

(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2010-505420

(P2010-505420A)

(43) 公表日 平成22年2月25日(2010.2.25)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68 A	4 B 0 6 3
A 6 1 P 3/04 (2006.01)	A 6 1 P 3/04	
A 6 1 P 3/06 (2006.01)	A 6 1 P 3/06	
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 P 3/10	
A 6 1 P 9/10 (2006.01)	A 6 1 P 9/10 1 O 1	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 48 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2009-531477 (P2009-531477)	(71) 出願人	599132904
(86) (22) 出願日	平成19年10月4日 (2007.10.4)		ネステク ソシエテ アノニム
(85) 翻訳文提出日	平成21年5月8日 (2009.5.8)		スイス国, ブベイ, アブニユー ネスレ
(86) 国際出願番号	PCT/US2007/021451		5 5
(87) 国際公開番号	W02008/057160	(74) 代理人	100088155
(87) 国際公開日	平成20年5月15日 (2008.5.15)		弁理士 長谷川 芳樹
(31) 優先権主張番号	60/849, 928	(74) 代理人	100114270
(32) 優先日	平成18年10月6日 (2006.10.6)		弁理士 黒川 朋也
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100128381
			弁理士 清水 義憲
		(74) 代理人	100132090
			弁理士 飯塚 敬子
		(74) 代理人	100107456
			弁理士 池田 成人

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 生理的健康の生物学的媒介物質を測定するための組成物及び多重アッセイ

(57) 【要約】

非常に少量の生体試料を使用して、動物、特にコンパニオンアニマルの健康状態を迅速に評価すると共に、動物の健康状態を改善するための栄養療法を処方する、生物学的に関連する複数のタンパク質を同時に測定可能な多重アッセイを開発するためのプローブのパネルを含む多重アッセイを提供する。プローブは、動物の健康状態を評価すると共に、その際の治療介入又は栄養介入に対する動物の応答を評価するためのプローブの使用法と共に提供される。

【選択図】 図 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

所定のセットの分析物の各々の活性、存在、又は発現を、単一試料中で決定するための検出可能な分子プローブのコレクションであって、前記セットが、少なくとも1つのサイトカイン又はその遺伝子、1つのケモカイン又はその遺伝子、1つのホルモン又はその遺伝子、及び1つのアディポカイン又はその遺伝子を含み、前記セット中の各分析物について、前記分子プローブのコレクションが、その分析物の活性、存在、又は発現を検出するのに好適な少なくとも1つのプローブを含む分子プローブのコレクション。

【請求項 2】

前記分析物のセットが、1つ又は複数のニューロン増殖因子若しくはその遺伝子、ニューロン増殖因子以外の増殖因子若しくはその遺伝子、可溶性受容体若しくはその遺伝子、又はその組合せをさらに含む、請求項 1 に記載の分子プローブのコレクション。

10

【請求項 3】

前記分析物のセット中の各遺伝子のコードされた遺伝子産物を検出するための検出可能なプローブを含み、それにより前記セット中の各遺伝子の発現を決定する、請求項 2 に記載の分子プローブのコレクション。

【請求項 4】

各プローブが前記セット中の1つの分析物の検出に特異的である、請求項 3 に記載の分子プローブのコレクション。

【請求項 5】

前記検出可能なプローブが、抗体、抗体断片、リガンド、受容体、結合タンパク質、又は核酸を含む、請求項 3 に記載の分子プローブのコレクション。

20

【請求項 6】

前記分析物のセットが、サイトカインインターフェロンアルファ、インターフェロンガンマ、インターロイキン 12 p 40、インターロイキン 18、インターフェロンベータ、インターフェロンオメガ、リンフォトキシンベータ R、リンフォトキシン、インターロイキン 6、インターロイキン 8、腫瘍壊死因子アルファ、インターロイキン 4、インターロイキン 10、形質転換増殖因子ベータ 1、腫瘍壊死因子ベータ、インターロイキン 3、インターロイキン 5、インターロイキン 7、インターロイキン 13、インターロイキン 15、インターロイキン 1 アルファ、インターロイキン 1 ベータ、インターロイキン 2、インターロイキン 11、インターロイキン 12 p 70、インターロイキン 16、インターロイキン 17、RANTES (Regulated upon Activation, Normal T Expressed and presumably Secreted)、インターロイキン 21、インターロイキン 9、若しくは形質転換増殖因子ベータ受容体 I I I の1つ若しくは複数、又は前記のサイトカインのいずれかをコードする遺伝子を含む、請求項 1 に記載の分子プローブのコレクション。

30

【請求項 7】

前記分析物のセットが、ケモカイン B リンパ球化学誘引物質、上皮細胞由来好中球活性化ペプチド、エオタキシン、エオタキシン 2、単球走化性タンパク質 2、単球走化性タンパク質 3、マクロファージ遊走阻止因子、マクロファージ炎症性タンパク質 1 アルファ、骨髓球系前駆体阻止因子 1、マクロファージ刺激タンパク質、顆粒球走化性タンパク質 2、インターフェロンガンマ誘導性タンパク質 10、白血病抑制因子、マクロファージコロニー刺激因子、単球走化性タンパク質 1、マクロファージ由来ケモカイン、マクロファージ炎症性タンパク質 1 ベータ、マクロファージ炎症性タンパク質 1 デルタ、好中球活性化ペプチド 2、肺性及び活性化調節ケモカイン、間質細胞由来因子アルファ、胸腺性及び活性化調節ケモカイン、ベータセルリン、6 C カイン、酸性線維芽細胞増殖因子、フラクタールカイン、ヘモフィルトレート C C ケモカイン 1、単球走化性タンパク質 4、マクロファージ炎症性タンパク質 3 ベータ、血小板第 4 因子、NF カップ B 受容体活性化因子、皮膚 T 細胞誘引性ケモカイン、エオタキシン 3、線維芽細胞増殖因子 4、ホリスタチン、増殖関連オンコジーンガンマ、インターフェロンガンマ誘導性 T 細胞アルファ化学誘引物質、

40

50

白血病抑制因子受容体アルファ、ミッドカイン、マクロファージ炎症性タンパク質 3 アルファ、プレイオトロフィン、間質細胞由来因子ベータ、胸腺発現性ケモカイン、形質転換増殖因子アルファ、TNF 関連アクチビン誘導サイトカイン、血管接着タンパク質 1、CXCL9、若しくは CCL1 の 1 つ若しくは複数、又は前記のいずれかをコードする遺伝子を含む、請求項 6 に記載の分子プローブのコレクション。

【請求項 8】

前記分析物のセットが、ホルモンプロラクチン、インスリン様増殖因子結合タンパク質 2、レプチン、インスリン、レジスチン、アディポネクチン、グルカゴン、グルカゴン関連ペプチド 1、若しくは PYY の 1 つ若しくは複数、又は前記のいずれかをコードする遺伝子を含む、請求項 7 に記載の分子プローブのコレクション。

10

【請求項 9】

前記分析物のセットが、アディポカイン単球走化性タンパク質 1、レプチン、レジスチン、アディポネクチン、IL-6、TNF アルファ、若しくはトロニン活性化線溶阻害因子の 1 つ若しくは複数、又は前記のいずれかをコードする遺伝子を含む、請求項 8 に記載の分子プローブのコレクション。

【請求項 10】

前記所定のセットの分析物が、ニューロン増殖因子毛様体神経栄養因子、グリア細胞由来神経栄養因子、脳由来神経栄養因子、ニューロトロフィン 3、ニューロトロフィン 4、若しくはベータ神経増殖因子の 1 つ若しくは複数、又は前記のいずれかをコードする遺伝子をさらに含む、請求項 9 に記載の分子プローブのコレクション。

20

【請求項 11】

前記所定のセットの分析物が、増殖因子アンジオゲニン、上皮増殖因子、線維芽細胞増殖因子 7、線維芽細胞増殖因子 9、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子、黒色腫増殖刺激活性、オンコスタチン M、胎盤増殖因子、形質転換増殖因子ベータ 3、アンフィレギュリン線維芽細胞増殖因子 6、顆粒球コロニー刺激因子、幹細胞因子、血管内皮増殖因子、カルジオトロフィン 1、増殖関連オンコジーンベータ、ヘパリン結合性 EGF 様増殖因子、肝細胞増殖因子、ヘルペスウィルス進入媒介物質、マトリックスメタロプロテアーゼ 10、マトリックスメタロプロテアーゼ 7、マトリックスメタロプロテアーゼ 9、組織性メタロプロテアーゼ 1 阻害因子、血管内皮増殖因子 D、血管内皮増殖因子受容体 2、塩基性線維芽細胞増殖因子、インスリン様増殖因子 I、インスリン様増殖因子 II、インスリン様増殖因子結合タンパク質 1、インスリン様増殖因子結合タンパク質 3、インスリン様増殖因子結合タンパク質 4、インスリン様増殖因子結合タンパク質 6、マトリックスメタロプロテアーゼ 1、マトリックスメタロプロテアーゼ 2、若しくは組織性メタロプロテアーゼ 2 阻害因子の 1 つ若しくは複数、又は前記のいずれかをコードする遺伝子をさらに含む、請求項 9 に記載の分子プローブのコレクション。

30

【請求項 12】

前記所定のセットの分析物が、可溶性受容体 sCD23、Fas (CD95)、インターロイキン 1 受容体アンタゴニスト、インターロイキン 2 可溶性受容体アルファ、TNF 関連アポトーシス誘導性リガンド、ウロキナーゼ型プラスミノーゲン活性化因子受容体、fms 様チロシンキナーゼ 3 リガンド、可溶性糖タンパク質 130、インターロイキン 1 可溶性受容体 1、インターロイキン 6 可溶性受容体、腫瘍壊死因子受容体 I、腫瘍壊死因子受容体 II、血管上皮カドヘリン、CCL28、細胞傷害性 T リンパ球関連分子 4、細胞死受容体 6、Fas リガンド、細胞間接着分子 3、インターロイキン 2 受容体ガンマ、インターロイキン 5 受容体アルファ、L-セレクチン、血小板内皮細胞接着分子 1、幹細胞因子受容体、TNF 関連アポトーシス誘導性リガンド受容体 4、活性化白血球細胞接着、CD27、CD30、CD40、毛様体神経栄養因子受容体、細胞間接着分子 1、インスリン様増殖因子 1 受容体、インターロイキン 1 可溶性受容体 II、インターロイキン 2 受容体ベータ、インターロイキン 10 受容体ベータ、マクロファージコロニー刺激因子受容体、血小板由来増殖因子受容体アルファ、若しくは TNF 関連アポトーシス誘導性リガンド受容体 4 の 1 つ若しくは複数、又は前記のいずれかをコードする遺伝子をさらに含む

40

50

、請求項 9 に記載の分子プローブのコレクション。

【請求項 13】

IL-2、IL-4、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-18、INF- γ 、IP-10、TNF- α 、MCP-1、GCP-1、グルカゴン、インスリン、アディポネクチン、及びレジスチンの各々に特異的なプローブを含む、請求項 9 に記載の分子プローブのコレクション。

【請求項 14】

ヒト、ネズミ、サル、イヌ、又はネコである動物に由来する所定のセットの分析物の各々の活性、存在、又は発現を検出可能である、請求項 13 に記載の分子プローブのコレクション。

10

【請求項 15】

IL-15、KC、及びレプチンの 1 つ若しくは複数、又は前記のいずれかをコードする遺伝子の存在又は活性の検出に特異的なプローブをさらに含む、請求項 14 に記載の分子プローブのコレクション。

【請求項 16】

前記分析物がイヌに由来し、前記プローブが抗体である、請求項 13 に記載の分子プローブのコレクション。

【請求項 17】

各分析物の活性、存在、又は発現量の定量的決定を提供する、請求項 16 に記載の分子プローブのコレクション。

20

【請求項 18】

各プローブがマトリックスに結合し、そのような結合したプローブの各々が、前記マトリックスと接触させた試料中で、各分析物の活性、存在、又は発現量を定量的に決定することが依然として可能である、請求項 17 に記載の分子プローブのコレクション。

【請求項 19】

各プローブが別々のマトリックスに結合している、請求項 18 に記載の分子プローブのコレクション。

【請求項 20】

各プローブが、前記コレクション中の他の各プローブから独立して検出可能である、請求項 19 に記載の分子プローブのコレクション。

30

【請求項 21】

遺伝子のセットの相対的活性又は発現を決定することにより、動物の健康状態を評価するための方法であって、

前記動物に由来する生体試料を取得するステップであり、前記試料が、所定のセットの目的分析物又はそれらの分析物の発現産物を含有することが推定され、前記セットが、サイトカイン、ケモカイン、ホルモン、及びアディポカイン、又は前記の各々をコードする遺伝子を少なくとも含むステップと、

前記所定のセットの分析物の各々の活性、存在、又は発現を決定するための分子プローブのコレクションと前記試料を接触させるステップであり、前記セット中の各分析物について、前記分子プローブのコレクションが、前記分析物の活性、存在、又は発現を検出するのに好適な少なくとも 1 つのプローブを含み、前記プローブに対応する前記分析物又はその発現産物が前記試料中に存在する場合、各プローブが、独立して検出可能なシグナルを生成可能であるステップと、

40

前記試料が前記コレクションと接触した後で生成される、前記独立して検出可能なシグナルを検出し、前記検出可能なシグナルを、前記試料中の前記所定のセットの分析物の各々の相対的活性、存在、又は発現と関連させるステップと、

前記試料中の前記所定のセットの分析物の各々の相対的活性、存在、又は発現を、公知の健康状態のパラメーターと関連させるステップと、

前記関連に従って、前記動物の健康状態の決定を行うステップと、を含む方法。

50

【請求項 2 2】

前記分析物のセットが、ニューロン増殖因子、ニューロン増殖因子以外の増殖因子、可溶性受容体、又はその組合せの1つ又は複数、又は前記のいずれかをコードする遺伝子をさらに含む、請求項 2 1 に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記検出可能なプローブが、前記分析物のセット中の各分析物の存在、活性、又は発現の検出に特異的である、請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記検出可能なプローブが、抗体、抗体断片、リガンド、受容体、又は結合タンパク質である、請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記分析物のセットが、サイトカインインターフェロンアルファ、インターフェロンガンマ、インターロイキン 1 2 p 4 0、インターロイキン 1 8、インターフェロンベータ、インターフェロンオメガ、リンフォトキシンベータ R、リンフォトキシン、インターロイキン 6、インターロイキン 8、腫瘍壊死因子アルファ、インターロイキン 4、インターロイキン 1 0、形質転換増殖因子ベータ 1、腫瘍壊死因子ベータ、インターロイキン 3、インターロイキン 5、インターロイキン 7、インターロイキン 1 3、インターロイキン 1 5、インターロイキン 1 アルファ、インターロイキン 1 ベータ、インターロイキン 2、インターロイキン 1 1、インターロイキン 1 2 p 7 0、インターロイキン 1 6、インターロイキン 1 7、R A N T E S (R e g u l a t e d u p o n A c t i v a t i o n , N o r m a l T E x p r e s s e d a n d p r e s u m a b l y S e c r e t e d)、インターロイキン 2 1、インターロイキン 9、若しくは形質転換増殖因子ベータ受容体 I I I の 1 つ若しくは複数、又は前記のいずれかをコードする遺伝子を含む、請求項 2 1 に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記所定のセットの分析物が、ケモカイン B リンパ球化学誘引物質、上皮細胞由来好中球活性化ペプチド、エオタキシン、エオタキシン 2、単球走化性タンパク質 2、単球走化性タンパク質 3、マクロファージ遊走阻止因子、マクロファージ炎症性タンパク質 1 アルファ、骨髓球系前駆体阻止因子 1、マクロファージ刺激タンパク質、顆粒球走化性タンパク質 2、インターフェロンガンマ誘導性タンパク質 1 0、白血病抑制因子、マクロファージコロニー刺激因子、単球走化性タンパク質 1、マクロファージ由来ケモカイン、マクロファージ炎症性タンパク質 1 ベータ、マクロファージ炎症性タンパク質 1 デルタ、好中球活性化ペプチド 2、肺性及び活性化調節ケモカイン、間質細胞由来因子アルファ、胸腺性及び活性化調節ケモカイン、ベータセルリン、6 C カイン、酸性線維芽細胞増殖因子、フラクタルカイン、ヘモフィルトレート C C ケモカイン 1、単球走化性タンパク質 4、マクロファージ炎症性タンパク質 3 ベータ、血小板第 4 因子、N F カップ B 受容体活性化因子、皮膚 T 細胞誘引性ケモカイン、エオタキシン 3、線維芽細胞増殖因子 4、ホリスタチン、増殖関連オンコジーンガンマ、インターフェロンガンマ誘導性 T 細胞アルファ化学誘引物質、白血病抑制因子受容体アルファ、ミッドカイン、マクロファージ炎症性 3 タンパク質アルファ、プレイオトロフィン、間質細胞由来因子ベータ、胸腺発現性ケモカイン、形質転換増殖因子アルファ、T N F 関連アクチビン誘導サイトカイン、血管接着タンパク質 1、C X C L 9、若しくは C C L 1 の 1 つ若しくは複数、又は前記のいずれかをコードする遺伝子を含む、請求項 2 5 に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記所定のセットの分析物が、ホルモンプロラクチン、インスリン様増殖因子結合タンパク質 2、レプチン、インスリン、レジスチン、アディポネクチン、グルカゴン、グルカゴン関連ペプチド 1、若しくは P Y Y の 1 つ若しくは複数、又は前記のいずれかをコードする遺伝子を含む、請求項 2 6 に記載の方法。

【請求項 2 8】

前記所定のセットの分析物が、アディポカイン単球走化性タンパク質 1、レプチン、レ

10

20

30

40

50

ジスチン、アディポネクチン、IL-6、TNFアルファ、若しくはトロンビン活性化線溶阻害因子の1つ若しくは複数、又は前記のいずれかをコードする遺伝子を含む、請求項27に記載の方法。

【請求項29】

前記所定のセットの分析物が、ニューロン増殖因子毛様体神経栄養因子、グリア細胞由来神経栄養因子、脳由来神経栄養因子、ニューロトロフィン3、ニューロトロフィン4、若しくはベータ神経増殖因子の1つ若しくは複数、又は前記のいずれかをコードする遺伝子をさらに含む、請求項28に記載の方法。

【請求項30】

前記所定のセットの分析物が、増殖因子アンジオゲニン、上皮増殖因子、線維芽細胞増殖因子7、線維芽細胞増殖因子9、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子、黒色腫増殖刺激活性、オンコスタチンM、胎盤増殖因子、形質転換増殖因子ベータ3、アンフィレギュリン線維芽細胞増殖因子6、顆粒球コロニー刺激因子、幹細胞因子、血管内皮増殖因子、カルジオトロフィン1、増殖関連オンコジーンベータ、ヘパリン結合性EGF様増殖因子、肝細胞増殖因子、ヘルペスウィルス進入媒介物質、マトリックスメタロプロテアーゼ10、マトリックスメタロプロテアーゼ7、マトリックスメタロプロテアーゼ9、組織性メタロプロテアーゼ1阻害因子、血管内皮増殖因子D、血管内皮増殖因子受容体2、塩基性線維芽細胞増殖因子、インスリン様増殖因子I、インスリン様増殖因子II、インスリン様増殖因子結合タンパク質1、インスリン様増殖因子結合タンパク質3、インスリン様増殖因子結合タンパク質4、インスリン様増殖因子結合タンパク質6、マトリックスメタロプロテアーゼ1、マトリックスメタロプロテアーゼ2、若しくは組織性メタロプロテアーゼ2阻害因子の1つ若しくは複数、又は前記のいずれかをコードする遺伝子をさらに含む、請求項29に記載の方法。

【請求項31】

前記所定のセットの分析物が、可溶性受容体sCD23、Fas(CD95)、インターロイキン1受容体アンタゴニスト、インターロイキン2可溶性受容体アルファ、TNF関連アポトーシス誘導性リガンド、ウロキナーゼ型プラスミノゲン活性化因子受容体、fms様チロシンキナーゼ3リガンド、可溶性糖タンパク質130、インターロイキン1可溶性受容体1、インターロイキン6可溶性受容体、腫瘍壊死因子受容体I、腫瘍壊死因子受容体II、血管上皮カドヘリン、CCl28、細胞傷害性Tリンパ球関連分子4、細胞死受容体6、Fasリガンド、細胞間接着分子3、インターロイキン2受容体ガンマ、インターロイキン5受容体アルファ、L-セレクチン、血小板内皮細胞接着分子1、幹細胞因子受容体、TNF関連アポトーシス誘導性リガンド受容体4、活性化白血球細胞接着、CD27、CD30、CD40、毛様体神経栄養因子受容体、細胞間接着分子1、インスリン様増殖因子1受容体、インターロイキン1可溶性受容体II、インターロイキン2受容体ベータ、インターロイキン10受容体ベータ、マクロファージコロニー刺激因子受容体、血小板由来増殖因子受容体アルファ、若しくはTNF関連アポトーシス誘導性リガンド受容体4の1つ若しくは複数、又は前記のいずれかをコードする遺伝子をさらに含む、請求項30に記載の方法。

【請求項32】

前記所定のセットの分析物が、IL-2、IL-4、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-18、IFN γ 、IP-10、TNF- α 、MCP-1、GLP-1、グルカゴン、インスリン、アディポネクチン、及びレジスチンの各々、又は前記の各々を各々コードする少なくとも1つの遺伝子を含む、請求項21に記載の方法。

【請求項33】

前記動物がヒト、ネズミ、サル、イヌ、又はネコである、請求項32に記載の方法。

【請求項34】

前記所定のセットの分析物が、IL-15、KC、若しくはレプチンの1つ若しくは複数、又は前記のいずれかをコードする遺伝子をさらに含む、請求項33に記載の方法。

【請求項35】

10

20

30

40

50

前記分析物がイヌに由来し、前記プローブが抗体である、請求項 33 に記載の方法。

【請求項 36】

前記分子プローブのコレクションが、各分析物の活性、存在、又は発現量の定量的決定を可能にする、請求項 35 に記載の方法。

【請求項 37】

各プローブがマトリックスに結合し、そのような結合したプローブの各々が、前記マトリックスと接触させた試料中で、前記プローブに対応する分析物の活性、存在、又は発現量を定量的に決定することが依然として可能である、請求項 36 に記載の方法。

【請求項 38】

前記試料及び前記分子プローブのコレクションを、特異性又は検出シグナルを増加させることにより前記検出を支援する 1 つ又は複数の抗体を含む二次抗体のセットと接触させるステップをさらに含む、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 39】

各プローブが別々のマトリックスに結合している、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 40】

前記試料が血清又は血漿である、請求項 39 に記載の方法。

【請求項 41】

動物の健康を改善するための栄養療法を処方する方法であって、

a) 所定のセットの動物の目的分析物を選択するステップであり、前記分析物の活性、存在、又は発現が、前記動物の健康状態、及び前記動物の栄養療法と関連させることができ、前記セットが、サイトカイン、ケモカイン、ホルモン、及びアディポカインの各々の少なくとも 1 つ、又は前記のいずれかをコードする遺伝子を含むステップと、

b) 前記動物に由来する生体試料を取得するステップであり、前記試料が、前記所定のセットの分析物、又はその発現産物を含有することが推定され、前記試料が、前記動物の現行の栄養療法を示すステップと、

c) 前記所定のセット分析物の各々の活性、存在、又は発現を決定するための分子プローブのコレクションと前記試料を接触させることによりベースライン測定値を決定するステップであり、前記セット中の各分析物について、前記分子プローブのコレクションが、前記分析物の活性、存在、又は発現を検出するのに好適な少なくとも 1 つのプローブを含み、前記プローブに対応する前記分析物又はその発現産物が前記試料中に存在する場合、各プローブが、独立して検出可能なシグナルを生成可能であるステップと、

d) 前記試料が前記コレクションと接触した後で生成される、前記独立して検出可能なシグナルを検出するステップと、

e) 前記検出可能なシグナルを、前記試料中の前記所定のセットの分析物の各々の相対的活性、存在又は発現と関連させるステップと、

f) 前記試料中の前記所定のセットの分析物の各々の相対的活性、存在、又は発現を、公知の健康状態のパラメーターと関連させるステップと、

g) 前記関連に従って、前記現行の栄養療法下にある前記動物の健康状態の決定を行うステップと、

h) 前記動物の前記現行の栄養療法と比較して、主要栄養素の含量若しくは原料、微量栄養素の含量若しくは原料、補助的な食事成分、又は前記食事のカロリー含量の 1 つ又は複数を調整することにより、前記動物における 1 つ又は複数の試験的な栄養療法又は試験用の栄養補助食品を処方するステップと、

i) 前記所定のセットの分析物の 1 つ又は複数の活性、存在、又は発現を変化させるのに有効な量及び期間で、1 つ又は複数の試験的な栄養療法若しくは栄養補助食品、又はその組合せを前記動物に提供するステップと、

j) 前記試験的な栄養療法若しくは栄養補助食品、又はその組合せが前記動物の健康状態を改善したかどうかを決定するために、各試験的な栄養療法若しくは栄養補助食品、又はその組合せについて、前記動物に由来する新しい試料を用いてステップ b) からステップ g) までを繰り返すステップと、

10

20

30

40

50

k) 前記動物の健康状態を改善する、処方された栄養療法若しくは栄養補助食品、又はその組合せを選択するステップと、を含む方法。

【請求項 4 2】

前記動物が、肥満である、糖尿病に罹っている、糖尿病になりやすい徴候を示す、望ましくないレベルの炎症を有する、望ましくないレベルのインスリン抵抗性を有する、メタボリック症候群、早発性アテローム性動脈硬化、グルコース代謝異常、又は脂肪代謝異常を有する、請求項 4 1 に記載の方法。

【請求項 4 3】

前記処方された栄養療法、栄養補助食品、又はその組合せが、前記動物の炎症を低減するか、インスリン抵抗性を低減するか、又はその組合せを示す、請求項 4 2 に記載の方法。

10

【請求項 4 4】

前記処方された栄養療法、栄養補助食品、又はその組合せが、前記動物の炎症を低減し、抗炎症性サイトカインを増加させるか、炎症促進性サイトカインを低減するか、又はサイトカイン炎症媒介物質を減少させるかの 1 つ又は複数を示す、請求項 4 3 に記載の方法。

【請求項 4 5】

前記炎症促進性サイトカインが、インターフェロンアルファ、インターフェロンガンマ、インターロイキン 12 p 40、インターロイキン 18、インターフェロンベータ、インターフェロンオメガ、リンフォトキシンベータ R、リンフォトキシン、インターロイキン 6、インターロイキン 8、又は腫瘍壊死因子アルファの 1 つ又は複数を含み、前記抗炎症性サイトカインが、インターロイキン 4、インターロイキン 10、インターロイキン 13、形質転換増殖因子ベータ 1、又は腫瘍壊死因子ベータを含む、請求項 4 4 に記載の方法。

20

【請求項 4 6】

前記炎症促進性サイトカインが、IL-6 又は IL-12、IFN であり、前記抗炎症性サイトカインが、IL-10 及び IL-13 である、請求項 4 4 に記載の方法。

【請求項 4 7】

前記処方された栄養療法、栄養補助食品、又はその組合せが、前記動物のインスリン抵抗性を低減し、アディポネクチンを増加させるか、レジスチンを減少させるか、又はレプチンを減少させるかの 1 つ又は複数を示す、請求項 4 2 に記載の方法。

30

【請求項 4 8】

前記処方された栄養療法、栄養補助食品、又はその組合せが、異脂肪血症、炎症、高血圧、血管反応性の変化、若しくは内臓型肥満の 1 つ若しくは複数低減し、又は線溶を改善する、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 9】

前記分析物のセットが、ニューロン増殖因子、ニューロン増殖因子以外の増殖因子、可溶性受容体、若しくはその組合せの 1 つ若しくは複数、又は前記のいずれかをコードする遺伝子をさらに含む、請求項 4 1 に記載の方法。

40

【請求項 5 0】

前記検出可能なプローブが、前記分析物のセット中の各々の検出に特異的である、請求項 4 1 に記載の方法。

【請求項 5 1】

前記検出可能なプローブが、抗体、抗体断片、リガンド、受容体、又は結合タンパク質である、請求項 4 1 に記載の方法。

【請求項 5 2】

前記分析物のセットが、サイトカインインターフェロンアルファ、インターフェロンガンマ、インターロイキン 12 p 40、インターロイキン 18、インターフェロンベータ、インターフェロンオメガ、リンフォトキシンベータ R、リンフォトキシン、インターロイ

50

キン6、インターロイキン8、腫瘍壊死因子アルファ、インターロイキン4、インターロイキン10、形質転換増殖因子ベータ1、腫瘍壊死因子ベータ、インターロイキン3、インターロイキン5、インターロイキン7、インターロイキン13、インターロイキン15、インターロイキン1アルファ、インターロイキン1ベータ、インターロイキン2、インターロイキン11、インターロイキン12 p 70、インターロイキン16、インターロイキン17、RANTES (Regulated upon Activation, Normal T Expressed and presumably Secreted)、インターロイキン21、インターロイキン9、若しくは形質転換増殖因子ベータ受容体 I I I の1つ若しくは複数、又は前記のいずれかをコードする遺伝子を含む、請求項41に記載の方法。

10

【請求項53】

前記所定のセットの分析物が、ケモカインBリンパ球化学誘引物質、上皮細胞由来好中球活性化ペプチド、エオタキシン、エオタキシン2、単球走化性タンパク質2、単球走化性タンパク質3、マクロファージ遊走阻止因子、マクロファージ炎症性タンパク質1アルファ、骨髓球系前駆体阻止因子1、マクロファージ刺激タンパク質、顆粒球走化性タンパク質2、インターフェロンガンマ誘導性タンパク質10、白血病抑制因子、マクロファージコロニー刺激因子、単球走化性タンパク質1、マクロファージ由来ケモカイン、マクロファージ炎症性タンパク質1ベータ、マクロファージ炎症性タンパク質1デルタ、好中球活性化ペプチド2、肺性及び活性化調節ケモカイン、間質細胞由来因子アルファ、胸腺性及び活性化調節ケモカイン、ベータセルリン、6Cカイン、酸性線維芽細胞増殖因子、フラクタルカイン、ヘモフィルトレートCCケモカイン1、単球走化性タンパク質4、マクロファージ炎症性タンパク質3ベータ、血小板第4因子、NFカッパB受容体活性化因子、皮膚T細胞誘引性ケモカイン、エオタキシン3、線維芽細胞増殖因子4、ホリスタチン、増殖関連オンコジーンガンマ、インターフェロンガンマ誘導性T細胞アルファ化学誘引物質、白血病抑制因子受容体アルファ、ミッドカイン、マクロファージ炎症性タンパク質3アルファ、プレイオトロフィン、間質細胞由来因子ベータ、胸腺発現性ケモカイン、形質転換増殖因子アルファ、TNF関連アクチビン誘導サイトカイン、血管接着タンパク質1、CXCL9、若しくはCCL1の1つ若しくは複数、又は前記のいずれかをコードする遺伝子を含む、請求項52に記載の方法。

20

【請求項54】

前記所定のセットの分析物が、ホルモンプロラクチン、インスリン様増殖因子結合タンパク質2、レプチン、インスリン、レジスチン、アディポネクチン、グルカゴン、グルカゴン関連ペプチド1、若しくはPYYの1つ若しくは複数、又は前記のいずれかをコードする遺伝子を含む、請求項53に記載の方法。

30

【請求項55】

前記所定のセットの分析物が、アディポカイン単球走化性タンパク質1、レプチン、レジスチン、アディポネクチン、IL-6、TNFアルファ、若しくはトロニン活性化線溶阻害因子の1つ若しくは複数、又は前記のいずれかをコードする遺伝子を含む、請求項54に記載の方法。

【請求項56】

前記所定のセットの分析物が、ニューロン増殖因子毛様体神経栄養因子、グリア細胞由来神経栄養因子、脳由来神経栄養因子、ニューロトロフィン3、ニューロトロフィン4、若しくはベータ神経増殖因子の1つ若しくは複数、又は前記のいずれかをコードする遺伝子をさらに含む、請求項55に記載の方法。

40

【請求項57】

前記所定のセットの分析物が、増殖因子アンジオゲニン、上皮増殖因子、線維芽細胞増殖因子7、線維芽細胞増殖因子9、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子、黒色腫増殖刺激活性、オンコスタチンM、胎盤増殖因子、形質転換増殖因子ベータ3、アンフィレギュリン線維芽細胞増殖因子6、顆粒球コロニー刺激因子、幹細胞因子、血管内皮増殖因子、カルジオトロフィン1、増殖関連オンコジーンベータ、ヘパリン結合性EGF様増殖因

50

子、肝細胞増殖因子、ヘルペスウィルス進入媒介物質、マトリックスメタロプロテアーゼ 10、マトリックスメタロプロテアーゼ 7、マトリックスメタロプロテアーゼ 9、組織性メタロプロテアーゼ 1 阻害因子、血管内皮増殖因子 D、血管内皮増殖因子受容体 2、塩基性線維芽細胞増殖因子、インスリン様増殖因子 I、インスリン様増殖因子 I I、インスリン様増殖因子結合タンパク質 1、インスリン様増殖因子結合タンパク質 3、インスリン様増殖因子結合タンパク質 4、インスリン様増殖因子結合タンパク質 6、マトリックスメタロプロテアーゼ 1、マトリックスメタロプロテアーゼ 2、若しくは組織性メタロプロテアーゼ 2 阻害因子の 1 つ若しくは複数、又は前記のいずれかをコードする遺伝子をさらに含む、請求項 5 6 に記載の方法。

【請求項 5 8】

前記所定のセットの分析物が、可溶性受容体 s C D 2 3、F a s (C D 9 5)、インターロイキン 1 受容体アンタゴニスト、インターロイキン 2 可溶性受容体アルファ、T N F 関連アポトーシス誘導性リガンド、ウロキナーゼ型プラスミノーゲン活性化因子受容体、f m s 様チロシキナーゼ 3 リガンド、可溶性糖タンパク質 1 3 0、インターロイキン 1 可溶性受容体 1、インターロイキン 6 可溶性受容体、腫瘍壊死因子受容体 I、腫瘍壊死因子受容体 I I、血管上皮カドヘリン、C C L 2 8、細胞傷害性 T リンパ球関連分子 4、細胞死受容体 6、F a s リガンド、細胞間接着分子 3、インターロイキン 2 受容体ガンマ、インターロイキン 5 受容体アルファ、L-セレクトリン、血小板内皮細胞接着分子 1、幹細胞因子受容体、T N F 関連アポトーシス誘導性リガンド受容体 4、活性化白血球細胞接着、C D 2 7、C D 3 0、C D 4 0、毛様体神経栄養因子受容体、細胞間接着分子 1、インスリン様増殖因子 1 受容体、インターロイキン 1 可溶性受容体 I I、インターロイキン 2 受容体ベータ、インターロイキン 1 0 受容体ベータ、マクロファージコロニー刺激因子受容体、血小板由来増殖因子受容体アルファ、若しくは T N F 関連アポトーシス誘導性リガンド受容体 4 の 1 つ若しくは複数、又は前記のいずれかをコードする遺伝子をさらに含む、請求項 5 7 に記載の方法。

【請求項 5 9】

前記所定のセットの分析物が、I L-2、I L-4、I L-6、I L-7、I L-8、I L-10、I L-18、I F N γ 、I P-10、T N F- α 、M C P-1、G L P-1、グルカゴン、インスリン、アディポネクチン、及びレジスチンの各々、又は前記の各々を各々コードする少なくとも 1 つの遺伝子を含む、請求項 4 1 に記載の方法。

【請求項 6 0】

前記動物がヒト、ネズミ、サル、イヌ、又はネコである、請求項 5 9 に記載の方法。

【請求項 6 1】

前記所定のセットの分析物が、I L-15、K C、若しくはレプチンの 1 つ若しくは複数、又は前記のいずれかをコードする遺伝子をさらに含む、請求項 6 0 に記載の方法。

【請求項 6 2】

前記分析物がイヌに由来し、前記プローブが抗体である、請求項 6 0 に記載の方法。

【請求項 6 3】

前記分子プローブのコレクションが、各分析物の活性、存在、又は発現の定量的決定を可能にする、請求項 6 2 に記載の方法。

【請求項 6 4】

各プローブがマトリックスに結合し、そのような結合したプローブの各々が、前記マトリックスと接触させた試料中で、前記プローブに対応する分析物の活性、存在、又は発現量を定量的に決定することが依然として可能である、請求項 6 3 に記載の方法。

【請求項 6 5】

前記試料及び前記分子プローブのコレクションを、特異性又は検出シグナルを増加させることにより前記検出を支援する 1 つ又は複数の抗体を含む二次抗体のセットと接触させるさらなるステップを含む、請求項 6 4 に記載の方法。

【請求項 6 6】

各プローブが別々のマトリックスに結合している、請求項 6 5 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 67】

前記試料が組織又は体液である、請求項 66 に記載の方法。

【請求項 68】

前記液体が血清又は血漿である、請求項 67 に記載の方法。

【請求項 69】

所定のセットのタンパク質分析物の存在を単一試料中で決定するための検出可能な分子プローブのコレクションであって、前記セットが、IL-2、IL-4、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-18、IFN γ 、IP-10、TNF- α 、MCP-1、GCP-1、グルカゴン、インスリン、アディポネクチン、及びレジスチンの各々に対する特異的プローブを含み、各プローブが、前記セット中の1つのタンパク質の検出に特異的な抗体又は抗体断片であり、各プローブが、前記コレクション中の他の各プローブから独立して検出可能であり、そのような各プローブがマトリックスに結合し、結合した各プローブは、前記マトリックスと接触させた試料中で、前記セット中の前記対応するタンパク質を定量的に決定することが可能であり、前記タンパク質は、ヒト、ネズミ、サル、イヌ、又はネコである動物に由来する遺伝子によりコードされる、分子プローブのコレクション。

10

【請求項 70】

IL-15、KC、及びレプチンの1つ又は複数に特異的なプローブをさらに含む、請求項 68 に記載の分子プローブのコレクション。

【請求項 71】

20

前記タンパク質分析物のセットが、

サイトカインインターフェロンアルファ、インターフェロンガンマ、インターロイキン 12p40、インターロイキン 18、インターフェロンベータ、インターフェロンオメガ、リンフォトキシンベータR、リンフォトキシン、インターロイキン 6、インターロイキン 8、腫瘍壊死因子アルファ、インターロイキン 4、インターロイキン 10、形質転換増殖因子ベータ 1、腫瘍壊死因子ベータ、インターロイキン 3、インターロイキン 5、インターロイキン 7、インターロイキン 13、インターロイキン 15、インターロイキン 1 アルファ、インターロイキン 1 ベータ、インターロイキン 2、インターロイキン 11、インターロイキン 12p70、インターロイキン 16、インターロイキン 17、RANTES (Regulated upon Activation, Normal T Expressed and presumably Secreted)、インターロイキン 21、インターロイキン 9、又は形質転換増殖因子ベータ受容体 I I I の1つ又は複数と、

30

ケモカインBリンパ球化学誘引物質、上皮細胞由来好中球活性化ペプチド、エオタキシン、エオタキシン 2、単球走化性タンパク質 2、単球走化性タンパク質 3、マクロファージ遊走阻止因子、マクロファージ炎症性タンパク質 1 アルファ、骨髓球系前駆体阻止因子 1、マクロファージ刺激タンパク質、顆粒球走化性タンパク質 2、インターフェロンガンマ誘導性タンパク質 10、白血病抑制因子、マクロファージコロニー刺激因子、単球走化性タンパク質 1、マクロファージ由来ケモカイン、マクロファージ炎症性タンパク質 1 ベータ、マクロファージ炎症性タンパク質 1 デルタ、好中球活性化ペプチド 2、肺性及び活性化調節ケモカイン、間質細胞由来因子アルファ、胸腺性及び活性化調節ケモカイン、ベータセルリン、6Cカイン、酸性線維芽細胞増殖因子、フラクタルカイン、ヘモフィルトレートCCケモカイン 1、単球走化性タンパク質 4、マクロファージ炎症性タンパク質 3 ベータ、血小板第 4 因子、NF カップ B 受容体活性化因子、皮膚 T 細胞誘引性ケモカイン、エオタキシン 3、線維芽細胞増殖因子 4、ホリスタチン、増殖関連オンコジーンガンマ、インターフェロンガンマ誘導性 T 細胞アルファ化学誘引物質、白血病抑制因子受容体アルファ、ミッドカイン、マクロファージ炎症性タンパク質 3 アルファ、プレイオトロフィ、間質細胞由来因子ベータ、胸腺発現性ケモカイン、形質転換増殖因子アルファ、TNF 関連アクチビン誘導サイトカイン、血管接着タンパク質 1、CXCL9、又は CCL1 の1つ又は複数と、

40

ホルモンプロラクチン、インスリン様増殖因子結合タンパク質 2、レプチン、インスリ

50

ン、レジスチン、アディポネクチン、グルカゴン、グルカゴン関連ペプチド1、又はPYYの1つ又は複数と、

アディポカイン単球走化性タンパク質1、レプチン、レジスチン、アディポネクチン、IL-6、TNFアルファ、又はトロニン活性化線溶阻害因子の1つ又は複数と、

ニューロン増殖因子毛様体神経栄養因子、グリア細胞由来神経栄養因子、脳由来神経栄養因子、ニューロトロフィン3、ニューロトロフィン4、若しくはベータ神経成長因子、又は

増殖因子アンジオゲニン、上皮増殖因子、線維芽細胞増殖因子7、線維芽細胞増殖因子9、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子、黒色腫増殖刺激活性、オンコスタチンM、胎盤増殖因子、形質転換増殖因子ベータ3、アンフィレギュリン線維芽細胞増殖因子6、顆粒球コロニー刺激因子、幹細胞因子、血管内皮増殖因子、カルジオトロフィン1、増殖関連オンコジーンベータ、ヘパリン結合性EGF様増殖因子、肝細胞増殖因子、ヘルペスウィルス進入媒介物質、マトリックスメタロプロテアーゼ10、マトリックスメタロプロテアーゼ7、マトリックスメタロプロテアーゼ9、組織性メタロプロテアーゼ1阻害因子、血管内皮増殖因子D、血管内皮増殖因子受容体2、塩基性線維芽細胞増殖因子、インスリン様増殖因子I、インスリン様増殖因子II、インスリン様増殖因子結合タンパク質1、インスリン様増殖因子結合タンパク質3、インスリン様増殖因子結合タンパク質4、インスリン様増殖因子結合タンパク質6、マトリックスメタロプロテアーゼ1、マトリックスメタロプロテアーゼ2、若しくは組織性メタロプロテアーゼ2阻害因子、又は

可溶性受容体sCD23、Fas(CD95)、インターロイキン1受容体アンタゴニスト、インターロイキン2可溶性受容体アルファ、TNF関連アポトーシス誘導性リガンド、ウロキナーゼ型プラスミノゲン活性化因子受容体、fms様チロシンキナーゼ3リガンド、可溶性糖タンパク質130、インターロイキン1可溶性受容体1、インターロイキン6可溶性受容体、腫瘍壊死因子受容体I、腫瘍壊死因子受容体II、血管上皮カドヘリン、CCl28、細胞傷害性Tリンパ球関連分子4、細胞死受容体6、Fasリガンド、細胞間接着分子3、インターロイキン2受容体ガンマ、インターロイキン5受容体アルファ、L-セレクチン、血小板内皮細胞接着分子1、幹細胞因子受容体、TNF関連アポトーシス誘導性リガンド受容体4、活性化白血球細胞接着、CD27、CD30、CD40、毛様体神経栄養因子受容体、細胞間接着分子1、インスリン様増殖因子1受容体、インターロイキン1可溶性受容体II、インターロイキン2受容体ベータ、インターロイキン10受容体ベータ、マクロファージコロニー刺激因子受容体、血小板由来増殖因子受容体アルファ、若しくはTNF関連アポトーシス誘導性リガンド受容体4の1つ又は複数と

をさらに含む、請求項69に記載の分子プローブのコレクション。

【請求項72】

所定のセットの分析物の各々の活性、存在、又は発現を単一試料中で決定するためのキットであって、検出可能な分子プローブのコレクションを含む多重アッセイと、(1)前記多重アッセイを使用して所定のセットの分析物の各々の活性、存在、又は発現をどのように決定するかについての使用説明、(2)前記多重アッセイを使用して動物の健康状態をどのように評価するかについての使用説明、(3)前記多重アッセイを使用して動物の健康を改善するための栄養療法を処方するための使用説明、及び(4)動物による摂取に好適な1つ又は複数の成分の1つ又は複数とを、前記キット構成要素について適切に、単一包装中の別々の容器に又は仮想包装中の別々の容器に含むキット。

【請求項73】

(1)所定のセットの分析物の各々の活性、存在、又は発現を単一試料中で決定すること、(2)動物の健康状態を評価すること、又は(3)動物の健康を改善するための栄養療法を処方することのうちの1つ又は複数についての前記多重アッセイを使用するための情報又は使用説明を伝達するための手段であって、前記情報又は使用説明を含有する文書、デジタル記憶媒体、光記憶媒体、音声説明、又は視覚的表示を含む手段。

【請求項74】

10

20

30

40

50

表示されたウェブサイト、視覚的表示キオスク、パンフレット、製品ラベル、添付文書、広告、チラシ、公表、音声テープ、ビデオテープ、DVD、CD-ROM、コンピュータ読取り可能なチップ、コンピュータ読取り可能なカード、コンピュータ読取り可能なディスク、コンピュータメモリ、又はその組合せからなる群から選択される、請求項73に記載の手段。

【発明の詳細な説明】

【関連出願の相互参照】

【0001】

【0001】本出願は、2006年10月6日に出願された米国仮出願第60/849,928号明細書に対する優先権を主張し、その開示は、本参照により本明細書中に組み込まれる。

10

【発明の背景】

【0002】

【発明の分野】

【0003】

【0002】本発明は、一般に、動物の健康状態を決定するための容易なアッセイに関し、具体的には、サイトカイン、ホルモン、及びアディポカインを測定して動物の健康状態及び健康状態に対する栄養の影響を評価する多重アッセイに関する。

【関連技術の説明】

【0004】

20

【0003】サイトカイン、アディポカイン、及びホルモンは、刺激及びストレスに対する生理的応答を統合する主要な生物学的媒介物質の仲間であり、したがって、健康状態及び／又は疾患の指標の「サイン」として有用である。これらの媒介物質の静的及び経時的な変化を両方とも評価することにより、ストレス要因に対する生体系又は生物の応答についての幾つかの理解が提供される。

【0005】

【0004】多重解析は、利便性を有し、Luminox社製xMAPプラットフォームなどの機器を使用すると多数の分析物に関する検査が可能になる。そのような多重解析は、単一のアッセイで、同時に100個までの分析物の定量的測定を可能にする。したがって、そのようなアッセイは、本明細書中に記載された物質などの生物学的媒介物質に関する検査に要求されるデータの蓄積、及び関与する試料の性質に好適である。

30

【0006】

【0005】多数の生物学的媒介物質を測定するための技術は公知であるが、非常に少量の生体試料を使用して、動物、特にコンパニオンアニマルの健康状態を迅速に評価すると共に、動物の健康状態を改善するための栄養療法を処方する、生物学的に関連する複数のタンパク質を同時に測定可能な多重アッセイを開発するためのプローブのパネルが、未だに必要とされている。特に、動物の健康状態を評価するため、及び動物健康の改善に影響を与えるのに有用な治療介入又は栄養介入のためのプローブ及び方法が必要とされている。

【発明の概要】

40

【0007】

【0006】したがって、本発明の目的は、非常に少量の生体試料を使用して、多数の生物学的に関連するタンパク質を同時に測定可能な多重アッセイを開発するためのプローブのパネルを提供することである。

【0008】

【0007】本発明の別の目的は、動物の健康状態を迅速に評価するための方法を提供することである。

【0009】

【0008】本発明の別の目的は、動物の健康状態を改善するための栄養療法を提供することである。

50

【0010】

【0009】本発明のさらなる目的は、本発明の多重アッセイと、種々の目的についてアッセイをどのように使用するかに関する使用説明との組合せを含むキットの形態の製品を提供することである。

【0011】

【0010】これら目的及び他の目的の1つ又は複数は、単一試料中の所定のセットの分析物の各々の活性、存在、又は発現を決定するための検出可能な分子プローブの新規なコレクションを使用して達成される。分析物のセットは、少なくとも1つのサイトカイン又はその遺伝子、1つのケモカイン又はその遺伝子、1つのホルモン又はその遺伝子、及び1つのアディポカイン又はその遺伝子を含み、そのセット中の各分析物について、分子プローブのコレクションは、その分析物の活性、存在、又は発現を検出するのに好適な少なくとも1つのプローブを含む。幾つかの実施形態では、分析物のセットは、1つ又は複数のニューロン増殖因子若しくはその遺伝子、ニューロン増殖因子以外の増殖因子若しくはその遺伝子、可溶性受容体若しくはその遺伝子、又はその組合せをさらに含む。

【0012】

【0011】本発明の他の及びさらなる目的、特徴、及び利点は、当業者であれば直ちに明らかになるう。

【図面の簡単な説明】

【0013】

【図1】【0012】メタボリック症候群における、インスリン抵抗性が有する中心的な役割、並びに心臓疾患、脳卒中及び／又は炎症といった最大リスクを示す図である。

【図2】【0013】LPS刺激に対するサイトカイン応答を示す図である。PBMCは、異なる濃度のLPSで3、6又は18時間培養した。サイトカインについて、C/Sをアッセイした。IL-6 [A]、TNF α [B]、IL-18 [C] 及び IL-8 [D] のデータを示す。X軸はLPSの用量 (ng/ml)、Y軸は平均蛍光強度 [MFI] 又は [MF]、Z軸は時点を表す。

【発明の詳細な説明】

【0014】

定義

【0014】遺伝子の「活性」という用語は、遺伝子により果たされる生物学上の中心的役割に関係する任意の測定、例えば、遺伝子の転写の測定又はそれから転写されたRNA種の存在量の、静的な時点又はリアルタイムのいずれかでの測定を包含する。当業者であれば、本明細書中で使用される場合、遺伝子の「活性」の測定には、リアルタイムであろうともなかろうとも、特定の組織、細胞型、又は器官において、特定の遺伝子から生成されたmRNAの量を測定することも含まれ得ることを理解するであろう。同様に、当業者であれば、タンパク質分析物は、種々の有用な方法で測定できることも理解するであろう。タンパク質及び他の分析物の測定には、分析物の存在若しくは非存在、活性（例えば、酵素活性又は他の生物学的活性）、結合特性、半減期、ターンオーバー、又は分析物の他の測定可能な属性が含まれ得る。

【0015】

【0015】「分析物」という用語は、それらが細胞で翻訳された際の天然型タンパク質の形態で「遺伝子から発現された」タンパク質と、翻訳後の移行、プロセッシング、及び修飾などを有するタンパク質とを含む。したがって、ある場合には、タンパク質分析物は、翻訳後に切断されてもよく、又は例えばリン酸化されてもよく、又は任意のアミノ酸残基の骨格若しくは側鎖などに他の修飾を有してもよい。分析物という用語には、活性の有無に関わらず、そのようなタンパク質の代謝誘導体、及び細胞中に見出される1つ又は複数の他の置換基を有する1つ又は複数のタンパク質の複合体も含む。好ましい実施形態では、分析物はタンパク質又はペプチドであり、プローブは抗体である。プローブのコレクション中の各抗体は、セット中の1つのタンパク質のみを特異的に認識し、選択されたセット中の各タンパク質に対するそのような抗体が、コレクション中に少なくとも1つ存在

する。当業者であれば、いったんそのようなタンパク質のセットが選択されれば、それらのタンパク質のアミノ酸配列が公知の場合、それらのタンパク質がそこから発現された遺伝子又はmRNAに対応する核酸又は他のプローブのセットを設計することは、多くの場合当業者の技術範囲内にあることを理解するであろう。したがって、そのような応用は、本明細書中においても有用である。

【0016】

【0016】「動物」という用語は、サイトカイン、ホルモン、アディポカイン、ニューロン増殖因子、ニューロン増殖因子以外の増殖因子、又は本発明に有用な可溶性受容体を有する任意の動物を意味し、ヒト、トリ、ウシ、イヌ、ウマ、ネコ、ヤギ、ネズミ、ヒツジ、及びブタ様動物、好ましくはヒト、ネズミ、サル、イヌ、及びネコを含むがそれらに限定されない。

10

【0017】

【0017】分子プローブのグループを参照する場合、「コレクション」という用語は、複数であることを意味する。典型的には、複数であることには制限はないが、100個以下のプローブのコレクションが好ましい。

【0018】

【0018】「分子プローブ（複数可）」という用語は、遺伝子、その対応するRNA、又はそのタンパク質発現産物の存在若しくは活性を検出するために使用できる任意の分子を意味する。

【0019】

【0019】「パネル」という用語は、コレクションという用語と同義である。パネルという用語は、試料をスクリーニングする際のコレクションの使用をよりよく説明することがある。本明細書中で使用される場合、コレクションは、好ましくは、しかし必ずしもそうとは限らないが、対応するセットの分析物を多重様式で検出するために使用され、つまり、複数のプローブの各々についての結果が、全て単一の反応又はアッセイ容器から取得される。プローブのコレクションは、典型的には、分析物のセットに対応し、複数のプローブの各々は、セット中の特定の分析物に対応する。ある実施形態では、分析物は、遺伝子又は遺伝子産物（タンパク質）であり、プローブは、グループ（又はセット）中の遺伝子（又はそれらの発現産物）の各々の活性又は発現の測定を可能にする。より好ましくは、分析物は、遺伝子から発現されたタンパク質である。

20

30

【0020】

【0020】「単一包装」という用語は、キットの構成要素が、1つ若しくは複数の容器中に又は1つ若しくは複数の容器と物理的に付随し、製造、流通、販売、又は使用の単位であると見なされることを意味する。容器には、袋、箱、ビン、収縮フィルム包装、ホッチキスで留められた若しくはその他の形で添付された構成要素、又はその組合せが含まれるが、それらに限定されない。単一包装とは、製造、流通、販売、又は使用の単位と見なされるように、物理的に付随した個々のアッセイ構成要素の容器であってよい。

【0021】

【0021】「仮想包装」という用語は、他の構成要素を取得する方法を使用者に指示する1つ又は複数の物理的又は仮想的キット構成要素に関する使用説明が、例えば、1つの構成要素と、キットの使用方法に関する指示を取得するために、ウェブサイトへ行くこと、録音メッセージと聞くこと、視覚的メッセージを見ること、又は世話人若しくは指導員と連絡をとることを使用者に指示する使用説明書とを含有する包装において、キットの構成要素に付随していることを意味する。

40

【0022】

発明

【0022】1つの態様では、本発明は、所定のセットの分析物の各々の活性、存在、又は発現を単一試料中で決定するための検出可能な分子プローブのコレクションを提供する。分析物のセットは、少なくとも1つのサイトカイン又はその遺伝子、1つのケモカイン又はその遺伝子、1つのホルモン又はその遺伝子、及び1つのアディポカイン又はその

50

遺伝子を含む。セット中の各分析物について、分子プローブのコレクションは、その分析物の活性、存在、又は発現を検出するのに好適な少なくとも1つのプローブを含む。これらのプローブのコレクションは、好ましくは単一の反応容器中において都合の良いアッセイ形式で実施される検出方法での使用が意図される。適切なパターン認識及び経路解析技術を併用すると、これらのパネルは、生理的なストレス要因及び介入の機能的な結果を予測又は評価することに役立つ。

【0023】

〔0023〕好ましくは、分子プローブは、タンパク質、核酸、又はその組合せを含むが、低分子若しくは他の化合物及び構造物、又はその組合せを含んでいてもよい。タンパク質を含むプローブの例には、抗体、抗体断片、受容体、結合タンパク質、及び酵素などが含まれる。それらは、タンパク質分析物だけでなく様々な他の分析物を探索することにも使用できる。核酸プローブには、その特異性が相補的なワトソンクリック型塩基対合を介して発現するものと共に、その特異性が他の相互作用から発現するか又は他の相互作用を含むものが含まれる。例えば、アダプター、すなわちタンパク質又は他の分子などの特定の分析物を特異的に認識するように設計され得る核酸は、本明細書中で有用である。DNAゼイム（DNAzyme）及びリボゼイムなどの核酸酵素は、当技術分野で公知であり、公知の特異性を有し、本明細書中のプローブとして有用である。プローブは、結合分子及び受容体のリガンドを含んでいてもよい。遺伝子の発現産物、又はそれどころか遺伝子自体などの分析物に対するプローブとして、そのような全ての分子を使用することは、当技術分野で公知であり、したがって当業者であれば、本明細書中で使用するためのそのような分子を選択及び適応させる方法を理解するであろう。

【0024】

〔0024〕プローブは合成できるか、又は自然から分離できる。好ましい実施形態では、分子プローブは抗体である。1つの実施形態では、コレクション中の各抗体は、対応するセットのタンパク質中の1つのタンパク質分析物を特異的に認識でき、したがって識別するのに貢献できる。プローブは、溶液又は懸濁液などの任意の都合の良い様式で利用できる。ある実施形態では、プローブは、担体若しくはビーズなどの基質に結合できるか、又は有用な、都合が良い、及び／若しくは情報価値のあるアッセイ系を生成するために、アレイ若しくはマイクロアレイなどに配置できる。

【0025】

〔0025〕ある実施形態における所定のセットの分析物は、遺伝子のセット、又はタンパク質のセットである。ある実施形態では、タンパク質分析物のセットが選択され、対応するセットの遺伝子又はmRNAに基づくアッセイが開発される。分析物のセットは、パネルから取得される情報に対するその関係性に基づいて、合理的な方式で選択される。好ましい実施形態では、分析物のセットは、個体の健康状態に対する各分析物の関係性に基づいて選択される。

【0026】

〔0026〕1つの実施形態では、分析物のセットは、少なくとも1つのサイトカイン、1つのケモカイン、1つのホルモン、及び1つのアディポカインを含むタンパク質のセットである。セット中の各分析物について、分子プローブのコレクションは、その分析物の存在、活性又は発現を決定するのに好適な少なくとも1つのプローブを含み、すなわち、その存在、活性、又は発現が決定されるセット中の各分析物に対応するプローブが存在する。さらなる実施形態では、分子プローブのコレクションは前述のタンパク質分析物のセットであり、分析物のセットは、少なくとも1つの他のタイプのプロバイオティクス生物の1つ又は複数をさらに含む。

【0027】

〔0027〕別の実施形態では、分析物のセットは、サイトカインをコードする少なくとも1つの遺伝子、ケモカインをコードする1つの遺伝子、ホルモンをコードする遺伝子、及びアディポカインをコードする遺伝子を伴う遺伝子のセットを含む。1つの実施形態では、遺伝子分析物のセットは、ニューロン増殖因子をコードする少なくとも1つの遺伝

子、別の増殖因子（すなわち、ニューロン増殖因子以外の増殖因子）をコードする少なくとも1つの遺伝子、若しくは可溶性受容体をコードする少なくとも1つの遺伝子、又はその任意の組合せをさらに含む。

【0028】

〔0028〕本発明による単一のコレクションに存在し得るプローブの数には実際の制限はないが、ある実施形態では、上限が1つのコレクション当たり100個のプローブであることが好ましい。より小さなプローブのコレクションも好適である。例えば、約90～100、80～90、70～80又は60～70個のプローブのパネルは全て、本明細書中での使用に好適である。同様に、約10～20、20～30、30～40、40～50又は50～60個のコレクションも、使用に好適である。具体的には列挙しないが、4～100個のプローブの考え得る全ての範囲が本明細書中に含まれるように、具体的には列挙しないが、4から100個までの他の特定のプローブの数も本明細書中に含まれる。幾つかの重複が当初は望ましいが、その後は不必要と判明することがある場合、又は代替的に *in vivo* での役割についてより多くが発見若しくは理解されるように、追加的プローブを特定のコレクションに含めることが有用であり得ると判定される場合、プローブの範囲は特に有用である。他の実施形態では、例えば、プローブがアレイ又はマイクロアレイに結合できる場合、1つのコレクション当たり100個のプローブを超過することが有用であり、したがって好ましいことがある。

10

【0029】

〔0029〕1つの実施形態では、分子プローブのコレクションは、遺伝子のセットの各々のタンパク質（すなわちコードされた遺伝子産物）を検出するための検出可能なプローブを含み、それによりセット中の各遺伝子の発現を決定する。そのような実施形態では、好ましくは、各プローブは、セット中の1つの遺伝子のコードされたタンパク質の検出に特異的である。幾つかの実施形態では、交差反応性は実験的に許容される程度であり得る。プローブ自体が抗体などの生体分子である場合、これは特にあてはまる。ある種の抗体の交差反応性は、当技術分野で認識されている。幾つかのタンパク質などの非常に類似した抗原に対する抗体の交差反応性が、特に重度の場合は問題を引き起こし得ることを、当業者であれば理解するであろう。1つの実施形態では、交差反応性は、高度に精製された抗体又はモノクローナル抗体などの、免疫学的に識別可能な特定のエピトープに対して単一特異的な抗体の使用を介して、最小限に抑えられるか又は排除される。別の実施形態では、交差反応性は、結合定数などの結合特性、又は結合強度の測定などに基づいて、対象とする活性から識別可能である。別の実施形態では、適切で注意深い対照の使用、又は結果のコンピュータ解析などの他の手段の使用により、ある種のタイプの交差反応性の実験データは補正が可能である。

20

30

【0030】

〔0030〕本明細書中で考察したように、分析物のセットには多数の選択があるが、分析物の選択には合理的な手法が好ましい。分子プローブのコレクションは、好ましくは、意図した使用目的を念頭に置いて設計又は選択される。その目的のために、分析物のセットは、公知の、予測された、又は本明細書中で発見された、特定の分析物の存在又は活性と動物の健康の種々の側面との関係性に基づく合理的な手法を介してあらかじめ定められる。動物における炎症の状態、並びにある種のホルモン及び他の生化学的シグナル又はシグナル伝達物質の相対的存在などの要因は、動物の健康状態に関わる詳細な情報の提供に役立てることができる。

40

【0031】

〔0031〕したがって、1つの実施形態中では、分析物のセットは、1つ又は複数のサイトカインを含むタンパク質のセットである。好ましくは、サイトカインには、インターフェロンアルファ、インターフェロンガンマ、インターロイキン12p40、インターロイキン18、インターフェロンベータ、インターフェロンオメガ、リンフォトキシンベータR、リンフォトキシン、インターロイキン6、インターロイキン8、腫瘍壊死因子アルファ、インターロイキン4、インターロイキン10、形質転換増殖因子ベータ1、腫瘍

50

壊死因子ベータ、インターロイキン3、インターロイキン5、インターロイキン7、インターロイキン13、インターロイキン15、インターロイキン1アルファ、インターロイキン1ベータ、インターロイキン2、インターロイキン11、インターロイキン12p70、インターロイキン16、インターロイキン17、RANTES (Regulated upon Activation, Normal T Expressed and presumably Secreted)、インターロイキン21、インターロイキン9、又は形質転換増殖因子ベータ受容体IIIの1つ又は複数が含まれる。

【0032】

【0032】種々の実施形態では、タンパク質のセットは、1つ又は複数のケモカイン、例えば、Bリンパ球化学誘引物質、上皮細胞由来好中球活性化ペプチド、エオタキシン、エオタキシン2、単球走化性タンパク質2、単球走化性タンパク質3、マクロファージ遊走阻止因子、マクロファージ炎症性タンパク質1アルファ、骨髓球系前駆体阻止因子1、マクロファージ刺激タンパク質、顆粒球走化性タンパク質2、インターフェロンガンマ誘導性タンパク質10、白血病抑制因子、マクロファージコロニー刺激因子、単球走化性タンパク質1、マクロファージ由来ケモカイン、マクロファージ炎症性タンパク質1ベータ、マクロファージ炎症性タンパク質1デルタ、好中球活性化ペプチド2、肺性及び活性化調節ケモカイン、間質細胞由来因子アルファ、胸腺性及び活性化調節ケモカイン、ベータセルリン、6Cカイン(6Ckine)、酸性線維芽細胞増殖因子、フラクタルカイン、ヘモフィルトレートCCケモカイン1、単球走化性タンパク質4、マクロファージ炎症性タンパク質3ベータ、血小板第4因子、NFカッパB受容体活性化因子、皮膚T細胞誘引性ケモカイン、エオタキシン3、線維芽細胞増殖因子4、ホリスタチン、増殖関連オンコジーンガンマ、インターフェロンガンマ誘導性T細胞アルファ化学誘引物質、白血病抑制因子受容体アルファ、ミッドカイン、マクロファージ炎症性タンパク質3アルファ、プレイオトロフィン、間質細胞由来因子ベータ、胸腺発現性ケモカイン、形質転換増殖因子アルファ、TNF関連アクチビン誘導サイトカイン、血管接着タンパク質1、CXCL9、又はCCL1を含む。もちろん、セットは、本明細書中で例証されたサイトカインに加えて、前述のケモカインを含むことができる。

【0033】

【0033】種々の実施形態では、タンパク質のセットは、1つ又は複数のホルモンを含む。ホルモンプロラクチン、インスリン様増殖因子結合タンパク質2、レプチン、インスリン、レジスチン、アディポネクチン、グルカゴン、グルカゴン関連ペプチド1、又はPYYが好ましい。当業者であれば、他のホルモンが選択できることを理解するであろう。好ましくは、ホルモンの活性又は存在が、下記で考察されるように、選択された栄養療法により影響を受けるか、又は動物の健康状態とホルモンの活性若しくは存在との間に関連がある。本明細書中でのように、タンパク質のセットの合理的な事前決定内であるとして本明細書中で例証された範疇の各々について、特定のホルモンの含有は排除せず、他の分子、例えば、サイトカイン、ケモカイン、アディポカイン、及び本明細書中に記載された他の物質の含有に加えて、含有されてよい。

【0034】

【0034】別の実施形態では、タンパク質のセットは、単球走化性タンパク質1、レプチン、レジスチン、アディポネクチン、IL-6、TNFアルファ、又はトロニン活性化線溶阻害因子を含むがこれらに限定されない、1つ又は複数のアディポカインを含む。

【0035】

【0035】ある実施形態では、所定のセットのタンパク質分析物は、ニューロン増殖因子、ニューロン増殖因子以外の増殖因子、若しくは可溶性受容体、又はその組合せをさらに含む。

【0036】

【0036】本明細書中で使用するためのニューロン増殖因子には、毛様体神経栄養因子、グリア細胞由来神経栄養因子、脳由来神経栄養因子、ニューロトロフィン3、ニュー

10

20

30

40

50

ロトロフィン4、又はベータ神経増殖因子が含まれるが、それらに限定されない。

【0037】

【0037】増殖因子は、好ましくは、アンジオゲニン、上皮増殖因子、線維芽細胞増殖因子7、線維芽細胞増殖因子9、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子、黒色腫増殖刺激活性、オンコスタチンM、胎盤増殖因子、形質転換増殖因子ベータ3、アンフィレギュリン線維芽細胞増殖因子6、顆粒球コロニー刺激因子、幹細胞因子、血管内皮増殖因子、カルジオトロフィン1、増殖関連オンコジーンベータ、ヘパリン結合性EGF様増殖因子、肝細胞増殖因子、ヘルペスウィルス進入媒介物質、マトリックスメタロプロテアーゼ10、マトリックスメタロプロテアーゼ7、マトリックスメタロプロテアーゼ9、組織性メタロプロテアーゼ1阻害因子、血管内皮増殖因子D、血管内皮増殖因子受容体2、塩基性線維芽細胞増殖因子、インスリン様増殖因子I、インスリン様増殖因子II、インスリン様増殖因子結合タンパク質1、インスリン様増殖因子結合タンパク質3、インスリン様増殖因子結合タンパク質4、インスリン様増殖因子結合タンパク質6、マトリックスメタロプロテアーゼ1、マトリックスメタロプロテアーゼ2、又は組織性メタロプロテアーゼ2阻害因子から選択される。

10

【0038】

【0038】可溶性受容体sCD23、Fas(CD95)、インターロイキン1受容体アンタゴニスト、インターロイキン2可溶性受容体アルファ、TNF関連アポトーシス誘導性リガンド、ウロキナーゼ型プラスミノゲン活性化因子受容体、Fms様チロシンキナーゼ3リガンド、可溶性糖タンパク質130、インターロイキン1可溶性受容体I、インターロイキン6可溶性受容体、腫瘍壊死因子受容体I、腫瘍壊死因子受容体II、血管上皮カドヘリン、CCL28、細胞傷害性Tリンパ球関連分子4、細胞死受容体6、Fasリガンド、細胞間接着分子3、インターロイキン2受容体ガンマ、インターロイキン5受容体アルファ、L-セレクチン、血小板内皮細胞接着分子1、幹細胞因子受容体、TNF関連アポトーシス誘導性リガンド受容体4、活性化白血球細胞接着、CD27、CD30、CD40、毛様体神経栄養因子受容体、細胞間接着分子1、インスリン様増殖因子1受容体、インターロイキン1可溶性受容体II、インターロイキン2受容体ベータ、インターロイキン10受容体ベータ、マクロファージコロニー刺激因子受容体、血小板由来増殖因子受容体アルファ、又はTNF関連アポトーシス誘導性リガンド受容体4、及びその他は、全て本明細書中で有用である。

20

30

【0039】

【0039】別の好ましい実施形態では、分析物のセットは、1つ又は複数のサイトカインをコードする1つ又は複数の遺伝子を含む遺伝子のセットである。好ましくは、コードされたサイトカインには、本明細書中で列挙されたサイトカインの1つ又は複数が含まれる：インターフェロンアルファ、インターフェロンガンマ、インターロイキン12p40、インターロイキン18、インターフェロンベータ、インターフェロンオメガ、リンフォトキシンベータR、リンフォトキシン、インターロイキン6、インターロイキン8、腫瘍壊死因子アルファ、インターロイキン4、インターロイキン10、形質転換増殖因子ベータ1、腫瘍壊死因子ベータ、インターロイキン3、インターロイキン5、インターロイキン7、インターロイキン13、インターロイキン15、インターロイキン1アルファ、インターロイキン1ベータ、インターロイキン2、インターロイキン11、インターロイキン12p70、インターロイキン16、インターロイキン17、RANTES(Regulated upon Activation, Normal T Expressed and presumably Secreted)、インターロイキン21、インターロイキン9、又は形質転換増殖因子ベータ受容体III。

40

【0040】

【0040】ある実施形態では、遺伝子のセットは、1つ又は複数のケモカインBリンパ球化学誘引物質、上皮細胞由来好中球活性化ペプチド、エオタキシン、エオタキシン2、単球走化性タンパク質2、単球走化性タンパク質3、マクロファージ遊走阻止因子、マクロファージ炎症性タンパク質1アルファ、骨髓球系前駆体阻止因子1、マクロファージ

50

刺激タンパク質、顆粒球走化性タンパク質 2、インターフェロンガンマ誘導性タンパク質 10、白血病抑制因子、マクロファージコロニー刺激因子、単球走化性タンパク質 1、マクロファージ由来ケモカイン、マクロファージ炎症性タンパク質 1 ベータ、マクロファージ炎症性タンパク質 1 デルタ、好中球活性化ペプチド 2、肺性及び活性化調節ケモカイン、間質細胞由来因子アルファ、胸腺性及び活性化調節ケモカイン、ベータセルリン、6 C カイン、酸性線維芽細胞増殖因子、フラクタルカイン、ヘモフィルトレート C C ケモカイン 1、単球走化性タンパク質 4、マクロファージ炎症性タンパク質 3 ベータ、血小板第 4 因子、N F カップ B 受容体活性化因子、皮膚 T 細胞誘引性ケモカイン、エオタキシン 3、線維芽細胞増殖因子 4、ホリスタチン、増殖関連オンコジーンガンマ、インターフェロンガンマ誘導性 T 細胞アルファ化学誘引物質、白血病抑制因子受容体アルファ、ミッドカイン、マクロファージ炎症性タンパク質 3 アルファ、プレイオトロフィン、間質細胞由来因子ベータ、胸腺発現性ケモカイン、形質転換増殖因子アルファ、T N F 関連アクチビン誘導サイトカイン、血管接着タンパク質 1、C X C L 9、又は C C L 1 をコードする 1 つ又は複数の遺伝子を含む。もちろん、セットは、本明細書中で例証されたサイトカインのこれらの遺伝子に加えて、前述のケモカインの 1 つ又は複数の遺伝子を含むことができる。

10

【0041】

【0041】種々の実施形態では、遺伝子のセットは、種々のホルモンをコードする 1 つ又は複数の遺伝子を含む。ホルモンプロラクチン、インスリン様増殖因子結合タンパク質 2、レプチン、インスリン、レジスチン、アディポネクチン、グルカゴン、グルカゴン関連ペプチド 1、又は P Y Y をコードする遺伝子が好ましい。好ましくは、コードされたホルモンの活性又は発現と動物の健康状態との間に関連がある。分析物のセットにおける、ホルモンをコードする 1 つ又は複数の遺伝子の含有は、他の分子、例えばサイトカイン、ケモカイン、アディポカイン、及び本明細書中に記載された他の物質をコードする 1 つ又は複数の遺伝子の含有を排除しない。

20

【0042】

【0042】別の実施形態では、遺伝子のセットは、アディポカイン単球走化性タンパク質 1、レプチン、レジスチン、アディポネクチン、I L - 6、T N F アルファ、又はトロニン活性化線溶障害因子の 1 つ又は複数、又は複数の遺伝子を含む。他のアディポカインの遺伝子も、本明細書中で有用である。

【0043】

【0043】ある実施形態では、所定のセットの遺伝子は、ニューロン増殖因子、ニューロン増殖因子以外の増殖因子、又は可溶性受容体をコードする 1 つ又は複数の遺伝子をさらに含む。好ましいニューロン増殖因子、ニューロン増殖因子以外の増殖因子、及び可溶性受容体には、タンパク質のセット用に本明細書中で列挙されたものが含まれるが、それらに限定されない。他のそのような分子も、本明細書中で使用のために企図される。

30

【0044】

【0044】種々の実施形態では、分析物のセットは、1 つ又は複数の一次又は二次代謝産物を含む。したがって、1 つの実施形態では、分析物のセットには、1 つ又は複数のエイコサノイド、大部分は生物学的機能のオートクリン及びパラクリン媒介物質として機能する、酸素化された疎水性分子の一種が含まれる。例えば、ロイコトリエンは、炎症応答において作用物質の役目を果たすことが公知である。幾つかは、遊走性好中球に対して走化性効果を有し、したがって関与する組織に必要な細胞をもたらすことに役立つ。ロイコトリエンは、特に細静脈の強力な血管収縮剤でもある。それらは気管支収縮において機能し、血管透過性を増加させることもできる。本明細書中で使用に好適なロイコトリエンには、L T A 4、L T B 4、L T C 4、L T D 4、L T E 4、及び L T F 4 が含まれるが、それらに限定されない。本明細書中で使用するための分析物として好適な他のエイコサノイド (e i s c o s a n o i d) には、トロンボキサン及びプロスタグランジン H 誘導体、プロスタノイドが含まれる。さらに、レゾルビン、イソフラン、イソプロスタン、リポキシン、エポキシエイコサトリエン酸 (E E T)、ニューロプロテクチン D、及び 20 炭素のエンドカンナビノイドなどの他のエイコサノイド化合物は、分析物として本明細

40

50

書中での使用に好適であり得る。さらに、ロイコトリエン受容体 C y s L T 1 (システイニルロイコトリエン受容体タイプ1)、C y s L T 2 (システイニルロイコトリエン受容体タイプ2)、及び B L T 1 (ロイコトリエン B 4 受容体) などのエイコサノイド受容体; プロスタノイド受容体 P G D 2 : D P - (P G D 2)、P G E 2;、E P 1 - (P G E 2)、E P 2 - (P G E 2)、E P 3 - (P G E 2)、E P 4 - (P G E 2)、P G F 2 α : F P - (P G F 2 α)、P G 1 2 (プロスタサイクリン) : I P - (P G 1 2)、及び T X A 2 (トロンボキサン) : T P - (T X A 2) も、本明細書中の態様又は実施形態のいずれかにおける分析物として有用である。

【0045】

【0045】 好ましい実施形態では、分子プローブのコレクションは、I L - 2、I L - 4、I L - 6、I L - 7、I L - 8、I L - 10、I L - 18、I F N γ、I P - 10、T N F - α、M C P - 1、G L P - 1、グルカゴン、インスリン、アディポネクチン、及びレジスチンの各々に対する特異的プローブを含む。プローブのコレクションは、ある実施形態では、I L - 15、K C、及びレプチンの1つ又は複数に対する特異的プローブをさらに含む。

【0046】

【0046】 別の好ましい実施形態では、分子プローブのコレクションは、イヌアッセイ用の生成に好適なイヌ特異的分子を使用するプローブを含む: パネル; サイトカイン/ケモカイン; 分析物: G M C S F、I L - 2、I L - 4、I L - 6、I L - 7、I L - 8、I L - 10、I L - 18、I F N γ、I P - 10、T N F - α、M C P - 1、I L - 15、K C。パネル; 内分泌物; 分析物: G L P - 1、グルカゴン、インスリン、レプチン。パネル; アディポカイン; 分析物: アディポネクチン、レジスチン。別の実施形態では、分子プローブのコレクションは、ネコアッセイ用の生成に好適なネコの分子を使用するプローブを含む: パネル; サイトカイン/ケモカイン; 分析物: G M C S F、I L - 2、I L - 4、I L - 6、I L - 1 β、I L - 8、I L - 10、I L - 18、I F N γ、F a s、T N F - α、M C P - 1、F l t - 3 リガンド。パネル; 内分泌物; 分析物: G L P - 1、グルカゴン、インスリン、レプチン。パネル; アディポカイン; 分析物: アディポネクチン、レジスチン。

【0047】

【0047】 1つの実施形態では、分子プローブは、所定のセットの分析物中の各分析物の存在、活性、又は発現などを検出可能である。好ましくは、分析物のセットは、本明細書中で示されたタンパク質及び/又は遺伝子のセットである。より好ましくは、遺伝子は、ヒト、サル、イヌ、又はネコ由来である。好ましい実施形態では、プローブのコレクションは、イヌ又はネコタンパク質のセットの存在又は活性の検出に特異的である。

【0048】

【0048】 1つの実施形態では、分子プローブのコレクションは、イヌ由来のタンパク質分析物(すなわち、遺伝子のセットに由来する発現産物)の測定又は検出に特異的な複数の抗体である。好ましくは、プローブは、試料中に存在する各特異的タンパク質の量などの、各タンパク質の発現量の定量的決定を提供する。ある実施形態中では、結果はより質的であり、相対的な量に関する情報を提供し、例えば、試料間の差異若しくは変化、又は1個体由来の試料群における経時的な変化を示す。他の実施形態では、選択されたタンパク質に対応する遺伝子のセットについて、類似の測定が取得される。

【0049】

【0049】 種々の実施形態では、記載された分子プローブのコレクションの場合、各プローブは、マトリックス又は担体に結合し、そのような結合したプローブの各々は、マトリックスと接触させた試料中で、分析物のセットの各々の活性量又は存在量を定量的に決定することが依然として可能である。当業者であれば、本明細書中に記載されたタイプのプローブは、より容易なアッセイの開発を可能にするために、様々な方法で結合、固定化、又は担持できることを理解するであろう。そのような実施形態では、プローブのコレクション全体は単一のマトリックスに結合でき、例えばタンパク質(又は発現された遺伝

子産物)のセットの空間的分離を介して、例えば電気泳動的に、又はプローブの各々に対応する個別の若しくは個々の検出可能なシグナルの検出を介して、区別することができる。幾つかの実施形態では、プローブは、アレイ又はマイクロアレイとして空間的に配置される。「チップ」などのようなアレイの使用も、本明細書中で有用である。或いは、各プローブは別々のマトリックスに結合してもよく、そのようなプローブの使用も当技術分野において公知である。プローブが結合され得るマトリックスの例には、種々の膜、ポリマー、担体、ビーズ、チップ、アレイ、及びアッセイウェルなどが含まれる。E L I S A 及び F A C S などのアッセイ法を使用して、マトリックスに結合されたそのようなプローブを検出できる。理想的には、そのような結合は、所定の遺伝子のセット中の複数の遺伝子を単一の反応容器中でアッセイできる多重アッセイの設計を支援できる。種々のタイプのポリマー又はガラスビーズへの分子プローブの結合は、例えば、1つのプローブを別のプローブと区別するための方法として識別標識及びF A C Sを使用する多重アッセイを開発するための単純な形式を提供できる。したがって、1つの実施形態では、各プローブが別々のマトリックスに結合されている分子プローブのコレクションが提供され、各プローブは、コレクション中の他の各プローブから独立して検出可能である。プローブは、例えばシグナルを増幅若しくはクエンチするか、又は有用であるアッセイ開発を容易にすることができるシグナル及び他の分子などの種々の分子構成要素に、共有結合で又は他の手段を介してのいずれかで結合させることもできる。或いは、そのようなシグナルエンハンサー又はクエンチャー、及び他の分子は、物理的にも化学的にもそれに結合されていないが、プローブと併せて使用できる。

【0050】

【0050】種々のサイトカイン、ケモカイン、ホルモン、及びアディポカイン、同様にニューロン増殖因子、増殖因子、及び可溶性受容体は、本明細書中では、それらの略語又は他の省略命名参照で表されることがある。「参照；体系的（利用可能な場合は括弧中で）；及び名称：」として示される、そのような略語及び他の参照名のリストを以下に示す。

【0051】

【0051】サイトカイン。I F N - α ; インターフェロンアルファ : I F N - γ ; インターフェロングamma : I L - 1 2 (p 4 0) ; インターロイキン 1 2 p 4 0 : I L - 1 8 ; インターロイキン 1 8 : I F N - β ; インターフェロンベータ : I F N - ω ; インターフェロンオメガ : リンフォトキシン β R ; (T N F R S F 3) ; リンフォトキシンベータ R : リンフォタクチン (L p t n) ; (X C L 1) ; リンフォトキシン : I L - 6 ; インターロイキン 6 : I L - 8 ; (C X C L 8) ; インターロイキン 8 : T N F - α ; 腫瘍壊死因子アルファ : I L - 4 ; インターロイキン 4 : I L - 1 0 ; インターロイキン 1 0 : T G F - β 1 ; 形質転換増殖因子ベータ - 1 : T N F - β ; 腫瘍壊死因子ベータ : I L - 3 ; インターロイキン 3 : I L - 5 ; インターロイキン 5 : I L - 7 ; インターロイキン 7 : I L - 1 3 ; インターロイキン 1 3 : I L - 1 5 ; インターロイキン 1 5 : I L - 1 α ; インターロイキン 1 アルファ : I L - 1 β ; インターロイキン 1 ベータ : I L - 2 ; インターロイキン 2 : I L - 1 1 ; インターロイキン 1 1 : I L - 1 2 (p 7 0) ; インターロイキン 1 2 p 7 0 : I L - 1 6 ; インターロイキン 1 6 : I L - 1 7 ; インターロイキン 1 7 : R A N T E S ; (C C L 5) ; R e g u l a t e d u p o n A c t i v a t i o n : N o r m a l T E x p r e s s e d a n d p r e s u m a b l y S e c r e t e d : I L - 2 1 ; インターロイキン 2 1 : I L - 9 ; インターロイキン 9 : 及び T G F - β R I I I ; 形質転換増殖因子ベータ受容体 I I I 。

【0052】

【0052】ケモカイン。B L C (B C A - 1) ; B リンパ球化学誘引物質 : E N A - 7 8 ; (C X C L 5) ; 上皮細胞由来好中球活性化ペプチド : E o t ; (C C L 1 1) ; エオタキシン : E o t - 2 ; (C C L 2 4) ; エオタキシン 2 : M C P - 2 ; (C C L 8) ; 単球走化性タンパク質 2 : M C P - 3 ; (C C L 7) ; 単球走化性タンパク質 3 : M I F ; マクロファージ遊走阻止因子 : M I P - 1 α ; (C C L 3) ; マクロファージ炎症

性タンパク質1アルファ：M P I F；骨髓球系前駆体阻止因子1：M S P；マクロファージ刺激タンパク質：G C P-2；(C X C L 6)；顆粒球走化性タンパク質2：I-309；(C C L 1)；無：I P-10；(C X C L 10)；インターフェロンガンマ誘導性タンパク質10：L I F；白血病抑制因子：M-C S F；マクロファージコロニー刺激因子：M C P-1；(C C L 2)；単球走化性タンパク質1：M D C；(C C L 22)；マクロファージ由来ケモカイン：M I G；(C X C L 9)；無：M I P-1 β ；(C C L 4)；マクロファージ炎症性タンパク質1ベータ：M I P-1 δ ；(C C L 15)；マクロファージ炎症性タンパク質1デルタ：N A P-2；好中球活性化ペプチド2：P A R C；肺性及び活性化調節ケモカイン：S D F-1 α ；間質細胞由来因子アルファ：T A R C；(C C L 17)；胸腺性及び活性化調節ケモカイン：B T C；ベータセルリン：6 C カイン；(C C L 21)；6 C カイン：F G F 酸 (F G F-1)；酸性線維芽細胞増殖因子：フラクタルカイン；(C X 3 C L 1)；フラクタルカイン：H C C-1；(C C L 14)；ヘモフィルトレート C C ケモカイン1：M C P-4；(C C L 13)；単球走化性タンパク質4：M I P-3 β ；(C C L 19)；マクロファージ炎症性タンパク質3ベータ：P F 4；(C X C L 4)；血小板第4因子：R A N K；(T N F R S F 11 A)；N F カップ B 受容体活性化因子：C T A C K；(C C L 27)；皮膚 T 細胞誘引性ケモカイン：E o t-3；(C C L 26)；エオタキシン3：F G F-4；線維芽細胞増殖因子4：ホリスタチン；ホリスタチン：G R O- γ ；(C X C L 3)；増殖関連オンコジーンガンマ：I-T A C；(C X C L 11)；インターフェロンガンマ誘導性 T 細胞アルファ化学誘引物質：s L I F-R α (g p 190)；白血病抑制因子受容体アルファ：ミッドカイン；ミッドカイン：M I P-3 α ；(C C L 20)；マクロファージ炎症性タンパク質3アルファ：プレイオトロフィン (P T N)；プレイオトロフィン：S D F-1 β ；(C X C L 12)；間質細胞由来因子ベータ：T E C K；(C C L 25)；胸腺発現性ケモカイン：T G F- α ；形質転換増殖因子アルファ：T R A N C E (R A N K L)；(T N F S F 11)；T N F 関連アクチビン誘導サイトカイン：s V A P-1；及び血管接着タンパク質1。

【0053】

[0053] ホルモン。プロラクチン；プロラクチン：I G F B P-2；インスリン様増殖因子結合タンパク質2：レプチン/OB；レプチン：インスリン；インスリン：レジスチン；レジスチン：アディポネクチン；アディポネクチン：グルカゴン；グルカゴン：G L P-1；グルカゴン様ペプチド1；及び P Y Y；ペプチド Y Y；

[0054] アディポネクチン。M C P-1；単球走行性タンパク質1：レプチン；レプチン：レジスチン；レジスチン：アディポネクチン；アディポネクチン：I L-6；I L-6：T N F- α ；T N F アルファ；及び t P A I-1；トロンビン活性化線溶阻害因子。

【0054】

[0055] ニューロン増殖因子。C N T F；毛様体神経栄養因子；G D N F；グリア細胞由来神経栄養因子：B D N F；脳由来神経栄養因子：N T-3；ニューロトロフィン3；N T-4；ニューロトロフィン4；及び β -N G F；ベータ神経増殖因子。

【0055】

[0056] 増殖因子。A N G；アンジオゲニン；E G F；上皮増殖因子：F G F-7；線維芽細胞増殖因子7：F G F-9；線維芽細胞増殖因子9：G M-C S F；顆粒球マクロファージコロニー刺激因子：G R O- α (M G S A)；(C X C L 1)；黒色腫増殖刺激活性：O S M；オンコスタチン M：P I G F；胎盤増殖因子：T G F- β 3；形質転換増殖因子ベータ3：A R；アンフィレギュリン；F G F-6；線維芽細胞増殖因子6：G-C S F；顆粒球コロニー刺激因子：S C F；幹細胞因子：V E G F；血管内皮増殖因子：C T-1；カルジオトロフィン1：G R O- β ；(C X C L 2)；増殖関連オンコジーンベータ：H B-E G F；ヘパリン結合性 E G F 様増殖因子：H G F；肝細胞増殖因子：H V E M；(T N F R S F 14) ヘルペスウィルス進入媒介物質：M M P-10 (トータル)；マトリックスメタロプロテアーゼ10：M M P-7 (トータル)；マトリックス

10

20

30

40

50

メタロプロテアーゼ 7 : MMP-9 (トータル) ; マトリックスメタロプロテアーゼ 9 : TIMP-1 ; 組織性メタロプロテアーゼ 1 阻害因子 : VEGF-D (F1GF) ; 血管内皮増殖因子 D : VEGF-R2 (Flk-1 / KDR) ; 血管内皮増殖因子受容体 2 : 塩基性 FGF (FGF-2) ; 塩基性線維芽細胞増殖因子 : IGF-I ; インスリン様増殖因子 I : IGF-1I ; インスリン様増殖因子 II : IGFBP-1 ; インスリン様増殖因子結合タンパク質 1 : IGFBP-3 ; インスリン様増殖因子結合タンパク質 3 : IGFBP-4 ; インスリン様増殖因子結合タンパク質 4 : IGFBP-6 ; インスリン様増殖因子結合タンパク質 6 : MMP-1 (トータル) ; マトリックスメタロプロテアーゼ 1 : MMP-2 (トータル) ; マトリックスメタロプロテアーゼ 2 ; 及び TIMP-2 ; 組織性メタロプロテアーゼ 2 阻害因子。

10

【0056】

[0057] 可溶性受容体。sCD23 ; 無 : Fas ; Fas (CD95) : IL-1ra ; インターロイキン 1 受容体アンタゴニスト : IL-2sRa ; インターロイキン 2 可溶性受容体アルファ : TRAIL ; (TNFSF10) ; TNF 関連アポトーシス誘導性リガンド : uPAR ; ウロキナーゼ型プラスミノゲン活性化因子受容体 : Flt-3L ; fms 様チロシンキナーゼ 3 リガンド : sgpl30 ; 可溶性糖タンパク質 130 : IL-1sR1 ; インターロイキン 1 可溶性受容体 1 : IL-6sR ; インターロイキン 6 可溶性受容体 : TNFR1 ; 腫瘍壊死因子受容体 I : TNFR1I ; 腫瘍壊死因子受容体 II : sVE-カドヘリン ; 血管上皮カドヘリン : CCL28 ; CCL28 ; CTLA-4 ; 細胞傷害性 T リンパ球関連分子 4 : DR6 ; (TNFRSF21) ; 細胞死受容体 6 : Fas リガンド ; (TNFSF6) ; Fas リガンド : ICAM-3 (CD50) ; 細胞間接着分子 3 : IL-2R γ ; インターロイキン 2 受容体ガンマ : IL-5Ra (CD125) ; インターロイキン 5 受容体アルファ : L-セレクトリン (CD62L) ; L-セレクトリン : PECAM-1 (CD31) ; 血小板内皮細胞接着分子 1 : SCFR ; 幹細胞因子受容体 : TRAILR4 ; (TNFRSF10D) ; TNF 関連アポトーシス誘導性リガンド受容体 4 : ALCAM (CD166) ; 活性化白血球細胞接着 : CD27 ; (TNFRSF7) ; CD27 : CD30 ; (TNFSF8) ; CD30 : CD40 ; CD40 : CNTFR α ; 毛様体神経栄養因子受容体 : ICAM-1 (CD54) ; 細胞間接着分子 1 : IGF-1R ; インスリン様増殖因子 1 受容体 : IL-1sRII ; インターロイキン 1 可溶性受容体 II : IL-2R β ; インターロイキン 2 受容体ベータ : IL-10R β ; インターロイキン 10 受容体ベータ : MCSFR ; マクロファージコロニー刺激因子受容体 : PDGFR α ; 血小板由来増殖因子受容体アルファ ; 及び TRAILR4 ; (TNFRSF10D) ; TNF 関連アポトーシス誘導性リガンド受容体 4。

20

30

【0057】

[0058] 別の態様では、本発明は、分析物のセットの相対的活性又は発現の決定により、動物の健康状態を評価するための方法を提供する。一般に、本方法は以下のステップを含む：

a) 動物に由来する生体試料を取得するステップであり、その試料が所定のセットの目的分析物を少なくとも含有することが推定されるステップ。分析物のセットは、少なくとも 1 つのサイトカイン、ケモカイン、ホルモン、及びアディポカインを含む。

40

b) 所定のセットの分析物の各々の活性又は存在を決定するための分子プローブのコレクションと試料を接触させるステップであり、セット中の各分析物について、分子プローブのコレクションが、その分析物の存在又は測定可能な活性を検出するのに好適な少なくとも 1 つのプローブを含むステップ。そのプローブに対応する分析物が試料中に存在する場合、コレクション中の各プローブは、独立して検出可能なシグナルを生成可能である。

c) 試料がコレクションと接触した後で生成される、独立して検出可能なシグナルを検出するステップ。

d) 検出可能なシグナルを、試料中の所定のセットの分析物の各々の少なくとも相対的存在又は活性と相関させるステップ；

50

e) 試料中の所定のセットの分析物の各々の相対的存在又は活性を、公知の又は所定の健康状態のパラメーターと相関させるステップ；及び

f) ステップ e) で確立された相関に従って、動物の健康状態の決定を行うステップ。

【0058】

〔0059〕別の実施形態では、分析物のセットは遺伝子のセットを含み、本方法は以下のステップを含む：

a) 動物に由来する生体試料を取得するステップであり、その試料が所定のセットの目的遺伝子又はそれらの遺伝子の発現産物を少なくとも含有することが推定されるステップ。遺伝子のセットは、サイトカイン、ケモカイン、ホルモン、及びアディポカインを各々コードする少なくとも1つの遺伝子を含む。

b) 所定のセットの遺伝子の各々の活性又は発現を決定するための分子プローブのコレクションと試料を接触させるステップであり、セット中の各遺伝子について、分子プローブのコレクションが、その遺伝子の活性又は発現を検出するのに好適な少なくとも1つのプローブを含むステップ。そのプローブに対応する遺伝子又は遺伝子の発現産物が試料中に存在する場合、コレクション中の各プローブは、独立して検出可能なシグナルを生成可能である。

c) 試料がコレクションと接触した後で生成される、独立して検出可能なシグナルを検出するステップ。

d) 検出可能なシグナルを、試料中の所定のセットの遺伝子の各々の少なくとも相対的活性又は発現と相関させるステップ；

e) 試料中の所定のセットの遺伝子の各々の相対的活性又は発現を、公知の又は所定の健康状態のパラメーターと相関させるステップ；及び

f) ステップ e) で確立された相関に従って、動物の健康状態の決定を行うステップ。

【0059】

〔0060〕本方法は、数多くの実際的で潜在的な用途を有する。表1は、幾つかのそのような用途の部分的なリストを示す。

【0060】

表1

10

20

【表 1】

評価される生理的条件	当技術分野の診断の現状	提供される方法で測定されるパラメーター
インスリン抵抗性	グルコース負荷試験	アディポネクチンの減少; インスリン、IL-6、及び TNF アルファの増加; レプチン及びレジスチンの変化
II 型糖尿病に対する素因	インスリン抵抗性を確定するためのグルコース負荷試験	アディポネクチンの減少; インスリン、IL-6、及び TNF アルファの増加 (例えば、軽度の炎症を立証するため); レプチン及びレジスチンの変化
食事介入、例えば、カロリー制限	無し	サイトカイン/ケモカイン/内分泌分子における変化の解析を使用して、根底にある生理機能を分子的に説明し、例えば、体重減量用の改善された戦略を開発できる。
炎症		炎症促進性サイトカイン及び抗炎症性サイトカインの両方のプロファイルの改善を確立する(例えば、上方調節)。系の恒常性の改善は、炎症又は免疫攻撃により良好に対処することに繋がる。
アレルギー		アレルギーの発症及び/又は食事介入の有効性を予測するために、ヘルパーT1 及びヘルパーT2 サイトカインに基づく代理マーカーを開発する。
老化		老化を遅延若しくは予防する、又は長寿を促進する栄養療法を評価するために、老化の代理マーカーを開発する。

10

20

30

【0061】

【0061】ある実施形態では、分析物のセットは、本明細書中で考察されたサイトカイン、ケモカイン、ホルモン、及びアディポカインに加えて、ニューロン増殖因子、ニューロン増殖因子以外の増殖因子、又は可溶性受容体の1つ又は複数をさらに含む。分析物が遺伝子である場合、前述の限定に従って、セットは対応する遺伝子を含む。好ましくは、検出可能なプローブは、タンパク質（又は遺伝子のセットの各々のコードされた遺伝子産物）の各々の存在若しくは活性、又は遺伝子の各々の活性若しくは発現の検出に特異的である。

40

【0062】

【0062】検出可能なプローブは、抗体、抗体断片、リガンド、受容体、又は結合タンパク質、核酸、例えばDNA又は核酸を含む。好ましくは、セットはタンパク質を含み、プローブのコレクションは、タンパク質の各々に対する抗体を含む。

【0063】

【0063】プローブのコレクションのための、本明細書中で考察された方法の1つの実施形態では、タンパク質又は遺伝子のセットは、サイトカインインターフェロナルフ

50

ァ、インターフェロンガンマ、インターロイキン12p40、インターロイキン18、インターフェロンベータ、インターフェロンオメガ、リンフォトキシンベータR、リンフォトキシン、インターロイキン6、インターロイキン8、腫瘍壊死因子アルファ、インターロイキン4、インターロイキン10、形質転換増殖因子ベータ1、腫瘍壊死因子ベータ、インターロイキン3、インターロイキン5、インターロイキン7、インターロイキン13、インターロイキン15、インターロイキン1アルファ、インターロイキン1ベータ、インターロイキン2、インターロイキン11、インターロイキン12p70、インターロイキン16、インターロイキン17、RANTES (Regulated upon Activation, Normal T Expressed and presumably Secreted)、インターロイキン21、インターロイキン9、若しくは形質転換増殖因子ベータ受容体IIIであるタンパク質又はそれをコードする1つ又は複数の遺伝子を含む。

10

【0064】

【0064】種々の実施形態では、分析物の所定のセットは、代替として又は前述のものに加えて、ケモカインBリンパ球化学誘引物質、上皮細胞由来好中球活性化ペプチド、エオタキシン、エオタキシン2、単球走化性タンパク質2、単球走化性タンパク質3、マクロファージ遊走阻止因子、マクロファージ炎症性タンパク質1アルファ、骨髓球系前駆体阻止因子1、マクロファージ刺激タンパク質、顆粒球走化性タンパク質2、インターフェロンガンマ誘導性タンパク質10、白血病抑制因子、マクロファージコロニー刺激因子、単球走化性タンパク質1、マクロファージ由来ケモカイン、マクロファージ炎症性タンパク質1ベータ、マクロファージ炎症性タンパク質1デルタ、好中球活性化ペプチド2、肺性及び活性化調節ケモカイン、間質細胞由来因子アルファ、胸腺性及び活性化調節ケモカイン、ベータセルリン、6Cカイン、酸性線維芽細胞増殖因子、フラクタルカイン、ヘモフィルトレートCCケモカイン1、単球走化性タンパク質4、マクロファージ炎症性タンパク質3ベータ、血小板第4因子、NFカッパB受容体活性化因子、皮膚T細胞誘引性ケモカイン、エオタキシン3、線維芽細胞増殖因子4、ホリスタチン、増殖関連オンコジーンガンマ、インターフェロンガンマ誘導性T細胞アルファ化学誘引物質、白血病抑制因子受容体アルファ、ミッドカイン、マクロファージ炎症性タンパク質3アルファ、プレイオトロフィン、間質細胞由来因子ベータ、胸腺発現性ケモカイン、形質転換増殖因子アルファ、TNF関連アクチビン誘導サイトカイン、血管接着タンパク質1、CXCL9、若しくはCCL1である1つ又は複数のタンパク質、又はそれをコードする1つ又は複数の遺伝子を含み得る。

20

30

【0065】

【0065】さらに他の実施形態では、所定のセットの遺伝子又はタンパク質には、ホルモンプロラクチン、インスリン様増殖因子結合タンパク質2、レプチン、インスリン、レジスチン、アディポネクチン、グルカゴン、グルカゴン関連ペプチド1若しくはPYYであるタンパク質又はそれをコードする1つ又は複数の遺伝子が含まれる。

【0066】

【0066】1つの実施形態では、所定のセットの遺伝子又はタンパク質には、アディポカイン単球走化性タンパク質1、レプチン、レジスチン、アディポネクチン、IL-6、TNFアルファ、若しくはトロニン活性化線溶阻害因子であるタンパク質又はそれをコードする1つ又は複数の遺伝子も含まれ得る。

40

【0067】

【0067】他の実施形態では、所定のセットの遺伝子又はタンパク質は、以下の1つ若しくは複数をコードする1つ若しくは複数の遺伝子、又はタンパク質自体をさらに多様に含む：ニューロン増殖因子毛様体神経栄養因子、グリア細胞由来神経栄養因子、脳由来神経栄養因子、ニューロトロフィン3、ニューロトロフィン4、若しくはベータ神経増殖因子；増殖因子アンジオゲニン、上皮増殖因子、線維芽細胞増殖因子7、線維芽細胞増殖因子9、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子、黒色腫増殖刺激活性、オンコスタチンM、胎盤増殖因子、形質転換増殖因子ベータ3、アンフィレギュリン線維芽細胞増殖因子

50

6、顆粒球コロニー刺激因子、幹細胞刺激因子、血管内皮増殖因子、カルジオトロフィン1、増殖関連オンコジーンベータ、ヘパリン結合性EGF様増殖因子、肝細胞増殖因子、ヘルペスウィルス進入媒介物質、マトリックスメタロプロテアーゼ10、マトリックスメタロプロテアーゼ7、マトリックスメタロプロテアーゼ9、組織性メタロプロテアーゼ1阻害因子、血管内皮増殖因子D、血管内皮増殖因子受容体2、塩基性線維芽細胞増殖因子、インスリン様増殖因子I、インスリン様増殖因子II、インスリン様増殖因子結合タンパク質1、インスリン様増殖因子結合タンパク質3、インスリン様増殖因子結合タンパク質4、インスリン様増殖因子結合タンパク質6、マトリックスメタロプロテアーゼ1、マトリックスメタロプロテアーゼ2、若しくは組織性メタロプロテアーゼ2阻害因子；又は可溶性受容体sCD23、Fas(CD95)、インターロイキン1受容体アンタゴニスト、インターロイキン2可溶性受容体アルファ、TNF関連アポトーシス誘導性リガンド、ウロキナーゼ型プラスミノゲン活性化因子受容体、fms様チロシンキナーゼ3リガンド、可溶性糖タンパク質130、インターロイキン1可溶性受容体1、インターロイキン6可溶性受容体、腫瘍壊死因子受容体I、腫瘍壊死因子受容体II、血管上皮カドヘリン、CCL28、細胞傷害性Tリンパ球関連分子4、細胞死受容体6、Fasリガンド、細胞間接着分子3、インターロイキン2受容体ガンマ、インターロイキン5受容体アルファ、L-セレクチン、血小板内皮細胞接着分子1、幹細胞因子受容体、TNF関連アポトーシス誘導性リガンド受容体4、活性化白血球細胞接着、CD27、CD30、CD40、毛様体神経栄養因子受容体、細胞間接着分子1、インスリン様増殖因子1受容体、インターロイキン1可溶性受容体II、インターロイキン2受容体ベータ、インターロイキン10受容体ベータ、マクロファージコロニー刺激因子受容体、血小板由来増殖因子受容体アルファ、若しくはTNF関連アポトーシス誘導性リガンド受容体4。

10

20

【0068】

【0068】本方法の1つの好ましい実施形態では、所定のセットの分析物は、IL-2、IL-4、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-18、IFN γ 、IP-10、TNF- α 、MCP-1、GCP-1、グルカゴン、インスリン、アディポネクチン、及びレジスチンの各々をコードする1つ又は複数の遺伝子を含む。別の実施形態では、分析物のセットは前述のタンパク質自体を含む。種々の実施形態では、動物は、ヒト、ネズミ、サル、イヌ、又はネコである。ある実施形態では、所定のセットの分析物は、IL-15、KC、又はレプチンをコードする1つ又は複数の遺伝子、又はタンパク質自体をさらに含む。

30

【0069】

【0069】本方法の1つの好ましい実施形態では、分析物はイヌ由来であり、プローブは、タンパク質又はそれらをコードする遺伝子の発現産物に特異的な抗体である。1つの実施形態では、分子プローブのコレクションは、タンパク質の量、又は各遺伝子の発現量の定量的決定を可能にする。

【0070】

【0070】本方法は、マトリックスに結合した各プローブを用いて実施でき、そのような結

合したプローブの各々は、マトリックスと接触させた試料中で、そのプローブに対応する遺伝子の発現量を定量的に決定することが依然として可能である。

40

【0071】

【0071】幾つかの実施形態では、本方法は、試料及び分子プローブのコレクションを、例えば、抗体の特定の部分又は抗体のタイプの存在を検出でき、セット中の各遺伝子の発現産物とコレクション中の対応するプローブとの特異的結合を検出できる1つ又は複数の抗体を含む二次抗体のセットに接触させるステップをさらに含む。そのような検出用の二次抗体を使用することは、ある種のELISA法及び種々のいわゆる「サンドイッチ」法など、抗体に基づくアッセイの開発における当業者により理解される。プローブ又は二次抗体のいずれかは、酵素などのシグナル発生又は増幅系にさらに結合することができる。

50

【0072】

【0072】ある実施形態における本方法は、各プローブが、ビーズ又はポリマー性担体材料などの別々のマトリックスに結合されている分子プローブのコレクションの使用を伴う。

【0073】

【0073】本方法は生体試料の使用を伴い、好ましくは、それは、所定のセット中に遺伝子を含む可能性が高いか又はその発現産物を含む可能性が高く、取得が容易で比較的無痛であり、豊富にあるか又はその非存在が動物に無害であり、再生可能な試料である。当業者であれば、種々のそのような生体試料を思いつくであろう。例としては、種々の組織及び液体の試料が含まれる。例としては、血液、血清、血漿、尿、組織抽出物、脳脊髄液（C F S）、関節液、及び細胞抽出物が含まれる。組織の培養細胞、抽出物、上清液、及び使用済み培地も、本明細書中では有用である。好ましい試料は、血液、血清、及び血漿である。試料のサイズは重要ではなく、試料は、有用で、実用的で、及び分析的に意味のある任意のサイズであってよい。1 ml 未満の試料が好ましい。試料は、典型的には100 µl 未満であり、例えば75又は50 µl である。より小さな試料も本明細書中では有用である。小型化アッセイがそうであるように、標準的な実験室用機器でのアッセイが可能なほど十分に小さい試料が、もちろん好ましい。

【0074】

【0074】別の態様では、本発明は、動物の健康を改善するための栄養療法を処方するための方法を提供する。本方法は、

a) 所定のセットの動物の目的分析物を選択するステップであり、分析物の活性、又はその存在を、動物の健康状態、及び動物の栄養療法と関連させることができ、そのセットが、サイトカイン、ケモカイン、ホルモン、及びアディポカインのうちの少なくとも1つのタンパク質又はそれらの各々をコードする1つの遺伝子を含むステップと、

b) 動物に由来する生体試料を取得するステップであり、当該試料が、所定のセットの分析物、又はその発現産物を含有することが推定され、当該試料が、動物の現行の栄養療法を示すステップと、

c) 所定のセットの分析物又はその発現産物の各々の活性又は存在を決定するための分子プローブのコレクションと試料を接触させることにより、ベースライン測定値を決定するステップであり、セット中の各分析物について、分子プローブのコレクションが、その分析物の活性又は存在を検出するのに好適な少なくとも1つのプローブを含み、そのプローブに対応する分析物又は分析物の発現産物が試料中に存在する場合、各プローブが、独立して検出可能なシグナルを生成可能であるステップと、

d) 試料がコレクションと接触した後で生成される、独立して検出可能なシグナルを検出するステップと、

e) 検出可能なシグナルを、試料中の所定のセットの分析物又はその発現産物の各々の相対的活性又は存在と関連させるステップと、

f) 試料中の所定のセットの遺伝子の各々の相対的活性又は発現を、公知の健康状態のパラメーターと関連させるステップと、

g) それに従って、現行の栄養療法下にある動物の健康状態の決定を行うステップと、

h) 動物の現行の栄養療法と比較して、主要栄養素の含量若しくは原料、微量栄養素の含量若しくは原料、補助的な食事成分、又は食事のカロリー含量の1つ又は複数を調整することにより、動物における1つ又は複数の試験的な栄養療法又は試験用の栄養補助食品を処方するステップと、

i) 所定のセットの分析物の1つ又は複数の活性、存在又は発現を変化させるのに有効な量及び期間で、1つ又は複数の試験的な栄養療法若しくは栄養補助食品、又はその組合せを動物に提供するステップと、

j) 試験的な栄養療法若しくは栄養補助食品、又はその組合せが動物の健康状態を改善したかどうかを決定するために、各試験的な栄養療法若しくは栄養補助食品、又はその組合せについて、その動物に由来する新しい試料を用いてステップb) からステップg) ま

10

20

30

40

50

でを繰り返すステップと、

k) 動物の健康状態を改善する、処方された栄養療法若しくは栄養補助食品、又はその組合せを選択するステップとを含む。

【0075】

【0075】ステップj) は、ステップb) からステップg) までを繰り返すことを指すが、しかしながら、これらのステップは、ステップj) の後、すなわちその動物が新しい栄養療法を受容した後で、その動物から採取された新しい試料を用いて繰り返されることを、当業者であれば理解するであろう。

【0076】

【0076】本明細書中で提供された他の方法及び組成物を用いる場合、所定の分析物の選択は、その存在、活性、又は発現を健康状態及び栄養療法の両方と関連させることができ、有用な結果を提供するであろう、それらの分析物を選択する本質的に合理的な過程である。健康状態との関連を全く示さない分析物及びいかなる栄養療法とも関連を全く示さない分析物の選択は回避すべきであるが、そのような分析物は、対照又は試験的な分析物などとして含まれていてよい。

【0077】

【0077】本明細書中に記載された方法は、本明細書中に記載されたように、任意の動物での任意の栄養療法の処方に有用である。種々の好ましい実施形態では、本方法は、動物が、肥満である、糖尿病に罹っている、糖尿病になりやすい徴候を示す、望ましくないレベルの炎症を有する、望ましくないレベルのインスリン抵抗性を有する、メタボリック症候群、早発性アテローム性動脈硬化、グルコース代謝異常、又は脂肪代謝異常を有する場合に特に有用である。多くのそのような状態は、当技術分野で公知であり、栄養療法、特に長期的な栄養療法と緩やかな又はより厳密な関係性をもち得る。1つの実施形態では、処方された栄養療法、栄養補助食品、又はその組合せは、動物の免疫機能を改善するか、炎症を低減するか、インスリン抵抗性を低減するか、又はその組合せを示す。

【0078】

【0078】種々の実施形態では、処方された栄養療法、栄養補助食品、又はその組合せは、以下の効果の1つ又は複数を有する：(1) 動物の炎症を低減し、抗炎症性サイトカインを増加させるか、炎症促進性サイトカインを低減するか、又はサイトカイン炎症媒介物質を減少させるかの1つ又は複数；(2) 動物のインスリン抵抗性を低減し、アディポネクチンを増加させるか、レジスチンを減少させるか、又はレプチンを減少させるかの1つ又は複数；或いは(3) 異脂肪血症、炎症、高血圧、血管反応性の変化、又は内臓型肥満の1つ又は複数を低減するか、又は線溶を改善する。特定の実施形態では、分析物のセットは、本発明の他の態様用に本明細書中に記載された分析物の各々及びいずれかを含む。

【0079】

【0079】好ましい実施形態では、所定のセットの分析物は、IL-2、IL-4、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-18、IFN γ 、IP-10、TNF- α 、MCP-1、GCP-1、グルカゴン、インスリン、アディポネクチン、及びレジスチンの各々をコードする1つ又は複数の遺伝子、又は対応するタンパク質を含む。追加的に、IL-15、KC、又はレプチンをコードする1つ又は複数の遺伝子、又は対応するタンパク質が含まれていてよい。

【0080】

【0080】ある実施形態では、動物は、ヒト、ネズミ、サル、イヌ、又はネコである。好ましい実施形態では、分析物はイヌに由来するタンパク質であり、分子プローブは、そのようなタンパク質の量の定量的決定を可能にする抗体である。幾つかの実施形態では、各プローブは、マトリックスに結合し、試料がマトリックスと接触する際に、そのプローブに対応する分析物の量を定量的に決定することが依然として可能である。

【0081】

【0081】本方法は、試料及び分子プローブのコレクションを、二次プローブのセット、例えば、特異性を増加させるか又は増幅を介してシグナルを増加させる1つ又は複数の抗体を含む二次抗体と接触させるさらなるステップを含むこともできる。1つの実施形態では、各プローブは別々のマトリックスに結合されている。

【0082】

【0082】本明細書中に記載したように、試料は、組織又は体液などの任意の生体試料であってよい。例としては、血液、血清、血漿、尿、組織抽出物、脳脊髄液（C F S）、関節液、及び細胞抽出物が含まれる。安定的に若しくは過渡的に培養された組織若しくは細胞、又は上清液、使用済みの培地、若しくはその浸出物などの生体外の試料も、本明細書中で有用である。血清若しくは血漿を含む試料又は血清若しくは血漿からなる試料は、本方法での使用に好ましい。

10

【0083】

【0083】さらなる態様では、本発明は、所定のセットの分析物の各々の活性、存在、又は発現を単一試料中で決定するのに好適なキットを提供する。キットは、本明細書中で定義された検出可能な分子プローブのコレクションと、（1）多重アッセイを使用して所定のセットの分析物の各々の活性、存在、又は発現をどのように決定するかについての使用説明、（2）多重アッセイを使用して動物の健康状態をどのように評価するかについての使用説明、（3）多重アッセイを使用して動物の健康を改善するための栄養療法を処方するための使用説明、及び（4）動物による摂取に好適な1つ又は複数の成分のうちの1つ又は複数とを、キットの構成要素について適切に、単一包装中の別々の容器に又は仮想包装中の別々の容器に含む多重アッセイを含む。ある実施形態では、キットは、多重アッセイと、動物の健康を改善するための栄養療法を処方するのに有用なビタミン及びミネラルなどの栄養的に完全なペット用食品又は栄養補助食品などの食品組成物とを含む。

20

【0084】

【0084】キットが仮想包装を含む場合、キットは、1つ又は複数の物理的なキット構成要素と組み合わせた仮想環境中の使用説明に限定される。キットは、多重アッセイで有用な試薬を混合するための器具、又は多重アッセイを支援及び／若しくは取り扱うための器具などの追加品目を含むことができる。

【0085】

【0085】別の態様では、本発明は、（1）所定のセットの分析物の各々の活性、存在、又は発現を単一試料中で決定すること、（2）動物の健康状態を評価すること、又は（3）動物の健康を改善するための栄養療法を処方することのうち1つ又は複数について、多重アッセイを使用するための情報又は使用説明を伝達するための手段を提供する。この手段には、情報又は使用説明を含有する文書、デジタル記憶媒体、光記憶媒体、音声説明、又は視覚的表示が含まれる。ある実施形態では、通報手段は、そのような情報又は使用説明を含有する、表示されたウェブサイト、視覚的表示キオスク（visual display kiosk）、パンフレット、製品ラベル、添付文書、広告、チラシ、公表、音声テープ、ビデオテープ、DVD、CD-ROM、コンピュータ読取り可能なチップ、コンピュータ読取り可能なカード、コンピュータ読取り可能なディスク、コンピュータメモリ、又はその組合せである。有用な情報には、（1）多重アッセイで使用するための生体試料を取り扱うための方法及び技術、（2）多重アッセイ及びその使用について質問がある場合に使用するインディックデュアル（Indic dual）の連絡先のうちの1つ又は複数が含まれる。

30

40

【0086】

【0086】様々となり得るため、本発明は、本明細書中に記載された特定の方法、手順、及び試薬に限定されない。さらに、本明細書中で使用された用語は、特定の実施形態のみを説明するのが目的であり、本発明の範囲を限定することを意図しない。本明細書中及び添付の特許請求の範囲で使用される場合、単数形「a」、「an」、及び「the」は、文脈が明白にそうでないと指示しない限り、複数の参照を含む。例えば、「a cytokine」への参照は、複数のそのようなサイトカインを含む。同様に、「含む（複

50

数)」、「含む(単数)」及び、「含んでいる」という単語は、排他的ではなく包含的に解釈されるべきである。

【0087】

【0087】別段に定義されない限り、本明細書中で使用された全ての技術的及び科学的な用語並びに任意の略語は、本発明の分野における当業者により一般に理解されるのと同じ意味を有する。本明細書中に記載されたものと類似の又は等価な任意の組成物、方法、製品、又は他の手段若しくは材料が本発明の実施に使用できるが、本明細書中には、好ましい組成物、方法、製品、又は他の方法若しくは材料が記載されている。

【実施例】

【0088】

【0088】本発明は、以下の実施例によりさらに例証され得るが、これらの実施例は単に例証の目的のために含まれており、そうでないと明示されない限り、本発明の範囲を限定するとは意図されないことが理解されよう。

【0089】

実施例 1

【0089】魚油及びビタミンEを含む、改変された食事療法を用いたマウス研究。実験の目的は、改変された食事により影響を受けた分子経路を同定し、寿命の増加に関する作用機構を理解することであった。実験の設計：グループ I：10～16 カ月齢から、改変された食事を与えたマウス [n=19]；グループ II：10～16 カ月齢から、対照の食事を与えたマウス [n=19]；グループ III：17～23 カ月齢から、改変された食事を与えたマウス [n=7]；及びグループ IV：17～23 カ月齢から対照の食事を与えたマウス [n=9]。実験：多重法を使用して、27 個のタンパク質 (MIP-1 α 、GM-CSF、MCP-1、KC、RANTES、IFN- γ 、IL-1 β 、IL-1 α 、G-CSF、IP-10、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-10、IL-12、TNF- α 、IL-9、IL-13、IL-15、IL-17、インスリン、レプチン、tPAI-1、レジスチン、及びアディポネクチン) のレベルを、75 μ l の血漿試料を使用して測定すること。Luminox 社製の機器を使用し、27 個の選択されたタンパク質に対応するプローブのパネルを用いて行う多重測定。時点：オス C57Bl/6 マウスを使用した。マウスは、10 又は 17 カ月齢のいずれかから食事療法を開始した。マウスには、改変された食事 (T) 又は対照の食事 (C) のいずれかを 6 カ月間与え、マウスは、10 から 16 カ月齢まで (「Y」、若年マウス、グループ I 及び II)、又は 17 から 23 カ月齢まで (「O」、老年マウス、グループ III 及び IV) のいずれかであった。安楽死させたマウスから血液試料を取得し、臓器を急速冷凍して組織バンクを生成した。27 個のタンパク質分析物について、バイオ試料を分析した。結果は表 2 に示す。

【0090】

表 2 A-サイトカイン

10

20

30

【表 2】

試料識別記号 (年-月)			MIP -I α pg/ml	GM -CSF pg/ml	MCP-1 pg/ml	KC pg/ml	RANTES pg/ml	1FN- γ pg/ml	IL-1 β pg/ml
	C1-12	10	83	37	18	35	8	12	<3
	C2-12	10	147	67	40	32	13	14	3
	C3-12	10	99	7	29	24	16	32	11
	C4-12	10	64	35	23	31	12	6	4
	C5-12	10	632	216	47	77	40	8	14
	C6-12	10	110	69	9	80	38	<3	<3
	C7-12	10	4	13	26	34	26	<3	13
	C8-12	10	94	25	25	134	23	<3	<3
	C9-12	10	88	48	19	21	30	2,187	<3
	C10-12	10	407	151	21	33	30	<3	<3
	C11-12	10	679	117	29	128	6	51	16
	C12-12	10	105	25	13	18	34	<3	<3
	C-13	10	125	31	21	8	48	<3	<3
	C14-12	10	105	<5	9	95	26	<3	<3
	C15-12	10	338	90	18	27	21	<3	5
	C16-12	10	99	33	<6	107	13	<3	<3
	C17-12	10	83	45	16	51	31	<3	<3
	C18-12	10	210	110	29	419	25	<3	5
	C19-12	10	176	47	13	59	17	<3	<3
	C20-12	10	4,861	52	26	16	20	12	7

【0091】

表 2 A-サイトカイン (続き)

10

20

【表 3】

	T1-12	10	4	23	<6	12	14	<3	<3
	T2-12	10	77	101	<6	27	17	<3	<3
	T3-12	10	241	77	24	45	38	13	<3
	T4-12	10	99	65	162	71	43	<3	6
	T5-12	10	115	52	11	40	20	<3	<3
	T6-12	10	105	71	19	30	36	<3	<3
	T7-12	10	120	156	32	79	52	<3	<3
	T8-12	10	94	<5	11	5	34	4	<3
	T9-12	10	210	187	25	67	50	<3	10
	T10-12	10	147	180	89	59	42	9	83
	T11-12	10	414	123	24	70	25	5	8
	T12-12	10	70	38	6	30	10	<3	<3
	T13-12	10	41	63	15	<3	43	<3	<3
	T14-12	70	70	<5	13	20	4	5	<3
	T15-12	10	267	72	90	47	25	<3	14
	T16-12	10	88	63	15	26	22	<3	<3
	T17-12	10	41	35	<6	94	18	<3	<3
	T19-12	10	180	34	23	59	31	<3	<3
	T20-12	10	120	52	34	63	18	<3	5
	T1-12	20	<3	<5	<6	17	<3	<3	<3
	T3-12	20	301	55	34	20	21	4	9
	T5-12	20	650	107	49	57	14	41	83
	T6-12	20	160	15	18	29	9	35	<3
	T7-12	20	<3	<5	15	<3	11	<3	3
	T8-12	20	228	76	51	19	20	229	19
	T12-12	20	192	57	30	110	20	4	5
	T16-12	20	1,500	262	102	213	17	144	44
	T17-12	20	312	103	1,562	74	452	51	1,175
	C1-12	20	419	69	15	40	14	47	<3
	C2-12	20	286	59	56	33	24	87	25
	C3-12	20	147	88	304	64	124	54	423
	C5-12	20	365	<5	1,426	9	645	4	444
	C6-12	20	88	48	44	27	13	<3	11
	C9-12	20	389	65	461	110	64	31	614
	C10-12	20	143	122	41	39	18	<3	3

10

20

30

【0092】

表 2 - 続き

40

【表 4】

試料識別記号 (年-月)			IL-1 α pg/ml	G-CSF pg/ml	IP-10 pg/ml	IL-2 pg/ml	IL-4 pg/ml	IL-5 pg/ml	IL-6 pg/ml
	C1-12	10	20	36	35	3	<3	3	<3
	C2-12	10	11	26	34	<3	<3	7	7
	C3-12	10	17	105	371	<3	<3	8	6
	C4-12	10	33	136	64	<3	<3	8	10
	C5-12	10	51	274	86	21	4	30	35
	C6-12	10	24	102	71	9	<3	28	2
	C7-12	10	10	36	45	42	<3	11	7
	C8-12	10	81	463	80	<3	<3	17	122
	C9-12	10	26	87	93	<3	<3	5	7
	C10-12	10	16	168	74	4	7	9	5
	C11-12	10	22	93	117	<3	<3	7	6
	C12-12	10	14	65	29	<3	<3	15	5
	C13	10	37	80	44	<3	<3	26	7
	C14-12	10	20	141	30	<3	<3	6	18
	C15-12	10	21	83	38	4	<3	11	5
	C16-12	10	23	76	56	<3	<3	5	3
	C17-12	10	22	100	46	19	<3	29	8
	C17-12	10	241	2,328	42	10	<3	22	317
	C19-12	10	20	42	32	4	<3	8	<3
	C20-12	10	9	24	26	5	<3	7	6

10

20

【0093】

表 2 - 続き (続き)

【表 5】

	T1-12	10	8	57	6	4	<3	4	<3
	T2-12	10	14	202	46	6	<3	8	<3
	T3-12	10	34	160	73	3	<3	31	8
	T4-12	10	31	193	712	<3	<3	53	3
	T5-12	10	12	30	36	7	<3	13	<3
	T6-12	10	21	92	53	5	<3	10	<3
	T7-12	10	33	246	104	28	<3	14	<3
	T8-12	10	18	83	57	<3	<3	1,092	<3
	T9-12	10	39	224	93	39	<3	32	3
	T10-12	10	38	259	57	10	<3	65	75
	T11-12	10	25	218	41	13	<3	19	<3
	T12-12	10	11	53	23	<3	<3	14	5
	T13-12	10	19	93	60	<3	<3	13	<3
	T14-12	10	19	105	32	<3	<3	4	<3
	T15-12	10	19	62	47	8	<3	9	4
	T16-12	10	35	56	35	6	<3	10	<3
	T17-12	10	15	70	38	<3	<3	6	<3
	T19-12	10	38	87	47	5	<3	8	<3
	T20-12	10	68	141	44	4	<3	8	26
	T1-12	20	190	171	<6	<3	<3	8	5
	T3-12	20	186	879	42	7	<3	8	131
	T5-12	20	42	298	29	11	<3	16	13
	T6-12	20	35	102	16	<3	<3	8	<3
	T7-12	20	28	85	6	<3	<3	6	<3
	T8-12	20	99	550	26	3	<3	16	47
	T12-12	20	63	112	9	4	<3	12	24
	T16-12	20	63	115	38	68	<3	25	18
	T17-12	20	79	1,818	88	<3	<3	273	1,528
	C1-12	20	90	698	36	5	<3	10	365
	C2-12	20	150	629	39	10	<3	10	44
	C3-12	20	40	191	433	<3	<3	175	761
	C5-12	20	78	396	28	<3	<3	122	35
	C6-12	20	83	183	42	<3	<3	12	<3
	C9-12	20	40	527	104	5	<3	83	143
	C10-12	20	181	199	15	17	<3	24	13

【 0 0 9 4 】

表 2 - 続き

10

20

30

40

【表 6】

試料識別記号 (年齢-月齢)			IL-7 pg/ml	IL-10 pg/ml	IL-12 pg/ml	TNF α pg/ml	IL-9 pg/ml	IL-13 pg/ml	IL-15 pg/ml	IL-17 pg/ml
	C1-12	10	9	<10	<4	8	*	6	<9	9
	C2-12	10	80	<10	77	15	*	9	11	27
	C3-12	10	<4	<10	87	9	*	<5	11	13
	C4-12	10	6	<10	<4	7	*	20	18	11
	C5-12	10	4	<10	232	13	*	21	56	17
	C6-12	10	<4	<10	52	5	*	13	<9	11
	C7-12	10	15	<10	71	6	*	21	<9	30
	C8-12	10	<4	<10	32	16	*	12	220	10
	C9-12	10	55	72	238	15	*	12	17	57
	C10-12	10	<4	<10	146	4	*	20	22	15
	C11-12	10	<4	<10	32	<3	*	13	13	10
	C12-12	10	<4	<10	59	5	<11	9	<9	13
	C-13	10	<4	<10	55	5	*	<5	21	34
	C14-12	10	<4	<10	228	8	<11	22	<9	7
	C15-12	10	9	<10	170	6	<11	25	61	7
	C16-12	10	<4	<10	69	<3	*	24	<9	6
	C17-12	10	<4	<10	170	5	31	19	26	19
	C18-12	10	9	<10	148	18	*	31	66	20
	C19-12	10	<4	<10	54	4	<11	20	<9	5
	C20-12	10	8	<10	208	8	<11	20	124	11

【0095】

表 2 - 続き (続き)

10

20

【表 7】

	T1-12	10	<4	<10	47	3	*	8	<9	<3
	T2-12	10	<4	<10	35	5	<11	7	<9	7
	T3-12	10	<4	<10	141	7	<11	20	<9	13
	T4-12	10	<4	20	564	296	<11	23	10	19
	T5-12	10	<4	<10	25	5	*	5	<9	7
	T6-12	10	<4	<10	70	4	*	23	16	4
	T7-12	10	5	31	285	10	14	24	28	21
	T8-12	10	6	<10	<4	4	*	<5	13	8
	T9-12	10	<4	<10	363	9	*	20	20	13
	T10-12	10	<4	12	369	60	*	10	<9	67
	T11-12	10	<4	<10	69	20	*	26	131	8
	T12-12	10	<4	<10	107	<3	*	20	<9	5
	T13-12	10	<4	<10	54	9	*	11	14	17
	T14-12	10	<4	<10	38	3	*	13	<9	6
	T15-12	10	<4	<10	75	27	14	18	10	9
	T16-12	10	<4	<10	68	6	<11	22	<9	6
	T17-12	10	<4	<10	<4	8	*	28	<9	9
	T19-12	10	<4	<10	38	6	19	24	<9	8
	T20-12	10	<4	<10	52	14	<11	24	29	25
	T1-12	20	<4	<10	22	9	<11	<5	<9	6
	T3-12	20	<4	20	105	20	*	28	16	10
	T5-12	20	<4	<10	128	7	103	39	45	14
	T6-12	20	6	<10	12	5	*	<5	29	4
	T7-12	20	<4	<10	35	4	*	13	<9	6
	T8-12	20	7	43	190	15	*	24	<9	61
	T12-12	20	<4	<10	85	11	*	13	39	8
	T16-12	20	<4	<10	135	44	658	31	21	34
	T17-12	20	5	261	2,543	1,233	*	35	14	1,126
	C1-12	20	<4	15	153	11	169	16	51	128
	C2-12	20	10	48	175	23	187	<5	20	43
	C3-12	20	274	29	999	111	*	<5	449	276
	C5-12	20	11	92	2,628	>10,000	<11	<5	32	841
	C6-12	20	200	<10	103	8	<11	16	160	15
	C9-12	20	<4	33	208	91	*	11	27	183
	C10-12	20	<4	<10	141	7	*	12	56	11

【0096】

表 2 B : アディポカイン

10

20

30

【表 8】

試料識別記号			インスリン	レプチン	tPAI-I	レジスチン
	C1-12	10 カ月	840	6,229	1,486	3,334
	C2-12	10 カ月	906	9,992	836	807
	C3-12	10 カ月	728	11,529	732	727
	C4-12	10 カ月	474	12,431	398	1,360
	C5-12	10 カ月	618	4,611	2,753	2,127
	C6-12	10 カ月	1,361	9,748	1,609	955
	C7-12	10 カ月	939	13,068	653	978
	C8-12	10 カ月	462	6,728	1,794	484
	C9-12	10 カ月	599	14,251	2,464	999
	C10-12	10 カ月	971	13,112	1,452	1,107
	C11-12	10 カ月	515	8,270	216	582
	C12-12	10 カ月	660	9,170	2,075	815
	C-13	10 カ月	564	13,499	2,378	1,035
	C14-12	10 カ月	1,213	11,812	1,954	736
	C15-12	10 カ月	1,116	6,027	503	1,149
	C16-12	10 カ月	632	6,772	2,289	680
	C17-12	10 カ月	574	11,722	2,927	1,565
	C18-12	10 カ月	316	813	3,880	714
	C19-12	10 カ月	686	2,170	1,244	266
	C20-12	10 カ月	761	6,536	706	668

10

20

【 0 0 9 7 】

表 2 B : アディポカイン (続き)

【表 9】

	T1-12	10 カ月	1,158	4,674	1,047	498
	T2-12	10 カ月	836	5,872	743	538
	T3-12	10 カ月	1,226	3,919	1,170	690
	T4-12	10 カ月	728	6,397	2,342	349
	T5-12	10 カ月	840	3,402	843	830
	T6-12	10 カ月	733	15,217	2,002	1,057
	T7-12	10 カ月	1,417	12,485	1,521	1,261
	T8-12	10 カ月	896	8,986	2,321	683
	T9-12	10 カ月	843	6,250	1,758	313
	T10-12	10 カ月	298	5,421	1,458	763
	T11-12	10 カ月	916	7,344	329	330
	T12-12	10 カ月	449	3,687	1,702	123
	T13-12	10 カ月	776	6,292	2,266	1,599
	T14-12	10 カ月	430	6,428	1,894	970
	T15-12	10 カ月	574	2,455	938	405
	T16-12	10 カ月	1,085	2,852	478	351
	T17-12	10 カ月	909	6,972	1,771	259
	T19-12	10 カ月	646	3,716	1,229	430
	T20-12	10 カ月	307	2,017	<12	300
	T1-12	20 カ月	847	4,785	1,839	315
	T3-12	20 カ月	492	135	2,457	613
	T5-12	20 カ月	449	2,736	369	425
	T6-12	20 カ月	728	2,177	216	218
	T7-12	20 カ月	564	1,738	940	343
	T8-12	20 カ月	278	67	2,065	613
	T12-12	20 カ月	443	1,494	249	340
	T16-12	20 カ月	402	1,013	778	432
	T17-12	20 カ月	456	2,143	1,206	1,043
	C1-12	20 カ月	258	1,688	1,049	513
	C2-12	20 カ月	258	2,663	2,400	521
	C3-12	20 カ月	341	9,421	1,419	624
	C5-12	20 カ月	803	4,347	1,293	516
	C6-12	20 カ月	919	4,431	1,835	335
	C9-12	20 カ月	521	5,676	1,517	340
	C10-12	20 カ月	521	291	1,210	210

10

20

30

40

【0098】

表 2 C. アディポネクチン

【表 10】

試料識別記号			マウス アディポネクチン	
C1-12		10 カ月	8.6	
C2-12		10 カ月	QNS	
C3-12		10 カ月	13.2	
C4-12		10 カ月	13.0	
C5-12		10 カ月	11.3	
C6-12		10 カ月	10.4	
C7-12		10 カ月	13.4	
C8-12		10 カ月	7.4	
C9-12		10 カ月	10.7	
C10-12		10 カ月	10.0	
C11-12		10 カ月	9.3	
C12-12		10 カ月	11.9	
C-13		10 カ月	10.3	
C14-12		10 カ月	13.3	
C15-12		10 カ月	13.0	
C16-12		10 カ月	8.3	
C17-12		10 カ月	12.7	
C18-12		10 カ月	5.3	
C19-12		10 カ月	9.4	
C20-12		10 カ月	13.8	

10

20

【0099】

表 2 C. アディポネクチン (続き)

【表 1 1】

T1-12		10 カ月	13.2	
T2-12		10 カ月	8.4	
T3-12		10 カ月	11.7	
T4-12		10 カ月	8.9	
T5-12		10 カ月	11.4	
T6-12		10 カ月	9.1	
T7-12		10 カ月	7.3	
T8-12		10 カ月	8.6	
T9-12		10 カ月	9.3	
T10-12		10 カ月	7.7	
T11-12		10 カ月	10.0	
T12-12		10 カ月	14.7	
T13-12		10 カ月	10.3	
T14-12		10 カ月	14.1	
T15-12		10 カ月	9.2	
T16-12		10 カ月	12.9	
T17-12		10 カ月	12.7	
T19-12		10 カ月	11.8	
T20-12		10 カ月	7.7	
T1-12		20 カ月	16.2	
T3-12		20 カ月	9.1	
T5-12		20 カ月	13.9	
T6-12		20 カ月	19.1	
T7-12		20 カ月	17.7	
T8-12		20 カ月	9.6	
T12-12		20 カ月	13.1	
T16-12		20 カ月	19.3	
T17-12		20 カ月	14.3	
C1-12		20 カ月	8.7	
C2-12		20 カ月	8.0	
C3-12		20 カ月	10.3	
C5-12		20 カ月	9.6	
C6-12		20 カ月	19.5	
C9-12		20 カ月	13.3	
C10-12		20 カ月	10.8	

【0 1 0 0】

【0 0 9 0】表 2 A、2 B 及び 2 C を参照すると、データは、改変された食事療法がマウスの炎症を低減したことを示す [$p \leq 0.05$]。炎症促進性サイトカイン IL-6 [Y] 及び IL-12 [O] が減少した；炎症媒介物質 IL-7 [Y、O]、IL-15 [O] 及び IL-17 [O] が減少した；抗炎症性サイトカイン IL-10 [O] 及び IL-13 [O] は増加した。「O」は老年マウスのみにおいて有意であることを指し、「Y」は若年マウスグループのみにおいて有意であることを指し、「OY」は若年及び老年マウスの両方において有意であることを指す。表現型では、試験グループ内のより老年のマ

10

20

30

40

50

ウスには、対照グループと比較してアトピー性皮膚炎の発生がほとんどなく、老化過程に典型的な炎症過程の低減を示した。グループ I 及び I I I においては、炎症促進性サイトカイン I L - 6 及び I L - 1 2 が、それぞれ減少した。炎症媒介物質と考えられるサイトカイン (I L - 7、I L - 1 5、及び I L - 1 7) は、減少した。I L - 7 は、グループ I 及び I I I において減少したが、I L - 1 5 及び I L - 1 7 は、グループ I I I において減少した。抗炎症性サイトカイン I L - 1 0 及び I L - 1 3 は、グループ I I I において増加し、炎症に関する上記の観察と一致した。改変された栄養療法は、インスリン抵抗性を改善させた [$p \leq 0.05$]。グループ I I I のマウスでは、アディポネクチンの増加が観察された。グループ I のマウスでは、レジスチン及びレプチンの低下が、各々観察された。明らかに、試験的食事は炎症を低減させ、インスリン抵抗性を改善させた。それらの両方は老年に典型的な特徴と関連している。データは、種々のバイオマーカーを使用して動物の健康状態をアッセイすることができることも示す。

10

【0101】

実施例 2

多重アッセイの開発及び最適化

[0091] 材料及び方法：多重アッセイは 3 つのステップで開発した。[1] 試薬の獲得／特徴付け：イヌアッセイ用にイヌ分子に特異的な抗体を取得し、サンドイッチイムノアッセイ法を開発し、それらの性能を特徴付け、組み合わせてイヌアッセイ用に示された多重アッセイパネルを開発し、[2] 方法の開発：その後、個々のアッセイを最適化して交差反応性を除去し、感度及びダイナミックレンジを増強し、[3] 予備検証：その後、多重アッセイパネルを、(a) 健康なイヌ由来の正常血清及び血漿、(b) リボポリサッカリド [L P S] で刺激されたイヌ P B M C 由来の培養上清 [C / S] で検証した。イヌアッセイ [パネル；サイトカイン／ケモカイン；分析物：G M C S F、I L - 2、I L - 4、I L - 6、I L - 7、I L - 8、I L - 1 0、I L - 1 8、I F N γ 、I P - 1 0、T N F - α 、M C P - 1、I L - 1 5、K C。パネル；内分泌物；分析物：G L P - 1、グルカゴン、インスリン、レプチン。パネル；アディポカイン；分析物：アディポネクチン、レジスチン。] 結果は表 3 に示す。

20

【0102】

[0092] 結果及び考察：[1] 試薬の獲得／特徴付け：栄養上及び治療上の対象の様々な重要領域を包含する 20 個のイヌ分子を、標的として選択した。これらの分子に特異的な幾つかの抗体対をスクリーニングした。これらはイヌ特異的な抗体を含み、イヌ特異的な抗体が利用可能でなかった場合は、マウス、げっ歯動物又はヒトの分子に対して誘発された抗体をスクリーニングした。イヌタンパク質で最も良好なシグナルを産出した抗体対を選択して、ビーズに基づくサンドイッチイムノアッセイ法を開発した [L u m i n e x 社製 x M A P プラットフォーム]。[2] 方法の開発：最終的な多重化パネルを取得するために、ステップ [1] から選択されたアッセイを、交差反応性、感度及びダイナミックレンジについてさらに最適化した。最適化の後には、多重パネル内の交差反応性は無視できる程度であった。「血清マトリックス」中の分析物の種々の濃度を使用して、「標準曲線」を作成した。I L - 4 及び I L - 1 8 [イヌサイトカインパネル] 並びにレプチン及びインスリン [内分泌性ホルモンパネル] 用の標準曲線の解析は、それらが、残りの分析物と比較してわずかに低い感度を有することを示す。I L - 8 に対する抗体は、他のサイトカインと比較して、より高いバックグラウンドシグナルを示すと考えられる。しかしながら、これらの分析物のほとんどは通常レベルが pg/ml の範囲であるため、これらのアッセイ特徴は、生理レベルの測定に干渉しない。[3] 検証：正常血清／血漿を使用して、これらの多重化パネルの予備検証を実施した。表 3 A は、サイトカイン及びケモカインについてのデータを要約する [39 匹の健康なイヌ、ジャーマンシェパード、ラブラドルレトリバー、シュナウザー、シベリアンハスキー、年齢は 2 から 6 歳]。表 3 B は、G L P - 1 分解を防止するための阻害剤を含有する 2 つの血清試料中のイヌ内分泌性ホルモンについてのデータを要約する。表 3 C は、アディポカインパネルから得られたデータを要約する [17 匹のビーグル及び雑種に由来する血清試料]。

30

40

50

【 0 1 0 3 】

表 3 A : 正常なイヌ血清及び血漿中のサイトカイン(濃度、pg/ml)

【表 1 2】

サイトカイン	血清				血漿			
	中央値	最小値	最大値	検出可能(%)	中央値	最小値	最大値	検出可能(%)
TNFα	2.2	ND	885.5	79.5	1.1	ND	221.4	56.4
GMCSF	289.0	61.0	40112.0	100.0	151.0	ND	31654.0	100.0
IL-4	306.3	ND	5020.4	69.2	226.0	ND	1859.0	66.7
MCP-1	349.0	144.2	24484.2	100.0	161.7	68.4	6422.0	100.0
KC	620.3	94.0	1201.5	100.0	32.3	ND	828.1	94.9
IL-8	395.5	9.6	19832.9	100.0	556.8	9.1	2292.4	100.0
IFNγ	ND	ND	1980.0	28.2	ND	ND	1264.0	10.3
レプチン	2024.5	ND	57755.0	71.8	1764.0	ND	17905.0	76.9
IL-10	ND	ND	8744.0	23.1	ND	ND	5204.9	12.8
IP-10	35.0	7.0	1292.0	100.0	21.0	ND	541.0	84.6
グルカゴン	91.4	5.3	1080.8	100.0	35.4	ND	1525.4	84.6
IL-02	157.0	ND	17472.0	69.2	ND	ND	63072.0	48.7
IL-6	ND	ND	18955.0	53.8	ND	ND	12768.0	38.5
IL-7	270.0	46.0	26273.0	97.4	155.0	ND	65201.0	100.0
IL-15	166.0	27.0	79521.0	97.4	116.0	ND	22939.0	87.2
IL-18	3703.0	508.0	96292.0	100.0	3191.0	353.0	89725.0	100.0
インスリン	864.1	280.4	12469.0	100.0	591.4	49.0	5946.1	100.0

【 0 1 0 4 】

表 3 B : 正常なイヌ血清試料中のホルモン

【 0 1 0 5 】

【表 1 3】

試料	レプチン (ng/mL)	グルカゴン (pg/mL)	GLP-1(pM)	インスリン (ng/mL)
モルガン (Morgan)	10.12	148.37	80.94	1.30
ストリ (Stoli)	ND	94.96	ND	1.50

【 0 1 0 6 】

表 3 C : 正常なイヌ血清試料中のアディポネクチン (A c r p 3 0) 及びレジスチン

【表 1 4】

N=17	cAcrp30 (ng/ml)	c レジスチン (ng/ml)
最小値	3.08	5.10
最大値	32.37	253.05
中央値	14.90	15.03

【 0 1 0 7 】

【 0 0 9 3 】 これらのパネルが、L P Sで刺激した後でP B M Cにより分泌されたサイトカインを検出したことを確認するための実験も実施した。代表的なデータを図 2 に示す。I L - 6、T N F - α、I L - 8 及び I L - 1 8 の L P S 用量依存的分泌及び時間依存

10

20

30

40

50

的分泌が、明白に観察された。

【0108】

〔0094〕結論：血清、血漿及び組織培養上清中の20個の異なるイヌタンパク質を測定可能な多重化パネルの開発に成功した。パネルには、アッセイが過去に利用可能ではなかった幾つかのタンパク質のアッセイが含まれる。正常血清／血漿試料を用いたパネルの予備検証は、パネルが血清／血漿中のこれらの分子を測定可能であることを実証する。LPSで処理されたPBMCに由来する培養上清で実施されたアッセイは、パネルのアッセイが、LPS刺激、すなわちIL-6、TNF- α 、IL-8、及びIL-18にตอบสนองして、用量依存的な様式と共に時間依存的な様式で分泌されると予想されるサイトカインを検出可能であることを実証する。さらなる検証実験が、適切な栄養及び臨床研究で現在進行中である。適切なパターン認識及び経路解析技術を併用すると、これらのパネルは、生理的なストレス要因及び介入の機能的な結果を予測／評価することに役立つだろう。

10

【0109】

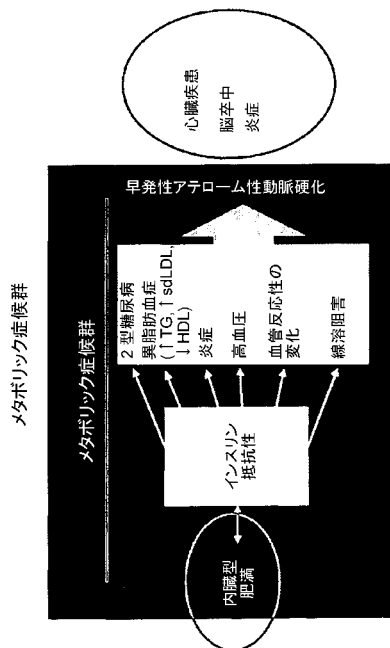
〔0095〕本明細書中に記載された好ましい実施形態に対する種々の変更及び改変は、当業者には明白であることを理解されたい。そのような変更及び改変は、本主題の趣旨及び範囲から逸脱せずに、且つその意図した利点を損なわずに行うことができる。したがって、そのような変更及び改変は添付の特許請求の範囲により包含されることが意図される。

【0110】

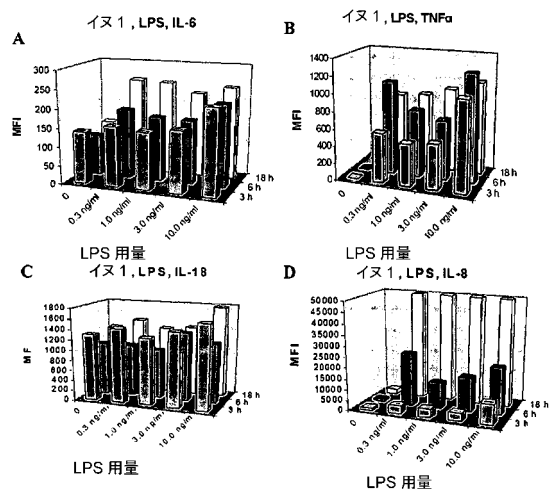
〔0096〕本明細書中で引用又は参照された全ての特許、特許出願、出版物、及び他の参照は、法律により許される範囲で参照により本明細書中に組み込まれる。それらの参照の考察は、そこでなされた主張を単に要約することを意図している。そのようないかなる特許、特許出願、出版物、若しくは参照、又はその任意の部分も、本発明の関連従来技術であることを承認するものではなく、そのような特許、特許出願、出版物、及び他の参照に関する正確性及び妥当性に異議を申し立てる権利は、特に確保されている。

20

【図1】



【図2】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. .

PCT/US07/21451

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC: C12Q 1/68(2006.01);C12M 1/34(2006.01) USPC: 435/6;435/287.2 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) U.S. : 435/6; 435/287.2 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 practicable, search terms used) Please See Continuation Sheet		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Affymetrix Human Genome U95A array (Affymetrix Product Catalog January 2001), especially product catalog and probes from www.affymetrix.com	1-20, 69-74
--		
Y		21-68
Y	Fan et al. The transcriptome in blood: challenges and solutions for robust expression profiling. 2005 Current Molecular Medicine Vol. 5 p. 3-10, especially abstract, p. 3 and p. 10	21-68
☐ 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	"I" 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
"E"	earlier application or patent published on or after the international filing date	"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
"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)	"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
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
Date of the actual completion of the international search 20 July 2008 (20.07.2008)		Date of mailing of the international search report 08 AUG 2008
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (571) 273-3201		Authorized officer KATHERINE SALMON Telephone No. (571) 272 1600

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2007)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US07/21451

Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 3:
EAST and STN
Search terms: affymetrix, matrix probes, health status

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード (参考)
A 6 1 P 29/00	(2006.01)	A 6 1 P 29/00		
A 6 1 P 3/02	(2006.01)	A 6 1 P 3/02		
G 0 1 N 33/53	(2006.01)	G 0 1 N 33/53	D	

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MT,NL,PL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,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,PG,PH,PL,PT,RO,RS,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,SV,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 サタヤラジ, エベニーザー
アメリカ合衆国, ミズーリ州, ワイルドウッド, センターポイント ドライヴ 1 6 3 0 0

(72)発明者 ハンナ, スティーブン, エス.
アメリカ合衆国, ミズーリ州, チェスターフィールド, リッジ トレイル コート 2 9 3
Fターム(参考) 4B063 QA18 QQ03 QQ08 QQ42 QQ52 QQ79 QR08 QR32 QR56 QR62
QR84 QS34 QX02