glu Glu Asp Ala
Glu Ala Glu Ala Glu Thr Glu Glu Thr Arg Ala Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Ala
Lys Glu Ala Glu Asp Gly Pro Met Glu Glu Ser Lys Pro Lys Pro Arg Ser Phe Met
Pro Asn Leu Val Pro Pro Lys Ile Pro Asp Gly Glu Arg Val Asp Phe Asp Asp Ile His Arg
Lys Arg Met Glu Lys Asp Leu Asn Glu Leu Gln Ala Leu Ile Glu Ala His Phe Glu Asn
Arg Lys Lys Glu Glu Glu Leu Val Ser Leu Lys Asp Arg Ile Glu Arg Arg Arg Ala
Glu Arg Ala Glu Gln Gln Arg Ile Arg Asn Glu Arg Glu Lys Glu Arg Gln Asn Arg
Leu Ala Glu Glu Arg Ala Arg Arg Glu Glu Glu Asn Arg Arg Lys Ala Glu Asp Glu
Ala Arg Lys Lys Lys Ala Leu Ser Asn Met Met His Phe Gly Gly Tyr Ile Gln Lys Gln Ala
Gln Thr Glu Arg Lys Ser Gly Lys Arg Gln Thr Glu Arg Glu Lys Lys Lys Lys Ile Leu Ala
Glu Arg Arg Lys Val Leu Ala Ile Asp His Leu Asn Glu Asp Gln Leu Arg Glu Lys Ala
Lys Glu Leu Trp Gln Ser Ile Tyr Asn Leu Glu Ala Glu Lys Phe Asp Leu Gln Glu Lys
Phe Lys Gln Gln Lys Tyr Glu Ile Asn Val Leu Arg Asn Arg Ile Asn Asp Asn Gln Lys
Val Ser Lys Thr Arg Gly Lys Ala Lys Val Thr Gly Arg Trp Lys

FIG. 2

【 図 3 】

Thr Ala Leu Phe Leu Met Ser Met Leu Phe Gly Leu Ala Cys Gly Gln Ala Met Ser Phe
 Cys Ile Pro Thr Glu Tyr Thr Met His Ile Glu Arg Arg Glu Cys Ala Tyr Cys Leu Thr Ile
 Asn Thr Thr Ile Cys Ala Gly Tyr Cys Met Thr Arg Asp Ile Asn Gly Lys Leu Phe Leu Pro
 Lys Tyr Ala Leu Ser Gln Asp Val Cys Thr Tyr Arg Asp Phe Ile Tyr Arg Thr Val Glu Ile
 Pro Gly Cys Pro Leu His Val Ala Pro Tyr Phe Ser Tyr Pro Val Ala Leu Ser Cys Lys Cys
 Gly Lys Cys Asn Thr Asp Tyr Ser Asp Cys Ile His Glu Ala Ile Lys Thr Asn Tyr Cys Thr
 Lys Pro Gln Lys Ser Tyr Leu Val Gly Phe Ser Val

FIG. 3

【 図 4 】

Glu Met Phe Gln Gly Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ser Met Gly Gly Thr Trp Ala Ser
 Lys Glu Pro Leu Arg Pro Arg Cys Arg Pro Ile Asn Ala Thr Leu Ala Val Glu Lys Glu Gly
 Cys Pro Val Cys Ile Thr Val Asn Thr Thr Ile Cys Ala Gly Tyr Cys Pro Thr Met Thr Arg
 Val Leu Gln Gly Val Leu Pro Ala Leu Pro Gln Val Val Cys Asn Tyr Arg Asp Val Arg
 Phe Glu Ser Ile Arg Leu Pro Gly Cys Pro Arg Gly Val Asn Pro Val Val Ser Tyr Ala Val
 Ala Leu Ser Cys Gln Cys Ala Leu Cys Arg Arg Ser Thr Thr Asp Cys Gly Gly Pro Lys
 Asp His Pro Leu Thr Cys Asp Asp Pro Arg Phe Gln Asp Ser Ser Ser Lys Ala Pro Pro
 Pro Ser Leu Pro Ser Pro Ser Arg Leu Pro Gly Pro Ser Asp Thr Pro Ile Leu Pro Gln

FIG. 4

【 図 5 】

Gly Val Pro Phe Phe Ser Ser Leu Arg Cys Met Val Asp Leu Gly Pro Cys Trp Ala Gly
 Gly Leu Thr Ala Glu Met Lys Leu Leu Ala Leu Ala Gly Leu Leu Ala Ile Leu Ala
 Thr Pro Gln Pro Ser Glu Gly Ala Ala Pro Ala Val Leu Gly Glu Val Asp Thr Ser Leu Val
 Leu Ser Ser Met Glu Glu Ala Lys Gln Leu Val Asp Lys Ala Tyr Lys Glu Arg Arg Glu
 Ser Ile Lys Gln Arg Leu Arg Ser Gly Ser Ala Ser Pro Met Glu Leu Leu Ser Tyr Phe Lys
 Gln Pro Val Ala Ala Thr Arg Thr Ala Val Arg Ala Ala Asp Tyr Leu His Val Ala Leu
 Asp Leu Leu Glu Arg Lys Leu Arg Ser Leu Trp Arg Arg Pro Phe Asn Val Thr Asp Val
 Leu Thr Pro Ala Gln Leu Asn Val Leu Ser Lys Ser Ser Gly Cys Ala Tyr Gln Asp Val Gly
 Val Thr Cys Pro Glu Gln Asp Lys Tyr Arg Thr Ile Thr Gly Met Cys Asn Asn Arg Arg
 Ser Pro Thr Leu Gly Ala Ser Asn Arg Ala Phe Val Arg Trp Leu Pro Ala Glu Tyr Glu Asp
 Gly Phe Ser Leu Pro Tyr Gly Trp Thr Pro Gly Val Lys Arg Asn Gly Phe Pro Val Ala
 Leu Ala Arg Ala Val Ser Asn Glu Ile Val Arg Phe Pro Thr Asp Gln Leu Thr Pro Asp Gln
 Glu Arg Ser Leu Met Phe Met Gln Trp Gly Gln Leu Leu Asp His Asp Leu Asp Phe Thr
 Pro Glu Pro Ala Ala Arg Ala Ser Phe Val Thr Gly Val Asn Cys Glu Thr Ser Cys Val Gln
 Gln Pro Pro Cys Phe Pro Leu Lys Ile Pro Pro Asn Asp Pro Arg Ile Lys Asn Gln Ala Asp
 Cys Ile Pro Phe Phe Arg Ser Cys Pro Ala Cys Pro Gly Ser Asn Ile Thr Ile Arg Asn Gln
 Ile Asn Ala Leu Thr Ser Phe Val Asp Ala Ser Met Val Tyr Gly Ser Glu Glu Pro Leu Ala
 Arg Asn Leu Arg Asn Met Ser Asn Gln Leu Gly Leu Leu Ala Val Asn Gln Arg Phe Gln
 Asp Asn Gly Arg Ala Leu Leu Pro Phe Asp Asn Leu His Asp Asp Pro Cys Leu Leu Thr
 Asn Arg Ser Ala Arg Ile Pro Cys Phe Leu Ala Gly Asp Thr Arg Ser Ser Glu Met Pro Glu
 Leu Thr Ser Met His Thr Leu Leu Leu Arg Glu His Asn Arg Leu Ala Thr Glu Leu Lys
 Ser Leu Asn Pro Arg Trp Asp Gly Glu Arg Leu Tyr Gln Glu Ala Arg Lys Ile Val Gly Ala
 Met Val Gln Ile Ile Thr Tyr Arg Asp Tyr Leu Pro Leu Val Leu Gly Pro Thr Ala Met Arg
 Lys Tyr Leu Pro Thr Tyr Arg Ser Tyr Asn Asp Ser Val Asp Pro Arg Ile Ala Asn Val Phe
 Thr Asn Ala Phe Arg Tyr Gly His Thr Leu Ile Gln Pro Phe Met Phe Arg Leu Asp Asn
 Arg Tyr Gln Pro Met Glu Pro Asn Pro Arg Val Pro Leu Ser Arg Val Phe Phe Ala Ser Trp
 Arg Val Val Leu Glu Gly Gly Ile Asp Pro Ile Leu Arg Gly Leu Met Ala Thr Pro Ala Lys
 Leu Asn Arg Gln Asn Gln Ile Ala Val Asp Glu Ile Arg Glu Arg Leu Phe Glu Gln Val
 Met Arg Ile Gly Leu Asp Leu Pro Ala Leu Asn Met Gln Arg Ser Arg Asp His Gly Leu
 Pro Gly Tyr Asn Ala Trp Arg Arg Phe Cys Gly Leu Pro Gln Pro Glu Thr Val Gly Gln
 Leu Gly Thr Val Leu Arg Asn Leu Lys Leu Ala Arg Lys Leu Met Glu Gln Tyr Gly Thr
 Pro Asn Asn Ile Asp Ile Trp Met Gly Gly Val Ser Glu Pro Leu Lys Arg Lys Gly Arg Val
 Gly Pro Leu Leu Ala Cys Ile Ile Gly Thr Gln Phe Arg Lys Leu Arg Asp Gly Asp Arg Phe
 Trp Trp Glu Asn Glu Gly Val Phe Ser Met Gln Gln Arg Gln Ala Leu Ala Gln Ile Ser Leu
 Pro Arg Ile Ile Cys Asp Asn Thr Gly Ile Thr Val Ser Lys Asn Asn Ile Phe Met Ser
 Asn Ser Tyr Pro Arg Asp Phe Val Asn Cys Ser Thr Leu Pro Ala Leu Asn Leu Ala Ser
 Trp Arg Glu Ala Ser

FIG. 5

【 図 6 】

Trp Val Pro Val Val Phe Leu Thr Leu Ser Val Thr Trp Ile Gly Ala Ala Pro Leu Ile Leu
 Ser Arg Ile Val Gly Gly Trp Glu Cys Glu Lys His Ser Gln Pro Trp Gln Val Leu Val Ala
 Ser Arg Gly Arg Ala Val Cys Gly Gly Val Leu Val His Pro Gln Trp Val Leu Thr Ala Ala
 His Cys Ile Arg Asn Lys Ser Val Ile Leu Leu Gly Arg His Ser Leu Phe His Pro Glu Asp
 Thr Gly Gln Val Phe Gln Val Ser His Ser Phe Pro His Pro Leu Tyr Asp Met Ser Leu Leu
 Lys Asn Arg Phe Leu Arg Pro Gly Asp Asp Ser Ser His Asp Leu Met Leu Leu Arg Leu
 Ser Glu Pro Ala Glu Leu Thr Asp Ala Val Lys Val Met Asp Leu Pro Thr Gln Glu Pro
 Ala Leu Gly Thr Thr Cys Tyr Ala Ser Gly Trp Gly Ser Ile Glu Pro Glu Glu Phe Leu Thr
 Pro Lys Lys Leu Gln Cys Val Asp Leu His Val Ile Ser Asn Asp Val Cys Ala Gln Val His
 Pro Gln Lys Val Thr Lys Phe Met Leu Cys Ala Gly Arg Trp Thr Gly Gly Lys Ser Thr
 Cys Ser Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Asn Gly Val Leu Gln Gly Ile Thr Ser Trp
 Gly Ser Glu Pro Cys Ala Leu Pro Glu Arg Pro Ser Leu Tyr Thr Lys Val Val His Tyr Arg
 Lys Trp Ile Lys Asp Thr Ile Val Ala Asn Pro

FIG. 6

【 図 7 】

Asp Pro Gln Thr Ala Pro Ser Arg Ala Leu Leu Leu Leu Phe Leu His Leu Ala Phe
 Leu Gly Gly Arg Ser His Pro Leu Gly Ser Pro Gly Ser Ala Ser Asp Leu Glu Thr Ser Gly
 Leu Gln Glu Gln Arg Asn His Leu Gln Gly Lys Leu Ser Glu Leu Gln Val Glu Gln Thr
 Ser Leu Glu Pro Leu Gln Glu Ser Pro Arg Pro Thr Gly Val Trp Lys Ser Arg Glu Val Ala
 Thr Glu Gly Ile Arg Gly His Arg Lys Met Val Leu Tyr Thr Leu Arg Ala Pro Arg Ser Pro
 Lys Met Val Gln Gly Ser Gly Cys Phe Gly Arg Lys Met Asp Arg Ile Ser Ser Ser Ser Gly
 Leu Gly Cys Lys Val Leu Arg Arg His

FIG. 7

【 図 8 】

Ala Pro Lys Lys Ala Lys Lys Arg Ala Gly Gly Ala Asn Ser Asn Val Phe Ser Met Phe
 Glu Gln Thr Gln Ile Gln Glu Phe Lys Glu Ala Phe Thr Ile Met Asp Gln Asn Arg Asp Gly
 Phe Ile Asp Lys Asn Asp Leu Arg Asp Thr Phe Ala Ala Leu Gly Arg Val Asn Val Lys
 Asn Glu Glu Ile Asp Glu Met Ile Lys Glu Ala Pro Gly Pro Ile Asn Phe Thr Val Phe Leu
 Thr Met Phe Gly Glu Lys Leu Lys Gly Ala Asp Pro Glu Glu Thr Ile Leu Asn Ala Phe
 Lys Val Phe Asp Pro Glu Gly Lys Gly Val Leu Lys Ala Asp Tyr Val Arg Glu Met Leu
 Thr Thr Gln Ala Glu Arg Phe Ser Lys Glu Glu Val Asp Gln Met Phe Ala Ala Phe Pro
 Pro Asp Val Thr Gly Asn Leu Asp Tyr Lys Asn Leu Val His Ile Ile Thr His Gly Glu Glu
 Lys Asp

FIG. 8

【 図 9 A 】

Thr Asp Ala Gln Met Ala Asp Phe Gly Ala Ala Ala Gln Tyr Leu Arg Lys Ser Glu Lys
 Glu Arg Leu Glu Ala Gln Thr Arg Pro Phe Asp Ile Arg Thr Glu Cys Phe Val Pro Asp
 Asp Lys Glu Glu Phe Val Lys Ala Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Gly Lys Val Ile Ala Glu
 Thr Glu Asn Gly Lys Thr Val Thr Val Lys Glu Asp Gln Val Leu Gln Gln Asn Pro Pro
 Lys Phe Asp Lys Ile Gln Asp Met Ala Met Leu Thr Phe Leu His Glu Pro Ala Val Leu
 Phe Asn Leu Lys Glu Arg Tyr Ala Ala Trp Met Ile Tyr Thr Tyr Ser Gly Leu Phe Cys Val
 Thr Val Asn Pro Tyr Lys Trp Leu Pro Val Tyr Asn Ala Glu Val Val Ala Ala Tyr Arg Gly
 Lys Lys Arg Ser Glu Ala Pro Pro His Ile Phe Ser Ile Ser Asp Asn Ala Tyr Gln Tyr Met
 Leu Thr Asp Arg Glu Asn Gln Ser Ile Leu Ile Thr Gly Glu Ser Gly Ala Gly Lys Thr Val
 Asn Thr Lys Arg Val Ile Gln Tyr Phe Ala Ser Ile Ala Ala Ile Gly Asp Arg Gly Lys Lys
 Asp Asn Ala Asn Ala Asn Lys Gly Thr Leu Glu Asp Gln Ile Ile Gln Ala Asn Pro Ala Leu
 Glu Ala Phe Gly Asn Ala Lys Thr Val Arg Asn Asp Asn Ser Ser Arg Phe Gly Lys Phe
 Ile Arg Ile His Phe Gly Ala Thr Gly Lys Leu Ala Ser Ala Asp Ile Glu Thr Tyr Leu Leu
 Glu Lys Ser Arg Val Ile Phe Gln Leu Lys Ala Glu Arg Asn Tyr His Ile Phe Tyr Gln Ile
 Leu Ser Asn Lys Lys Pro Glu Leu Leu Asp Met Leu Leu Val Thr Asn Asn Pro Tyr Asp
 Tyr Ala Phe Val Ser Gln Gly Glu Val Ser Val Ala Ser Ile Asp Asp Ser Glu Glu Leu Met
 Ala Thr Asp Ser Ala Phe Asp Val Leu Gly Phe Thr Ser Glu Glu Lys Ala Gly Val Tyr Lys
 Leu Thr Gly Ala Ile Met His Tyr Gly Asn Met Lys Phe Lys Gln Lys Gln Arg Glu Glu
 Gln Ala Glu Pro Asp Gly Thr Glu Asp Ala Asp Lys Ser Ala Tyr Leu Met Gly Leu Asn
 Ser Ala Asp Leu Leu Lys Gly Leu Cys His Pro Arg Val Lys Val Gly Asn Glu Tyr Val
 Thr Lys Gly Gln Ser Val Gln Gln Val Tyr Tyr Ser Ile Gly Ala Leu Ala Lys Ala Val Tyr
 Glu Lys Met Phe Asn Trp Met Val Thr Arg Ile Asn Ala Thr Leu Glu Thr Lys Gln Pro
 Arg Gln Tyr Phe Ile Gly Val Leu Asp Ile Ala Gly Phe Glu Ile Phe Asp Phe Asn Ser Phe
 Glu Gln Leu Cys Ile Asn Phe Thr Asn Glu Lys Leu Gln Gln Phe Phe Asn His His Met
 Phe Val Leu Glu Gln Glu Glu Tyr Lys Lys Glu Gly Ile Glu Trp Thr Phe Ile Asp Phe Gly
 Met Asp Leu Gln Ala Cys Ile Asp Leu Ile Glu Lys Pro Met Gly Ile Met Ser Ile Leu Glu
 Glu Glu Cys Met Phe Pro Lys Ala Thr Asp Met Thr Phe Lys Ala Lys Leu Tyr Asp Asn
 His Leu Gly Lys Ser Asn Asn Phe Gln Lys Pro Arg Asn Ile Lys Gly Lys Gln Glu Ala His
 Phe Ser Leu Ile His Tyr Ala Gly Thr Val Asp Tyr Asn Ile Leu Gly Trp Leu Glu Lys Asn
 Lys Asp Pro Leu Asn Glu Thr Val Val Ala Leu Tyr Gln Lys Ser Ser Leu Lys Leu Met
 Ala Thr Leu Phe Ser Ser Tyr Ala Thr Ala Asp Thr Gly Asp Ser Gly Lys Ser Lys Gly Gly
 Lys Lys Lys Gly Ser Ser Phe Gln Thr Val Ser Ala Leu His Arg Glu Asn Leu Asn Lys
 Leu Met Thr Asn Leu Arg Thr Thr His Pro His Phe Val Arg Cys Ile Ile Pro Asn Glu Arg
 Lys Ala Pro Gly Val Met Asp Asn Pro Leu Val Met His Gln Leu Arg Cys Asn Gly Val
 Leu Glu Gly Ile Arg Ile Cys Arg Lys Gly Phe Pro Asn Arg Ile Leu Tyr Gly Asp Phe Arg
 Gln Arg Tyr Arg Ile Leu Asn Pro Val Ala Ile Pro Glu Gly Gln Phe Ile Asp Ser Arg Lys
 Gly Thr Glu Lys Leu Leu Ser Ser Leu Asp Ile Asp His Asn Gln Tyr Lys Phe Gly His Thr
 Lys Val Phe Phe Lys Ala Gly Leu Leu Gly Leu Leu Glu Met Arg Asp Glu Arg Leu
 Ser Arg Ile Thr Arg Met Gln Ala Gln Ala Arg Gly Gln Leu Met Arg Ile Glu Phe Lys
 Lys Ile Val Glu Arg Arg Asp Ala Leu Leu Val Ile Gln Trp Asn Ile Arg Ala Phe Met Gly

FIG. 9A

【 図 9 B 】

Val Lys Asn Trp Pro Trp Met Lys Leu Tyr Phe Lys Ile Lys Pro Leu Leu Lys Ser Ala Glu
 Thr Glu Lys Glu Met Ala Thr Met Lys Glu Glu Phe Gly Arg Ile Lys Glu Thr Leu Glu
 Lys Ser Glu Ala Arg Arg Lys Glu Leu Glu Glu Lys Met Val Ser Leu Leu Gln Glu Lys
 Asn Asp Leu Gln Leu Gln Val Gln Ala Glu Gln Asp Asn Leu Asn Asp Ala Glu Glu Arg
 Cys Asp Gln Leu Ile Lys Asn Lys Ile Gln Leu Glu Ala Lys Val Lys Glu Met Asn Glu
 Arg Leu Glu Asp Glu Glu Glu Met Asn Ala Glu Leu Thr Ala Lys Lys Arg Lys Leu
 Glu Asp Glu Cys Ser Glu Leu Lys Lys Asp Ile Asp Asp Leu Glu Leu Thr Leu Ala Lys
 Val Glu Lys Glu Lys His Ala Thr Glu Asn Lys Val Lys Asn Leu Thr Glu Glu Met Ala
 Gly Leu Asp Glu Ile Ile Ala Lys Leu Thr Lys Glu Lys Lys Ala Leu Gln Glu Ala His Gln
 Gln Ala Leu Asp Asp Leu Gln Val Glu Glu Asp Lys Val Asn Ser Leu Ser Lys Ser Lys
 Val Lys Leu Glu Gln Gln Val Asp Asp Leu Glu Gly Ser Leu Glu Gln Glu Lys Lys Val
 Arg Met Asp Leu Glu Arg Ala Lys Arg Lys Leu Glu Gly Asp Leu Lys Leu Thr Gln
 Glu Ser Ile Met Asp Leu Glu Asn Asp Lys Leu Gln Leu Glu Glu Lys Leu Lys Lys
 Lys Glu Phe Asp Ile Asn Gln Gln Asn Ser Lys Ile Glu Asp Glu Gln Ala Leu Ala Leu
 Gln Leu Gln Lys Lys Leu Lys Glu Asn Gln Ala Arg Ile Glu Glu Leu Glu Glu Glu Leu
 Glu Ala Glu Arg Thr Ala Arg Ala Lys Val Glu Lys Leu Arg Ser Asp Leu Ser Arg Glu
 Leu Glu Glu Ile Ser Glu Arg Leu Glu Glu Ala Gly Gly Ala Thr Ser Val Gln Ile Glu
 Met Asn Lys Lys Arg Glu Ala Glu Phe Gln Lys Met Arg Arg Asp Leu Glu Glu Ala
 Thr Leu Gln His Glu Ala Thr Ala Ala Ala Leu Arg Lys Lys His Ala Asp Ser Val Ala
 Glu Leu Gly Glu Gln Ile Asp Asn Leu Gln Arg Val Lys Gln Lys Leu Glu Lys Glu Lys
 Ser Glu Phe Lys Leu Glu Leu Asp Asp Val Thr Ser Asn Met Glu Gln Ile Ile Lys Ala
 Lys Ala Asn Leu Glu Lys Val Ser Arg Thr Leu Glu Asp Gln Ala Asn Glu Tyr Arg Val
 Lys Leu Glu Glu Ala Gln Arg Ser Leu Asn Asp Phe Thr Thr Gln Arg Ala Lys Leu Gln
 Thr Glu Asn Gly Glu Leu Ala Arg Gln Leu Glu Glu Lys Glu Ala Leu Ile Ser Gln Leu
 Thr Arg Gly Lys Leu Ser Tyr Thr Gln Gln Met Glu Asp Leu Lys Arg Gln Leu Glu Glu
 Glu Gly Lys Ala Lys Asn Ala Leu Ala His Ala Leu Gln Ser Ala Arg His Asp Cys Asp
 Leu Leu Arg Glu Gln Tyr Glu Glu Glu Thr Glu Ala Lys Ala Glu Leu Gln Arg Val Leu
 Ser Lys Ala Asn Ser Glu Val Ala Gln Trp Arg Thr Lys Tyr Glu Thr Asp Ala Ile Gln
 Arg Thr Glu Glu Leu Glu Glu Ala Lys Lys Lys Leu Ala Gln Arg Leu Gln Asp Ala Glu
 Glu Ala Val Glu Ala Val Asn Ala Lys Cys Ser Ser Leu Glu Lys Thr Lys His Arg Leu
 Gln Asn Glu Ile Glu Asp Leu Met Val Asp Val Glu Arg Ser Asn Ala Ala Ala Ala
 Leu Asp Lys Lys Gln Arg Asn Phe Asp Lys Ile Leu Ala Glu Trp Lys Gln Lys Tyr Glu
 Glu Ser Gln Ser Glu Leu Glu Ser Ser Gln Lys Glu Ala Arg Ser Leu Ser Thr Glu Leu
 Phe Lys Leu Lys Asn Ala Tyr Glu Glu Ser Leu Glu His Leu Glu Thr Phe Lys Arg Glu
 Asn Lys Asn Leu Gln Glu Glu Ile Ser Asp Leu Thr Glu Gln Leu Gly Glu Gly Gly Lys
 Asn Val His Glu Leu Glu Lys Val Arg Lys Gln Leu Glu Val Glu Lys Leu Glu Leu Gln
 Ser Ala Leu Glu Glu Ala Glu Ala Ser Leu Glu His Glu Glu Gly Lys Ile Leu Arg Ala
 Gln Leu Glu Phe Asn Gln Ile Lys Ala Glu Ile Glu Arg Lys Leu Ala Glu Lys Asp Glu
 Glu Met Glu Gln Ala Lys Arg Asn His Gln Arg Val Val Asp Ser Leu Gln Thr Ser Leu
 Asp Ala Glu Thr Arg Ser Arg Asn Glu Val Leu Arg Val Lys Lys Lys Met Glu Gly

FIG. 9B

【図 9 C】

Asp Leu Asn Glu Met Glu Ile Gln Leu Ser His Ala Asn Arg Met Ala Ala Glu Ala Gln
 Lys Gln Val Lys Ser Leu Gln Ser Leu Leu Lys Asp Thr Gln Ile Gln Leu Asp Asp Ala
 Val Arg Ala Asn Asp Asp Leu Lys Glu Asn Ile Ala Ile Val Glu Arg Arg Asn Asn Leu
 Leu Gln Ala Glu Leu Glu Glu Leu Arg Ala Val Val Glu Gln Thr Glu Arg Ser Arg Lys
 Leu Ala Glu Gln Glu Leu Ile Glu Thr Ser Glu Arg Val Gln Leu Leu His Ser Gln Asn
 Thr Ser Leu Ile Asn Gln Lys Lys Lys Met Glu Ala Asp Leu Thr Gln Leu Gln Ser Glu
 Val Glu Glu Ala Val Gln Glu Cys Arg Asn Ala Glu Glu Lys Ala Lys Lys Ala Ile Thr
 Asp Ala Ala Met Met Ala Glu Glu Leu Lys Lys Glu Gln Asp Thr Ser Ala His Leu Glu
 Arg Met Lys Lys Asn Met Glu Gln Thr Ile Lys Asp Leu Gln His Arg Leu Asp Glu Ala
 Glu Gln Ile Ala Leu Lys Gly Gly Lys Lys Gln Leu Gln Lys Leu Glu Ala Arg Val Arg
 Glu Leu Glu Gly Glu Leu Glu Ala Glu Gln Lys Arg Asn Ala Glu Ser Val Lys Gly Met
 Arg Lys Ser Glu Arg Arg Ile Lys Glu Leu Thr Tyr Gln Thr Glu Glu Asp Lys Lys Asn
 Leu Leu Arg Leu Gln Asp Leu Val Asp Lys Leu Gln Leu Lys Val Lys Ala Tyr Lys
 Arg Gln Ala Glu Glu Ala Glu Glu Gln Ala Asn Thr Asn Leu Ser Lys Phe Arg Lys Val
 Gln His Glu Leu Asp Glu Ala Glu Glu Arg Ala Asp Ile Ala Glu Ser Gln Val Asn Lys
 Leu Arg Ala Lys Ser Arg Asp Ile Gly Ala Lys Gln Lys Met His Asp Glu Glu

FIG. 9C

【図 10 A】

Gly Asp Ser Glu Met Ala Val Phe Gly Ala Ala Ala Pro Tyr Leu Arg Lys Ser Glu Lys
 Glu Arg Leu Glu Ala Gln Thr Arg Pro Phe Asp Leu Lys Lys Asp Val Phe Val Pro Asp
 Asp Lys Gln Glu Phe Val Lys Ala Lys Ile Val Ser Arg Glu Gly Gly Lys Val Thr Ala Glu
 Thr Glu Tyr Gly Lys Thr Val Thr Val Lys Glu Asp Gln Val Met Gln Gln Asn Pro Pro
 Lys Phe Asp Lys Ile Glu Asp Met Ala Met Leu Thr Phe Leu His Glu Pro Ala Val Leu
 Tyr Asn Leu Lys Asp Arg Tyr Gly Ser Trp Met Ile Tyr Thr Tyr Ser Gly Leu Phe Cys Val
 Thr Val Asn Pro Tyr Lys Trp Leu Pro Val Tyr Thr Pro Glu Val Val Ala Ala Tyr Arg Gly
 Lys Lys Arg Ser Glu Ala Pro Pro His Ile Phe Ser Ile Ser Asp Asn Ala Tyr Gln Tyr Met
 Leu Thr Asp Arg Glu Asn Gln Ser Ile Leu Ile Thr Gly Glu Ser Gly Ala Gly Lys Thr Val
 Asn Thr Lys Arg Val Ile Gln Tyr Phe Ala Val Ile Ala Ala Ile Gly Asp Arg Ser Lys Lys
 Asp Gln Ser Pro Gly Lys Gly Thr Leu Glu Asp Gln Ile Ile Gln Ala Asn Pro Ala Leu Glu
 Ala Phe Gly Asn Ala Lys Thr Val Arg Asn Asp Asn Ser Ser Arg Phe Gly Lys Phe Ile
 Arg Ile His Phe Gly Ala Thr Gly Lys Leu Ala Ser Ala Asp Ile Glu Thr Tyr Leu Leu Glu
 Lys Ser Arg Val Ile Phe Gln Leu Lys Ala Glu Arg Asp Tyr His Ile Phe Tyr Gln Ile
 Leu Ser Asn Lys Lys Pro Glu Leu Leu Asp Met Leu Leu Ile Thr Asn Asn Pro Tyr Asp
 Tyr Ala Phe Ile Ser Gln Gly Glu Thr Thr Val Ala Ser Ile Asp Asp Ala Glu Glu Leu Met
 Ala Thr Asp Asn Ala Phe Asp Val Leu Gly Phe Thr Ser Glu Lys Asn Ser Met Tyr
 Lys Leu Thr Gly Ala Ile Met His Phe Gly Asn Met Lys Phe Lys Leu Lys Gln Arg
 Glu Glu Gln Ala Glu Pro Asp Gly Thr Glu Glu Ala Asp Lys Ser Ala Tyr Leu Met Gly
 Leu Asn Ser Ala Asp Leu Leu Lys Gly Leu Cys His Pro Arg Val Lys Val Gly Asn Glu
 Tyr Val Thr Lys Gly Gln Asn Val Gln Gln Val Ile Tyr Ala Thr Gly Ala Leu Ala Lys Ala
 Val Tyr Glu Arg Met Phe Asn Trp Met Val Thr Arg Ile Asn Ala Thr Leu Glu Thr
 Lys Gln Pro Arg Gln Tyr Phe Ile Gly Val Leu Asp Ile Ala Gly Phe Glu Ile Phe Asp Phe
 Asn Ser Phe Glu Gln Leu Cys Ile Asn Phe Thr Asn Glu Lys Leu Gln Gln Phe Phe Asn
 His His Met Phe Val Leu Glu Gln Glu Glu Tyr Lys Lys Glu Gly Ile Glu Trp Thr Phe Ile
 Asp Phe Gly Met Asp Leu Gln Ala Cys Ile Asp Leu Ile Glu Lys Pro Met Gly Ile Met Ser
 Ile Leu Glu Glu Glu Cys Met Phe Pro Lys Ala Thr Asp Met Thr Phe Lys Ala Lys Leu
 Phe Asp Asn His Leu Gly Lys Ser Ala Asn Phe Gln Lys Pro Arg Asn Ile Lys Gly Lys
 Pro Glu Ala His Phe Ser Leu Ile His Tyr Ala Gly Ile Val Asp Tyr Asn Ile Ile Gly Trp
 Leu Gln Lys Asn Lys Asp Pro Leu Asn Glu Thr Val Val Gly Leu Tyr Gln Lys Ser Ser
 Leu Lys Leu Leu Ser Thr Leu Phe Ala Asn Tyr Ala Gly Ala Asp Ala Pro Ile Glu Lys Gly
 Lys Gly Lys Ala Lys Lys Gly Ser Ser Phe Gln Thr Val Ser Ala Leu His Arg Glu Asn Leu
 Asn Lys Leu Met Thr Asn Leu Arg Ser Thr His Pro His Phe Val Arg Cys Ile Ile Pro Asn
 Glu Thr Lys Ser Pro Gly Val Met Asp Asn Pro Leu Val Met His Gln Leu Arg Cys Asn
 Gly Val Leu Glu Gly Ile Arg Ile Cys Arg Lys Gly Phe Pro Asn Arg Ile Leu Tyr Gly Asp
 Phe Arg Gln Arg Tyr Arg Ile Leu Asn Pro Ala Ala Ile Pro Glu Gly Gln Phe Ile Asp
 Ser Arg Lys Gly Ala Glu Lys Leu Leu Ser Ser Leu Asp Ile Asp His Asn Gln Tyr Lys Phe
 Gly His Thr Lys Val Phe Phe Lys Ala Gly Leu Leu Gly Leu Leu Glu Glu Met Arg Asp
 Glu Arg Leu Ser Arg Ile Ile Thr Arg Ile Gln Ala Gln Ser Arg Gly Val Leu Ala Arg Met

FIG. 10A

【図 10 B】

Glu Tyr Lys Lys Leu Leu Glu Arg Arg Asp Ser Leu Leu Val Ile Gln Trp Asn Ile Arg Ala
 Phe Met Gly Val Lys Asn Trp Pro Trp Met Lys Leu Tyr Phe Lys Ile Lys Pro Leu Leu
 Lys Ser Ala Glu Arg Glu Lys Glu Met Ala Ser Met Lys Glu Glu Phe Thr Arg Leu Lys
 Glu Ala Leu Glu Lys Ser Glu Ala Arg Arg Lys Glu Leu Glu Glu Lys Met Val Ser Leu
 Leu Gln Glu Lys Asn Asp Leu Gln Leu Gln Val Gln Ala Glu Gln Asp Asn Leu Ala Asp
 Ala Glu Glu Arg Cys Asp Gln Leu Ile Lys Asn Asn Lys Ile Gln Leu Glu Ala Lys Val Lys Glu
 Met Asn Glu Arg Leu Glu Asp Glu Glu Glu Met Asn Ala Glu Leu Thr Ala Lys Lys Arg
 Lys Leu Glu Asp Glu Cys Ser Glu Leu Lys Arg Asp Ile Asp Asp Leu Glu Leu Thr Leu
 Ala Lys Val Glu Lys Glu Lys His Ala Thr Glu Asn Lys Val Lys Asn Leu Thr Glu Glu
 Met Ala Gly Leu Asp Glu Ile Ile Ala Lys Leu Thr Lys Glu Lys Lys Ala Leu Gln Glu Ala
 Lys Leu Gln Ala Leu Asp Asp Leu Gln Ala Glu Glu Asp Lys Val Asn Thr Leu Thr Lys
 Ala Lys Val Lys Leu Glu Gln Gln Val Asp Asp Leu Glu Gly Ser Leu Glu Gln Glu Lys
 Lys Val Arg Met Asp Leu Glu Arg Ala Lys Arg Lys Leu Glu Gly Asp Leu Lys Leu
 Thr Gln Glu Ser Ile Met Asp Leu Glu Asn Asp Lys Gln Gln Leu Asp Glu Arg Leu Lys
 Lys Lys Asp Phe Glu Leu Asn Ala Leu Asn Ala Arg Ile Glu Asp Glu Gln Ala Leu Gly
 Ser Gln Leu Gln Lys Lys Leu Lys Glu Leu Gln Ala Arg Ile Glu Glu Leu Glu Glu Glu
 Leu Glu Ala Glu Arg Thr Ala Arg Ala Lys Val Glu Lys Leu Arg Ser Asp Leu Ser Arg
 Glu Leu Glu Glu Ile Ser Glu Arg Leu Glu Glu Ala Gly Gly Ala Thr Ser Val Gln Ile
 Glu Met Asn Lys Lys Arg Glu Ala Glu Phe Gln Lys Met Arg Arg Asp Leu Glu Glu
 Ala Thr Leu Gln His Glu Ala Thr Ala Ala Ala Leu Arg Lys Lys His Ala Asp Ser Val
 Ala Glu Leu Gly Glu Gln Ile Asp Asn Leu Gln Arg Val Lys Gln Lys Leu Glu Lys
 Glu Lys Ser Glu Phe Lys Leu Glu Leu Asp Asp Val Thr Ser Asn Met Glu Gln Ile Ile
 Lys Ala Lys Ala Asn Leu Glu Lys Met Cys Arg Thr Leu Glu Asp Gln Met Asn Glu
 His Arg Ser Lys Ala Glu Glu Thr Gln Arg Ser Val Asn Asp Leu Thr Ser Gln Arg Ala
 Lys Leu Gln Thr Glu Asn Gly Glu Leu Ser Arg Gln Leu Asp Glu Lys Glu Ala Leu Ile
 Ser Gln Leu Thr Arg Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Gln Gln Leu Glu Asp Leu Lys Arg Gln
 Leu Glu Glu Glu Val Lys Ala Lys Asn Ala Leu Ala His Ala Leu Gln Ser Ala Arg His
 Asp Cys Asp Leu Leu Arg Glu Gln Tyr Glu Glu Glu Thr Glu Ala Lys Ala Glu Leu
 Gln Arg Val Leu Ser Lys Ala Asn Ser Glu Val Ala Gln Trp Arg Thr Lys Tyr Glu Thr
 Asp Ala Ile Gln Arg Thr Glu Glu Leu Glu Glu Ala Lys Lys Lys Leu Ala Gln Arg Leu
 Gln Glu Ala Glu Glu Ala Val Glu Ala Val Asn Ala Lys Cys Ser Ser Leu Glu Lys Thr
 Lys His Arg Leu Gln Asn Glu Ile Glu Asp Leu Met Val Asp Val Glu Arg Ser Asn Ala
 Ala Ala Ala Ala Leu Asp Lys Lys Gln Arg Asn Phe Asp Lys Ile Leu Ala Glu Trp Lys
 Gln Lys Tyr Glu Glu Ser Gln Ser Glu Leu Glu Ser Ser Gln Lys Glu Ala Arg Ser Leu
 Ser Thr Glu Leu Phe Lys Leu Lys Asn Ala Tyr Glu Glu Ser Leu Glu His Leu Glu Thr
 Phe Lys Arg Glu Asn Lys Asn Leu Gln Glu Glu Ile Ser Asp Leu Thr Glu Gln Leu Gly
 Ser Ser Gly Lys Thr Ile His Glu Leu Glu Lys Val Arg Lys Gln Leu Glu Ala Glu Lys
 Met Glu Leu Gln Ser Ala Leu Glu Glu Ala Glu Ala Ser Leu Glu His Glu Glu Gly Lys

FIG. 10B

【図 10 C】

Ile Leu Arg Ala Gln Leu Glu Phe Asn Gln Ile Lys Ala Glu Ile Glu Arg Lys Leu Ala
 Glu Lys Asp Glu Glu Met Glu Gln Ala Lys Arg Asn His Leu Arg Val Val Asp Ser Leu
 Gln Thr Ser Leu Asp Ala Glu Thr Arg Ser Arg Asn Glu Ala Leu Arg Val Lys Lys Lys
 Met Glu Gly Asp Leu Asn Glu Met Glu Ile Gln Leu Ser His Ala Asn Arg Met Ala Ala
 Glu Ala Gln Lys Gln Val Lys Ser Leu Gln Ser Leu Leu Lys Asp Thr Gln Ile Gln Leu
 Asp Asp Ala Val Arg Ala Asn Asp Asp Leu Lys Glu Asn Ile Ala Ile Val Glu Arg Arg
 Asn Asn Leu Leu Gln Ala Glu Leu Glu Glu Leu Arg Ala Val Val Glu Gln Thr Glu
 Arg Ser Arg Lys Leu Ala Glu Gln Glu Leu Ile Glu Thr Ser Glu Arg Val Gln Leu Leu
 His Ser Gln Asn Thr Ser Leu Ile Asn Gln Lys Lys Lys Met Asp Ala Asp Leu Ser Gln
 Leu Gln Thr Glu Val Glu Glu Ala Val Gln Glu Cys Arg Asn Ala Glu Glu Lys Ala Lys
 Lys Ala Ile Thr Asp Ala Ala Met Met Ala Glu Glu Leu Lys Lys Glu Gln Asp Thr Ser
 Ala His Leu Glu Arg Met Lys Lys Asn Met Glu Gln Thr Ile Lys Asp Leu Gln His Arg
 Leu Asp Glu Ala Glu Gln Ile Ala Leu Lys Gly Gly Lys Lys Gln Leu Gln Lys Leu Glu
 Ala Arg Val Arg Glu Leu Glu Asn Glu Leu Glu Ala Glu Gln Lys Arg Asn Ala Glu Ser
 Val Lys Gly Met Arg Lys Ser Glu Arg Arg Ile Lys Glu Leu Thr Tyr Gln Thr Glu Glu
 Asp Arg Lys Asn Leu Leu Arg Leu Gln Asp Leu Val Asp Lys Leu Gln Leu Lys Val
 Lys Ala Tyr Lys Arg Gln Ala Glu Glu Ala Glu Glu Gln Ala Asn Thr Asn Leu Ser
 Lys Phe Arg Lys Val Gln His Glu Leu Asp Glu Ala Glu Glu Arg Ala Asp Ile Ala Glu
 Ser Gln Val Asn Lys Leu Arg Ala Lys Ser Arg Asp Ile Gly Thr Lys Gly Leu Asn Glu
 Glu

FIG. 10C

【図 1 1】

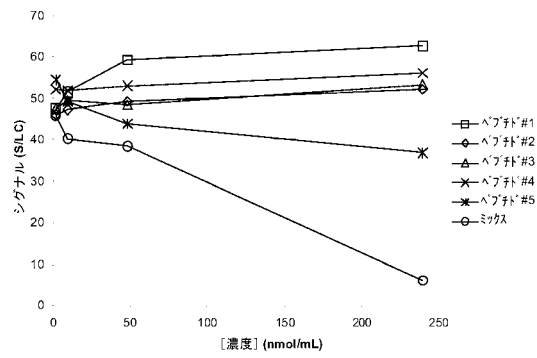


FIG. 11

【図 1 2】

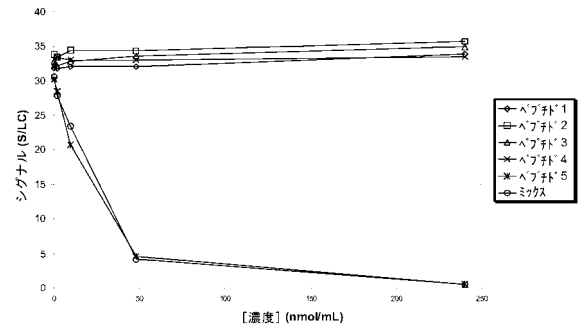


FIG. 12

【配列表】

[2013513107000001.app](#)

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2010/056943

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N33/53 ADD.		
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) G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, MEDLINE, CHEM ABS Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DATWYLER SAUL A ET AL: "Potential interference by antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in myeloperoxidase immunoassays", CLINICAL CHEMISTRY, AMERICAN ASSOCIATION FOR CLINICAL CHEMISTRY, WASHINGTON, DC, vol. 54, no. 12, 1 December 2008 (2008-12-01), pages 2084-2086, XP009114933, ISSN: 0009-9147, DOI: DOI:10.1373/CLINCHEM.2008.110841 the whole document	1-34
A	WO 2008/051762 A2 (ABBOTT LAB [US]; MATTINGLY PHILLIP G [US]; ADAMCZYK MACIEJ [US]; BRASH) 2 May 2008 (2008-05-02) the whole document	1-34
-/-		
☒ 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 "E" earlier document 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. "G" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
21 December 2010		03/01/2011
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Moreno de Vega, C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2010/056943

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2008/051761 A2 (ABBOTT LAB [US]; MATTINGLY PHILLIP G [US]; ADAMCZYK MACIEJ [US]; BRASH) 2 May 2008 (2008-05-02)	1-5, 20-23, 32-34
Y	the whole document	31
X	US 2009/162876 A1 (ADAMCZYK MACIEJ [US] ET AL) 25 June 2009 (2009-06-25)	1-3, 20-30, 32, 33
Y	the whole document	31

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2010/056943

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2008051762 A2	02-05-2008	CA 2667012 A1 EP 2097750 A2 JP 2010508516 T US 2009246800 A1	02-05-2008 09-09-2009 18-03-2010 01-10-2009
WO 2008051761 A2	02-05-2008	CA 2666586 A1 EP 2097749 A2 JP 2010508515 T US 2009017560 A1 US 2008102481 A1 US 2010311079 A1	02-05-2008 09-09-2009 18-03-2010 15-01-2009 01-05-2008 09-12-2010
US 2009162876 A1	25-06-2009	EP 2235204 A1 WO 2009085883 A1	06-10-2010 09-07-2009

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I テーマコード (参考)
G 0 1 N 33/535 (2006.01) G 0 1 N 33/535

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 ブラツシアー, ロイ・ジェフリー
アメリカ合衆国、イリノイ・60060、マンダライン、ノース・シルバン・ドライブ・145

(72)発明者 マツテイングリー, フイリツプ・ジー
アメリカ合衆国、イリノイ・60030、サード・レイク、シーフエラー・ドライブ・204

Fターム(参考) 4H045 AA10 BA13 BA14 BA15 BA16 BA17 CA40 EA50