

【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6部門第1区分

【発行日】令和1年6月13日(2019.6.13)

【公表番号】特表2018-517151(P2018-517151A)

【公表日】平成30年6月28日(2018.6.28)

【年通号数】公開・登録公報2018-024

【出願番号】特願2018-511342(P2018-511342)

【国際特許分類】

G 01 N 33/53 (2006.01)

G 01 N 33/573 (2006.01)

C 12 Q 1/06 (2006.01)

C 07 K 7/08 (2006.01)

【F I】

G 01 N 33/53 D

G 01 N 33/573 A

C 12 Q 1/06 Z N A

C 07 K 7/08

【手続補正書】

【提出日】令和1年5月10日(2019.5.10)

【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】

対象において関節リウマチを検出するための方法であって、対象がフィラミンAおよびN-アセチルグルコサミン-6-スルファターゼの1つまたは複数に対して免疫学的に反応性であるかどうかを決定する段階を含み、適当な対照と比較した、フィラミンAおよびN-アセチルグルコサミン-6-スルファターゼの1つまたは複数に対する対象の免疫学的反応性が、対象が関節リウマチを患っていることを示す、方法。

【請求項2】

決定する段階が、フィラミンAおよびN-アセチルグルコサミン-6-スルファターゼの1つまたは複数に対する免疫学的反応性に関して対象から取得された生物学的サンプルを評価することによる、請求項1記載の方法。

【請求項3】

免疫学的反応性を決定する段階が、以下のステップ：

(a) フィラミンAおよびN-アセチルグルコサミン-6-スルファターゼの1つもしくは複数の、総タンパク質またはタンパク質フラグメントを用いて、インビトロで対象の末梢血単核細胞(PBMC)または対象の滑液単核細胞(SFMC)を刺激すること；

(b) インビトロでのT細胞の増殖または細胞培養上清へのIFN- $\gamma$ の分泌を測定すること；ならびに

(c) T細胞の増殖またはIFN- $\gamma$ の分泌が、適当な対照のそれより有意に増加していると測定される場合に、対象がフィラミンAおよびN-アセチルグルコサミン-6-スルファターゼの1つまたは複数に対して反応性のT細胞を有すると判定すること

を含む、フィラミンAおよびN-アセチルグルコサミン-6-スルファターゼの1つまたは複数に対して反応性のT細胞の存在を検出することによる、請求項1～2のいずれか一項記載の方法。

**【請求項4】**

ステップ(b)がインビトロでのT細胞の増殖を測定することであり、T細胞の増殖が、適当な対照のそれより有意に増加していると測定される場合に、対象がフィラミンAおよびN-アセチルグルコサミン-6-スルファターゼの1つまたは複数に対して反応性のT細胞を有すると判定される、請求項3記載の方法。

**【請求項5】**

ステップ(b)がT細胞による細胞培養上清へのIFN- $\gamma$ の分泌を測定することであり、IFN- $\gamma$ の分泌が、適当な対照のそれより有意に増加していると測定される場合に、対象がフィラミンAおよびN-アセチルグルコサミン-6-スルファターゼの1つまたは複数に対して反応性のT細胞を有すると判定される、請求項3記載の方法。

**【請求項6】**

免疫学的反応性を決定する段階が、

対象が、フィラミンAおよびN-アセチルグルコサミン-6-スルファターゼの1つまたは複数を特異的に認識する自己抗体の產生をもたらすフィラミンAおよびN-アセチルグルコサミン-6-スルファターゼの1つまたは複数に対するB細胞応答を有するかどうかを、該抗体とフィラミンAまたはN-アセチルグルコサミン-6-スルファターゼの免疫複合体の形成が可能な条件下でフィラミンAタンパク質もしくはそのポリペプチドフラグメントおよび/またはN-アセチルグルコサミン-6-スルファターゼタンパク質もしくはそのポリペプチドフラグメントとサンプルを接触させて、免疫複合体の存在または非存在を検出することによって決定すること

を含み、免疫複合体の存在が、対象がフィラミンAおよび/またはN-アセチルグルコサミン-6-スルファターゼに対するB細胞応答を示すことを示し、免疫複合体の非存在が、対象がフィラミンAおよび/またはN-アセチルグルコサミン-6-スルファターゼに対するB細胞応答を示さないことを示す、請求項1~5のいずれか一項記載の方法。

**【請求項7】**

アッセイが、酵素連結免疫吸着アッセイ(ELISA)、凝集試験、直接免疫蛍光アッセイ、間接免疫蛍光アッセイ、または免疫プロットアッセイである、請求項6記載の方法。

**【請求項8】**

フィラミンAのポリペプチドフラグメントが、アミノ酸配列NPAEFVVNTSNAGAG (SEQ ID N 0: 1)またはその抗原性部分を含む、請求項3~7のいずれか一項記載の方法。

**【請求項9】**

N-アセチルグルコサミン-6-スルファターゼのポリペプチドフラグメントが、アミノ酸配列FEPFFMMIATPAPH (SEQ ID NO: 2)またはその抗原性部分を含む、請求項3~8のいずれか一項記載の方法。

**【請求項10】**

対象が、リウマチ因子、抗シトルリン化タンパク質抗体(ACPA)および1つまたは複数のHLA-DR対立遺伝子の1つまたは複数について試験されている、またはさらに試験される、請求項1~9のいずれか一項記載の方法。

**【請求項11】**

HLA-DR対立遺伝子が、HLA-DRB1 $^*$ 0101および/またはHLA-DRB1 $^*$ 0401である、請求項10記載の方法。

**【請求項12】**

対象が、関節リウマチの危険がある、または関節リウマチを患っている可能性がある、請求項1~11のいずれか一項記載の方法。

**【請求項13】**

フィラミンAおよび/またはN-アセチルグルコサミン-6-スルファターゼの1つまたは複数の潜在的抗原および/または潜在的エピトープ、ならびに

フィラミンAおよびN-アセチルグルコサミン-6-スルファターゼの1つまたは複数の潜在的抗原および/または潜在的エピトープに結合するサンプル中の抗体の存在を検出するためのアッセイを実行するための試薬

を含む、キット。

【請求項 14】

フィラミンAの潜在的抗原および／または潜在的エピトープが、アミノ酸配列NPAEFVVNT SNAGAG (SEQ ID NO: 1)またはその抗原性部分を含む、請求項13記載のキット。

【請求項 15】

N-アセチルグルコサミン-6-スルファターゼの潜在的抗原および／または潜在的エピトープが、アミノ酸配列FEPFFMMIATPAPH (SEQ ID NO: 2)またはその抗原性部分を含む、請求項13記載のキット。

【請求項 16】

アッセイが、酵素連結免疫吸着アッセイ (ELISA) である、請求項13～15のいずれか一項記載のキット。

【請求項 17】

アッセイが、ウェスタンプロットである、請求項13～15のいずれか一項記載のキット。

【請求項 18】

関節リウマチを患った対象の特定に使用するための、請求項1～12のいずれか一項記載の方法。

【請求項 19】

関節リウマチを患った対象の特定に使用するための、請求項13～17のいずれか一項記載のキット。