

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 1 区分

【発行日】平成30年8月16日(2018.8.16)

【公表番号】特表2017-524358(P2017-524358A)

【公表日】平成29年8月31日(2017.8.31)

【年通号数】公開・登録公報2017-033

【出願番号】特願2017-503551(P2017-503551)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 P 21/02 (2006.01)

C 1 2 Q 1/06 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

G 0 1 N 33/543 (2006.01)

G 0 1 N 37/00 (2006.01)

A 6 1 K 39/35 (2006.01)

A 6 1 P 37/08 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 A

C 0 7 K 19/00 Z N A

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/10

C 1 2 P 21/02 C

C 1 2 Q 1/06

G 0 1 N 33/53 Q

G 0 1 N 33/53 N

G 0 1 N 33/543 5 0 1 A

G 0 1 N 37/00 1 0 2

A 6 1 K 39/35

A 6 1 P 37/08

【手続補正書】

【提出日】平成30年7月3日(2018.7.3)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

第 1 のペプチド鎖および第 2 のペプチド鎖を有し、それらを合わせた全体としての、配列番号 3 の配列および配列番号 4 の配列を組み合わせたものとの配列同一性が、少なくとも 70 % である、単離されたヘテロ二量体タンパク質。

【請求項 2】

全体としての、配列番号 3 の配列および配列番号 4 の配列を組み合わせたものとの配列同一性が、少なくとも 75 %、好ましくは 80 %、85 %、90 %、95 % または 98 % である、請求項 1 に記載の単離されたヘテロ二量体タンパク質。

【請求項 3】

全体としての、配列番号 3 のアミノ酸配列および配列番号 4 のアミノ酸配列を組み合わせたものとの配列同一性が、少なくとも 70 %、例えば 75 %、80 %、85 %、90 %、95 % または 98 % である、一本鎖タンパク質。

【請求項 4】

配列番号 3 の配列との配列同一性が少なくとも 70 %、例えば 75 %、80 %、85 %、90 %、95 % または 98 % である、単離されたタンパク質。

【請求項 5】

配列番号 4 の配列との配列同一性が少なくとも 70 %、例えば 75 %、80 %、85 %、90 %、95 % または 98 % である、単離されたタンパク質。

【請求項 6】

配列番号 3 の配列を有する第 1 のペプチド鎖および配列番号 4 の配列を有する第 2 のペプチド鎖を有するヘテロ二量体タンパク質の I g E 抗体エピトープを少なくとも 1 つ有する、請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載のタンパク質のフラグメント。

【請求項 7】

固体または可溶性の支持体に固定化されている、および / または検出可能な標識が付けられている、請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載のタンパク質またはタンパク質フラグメント。

【請求項 8】

請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載のタンパク質または請求項 6 に記載のタンパク質フラグメントをコードする核酸分子。

【請求項 9】

請求項 8 に記載の核酸分子を含むベクター。

【請求項 10】

請求項 9 に記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項 11】

・ 1 型アレルギーを有することが疑われる患者からの免疫グロブリン含有体液サンプルを、請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載のタンパク質、ペプチド鎖またはタンパク質フラグメントと接触させるステップ；および

・ 前記サンプルにおいて、前記タンパク質、ペプチド鎖またはタンパク質フラグメントに特異的に結合する抗体の存在を検出するステップ
を含み、

ここで、前記のように結合した抗体の存在は、前記患者が 1 型アレルギーを有することを示唆する、

1 型アレルギーのインビトロ評価方法。

【請求項 12】

前記サンプルにおいて、前記タンパク質、ペプチド鎖またはタンパク質フラグメントに特異的に結合する I g E 抗体および / または I g G 抗体の存在を検出することを含み、

ここで、特異的 I g E 抗体の存在は、前記患者がウマに対する 1 型アレルギーを有することを示唆し、特異的 I g G 抗体のレベルは、ウマに対する、生まれつきの、または環境的暴露もしくは免疫療法によって誘導された免疫寛容に関する情報を与える、

請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

・ 1 型アレルギーを有することが疑われる患者からの免疫グロブリン含有体液サンプルを、ウマからのさらなる精製アレルゲンコンポーネント少なくとも 1 つと接触させるステップ；および

・前記サンプルにおいて、前記のウマからの精製アレルゲンコンポーネントに特異的に結合する I g E 抗体の存在を検出するステップ
をさらに含み、

ここで、前記タンパク質、ペプチド鎖またはタンパク質フラグメントに特異的に結合する I g E 抗体の存在と、前記のウマからのアレルゲンコンポーネントに特異的に結合する I g E 抗体の不存在との組み合わせは、前記患者がネコに対する 1 型アレルギーを有することを示唆する、

請求項 1 1 または 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 4】

前記のウマからのさらなる精製アレルゲンコンポーネントが、天然および組換えの Equ c 1、Equ c 2、Equ c 3、Equ c 4/5 および Equ c 15k からなる群から選択される、請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 1 5】

請求項 1 1 ~ 1 4 のいずれかに記載の方法を実施するためのキットであって、固体支持体上に固定化された請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載のタンパク質、ペプチド鎖またはタンパク質フラグメントを含むキット。

【請求項 1 6】

ヒトまたは動物体に対して実施される処置または診断方法、例えば 1 型アレルギーの処置または診断方法において使用するための、請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載のタンパク質またはタンパク質フラグメント。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 3 4

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 3 4】

本発明の側面はさらに、ヒトまたは動物体に対して実施される処置または診断方法、例えばヒトまたは動物体に対して実施される 1 型アレルギーの処置または診断方法における使用のための、本発明の前記側面のタンパク質またはタンパク質フラグメントを包含し、また、1 型アレルギーの処置方法であって、そのような処置に感受性の個体に、本発明の前記側面のタンパク質、ペプチド鎖またはタンパク質フラグメントを投与することを含む方法を包含する。

本発明の態様をさらに挙げる：

[1] 第 1 のペプチド鎖および第 2 のペプチド鎖を有し、それらを合わせた全体としての、配列番号 3 の配列および配列番号 4 の配列を組み合わせたものとの配列同一性が、少なくとも 7 0 % である、単離されたヘテロ二量体タンパク質。

[2] 全体としての、配列番号 3 の配列および配列番号 4 の配列を組み合わせたものとの配列同一性が、少なくとも 7 5 %、好ましくは 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 % または 9 8 % である、上記項 1 に記載の単離されたヘテロ二量体タンパク質。

[3] 全体としての、配列番号 3 のアミノ酸配列および配列番号 4 のアミノ酸配列を組み合わせたものとの配列同一性が、少なくとも 7 0 %、例えば 7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 % または 9 8 % である、一本鎖タンパク質。

[4] 配列番号 3 の配列との配列同一性が少なくとも 7 0 %、例えば 7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 % または 9 8 % である、単離されたタンパク質。

[5] 配列番号 4 の配列との配列同一性が少なくとも 7 0 %、例えば 7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 % または 9 8 % である、単離されたタンパク質。

[6] 配列番号 3 の配列を有する第 1 のペプチド鎖および配列番号 4 の配列を有する第 2 のペプチド鎖を有するヘテロ二量体タンパク質の I g E 抗体エピトープを少なくとも 1 つ有する、上記項 1 ~ 5 のいずれかに記載のタンパク質のフラグメント。

[7] 固体または可溶性の支持体に固定化されている、上記項 1 ~ 6 のいずれかに記載

のタンパク質またはタンパク質フラグメント。

[8] 検出可能な標識が付けられている、上記項 1 ～ 6 のいずれかに記載のタンパク質またはタンパク質フラグメント。

[9] 上記項 1 ～ 5 のいずれかに記載のタンパク質または上記項 6 に記載のタンパク質フラグメントをコードする核酸分子。

[10] 配列番号 9 の配列との同一性が少なくとも 80 % であるヌクレオチド配列を含む、上記項 9 に記載の核酸分子。

[11] 配列番号 10 の配列との同一性が少なくとも 80 % であるヌクレオチド配列を含む、上記項 9 に記載の核酸分子。

[12] 上記項 3 に記載の一本鎖タンパク質をコードし、配列番号 9 の配列および配列番号 10 の配列を組み合わせたものとの全体としての配列同一性が少なくとも 80 % であるヌクレオチド配列を含む、上記項 9 に記載の核酸分子。

[13] 上記項 9 ～ 12 のいずれかに記載の核酸分子を含むベクター。

[14] 上記項 13 に記載のベクターを含む宿主細胞。

[15] 上記項 1 ～ 5 のいずれかに記載のタンパク質または上記項 6 に記載のタンパク質フラグメントの組換え産生方法であって、上記項 14 に記載の宿主細胞を、該タンパク質の発現に適当な条件下に培養することを含む、方法。

[16] ・ 1 型アレルギーを有することが疑われる患者からの免疫グロブリン含有体液サンプルを、上記項 1 ～ 6 のいずれかに記載のタンパク質、ペプチド鎖またはタンパク質フラグメントと接触させるステップ；および

・ 前記サンプルにおいて、前記タンパク質、ペプチド鎖またはタンパク質フラグメントに特異的に結合する抗体の存在を検出するステップ
を含み、

ここで、前記のように結合した抗体の存在は、前記患者が 1 型アレルギーを有することを示唆する、

1 型アレルギーのインビトロ評価方法。

[17] 前記サンプルにおいて、前記タンパク質、ペプチド鎖またはタンパク質フラグメントに特異的に結合する I g E 抗体および / または I g G 抗体の存在を検出することを含み、

ここで、特異的 I g E 抗体の存在は、前記患者がウマに対する 1 型アレルギーを有することを示唆し、特異的 I g G 抗体のレベルは、ウマに対する、生まれつきの、または環境的暴露もしくは免疫療法によって誘導された免疫寛容に関する情報を与える、

上記項 16 に記載の方法。

[18] ・ 1 型アレルギーを有することが疑われる患者からの免疫グロブリン含有体液サンプルを、ウマからのさらなる精製アレルゲンコンポーネント少なくとも 1 つと接触させるステップ；および

・ 前記サンプルにおいて、前記のウマからの精製アレルゲンコンポーネントに特異的に結合する I g E 抗体の存在を検出するステップ
をさらに含み、

ここで、前記タンパク質、ペプチド鎖またはタンパク質フラグメントに特異的に結合する I g E 抗体の存在と、前記のウマからのアレルゲンコンポーネントに特異的に結合する I g E 抗体の不存在との組み合わせは、前記患者がネコに対する 1 型アレルギーを有することを示唆する、

上記項 16 または 17 に記載の方法。

[19] 前記のウマからのさらなる精製アレルゲンコンポーネントが、天然および組換えの Equ c 1、Equ c 2、Equ c 3、Equ c 4/5 および Equ c 15k からなる群から選択される、上記項 18 に記載の方法。

[20] 上記項 16 ～ 19 のいずれかに記載の方法を実施するためのキットであって、固体支持体上に固定化された上記項 1 ～ 6 のいずれかに記載のタンパク質、ペプチド鎖またはタンパク質フラグメントを含むキット。

[2 1] 固体支持体が、ニトロセルロース、ガラス、シリコンおよびプラスチックの群から選択される、上記項 2 0 に記載のキット。

[2 2] 固体支持体がマイクロアレイチップである、上記項 2 0 または 2 1 に記載のキット。

[2 3] 固定化されたタンパク質、ペプチド鎖またはタンパク質フラグメントと結合した抗体に結合することができる検出試薬をさらに含む、上記項 2 0 ~ 2 2 のいずれかに記載のキット。

[2 4] 検出試薬が、I g G 抗体および / または I g E 抗体に結合することができる、上記項 2 3 に記載のキット。

[2 5] ヒトまたは動物体に対して実施される処置または診断方法において使用するための、上記項 1 ~ 6 のいずれかに記載のタンパク質またはタンパク質フラグメント。

[2 6] ヒトまたは動物体に対して実施される 1 型アレルギーの処置または診断方法において使用するための、上記項 1 ~ 6 のいずれかに記載のタンパク質またはタンパク質フラグメント。

[2 7] 1 型アレルギーの処置方法であって、処置に感受性の個体に、上記項 1 ~ 6 のいずれかに記載のタンパク質、ペプチド鎖またはタンパク質フラグメントを投与することを含んでなる方法。

【**手続補正 3**】

【**補正対象書類名**】明細書

【**補正対象項目名**】0 1 0 3

【**補正方法**】変更

【**補正の内容**】

【**0 1 0 3**】

上記の選択された血清において、ウマ皮膚抽出物に対する結合を阻害することができたのは Fel d 1 および Equ c s のみであったので、Equ c s は確かに、それら血清の結合を説明できるウマ皮膚抽出物中の未知タンパク質であることが示された (表 1 1 A)。Fel d 1 immunoCAP に対する結合は、Fel d 1 自体によって阻害されたが、Equ c s によっては阻害されず (表 1 1 B)、Equ c s に対する結合は Fel d 1 および Equ c s のいずれによっても阻害された (表 1 1 C)。このことは、これら 2 つのタンパク質の配列は同一性が高いこと (図 6 c および図 7 c) とウマ皮膚感作血清集団に対する I g E 結合の相関性が高いこととの両方により示唆されるとおりに、Fel d 1 と Equ c s との間で I g E 結合は確かに交差反応性であることを示す。さらに、ウマ皮膚感作血清集団において Fel d 1 は Equ c s 固相への結合を阻害するが Equ c s は Fel d 1 への結合を阻害しないという事実、また、Fel d 1 に対する I g E 結合は Equ c s に対する結合よりも常に高いという事実から、それら血清が元々 Fel d 1 に感作されており、Equ c s に対する結合は交差反応性の結果であったことが示唆された。