(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2014-532408
(P2014-532408A)
(43)公表日　平成26年12月8日(2014.12.8)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	ZNAA	4B024
C07K 16/40	(2006.01)	C07K	16/40		4H045
C07K 14/47	(2006.01)	C07K	14/47		
G01N 33/573	(2006.01)	G01N	33/573	A	
G01N 33/574	(2006.01)	G01N	33/574	A	

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 36 頁）

(21)出願番号　特願2014-538896 (P2014-538896)
(86)(22)出願日　平成24年10月24日 (2012.10.24)
(85)翻訳文提出日　平成26年4月24日 (2014.4.24)
(86)国際出願番号　PCT/US2012/061543
(87)国際公開番号　WO2013/063010
(87)国際公開日　平成25年5月2日 (2013.5.2)
(31)優先権主張番号　61/551,567
(32)優先日　平成23年10月26日 (2011.10.26)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　513281666
ニュークレア　バイオテクノロジーズ　インコーポレイテッド
ＮＵＣＬＥＡ　ＢＩＯＴＥＣＨＮＯＬＯＧＩＥＳ，ＩＮＣ．
アメリカ合衆国　０１２０１　マサチューセッツ州　ピッツフィールド　エルム　ストリート　４６
(74)代理人　100105957
弁理士　恩田　誠
(74)代理人　100068755
弁理士　恩田　博宣
(74)代理人　100142907
弁理士　本田　淳

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ＵＳＰ２ａペプチドおよび抗体

(57)【要約】
本発明は新規なＵＳＰ２ａペプチドおよび抗体、ならびにそれらに関連した核酸に関する。本ペプチド、抗体および核酸は、癌の検出、病期診断、および進行のモニタリング、ならびに処置の有効性の決定またはモニタリングに有用である。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
ＵＳＰ２ａペプチドと特異的に反応する単離された抗体であって、前記ペプチドが、配列番号１、配列番号２、およびそれらのバリアントからなる群から選択される配列を含む、単離された抗体。
【請求項２】
検出可能な標識を含む、請求項１に記載の単離された抗体。
【請求項３】
請求項１に記載の単離された抗体、配列番号１、配列番号２、およびそれらのバリアントからなる群から選択されるタンパク質またはペプチド分子のいずれかをコードする核酸分子。
【請求項４】
前記核酸分子が少なくとも５～約８０個の核酸塩基を含む、請求項３に記載の核酸分子。
【請求項５】
対象における疾患の、診断、病期診断または進行のモニタリングの方法であって：
ａ）前記対象から試料を得る工程；
ｂ）前記試料を、配列番号１、配列番号２およびそれらのバリアントからなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＵＳＰ２ａペプチドと特異的に免疫反応する抗体と接触させる工程；
ｃ）前記抗体によって検出される試料中のＵＳＰ２ａタンパク質のレベルを決定する工程；および
ｄ）前記試料中の前記ＵＳＰ２ａタンパク質のレベルを、前記ＵＳＰ２ａタンパク質のベースラインレベルと比較する工程；を含み、ベースラインと比較するとき、無疾患の個体と比較して１％超の過剰発現である試料中のＵＳＰ２ａタンパク質のレベルの差が、前記対象における疾患の存在、病期、または進行の指標である方法。
【請求項６】
前記抗体が検出可能な標識で標識される、請求項５に記載の方法。
【請求項７】
前記ＵＳＰ２ａタンパク質のレベルの決定が、イムノブロット法、酵素結合免疫吸着測定法（ＥＬＩＳＡ）、放射免疫測定法（ＲＩＡ）、免疫沈降法、免疫組織化学および免疫蛍光法からなる群から選択される方法による、請求項６に記載の方法。
【請求項８】
前記疾患が癌である、請求項７に記載の方法。
【請求項９】
前記癌が前立腺癌である、請求項８に記載の方法。
【請求項１０】
対象における疾患の、診断、病期診断または進行のモニタリングの方法であって：
ａ）前記対象から試料を得る工程；
ｂ）前記試料を、ＵＳＰ２ａペプチドをコードする核酸分子と特異的にハイブリダイズする核酸分子と接触させる工程であって、ＵＳＰ２ａペプチドが、配列番号１、配列番号２およびそれらのバリアントからなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、接触させる工程；
ｃ）ＵＳＰ２ａペプチドをコードする核酸分子と特異的にハイブリダイズする前記核酸分子により検出される、試料中のＵＳＰ２ａのレベルを決定する工程；および
ｄ）前記試料中の前記ＵＳＰ２ａのレベルを、前記ＵＳＰ２ａのベースラインレベルと比較する工程；を含み、ベースラインと比較するとき、無疾患の個体と比較して１％超の過剰発現である試料中のＵＳＰ２ａのレベルの差が、前記対象における疾患の存在、病期、または進行の指標である方法。
【請求項１１】
前記核酸分子がＲＮＡを含む、請求項１０に記載の方法。

【請求項１２】
ｅ）ベースラインより上または下のＵＳＰ２ａレベルの差に基づいて、ＵＳＰ２ａ疾患またはＵＳＰ２ａ状態の治療介入または処置を修正する工程
をさらに含む、請求項１１に記載の方法。
【請求項１３】
前記ＵＳＰ２ａの決定が、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）、逆転写酵素ＰＣＲ（ＲＴ－ＰＣＲ）、ｉｎ　ｓｉｔｕハイブリダイゼーション、サザンブロット、ノーザンブロット、配列解析、遺伝子マイクロアレイ解析、およびレポーター遺伝子の検出からなる群から選択される方法による、請求項１１に記載の方法。
【請求項１４】
前記対象が患者である、請求項７に記載の方法。
【請求項１５】
前記患者が、前記疾患が診断されるべき患者、前記疾患についてモニタリングされるべき患者、および前記疾患が処置されるべき患者からなる群から選択される、請求項１４に記載の方法。
【請求項１６】
前記試料が、疾患に罹っていることが分かっている患者から得られ、前記ベースラインレベルが、前記患者の以前の試料のＵＳＰ２ａのレベルを含む、請求項１４に記載の方法。
【請求項１７】
前記試料が、血液、血清、組織および細胞からなる群から選択される、請求項５に記載の方法。
【請求項１８】
前記試料が基材上に固定化される、請求項１７に記載の方法。
【請求項１９】
単離された抗体であって、前記単離された抗体が、
ａ）対象を、ＵＳＰ２ａタンパク質の一部を含む少なくとも１つのＵＳＰ２ａペプチドと接触させる工程であって、前記ＵＳＰ２ａペプチドが長さ約５～約３０アミノ酸であり、かつ配列番号１、配列番号２およびそれらのバリアントからなる群から選択される配列を有する、接触させる工程；および
ｂ）前記ＵＳＰ２ａ抗体を含有する試料を前記対象から採取する工程；
を含む方法によって得られる、単離された抗体。
【請求項２０】
前記試料が免疫精製された抗血清を含有する、請求項１９に記載の単離された抗体。
【請求項２１】
モノクローナル抗体である、請求項１に記載の単離された抗体。
【請求項２２】
試料中のＵＳＰ２ａタンパク質の存在または量を検出する方法であって、前記試料を請求項１に記載の単離された抗体と接触させることを含む、方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、ＵＳＰ２ａポリペプチドおよびＵＳＰ２ａタンパク質に対する免疫特異性を有するペプチドおよび抗体、ならびにこれらのペプチドおよび抗体に関連した核酸、およびこれらのペプチドおよび抗体を使用する方法に関する。
【背景技術】
【０００２】
アメリカ癌協会によれば、２００９年に合衆国で１９０，０００例を超える前立腺癌および２７，０００を超える関連死が報告された。
ユビキチン特異的プロテアーゼ２ａ（ＵＳＰ２ａ：ｕｂｉｑｕｔｉｎ－ｓｐｅｃｉｆｉｃ　ｐｒｏｔｅａｓｅ　２ａ）は、抗アポトーシスタンパク質である脂肪酸シンターゼ（

ＦＡＳ：ｆａｔｔｙ　ａｃｉｄ　ｓｙｎｔｈａｓｅ）およびＭｄｍ２を、脱ユビキチン化することができる。ＵＳＰ２ａはまた、非形質転換細胞で過剰発現されるとき、ｉｎ　ｖｉｔｒｏでもｉｎ　ｖｉｖｏでも催腫瘍性挙動を示し、化学療法剤により誘導されるアポトーシスも妨げることが示されている。特に、幾つかのヒト癌細胞株におけるＵＳＰ２ａサイレンシングは、アポトーシスを招くことができる。

【０００３】

ＵＳＰ２ａはヒト前立腺腫瘍の約５０％で過剰発現され、また前立腺癌におけるその催腫瘍性ならびに種々のヒト腫瘍細胞株におけるその抗アポトーシスの役割は完全に証明されているため、ＵＳＰ２ａは、ヒト癌における優れた治療標的および予後マーカーとなっている。しかし、現在入手可能な抗ＵＳＰ２ａ抗体は十分に特異的ではなく、したがって他のタンパク質と交差反応する可能性が高い。このように特異性が欠如しているため、現在の抗ＵＳＰ２ａ抗体は、治療的発見においても、患者腫瘍の分析におけるマーカーとしても、有用性が低い。したがって、障害および状態、特に癌の、診断、層別化および予後に有用な、より優れたＵＳＰ２ａ抗体が依然として必要である。

【発明の概要】

【０００４】

本発明は、ＵＳＰ２ａポリペプチドおよびＵＳＰ２ａタンパク質に対する免疫特異性を有するペプチドおよび抗体を提供する。本発明はさらに、これらのペプチドおよび抗体に関連した核酸を提供する。本発明はまた、これらのペプチド、抗体および核酸を使用した、診断用組成物および治療用組成物、および診断方法および治療方法も提供する。

【０００５】

一実施形態において、本発明は、配列番号１、配列番号２およびそれらのバリアントからなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、単離されたおよび／または組換え型のＵＳＰ２ａペプチドを提供する。

【０００６】

さらなる実施形態において、本発明は、配列番号１、配列番号２およびそれらのバリアントからなる群から選択されるアミノ酸配列を含む１つまたは複数のペプチドと特異的に免疫反応する抗体を提供する。

【０００７】

一実施形態において、本発明は、配列番号１、配列番号２およびそれらのバリアントからなる群から選択されるペプチドをコードする配列を含む単離された核酸分子を提供する。

【０００８】

さらなる実施形態において、本発明のＵＳＰ２ａペプチド、抗体、または核酸は、検出可能な標識をさらに含んでもよい。本発明のＵＳＰ２ａペプチド、抗体、または核酸は、基材上に固定化されていてもよい。

【０００９】

一実施形態において、本発明は、配列番号１、配列番号２およびそれらのバリアントからなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＵＳＰ２ａペプチドと特異的に免疫反応する一次抗体を含む試料中で、ＵＳＰ２ａポリペプチドまたはＵＳＰ２ａタンパク質を検出するための組成物を提供する。さらなる実施形態において、一次抗体は、検出可能な標識で標識され得る。

【００１０】

一実施形態において、本発明の組成物は、二次抗体をさらに含んでもよい。さらなる実施形態において、二次抗体は一次抗体と反応してもよい。別の実施形態において、二次抗体は、配列番号１、配列番号２およびそれらのバリアントからなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＵＳＰ２ａペプチドと特異的に免疫反応する。さらなる実施形態において、二次抗体は、検出可能な標識で標識され得る。

【００１１】

一実施形態において、本発明は、配列番号１、配列番号２およびそれらのバリアントか

らなる群から選択されるペプチドをコードする配列の少なくとも一部を含む核酸を含む、試料中の１つまたは複数のＵＳＰ２ａポリペプチドまたはＵＳＰ２ａタンパク質を検出するための組成物を提供する。さらなる実施形態において、核酸は好ましくは、配列番号１、配列番号２およびそれらのバリアントからなる群から選択されるペプチドの全部または一部をコードする少なくとも約５個から約８０個までの核酸塩基を含む。別の実施形態において、核酸は、検出可能な標識で標識され得る。

【００１２】

一実施形態において、本発明は、対象における疾患の検出方法、診断方法、病期診断方法または進行をモニタリングする方法であって：ａ）対象から試料を入手する工程、ｂ）試料を、配列番号１、配列番号２およびそれらのバリアントからなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＵＳＰ２ａペプチドと特異的に免疫反応する抗体と接触させる工程、ｃ）前記抗体によって検出される、試料中のＵＳＰ２ａタンパク質のレベルを決定する工程、およびｄ）試料中のＵＳＰ２ａタンパク質のレベルを、ＵＳＰ２ａタンパク質のベースラインレベルと比較する工程；を含む方法を提供し、ここで、ベースラインと比較して１％、５％、５０％、７５％、１００％またはそれを上回る割合を超える試料中のＵＳＰ２ａタンパク質のレベルの差は、対象における疾患の存在、病期または進行を示す。さらなる実施形態において、疾患は癌であってもよい。

【００１３】

さらなる実施形態において、ＵＳＰ２ａタンパク質の検出は、任意のタイプの免疫測定法、例えば、免疫ブロット法、酵素結合免疫吸着測定法（ＥＬＩＳＡ：ｅｎｚｙｍｅ－ｌｉｎｋｅｄ　ｉｍｍｕｎｏｓｏｒｂｅｎｔ　ａｓｓａｙ）、放射免疫測定法（ＲＩＡ：ｒａｄｉｏｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ）、免疫沈降法、免疫組織化学（ＩＨＣ：ｉｍｍｕｎｏｈｉｓｔｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ）または免疫蛍光法から選択される免疫測定法を使用して行ってもよい。

【００１４】

一実施形態において、本発明は、対象におけるＵＳＰ２ａ疾患またはＵＳＰ２ａ状態の、検出方法、診断方法、病期診断方法または進行をモニタリングする方法であって：ａ）対象から試料を入手すること、ｂ）試料を、配列番号１、配列番号２およびそれらのバリアントからなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＵＳＰ２ａ核酸と特異的に免疫反応する核酸と接触させること、ｃ）前記抗体によって検出される、試料中のＵＳＰ２ａ核酸レベルを決定すること、およびｄ）試料中のＵＳＰ２ａ核酸レベルを、ＵＳＰ２ａ核酸のベースラインレベルと比較すること；を含む方法を提供し、ここで、ベースラインと比較して１％、５％、５０％、７５％、１００％またはそれを上回る割合を超える試料中のＵＳＰ２ａ核酸のレベルの差は、対象におけるＵＳＰ２ａ仲介性疾患の、存在、病期または進行を示す。

【００１５】

さらなる実施形態において、ＵＳＰ２ａ核酸はＤＮＡであってもよく、ＲＮＡであってもよい。さらなる実施形態において、本発明は、ＵＳＰ２ａレベルの差に基づいて、ＵＳＰ２ａ疾患またはＵＳＰ２ａ状態の治療介入または処置を一部変更するステップによって、治療介入または処置の有効性を決定することをさらに含む方法を提供する。

【００１６】

さらなる実施形態において、ＵＳＰ２ａ核酸の検出は、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ：ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅ　ｃｈａｉｎ　ｒｅａｃｔｉｏｎ）、逆転写酵素－ＰＣＲ（ＲＴ－ＰＣＲ：ｒｅｖｅｒｓｅ　ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔａｓｅ－ＰＣＲ）、ｉｎ　ｓｉｔｕハイブリダイゼーション、サザンブロット、ノーザンブロット、配列解析、遺伝子マイクロアレイ解析、およびレポーター遺伝子の検出からなる群から選択される方法によって行ってもよい。

【００１７】

一実施形態において、提供される試料は、疾患について診断、モニタリングまたは処置される予定の患者から得られ、ベースラインレベルは疾患に罹っていない患者の対照試料

から得られる。
【００１８】
別の実施形態において、試料は疾患に罹っていることが分かっている対象からであり、ベースラインレベルは同一対象の以前の試料のＵＳＰ２ａレベルを含み、ここでＵＳＰ２ａレベルの差は、対象が異なる病期にあることを示すか、または治療介入または処置の有効性、例えば、治療に対する患者の反応性を示す。
【００１９】
さらなる実施形態において、本発明の試料は、例えば、体液試料、組織試料、または細胞試料を含んでもよい。さらなる実施形態において、試料は、基材上に固定化されていてもよい。
【００２０】
一実施形態において、本発明の方法は、患者における疾患の予後を決定するために使用される。別の実施形態において、本発明の方法は、治療処置に対する患者の感受性を決定するために使用される。
【００２１】
一実施形態において、本発明は：ａ）ＵＳＰ２ａタンパク質の一部を含む少なくとも１つのＵＳＰ２ａペプチドと対象を接触させるステップであって、ＵＳＰ２ａペプチドが、長さ約５～約３０アミノ酸であり、また配列番号１、配列番号２およびそれらのバリアントからなる群から選択される配列を有するステップと、ｂ）ＵＳＰ２ａ抗体を含有する試料を対象から採取するステップとを含む方法によって得られる抗体を提供する。さらなる実施形態において、採取される試料は、免疫精製された抗血清を含有する。
【００２２】
別の実施形態において、本発明の方法によって生成される抗体はモノクローナル抗体である。さらなる実施形態において、本発明の方法によって生成される抗体は検出可能な標識を含有する。
【００２３】
一実施形態において、本発明は、本発明の単離された抗体と試料を接触させることを含む、試料中のＵＳＰ２ａタンパク質の存在または量を検出する方法を提供する。
一実施形態において、本発明はまた、配列番号１、配列番号２、およびそれらのバリアントからなる群から選択されるペプチドをコードする配列を含む核酸を含む発現ベクターも提供する。さらなる実施形態において、本発明は、発現ベクターでトランスフェクションされた宿主細胞を提供する。
【発明を実施するための形態】
【００２４】
本発明は、ＵＳＰ２ａペプチドおよびＵＳＰ２ａタンパク質に対する免疫特異性を有するペプチドおよび抗体、ならびにこれらのペプチドおよび抗体に関連した核酸、およびこれらのペプチドおよび抗体を使用する方法に関する。
【００２５】
別段の定義がない限り、本明細書で使用される全ての技術用語および科学用語は、本発明が属する技術分野における当業者によって一般に理解されている意味と同じ意味を有する。本明細書に記述されているものと類似したまたは同等の方法および材料を、本発明で特徴づけられる方法の実施またはテストで使用することができるが、好適な方法および材料を後述する。
定義
便宜上、本明細書、実施例、および添付の特許請求の範囲で使用される特定の用語および句の意味を以下に提供する。定義は、本質的に限定するためのものではなく、本発明の特定の態様をより明瞭に理解するためのものである。
【００２６】
用語「ペプチド」は、１つのアミノ酸のカルボキシル基と別のアミノ酸のアミノ基によって連結された２つ以上のアミノ酸を含む、天然または合成の分子を指す。本発明のペプ

チドは長さによって限定されず、従って本用語は、ポリペプチドおよびタンパク質を含む。本発明の「ＵＳＰ２ａペプチド」は、ＵＳＰ２ａタンパク質に由来するペプチドフラグメントであり、好ましくは長さ約２～約１００アミノ酸、より好ましくは長さ約５～約５０アミノ酸、より好ましくは長さ約１０～約３０アミノ酸、さらにより好ましくは長さ約１０～約２０アミノ酸である。ポリペプチドおよびタンパク質という用語は時には互換的に使用される。「ＵＳＰ２ａポリペプチド」または「ＵＳＰ２ａタンパク質」は、ＵＳＰ２ａタンパク質全体（配列番号３）、あるいはそのフラグメントまたはバリアントを指すこともある。「フラグメント」は、本明細書で使用されるとき、別のポリペプチドまたはタンパク質の一部であるポリペプチドまたはタンパク質を指す。例えば、タンパク質のフラグメントは、培養細胞から単離された全長タンパク質を消化することにより得られるポリペプチドを含むことがある。本明細書で使用されるとき、ペプチドまたはタンパク質の「バリアント」は、親分子の少なくとも機能的均等物として定義されるが、配列の２０％以下は親分子と配列が異なってもよい。

【００２７】

用語「免疫原性エピトープ」は、当技術分野で既知の任意の方法で、例えば、本明細書に記載の抗体を生成する方法で決定されるような、動物において抗体応答を誘発するペプチドの一部を指す。（例えば、ギーセン（Ｇｅｙｓｅｎ）ら著、米国科学アカデミー紀要（Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ）、１９８３年、第８１巻、ｐ．３９９８～４００２参照）。用語「抗原エピトープ」は、当技術分野で周知の任意の方法で、例えば、本明細書に記載の免疫測定法で決定されるような、抗体がその抗原に免疫特異的に結合できるタンパク質の一部を指す。抗原エピトープは必ずしも免疫原性である必要はない。エピトープとして機能するペプチドは、任意の従来の手段で産生してもよい。（例えば、ホーテン（Ｈｏｕｇｈｔｅｎ）著、米国科学アカデミー紀要（Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ）、１９８５年、第８２巻、ｐｐ．５１３１～５１３５参照；および米国特許第４，６３１，２１１号明細書に記述されている）。

【００２８】

用語「単離された」は、ペプチド、核酸、または抗体に関して、そのもともとの環境（例えば、それが天然に存在する物質であれば、自然環境）から排除される物質を指す。例えば、天然に存在する核酸またはペプチドあるいは生きている動物に存在する抗体は単離されていないが、自然体系に共存する物質の一部または全部から分離されている同じ核酸またはペプチドあるいは抗体は、単離されている。そのような単離された核酸がベクターの一部であることもあり、またそのような単離された核酸またはペプチドあるいは抗体が組成物の一部であることもあるが、ベクターまたは組成物がその自然環境の一部ではない点で、やはり単離されている。「単離された」ペプチド、核酸または抗体は、合成された、または組換えＤＮＡ技術で産生された物質、ならびに本発明の抗体を含有する血清等の製剤も含む。

【００２９】

用語「特異的に免疫反応する」は、本明細書で使用されるとき、ペプチドおよび他の生物製剤の異質集団の存在下でペプチドの存在を決定するような、測定可能かつ再現可能な特異的免疫反応、例えばペプチドと抗体間の結合等を指す。特異的に免疫反応するという用語は、構造形状および表面特徴の特異的認識を包含することもある。したがって、指定条件下で、特定のペプチドに特異的に免疫反応する抗体は、試料中に存在する他のペプチドにさほど結合しない。あるペプチドに特異的に免疫反応する抗体は、少なくとも$10^{3}M^{-1}$または$10^{4}M^{-1}$、時には約$10^{5}M^{-1}$または$10^{6}M^{-1}$、他の例では$10^{6}M^{-1}$または$10^{7}M^{-1}$、好ましくは約$10^{8}M^{-1}$～$10^{9}M^{-1}$、さらに好ましくは約$10^{10}M^{-1}$～$10^{11}M^{-1}$またはそれを上回る会合定数を有する。種々の免疫測定フォーマットを使用して、抗体がある特定のペプチドに特異的に免疫反応するかどうかを決定することができる。例えば、固相ＥＬＩＳＡ免疫測定法は、ペプチドと特異的に免疫反応性するモノクローナル抗体を選択するために日常的に使用される。特異的免疫反応性を決定するために使用できる免疫測定フォーマットおよび条件に関する記述につい

ては、例えば、ハーロー（Ｈａｒｌｏｗ）およびレーン（Ｌａｎｅ）著、「抗体，実験マニュアル（Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ）」、コールド・スプリング・ハーバ・パブリケイションズ（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎｓ）、ニューヨーク、１９８８年を参照されたい。

【００３０】

用語「抗体」は、天然であるか、部分的にまたは完全に合成的に製造されたものであるかを問わず、免疫グロブリンを指す。特異的結合能を保持するその全ての誘導体も、本用語に包含される。本用語はまた、免疫グロブリン結合ドメインと相同または概ね相同である結合ドメインを有するあらゆるタンパク質も包含する。抗体は、所与の抗原（例えば、本発明のＵＳＰ２ａペプチド）に対して特異的に免疫反応性であり得る。抗体という用語は、本明細書で使用されるとき、あらゆるアイソタイプ（ＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＭ、ＩｇＥ等）の全抗体、およびそれらのフラグメントを包含することを意図する。本発明の抗体はまた、抗体製剤、例えば、血清（抗血清）も包含する。従来技術を使用して、抗体をフラグメント化することができ、そのフラグメントを、全抗体と同じ方法で有用性についてスクリーニングすることができる。したがって、本用語は、特定のタンパク質またはペプチドと選択的に反応する抗体分子の、タンパク質加水分解で開裂された部分または組換えで調製された部分のセグメントを包含する。そのようなタンパク質分解フラグメントおよび／または組換え型フラグメントの非限定的例としては、ペプチドリンカーにより結合されたＶ［Ｌ］ドメインおよび／またはＶ［Ｈ］ドメインを含有する、Ｆａｂ、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆａｂ’、Ｆｖ、および一本鎖抗体（ｓｃＦｖ）などが挙げられる。ｓｃＦｖは、共有結合または非共有結合して、２つ以上の結合部位を有する抗体を形成し得る。

【００３１】

用語「モノクローナル抗体」は、本明細書で使用されるとき、実質的に同種の抗体集団から得られる抗体、すなわち、モノクローナル抗体の産生中に生じ得る、あり得るバリアント（そのようなバリアントは概して少量で存在する）を除けば、その集団を含む個々の抗体は、全く同じでありかつ／または同じエピトープを結合する抗体を指す。一般に、異なる決定基（エピトープ）に対する異なる抗体を含むポリクローナル抗体製剤と対照的に、各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に向けられる。この種の抗体は、１つの抗体産生性ハイブリドーマの娘細胞により産生される。モノクローナル抗体は、一般に、それが免疫反応するあらゆるエピトープに対して単一の結合アフィニティを示す。

【００３２】

修飾語「モノクローナル」は、実質的に同種の抗体集団から得られるものとしての抗体の特性を示すものであって、特別の方法による抗体の産生を必要とすると解釈すべきではない。モノクローナル抗体は、一種類の抗原のみを認識する。本明細書のモノクローナル抗体は、重鎖および／または軽鎖の一部は、ある特定の種に由来するかまたは特定の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体における対応する配列と全く同じであるかまたは相同であるが、鎖の残りは、別種に由来するかまたは別の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体における対応する配列と全く同じであるかまたは相同である、「キメラ」抗体（免疫グロブリン類）、ならびにそのような抗体のフラグメントを包含する。抗体の調製は、モノクローナルであれポリクローナルであれ、当技術分野で知られている。抗体産生技術は当技術分野で周知であり、例えば、ハーロー（Ｈａｒｌｏｗ）およびレーン（Ｌａｎｅ）著、「抗体，実験マニュアル（Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ）」、コールド・スプリング・ハーバ・ラボラトリー・プレス（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ）、１９８８年およびハーロー（Ｈａｒｌｏｗ）およびレーン（Ｌａｎｅ）著、「抗体を使用する：実験マニュアル（Ｕｓｉｎｇ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ）」、コールド・スプリング・ハーバ・ラボラトリー・プレス（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ）、１９９９年に記述されている。

【００３３】

モノクローナル抗体は、各々異なるエピトープに免疫特異性である複数の抗体結合部位を有する抗体分子、例えば、二重特異性モノクローナル抗体を含んでもよい。モノクローナル抗体は、当業者に既知の方法で得ることが可能である。ケーラー（Ｋｏｈｌｅｒ）およびミルスタイン（Ｍｉｌｓｔｅｉｎ）著、ネイチャー（Ｎａｔｕｒｅ）、１９７５年、第２５６巻、ｐｐ．４９５～４９７；米国特許第４，３７６，１１０号明細書；オースベル（Ａｕｓｕｂｅｌ）ら著、「分子生物学における現行プロトコール（Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ）」、１９８７年版、１９９２年版、グリーン・パブリッシング・アソシエーツ・アンド・ウィレイ・インターサイエンス（Ｇｒｅｅｎｅ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ａｓｓｏｃ．ａｎｄ Ｗｉｌｅｙ Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅ）、ニューヨーク；ハーロー（Ｈａｒｌｏｗ）およびレーン（Ｌａｎｅ）著、「抗体（Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ）：実験マニュアル（Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ）、１９８８年、コールド・スプリング・ハーバ・ラボラトリー（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ）；コロガン（Ｃｏｌｌｉｇａｎ）ら著、「免疫学における現行プロトコール（Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ）」、１９９２年版、１９９３年版、グリーン・パブリッシング・アソシエーツ・アンド・ウィレイ・インターサイエンス（Ｇｒｅｅｎｅ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ａｓｓｏｃ．ａｎｄ Ｗｉｌｅｙ Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅ）、ニューヨーク；アイヤル（Ｉｙｅｒ）ら著、インディアン・ジャーナル・オブ・メディカル・リサーチ（Ｉｎｄ．Ｊ．Ｍｅｄ．Ｒｅｓ．）、２０００年、第１２３巻、ｐ．５６１～５６４。

【００３４】

本明細書で使用されるとき、用語「核酸」は、ポリヌクレオチド、例えばデオキシリボ核酸（ＤＮＡ）、および、該当する場合、リボ核酸（ＲＮＡ）等を指す。本用語はまた、均等物として、ヌクレオチド類似物から作成されるＲＮＡまたはＤＮＡのいずれかの類似物、および記載されている実施形態に適用できるとき、一本鎖（センスまたはアンチセンス）および二本鎖ポリヌクレオチドを包含すると理解すべきである。ＥＳＴ、染色体、ｃＤＮＡ、ｍＲＮＡ、およびｒＲＮＡは、核酸と呼ばれ得る分子の代表例である。核酸という用語は、長さによって限定されず、したがって、「ポリヌクレオチド」および「オリゴヌクレオチド」を含む。「ＵＳＰ２ａペプチドをコードする核酸」は、本明細書で使用されるとき、好ましくは、長さ約６～約３００ヌクレオチド、より好ましくは長さ約１５～約１５０ヌクレオチド、より好ましくは長さ約３０～約９０ヌクレオチド、より好ましくは長さ約３０～約６０ヌクレオチドである。

【００３５】

本明細書で使用されるとき、用語「ストリンジェントな条件」は、互いに酷似している核酸配列のみがハイブリダイズするであろう条件を指す。特定のハイブリダイゼーションのストリンジェンシーを決定する厳密な条件は、イオン強度、温度、およびホルムアミド等の不安定化剤の濃度のみならず、核酸配列の長さ、それらの塩基組成、２配列間のミスマッチ塩基対のパーセント、および他の同一でない配列内での配列のサブセット（例えば、短い反復伸長）の出現頻度も包含する。本条件は一般に、（１）１Ｘ ＳＳＣ（１０Ｘ ＳＳＣ＝3Ｍ ＮａＣｌ、０．３Ｍ $Ｎａ_3$－クエン酸塩．$２Ｈ_2Ｏ$（８８ｇ／リットル）、１Ｍ ＨＣｌでｐＨ７．０にする）、１％ＳＤＳ（ドデシル硫酸ナトリウム）、０．１～２ｍｇ／ｍｌ変性サケ精子ＤＮＡ、６５℃；（２）１Ｘ ＳＳＣ、５０％ホルムアミド、１％ＳＤＳ、０．１～２ｍｇ／ｍｌ変性サケ精子ＤＮＡ、４２℃；（３）１％ウシ血清卵白（画分Ｖ）、１ｍＭ $Ｎａ_2$．ＥＤＴＡ、０．５Ｍ $ＮａＨＰＯ_4$（ｐＨ７．２）（１Ｍ $ＮａＨＰＯ_4$＝$Ｎａ_2ＨＰＯ_4 7Ｈ_2Ｏ$ １３４ｇ、８５％$Ｈ_3ＰＯ_4$／リットル ４ｍｌ）、７％ＳＤＳ、０．１～２ｍｇ／ｍｌ変性サケ精子ＤＮＡ、６５℃；（４）５０％ホルムアミド、５Ｘ ＳＳＣ、０．０２Ｍ Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ（ｐＨ７．６）、１Ｘデンハート（Ｄｅｎｈａｒｄｔ）液（１００Ｘ＝フィコール４００ １０ｇ、ポリビニルピロリドン１０ｇ、ウシ血清アルブミン（画分Ｖ）１０ｇ、水で５００ｍｌにする）、１０％デキストラン硫酸、１％ＳＤＳ、０．１～２ｍｇ／ｍｌ変性サケ精子ＤＮＡ、４２

℃；（５）５Ｘ　ＳＳＣ、５Ｘデンハート液、１％ＳＤＳ、１００［ｇ／ｍｌ変性サケ精子ＤＮＡ、６５℃；または（６）５Ｘ　ＳＳＣ、５Ｘデンハート液、５０％ホルムアミド、１％ＳＤＳ、１００μｇ／ｍｌ変性サケ精子ＤＮＡ　４２℃でのいずれかのハイブリダイゼーションと、（１）０．３～０．１ＸＳＳＣ、０．１％ＳＤＳ、６５℃；または（２）１ｍＭ　Na_2EDTA、４０ｍＭ　$NaHPO_4$（ｐＨ７．２）、１％ＳＤＳ、６５℃、のいずれかの高ストリンジェンシー洗浄とを指す。上記条件は、５０塩基対またはそれより長いＤＮＡ－ＤＮＡハイブリッドに使用することを意図する。ハイブリッドが長さ１８塩基対未満であると考えられる場合、ハイブリダイゼーションおよび洗浄温度は、計算されたハイブリッドのT_m温度より５～１０℃低くなくてはならず、ここでT_m（℃）＝（２×Ａ塩基およびＴ塩基の数）＋（４×Ｇ塩基およびＣ塩基の数）である。長さ約１８～約４９塩基対であると考えられるハイブリッドの場合、T_m（℃）＝（８１．５℃＋１６．６（log_{10}Ｍ）＋０．４１（％Ｇ＋Ｃ）－０．６１（％ホルムアミド）－５００／Ｌ）であり、ここで「Ｍ」は、一価カチオン（例えば、Na^+）のモル濃度であり、「Ｌ」は、塩基対でのハイブリッドの長さである。

【００３６】

用語「プライマー」は、１つまたは複数のタイプの化学結合を介して、通常は相補的塩基対合、例えば、水素結合形成を介して、相補配列の標的核酸に結合する核酸を指す。本明細書で使用されるとき、プライマーは、天然塩基（すなわち、Ａ、Ｇ、Ｃ、またはＴ）または修飾塩基（７－デアザグアノシン、イノシン等）または糖部分を包含することがある。加えて、プライマーにおける塩基は、ハイブリダイゼーションを妨害しない限り、リン酸ジエステル結合以外の結合によって結合されていてもよい。したがって、例えば、プライマーは、構成塩基がリン酸ジエステル結合ではなくペプチド結合によって結合されているペプチド核酸であってもよい。ハイブリダイゼーション条件のストリンジェンシーによっては、プライマーは、プローブ配列との完全な相補性を欠く標的配列と結合できることを、当業者は理解するであろう。「プローブ」は、当技術分野で既知の方法によって、検出可能な標識で直接的または間接的に標識されるプライマーである。プライマーは鎖伸長を開始することができる。プローブ結合またはプライマー伸長生成物の有無またはレベルについてアッセイすることにより、標的核酸の有無、またはレベルを検出することができる。好ましくは、本発明のプローブまたはプライマーは、長さ約８～１００ヌクレオチド、より好ましくは約１２～５０ヌクレオチド、より好ましくは長さ約１２～３５ヌクレオチドである。

【００３７】

本明細書で使用されるとき、用語「検出可能な標識」は、分光学的手段、光化学的手段、生化学的手段、免疫化学的手段または化学的手段で検出可能な組成物を指す。検出可能な標識は、例えば、放射性同位体、蛍光化合物、酵素、および酵素補因子からなる群から選択することができる。

【００３８】

表現「保存的アミノ酸置換」は、本明細書で使用されるとき、アミノ酸残基が類似した電荷を有する側鎖を有するアミノ酸残基と置き換えられる置換である。類似した電荷を有する側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当技術分野で明確にされている。これらのファミリーは、塩基性側鎖（例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非電荷極性側鎖（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン）、非極性側鎖（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）、β－分岐側鎖（例えば、トレオニン、バリン、イソロイシン）および芳香族側鎖（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）を有するアミノ酸を含む。或いは、例えば飽和ミュタポリヌクレオチドシス（ｓａｔｕｒａｔｉｏｎ　ｍｕｔａｐｏｌｙｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓｉｓ）等により、コード配列の全部または一部に沿ってランダムに、突然変異を導入することもできる。結果として生じる突然変異体を生物活性についてスクリーニングし、活性を保持する突然変異体を同定す

ることができる。

【００３９】

本明細書で使用されるとき、用語「バイオマーカー」は分子であり、その核酸産物またはタンパク質産物のレベルは、対象における生物学的状態の様相に関して量的に他と異なる濃度またはレベルを有する。バイオマーカーのレベルは、核酸レベルとポリペプチドレベルの両方で測定することができる。核酸レベルでは、対象の染色体ゲノムおよび例えばミトコンドリアゲノムを含む染色体外ゲノムの一部から転写された核酸遺伝子または転写産物を測定することが可能である。好ましくはＲＮＡ転写産物、より好ましくはＲＮＡ転写産物は、一次転写産物を含み、バイオマーカーのスプライシングされた転写産物、選択的にスプライシングされた転写産物、またはｍＲＮＡが測定される。ポリペプチドレベルでは、バイオマーカーのプレプロペプチド、プロペプチド、成熟ペプチドまたは分泌ペプチドを測定することが可能である。本明細書で定義される関心対象の生物学的状態との相関関係を可能にするために、バイオマーカーは、単独でまたは１つまたは複数の他の同定されたバイオマーカーと併せて使用することができる。

【００４０】

用語「生物学的状態」は、一連の生物学的プロセスの発生の結果を意味するために、本明細書で使用される。生物学的プロセスは互いに関連して変化するため、生物学的状態も変化を受ける。生物学的状態の一測定は、特定の時刻および特定の実験条件下または環境条件下の、バイオマーカー等の生物学的変数の活性のレベル、パラメータ、および／またはプロセスである。生物学的状態は、例えば、個々の細胞、器官、組織、および／または多細胞生物の状態を含むことができる。生物学的状態は、正常対象または疾患対象から採取した試料で測定することができる。したがって、異なる時間間隔での生物学的状態の測定は、対象における疾患進行の状態を示し得る。生物学的状態という用語は、したがって、疾患を示す状態（例えば、診断）、疾患の進行または退行を示す状態（予後）、対象の疾患への易罹患性を示す状態（リスク）；および疾患のための処置の有効性を示す状態を含む。

【００４１】

生物学的状態という用語はまた、疾患状態と関連した臨床徴候および診断基準に言及するためにも本明細書で使用される。疾患状態の生物学的状態は、生物学的変数の測定で定量化することができる。例えば、糖尿病の疾患状態の場合、生物学的変数は、空腹時血糖値、随時血糖値、または経口ブドウ糖負荷試験（ＯＧＴＴ：ｏｒａｌ　ｇｌｕｃｏｓｅ　ｔｏｌｅｒａｎｃｅ　ｔｅｓｔ）値を包含することができる。

【００４２】

用語「疾患状態の標準パターン」は、特定の実験条件下で、罹患生物系で測定される一連の生物学的変数を意味するために本明細書で使用される。例えば、特定のグルコース刺激後またはインスリン刺激後、特定の時刻の血液試料で、測定を実施してもよい。

【００４３】

用語、バイオマーカー発現または活性の「ベースラインレベルまたは「対照レベル」は、テスト試料におけるバイオマーカー発現を比較することができるレベルを指す。

用語、個体における「癌」は、発癌性細胞に特有の特徴、例えば制御されない増殖、不死性、転移能、急速な成長速度および増殖速度、ならびに独特の形態学的特徴等を有する、細胞の存在を指す。多くの場合、癌細胞は腫瘍の形になるが、そのような細胞は個体内に単独で存在することもあり、例えば白血病細胞など、独立した細胞として血流を循環することもある。

【００４４】

用語「前立腺癌」は、前立腺組織の癌を意味する。

表現「ＵＳＰ２ａ疾患またはＵＳＰ２ａ状態」は、ＵＳＰ２ａが関与している疾患または障害を指す。ＵＳＰ２ａ疾患または障害の例としては、癌、メタボリックシンドローム等が挙げられるが、その限りではない。前立腺癌および／または乳癌は、ＵＳＰ２ａ疾患またはＵＳＰ２ａ状態の例である。

【００４５】
本明細書で使用されるとき、用語「有効性」は、細胞増殖性障害の原因となるかまたは一因となる細胞成長のある程度の抑制、あるいは細胞増殖性障害の原因となるかまたは一因となる因子（例えば、成長因子）の産生のある程度の抑制のいずれかを指す。「治療有効性」は、細胞増殖性障害の症状の１つまたは複数の軽減を指す。癌の処置に関して、治療有効性は、下記の１つまたは複数を指す：１）癌細胞数の減少；２）腫瘍サイズの減少；３）末梢器官への癌細胞浸潤の抑制（例えば、ある程度の減速、好ましくは停止）；４）腫瘍成長の、ある程度の抑制；および／または５）障害に随伴する症状の１つまたは複数をある程度軽減すること。癌以外の細胞増殖性障害の処置に関して、治療有効性は、１）障害の原因となる細胞の成長のある程度の抑制；２）障害の原因となる因子（例えば、成長因子）産生のある程度の抑制；および／または３）障害に随伴する症状の１つまたは複数をある程度軽減することのいずれかを指す。
【００４６】
本明細書で使用されるとき、用語「試料」または「生体試料」は、全生物またはその組織、細胞または構成部分（例えば、血液、抗血清、粘液、リンパ液、滑液、脳脊髄液、唾液、羊水、羊膜帯血、尿、膣液および精液を含むがその限りではない、体液）のサブセットを指す。試料または生体試料はさらに、全生物またはその組織、細胞または構成部分のサブセットから調製されるホモジネート、溶解物または抽出物、あるいはその画分または一部を指し、例えば、血漿、血清、髄液、リンパ液、皮膚、気道、腸管、および尿生殖路の外部区域、涙、唾液、乳、血球、腫瘍、器官を含むがその限りではない。ほとんどの場合、試料は動物から摘出されたものであるが、試料または生体試料という用語は、ｉｎｖｉｖｏで、すなわち動物から摘出されずに分析される細胞または組織を指すこともある。一般に、試料または生体試料は動物由来の細胞を含有するが、本用語は、非細胞生体物質、例えば癌関連のポリヌクレオチドレベルまたはポリペプチドレベルを測定するために使用することができる、血液、唾液、または尿の、非細胞画分等を指すこともある。試料または生体試料はさらに、細胞成分、例えばタンパク質や核酸分子等を含有する、生物を増殖させたニュートリエントブロスまたはゲル等の培地を指す。
【００４７】
用語「自家」は、評価される予定の試料が得られるのと同じ対象から試料が得られることを意味する。
用語「対象」は、脊椎動物を指し、好ましくは哺乳動物、より好ましくは霊長類であり、さらにより好ましくはヒトである。哺乳動物としては、霊長類、ヒト、家畜、スポーツ動物、およびペットなどが挙げられるが、その限りではない。
【００４８】
用語「患者」は、処置を要するかまたは必要としている対象、処置を受けている対象、処置を受けるであろう対象および／または特定の疾患または状態について医学的に訓練を受けたプロによるケアを受けている対象を指す。
【００４９】
用語「状態」は、細胞、器官、器官系または生物の状態を指す。状態は、疾患状態または単に実体の生理学的提示または状況を表すこともある。状態は、表現型の状態、例えば疾患の肉眼的提示等、または遺伝子型の状態、例えば状態と関連した基本的な遺伝子発現プロフィールまたはタンパク質発現プロフィールとして、特徴づけることが可能である。状態は良性のこともあり、悪性のこともある。
【００５０】
本明細書で使用されるとき、用語「処置すること」は、別段の指示がない限り、疾患または状態の進行を、逆戻りさせること、緩和すること、抑制すること、あるいは疾患または状態の増大を部分的にまたは完全に防止することを意味する。用語「処置」は本明細書で使用されるとき、別段の指示がない限り、処置することの行為を指す。
【００５１】
用語「予測」は、将来的に、特定の事象が起こるであろう、または起こる可能性が高い

という意見または主張を意味する。
用語「予後」は、将来的に、特定の生物学的事象が起こるであろう、または起こる可能性が高いという意見または主張を意味する。予後は、生物学的事象のある特定の転帰、例えば、生存期間を示すこともある。
【００５２】
用語「進行」は、疾患または状態の進展または悪化、あるいは疾患または状態に向かう進展または悪化を意味する。
用語「細胞成長」は、主として細胞数の増大と関連しており、細胞複製（すなわち増殖）によって、細胞複製の速度が細胞死（例えば、アポトーシスや壊死による）の速度より大きいときに起こり、細胞集団のサイズの増大をもたらすが、成長の小構成要素は、ある特定の環境では、個々の細胞の細胞サイズまたは細胞質量の増加にも起因する場合がある。したがって、細胞成長を抑制する作用剤は、増殖を抑制するかまたは細胞死を促進するかのいずれか、またはその両方によって、細胞成長を抑制することができ、その結果増殖抑制と細胞死促進という２つの対立するプロセス間の平衡が変化する。
【００５３】
用語「腫瘍成長」は本明細書で使用されるとき、別段の指示がない限り、腫瘍学で一般に使用されるように使用され、ここで本用語は、主として腫瘍細胞成長の結果として、主に腫瘍の塊または量の増加と関連している。
【００５４】
用語「担体」は本明細書で使用されるとき、有効成分、例えば、本発明の核酸、ペプチドまたは抗体と共に投与される希釈剤、アジュバント、賦形剤、または媒体を指す。そのような担体は、水および油等の無菌液体であってもよい。
【００５５】
表現「薬学的に許容される担体」は、有効成分の生物活性の効力を妨げない無毒の物質を指す。薬学的に許容される担体はまた、ヒトに投与されるとき、生理学的に容認できて、一般に厄介な反応をもたらさない分子実体および組成物も指す。好ましくは、用語「薬学的に許容される」は、連邦政府または州政府の監督機関により承認されるか、あるいは米国薬局方に収載されるか、または他の一般に認められた、動物、およびより具体的にはヒトで使用するための薬物類を意味する。担体の特徴は、投与経路によって異なる。好適な医薬担体は、Ｅ．Ｗ．マーティン（Ｍａｒｔｉｎ）著、「レミントンの薬科学（Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ）」、第２０版に記述されている。
【００５６】
用語「免疫測定法」は、特定の物質を同定および測定するために、抗原への抗体の結合を使用する試験を指す。免疫測定法は多くの場合、疾患を診断するために使用され、試験結果は、治療計画に役立ち得る疾患に関する情報を提供することができる。免疫測定法は、抗体の、その抗原への特異的結合を利用する。モノクローナル抗体は、通常は特定の分子の１部位のみに結合し、したがって、他の分子の存在によって混乱されにくい、より特異的で正確な試験を提供するため、しばしば使用される。アッセイが十分な感度を有することを確実にするために、抗原の非常に高い割合が抗体に結合しなければならないため、使用される抗体は、関心対象の抗原に対して高いアフィニティを持たなければならない。
【００５７】
用語「ＰＣＲ」または「ＲＴ－ＰＣＲ」は、ポリメラーゼ連鎖反応技術の略語であり、本明細書で使用されるとき、合成のものか発現されたものかを問わず、核酸レベルの検出または決定のための技術を指す。
【００５８】
用語「免疫組織化学的」または略語「ＩＨＣ」は、本明細書で使用されるとき、抗体の、生体試料中の抗原への結合特性を利用することによって、生体試料中の抗原（例えば、タンパク質）を検出するプロセスを指す。
【００５９】

用語「酵素結合免疫吸着測定法」または略語「ＥＬＩＳＡ」は、本明細書で使用されるとき、生体試料中の抗原（例えば、タンパク質）を検出するための技術を指す。

用語「放射免疫測定法」または略語「ＲＩＡ」は、本明細書で使用されるとき、生体試料中の抗原（例えば、タンパク質）を検出するための技術を指す。

ＵＳＰ２ａ

本発明は、ＵＳＰ２ａペプチドおよびこれらのＵＳＰ２ａペプチドに特異的に免疫反応する抗体を提供する。本発明のペプチドおよび抗体をコードする核酸、ならびにＵＳＰ２ａペプチドまたはタンパク質にハイブリダイズするプローブおよびプライマーも提供される。本発明はまた、ＵＳＰ２ａペプチドおよび抗体を使用する方法も提供する。本ペプチド、抗体、および核酸は、ＵＳＰ２ａ関連の生物活性、例えば、シグナル伝達、ならびに疾患診断、モニタリング、予後および治療の調査研究に使用することが可能である。

単離ＵＳＰ２ａペプチド

本発明は単離されたＵＳＰ２ａペプチドおよびそれらのバリアントおよび／または誘導体、ならびに２つ以上のＵＳＰ２ａペプチド、バリアントまたは誘導体を含有する組成物を提供する。

【００６０】

好ましくは、本発明のＵＳＰ２ａペプチドは、ＵＳＰ２ａペプチドに対して特異的に免疫反応する抗体産生のためのエピトープであるかまたはエピトープを含有する。

好ましい実施形態において、本発明のペプチドは、免疫原性エピトープまたは抗原エピトープから選択されるエピトープを含有するかまたは含むペプチドを含む。

【００６１】

一実施形態において、本発明のＵＳＰ２ａペプチドは、当技術分野で既知の方法により、また下記の通りに、合成される。別の好ましい実施形態においては、ＵＳＰ２ａペプチドは、本ペプチドをコードする核酸を発現させることによって産生される。

【００６２】

ＵＳＰ２ａペプチドは、当技術分野で周知の様々な方法で合成することができる。例えば、リボソーム指令発酵法（ｒｉｂｏｓｏｍａｌｌｙ－ｄｉｒｅｃｔｅｄ　ｆｅｒｍｅｎｔａｔｉｏｎ）、ならびに非リボソーム的戦略および化学合成方法。２０個の天然アミノ酸を含有するＵＳＰ２ａペプチドは、宿主生物、例えば、大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）のリボソーム指令ペプチド合成装置を利用する組換え発現システムによって調製することができる。あるいは、非天然のアミノ酸もしくは非タンパク質新生アミノ酸または修飾されたアミノ酸側鎖を有するものを含むＵＳＰ２ａペプチドは、ペプチドの液相化学合成（例えば、Ｎ－Ｂｏｃ保護および活性化エステル経路を使用する）によって調製することができる。ペプチドのシーケンス液相化学合成のためのプルトコールは、アンダーソン（Ａｎｄｅｒｓｓｏｎ）ら著、バイオポリマー（Ｂｉｏｐｏｌｙｍｅｒｓ）、第５５巻、ｐｐ．２２７～２５０（２０００年）に記述されている。ペプチドを生成するために使用される一方法は、液相化学合成であり、Ｎ－ｔｅｒｔ－ブトキシ（Ｎ－Ｂｏｃ）保護アミノ酸およびＣ－保護アミノ酸を使用する（アンダーソン（Ａｎｄｅｒｓｓｏｎ）ら著、バイオポリマー（Ｂｉｏｐｏｌｙｍｅｒｓ）、第５５巻、ｐｐ．２２７～２５０（２０００年））。化学的に触媒されるペプチド合成のための代替液相法は、カップリングのためのカルボキシル成分として、予め活性化されたエステルを使用する（アンダーソン（Ａｎｄｅｒｓｓｏｎ）ら著、バイオポリマー（Ｂｉｏｐｏｌｙｍｅｒｓ）、第５５巻、ｐｐ．２２７～２５０（２０００年））。加えて、酵素仲介固相ペプチド合成も使用されてきた。固相ペプチド合成（ＳＰＰＳ：ｓｏｌｉｄ　ｐｈａｓｅ　ｐｅｐｔｉｄｅ　ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ）は、不溶性樹脂支持体を使用し、ペプチド合成を簡略化して加速し、また精製を容易にした（メリフィールド（Ｍｅｒｒｉｆｉｅｌｄ）、Ｒ．Ｂ．著、米国化学会誌（Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．）、第８５巻、ｐｐ．２１４９～２１５４（１９６３年））。成長するペプチドは不溶性樹脂上に固定されるため、未反応の可溶性試薬は、操作的損失なしに簡単な濾過または洗浄によって除去することができる。オートメーションを使用して、固相ペプチド合成を実施することができる。当業者は、様々なペプチドが本発明の精神および

範囲の中であることを認識するであろう。

【００６３】

別の実施形態において、例えば、ペプチドのアミノ末端および／またはカルボキシ末端におけるアセチル基もしくはアミン基またはアミノ酸の付加によって、本発明のＵＳＰ２ａペプチドを修飾することができる。例えば、エピトープが、天然のタンパク質におけるエピトープの構造にもっと近似した立体配座を持つように、エピトープ担持ペプチドの立体配座を変更するために、アミノ酸付加修飾を実施することもできる。本発明の修飾されたエピトープ担持ペプチドの一例は、２つのシステイン間のジスルフィド結合形成を可能にするために、１つまたは複数のシステイン残基がペプチドに付加されており、その結果として非還元条件下でエピトープ担持ペプチドの安定したループ構造を生じるペプチドである。ジスルフィド結合は、ペプチドに付加されたシステイン残基と天然のエピトープのシステイン残基との間、あるいはともに天然のエピトープ担持ペプチドに付加された２つのシステイン間に、形成することができる。

【００６４】

加えて、ジスルフィド結合したループ構造の形成を促進するために、システインとの置換によってペプチドの１つまたは複数のアミノ酸残基を修飾することが可能である。例えば、ＰＣＴ国際公開第９７／４６２５１号（参照により全体として本明細書に援用する）に記述されている、当技術分野で既知の技術を使用して合成ペプチドの環状チオエーテル分子を容易に生成することができる。本発明で熟考されるエピトープ担持ペプチドの他の修飾としては、ビオチン化が挙げられる。

【００６５】

一実施形態において、本発明のＵＳＰ２ａペプチドは、アミノ末端におけるアセチル基付加および／またはカルボキシル末端におけるアミド基付加によって修飾される。

本発明のＵＳＰ２ａペプチドは、キメラペプチドとして、例えば融合ペプチドの形で提供することができる。例えば、ＵＳＰ２ａペプチドは、ＵＳＰ２ａペプチドと無関係の（非相同）アミノ酸配列を有する第２のペプチド部分を含む組換え型融合ペプチドとして提供することができる。例えば、第２のペプチド部分は、グルタチオン－Ｓ－トランスフェラーゼであってもよく、アルカリホスファターゼ等の酵素活性を有するペプチド、またはエピトープタグであってもよい。

【００６６】

実施形態において、本発明のＵＳＰ２ａペプチドは、生物活性、例えば、リガンドに結合する能力を有する。例えば、ＵＳＰ２ａペプチドは、リガンドへの結合でＵＳＰ２ａタンパク質と競合することが可能であり、したがってＵＳＰ２ａタンパク質の活性を特異的に調節する。

【００６７】

一実施形態において、ＵＳＰ２ａペプチドは、配列番号１または配列番号２のいずれかで表される配列と同一かまたは相同であるアミノ酸配列を含有する。相同な配列は、配列番号１または配列番号２のいずれかで表されるペプチドと少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、または９５％同一である。

【００６８】

【表１】

表１．ＵＳＰ２ａペプチド

ペプチド １	配列番号 １	LTRPRTYGPSSLLDYDRGRPL
ペプチド ２	配列番号 ２	GGGK RAESQTRGTE RPLGS

好ましい実施形態において、ＵＳＰ２ａペプチドは、ヌクレオチド縮重の組合せを含有する核酸によってコードされる。配列番号１および配列番号２のＵＳＰ２ａペプチドは、ＵＳＰ２ａのＮ末端部分の高親水性領域（カイル・ドリトル（Ｋｙｌｅ－Ｄｏｏｌｉｔｔ

ｌｅ）プロットにより同定される）に由来し、アイソフォームＵＳＰ２ｂに存在しない。

【００６９】

本発明はまた、それぞれ配列番号１または配列番号２を含む配列と同一であるか相同であるアミノ酸配列を含有する、２つ以上のＵＳＰ２ａペプチドの混合物も提供する。一実施形態において、混合物は、それぞれ配列番号１または配列番号２を含む配列と同一であるか相同であるアミノ酸配列を含有する、２つ以上のペプチドを含有する。

【００７０】

例えば、ウシ血清アルブミン（ＢＳＡ：ｂｏｖｉｎｅ　ｓｅｒｕｍ　ａｌｂｕｍｉｎ）、またはキーホールリンペットヘモシアニン（ＫＬＨ：ｋｅｙｈｏｌｅ　ｌｉｍｐｅｔ　ｈｅｍｏｃｙａｎｉｎ）との結合、および／またはヒドロキシ（－ＯＨ）、アセチル（－－CH_2Ｃ００Ｈ）またはアミド（－－NH_2）等の官能基との結合によって、ペプチドを誘導体化することができる。

ＵＳＰ２ａペプチドに対する抗体

一実施形態において、本発明は上述の通り、ペプチド、例えば、ＵＳＰ２ａペプチドおよびＵＳＰ２ａタンパク質に特異的に免疫反応性であるＵＳＰ２ａ抗体、それらのバリアントまたは誘導体を提供する。抗体は、当該技術で既知の方法でまたは本出願に記述されている通りに産生されるポリクローナルまたはモノクローナルあるいは組換え型であってもよい。

【００７１】

さらなる実施形態において、本発明の抗体は、当業者に既知の検出可能な標識で標識され得る。標識は、放射性同位体、蛍光化合物、化学発光化合物、酵素、または酵素補因子、または当技術分野で既知の、他の任意の標識であってもよい。幾つかの態様では、測定したい実体に結合する抗体（一次抗体）は標識されないが、代わりに一次抗体に特異的に結合する標識された二次抗体の結合によって検出される。本発明の抗体は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、多選択性抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、一本鎖抗体、Ｆａｂフラグメント、Ｆ（ａｂ’）フラグメント、Ｆａｂ発現ライブラリーにより産生されるフラグメント、抗－イディオタイプ（抗－Ｉｄ）抗体（例えば、本発明の抗体に対する抗－Ｉｄ抗体を含む）、細胞内で作られる抗体（すなわち、細胞内抗体）、および上記のいずれかのエピトープ－結合性フラグメントを含むが、その限りではない。本発明の抗体は、鳥類および哺乳動物をはじめとする動物起源に由来してもよい。好ましくは、抗体は、ヒト、ネズミ（例えば、マウスおよびラット）、ロバ、ヒツジ、ウサギ、ヤギ、モルモット、ラクダ、ウマ、またはニワトリ起源のものである。本発明の抗体は、単一特異性であっても多選択性（例えば、二重特異性、三選択性、またはそれを上回る多選択性）であってもよい。多選択性抗体は、本発明のペプチドの異なるエピトープに特異的であってもよく、本発明のペプチドと、例えば非相同ペプチドまたは固体支持材等の、非相同エピトープの両方に特異的であってもよい。（例えば、国際公開第９３／１７７１５号；国際公開第９２／０８８０２号；国際公開第９１／００３６０号；国際公開第９２／０５７９３号；タット（Ｔｕｔｔ）ら著、米国免疫学会誌（Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．）、１９９１年、第１４７巻、ｐｐ．６０～６９；米国特許第４，４７４，８９３号明細書；米国特許第４，７１４，６８１号明細書；米国特許第４，９２５，６４８号明細書；米国特許第５，５７３，９２０号明細書；米国特許第５，６０１，８１９号明細書；およびコステルニ（Ｋｏｓｔｅｌｎｙ）ら著、米国免疫学会誌（Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．）、１９９２年、第１４８巻、ｐｐ．１５４７～１５５３を参照されたい）。例えば、本発明のＵＳＰ２ａペプチド配列の反復単位を含有するペプチドに対して抗体を産生しても、本発明の２つ以上のＵＳＰ２ａペプチド配列を含有するペプチド、またはそれらの組合せに対して産生してもよい。

【００７２】

別の実施形態において、本発明のペプチドの任意の領域およびＵＳＰ２ａペプチドから抗体を調製することができる。加えて、ポリペプチドが受容体タンパク質、例えば、受容体ＵＳＰ２ａであれば、全受容体または受容体の一部、例えば、細胞内ドメイン、細胞外

ドメイン、膜貫通ドメイン全体、特定の膜貫通セグメント、細胞内ループまたは細胞外ループのいずれか、あるいはこれらの領域のいずれかの部分に対する抗体を作ることができる。リガンド結合部位等の、具体的な機能的部位、または、例えば、グリコシル化されている部位、リン酸化されている部位、ミリスチル酸化されている部位、またはアミド化されている部位に対する抗体を作ることもできる。

【００７３】

本発明で、抗体を生成するためのＵＳＰ２ａペプチドは、長さが好ましくは少なくとも４、少なくとも５、少なくとも６、少なくとも７、より好ましくは少なくとも８、少なくとも９、少なくとも１０、少なくとも１１、少なくとも１２、少なくとも１３、少なくとも１４、少なくとも１５、そして好ましくは約５～約５０アミノ酸、より好ましくは約１０～約３０アミノ酸、さらに好ましくは約１０～約２０アミノ酸の配列を含有する。好ましいＵＳＰ２ａペプチドは、上述の表１に記載されているＲＴＫタンパク質に由来するものである。すなわち、好ましいＵＳＰ２ａペプチドは、表１に記載のタンパク質の配列の一部と同じかまたは相同なアミノ酸配列を有する。

【００７４】

本発明のモノクローナル抗体は、当業者に既知の確立された方法を使用して調製することができる。一実施形態において、モノクローナル抗体は、ケーラー（Ｋｏｈｌｅｒ）およびミルスタイン（Ｍｉｌｓｔｅｉｎ）著、ネイチャー（Ｎａｔｕｒｅ）、１９７５年、第２５６巻、ｐ．４９５に記述されているもの等の、ハイブリドーマ技術を使用して調製される。ハイブリドーマ方法では一般に、マウス、ハムスター、または他の適切な宿主動物を免疫剤（例えば、本発明のＵＳＰ２ａペプチド）で免疫して、免疫剤に特異的に結合するであろう抗体を産生するか産生できるリンパ球を誘導する。あるいは、ｉｎ ｖｉｔｒｏでリンパ球を免疫することも可能である。次いで、ポリエチレングリコール等の、安定した融合剤を使用してリンパ球を不死化細胞株と融合させ、ハイブリドーマ細胞を形成する（ゴディング（Ｇｏｄｉｎｇ）著、モノクローナル抗体：原理と実践（Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ）、アカデミック・プレス（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ）、１９８６年、ｐｐ．５９～１０３１。不死化細胞株は通常、形質転換された哺乳動物細胞、特に齧歯類、ウサギ、ウシおよびヒト起源の骨髄腫細胞である。通常、ラットまたはマウスの骨髄腫細胞株が使用される。ハイブリドーマ細胞は、好ましくは、融合していない不死化細胞の成長または生存を抑制する１つまたは複数の物質を含有する適当な培地中で培養することができる。例えば、親細胞が、酵素ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（ＨＧＰＲＴまたはＨＰＲＴ：ｈｙｐｏｘａｎｔｈｉｎｅ ｇｕａｎｉｎｅ ｐｈｏｓｐｈｏｒｉｂｏｓｙｌ ｔｒａｎｓｆｅｒａｓｅ）を欠くのであれば、ハイブリドーマ用の培地は一般に、ＨＧＰＲＴ－欠損細胞の成長を妨げる物質である、ヒポキサンチン、アミノプテリン、およびチミジンを含有し得る（「ＨＡＴ培地」）。

【００７５】

好ましい不死化細胞株は、効率よく融合し、選択された抗体産生細胞による抗体の安定した高レベル発現を維持し、またＨＡＴ培地等の培地に敏感なものである。より好ましい不死化細胞株は、ネズミ骨髄腫系統であり、例えば、カリフォルニア州サンディエゴのソーク・インスティテュート・セル・ディストリビューション・センター（Ｓａｌｋ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ Ｃｅｌｌ Ｄｉｓｔｒｉｂｕｔｉｏｎ Ｃｅｎｔｅｒ）、およびバージニア州マナサスのアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション（Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ）から入手できる。ヒト骨髄腫およびマウス－ヒトヘテロ骨髄腫細胞株もまた、ヒトモノクローナル抗体のために記述されている（コズボール（Ｋｏｚｂｏｒ）著、米国免疫学会誌（Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．）、１９８４年、第１３３巻、ｐ．３００１；ブロデューア（Ｂｒｏｄｅｕｒ）ら著、モノクローナル抗体産生技術および応用（Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ）、マーセル・デッカー社（Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．）、ニューヨーク、１９８７年、ｐｐ．

５１～６３）。
【００７６】
次いで、ハイブリドーマ細胞が培養される培地を、モノクローナル抗体の存在について分析することができる。好ましくは、ハイブリドーマ細胞によって産生されるモノクローナル抗体の結合特異性（すなわち、特異的免疫反応性）は、免疫沈降法または放射免疫測定法（ＲＩＡ）または酵素結合免疫吸着測定法（ＥＬＩＳＡ）等のｉｎ ｖｉｔｒｏ結合アッセイによって決定される。そのような技術およびアッセイは、当業者に知られている。モノクローナル抗体の結合特異性は、例えば、マンソンおよびポラードのスキャッチャード解析法（Ｓｃａｔｃｈａｒｄ ａｎａｌｙｓｉｓ ｏｆ Ｍｕｎｓｏｎ ａｎｄ Ｐｏｌｌａｒｄ）、分析生化学（Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．）、１９８０年、第１０７巻、ｐ．２２０で決定することができる。
【００７７】
所望のハイブリドーマ細胞が同定された後、限界希釈法でクローンをサブクローニングし、標準方法で成長させる（ゴディング（Ｇｏｄｉｎｇ）著、前出）。この目的に適した培地としては、例えば、ダルベッコ変法イーグル培地またはＲＰＭＩ－１６４０培地等が挙げられる。あるいは、ハイブリドーマ細胞を、哺乳動物の腹水として、ｉｎ ｖｉｖｏで成長させることもできる。
【００７８】
サブクローンによって分泌されるモノクローナル抗体は、従来の免疫グロブリン精製法、例えば、タンパク質Ａセファロース、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動法、透析、またはアフィニティクロマトグラフィー等で、培地または腹水から単離したり精製したりすることもできる。
【００７９】
別の実施形態において、組換えＤＮＡ法、例えば米国特許第４，８１６，５６７号明細書（参照により全体として本明細書に援用する）に記述されているもの等で、本発明のモノクローナル抗体を作ることもできる。本発明のモノクローナル抗体をコードしているＤＮＡは、従来の手順を使用して（例えば、ネズミ抗体の重鎖および軽鎖をコードしている遺伝子に特異的に結合できるオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）、容易に単離し配列決定することができる。本発明のハイブリドーマ細胞は、好ましいＤＮＡ源の役割を果たす。組換え宿主細胞でモノクローナル抗体の合成を得るために、ＤＮＡは、いったん単離されると、発現ベクターに入れられ、次いで、別の方法では免疫グロブリンタンパク質を産生しない、類人猿ＣＯＳ細胞、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ：Ｃｈｉｎｅｓｅ ｈａｍｓｔｅｒ ｏｖａｒｙ）細胞、または骨髄腫細胞等の宿主細胞にトランスフェクションされる。例えば、相同なネズミ配列の代わりに、ヒト重鎖および軽鎖定常ドメインのコード配列を代用することによって（米国特許第４，８１６，５６７号明細書）、または免疫グロブリンコード配列に非免疫グロブリンポリペプチドのコード配列の全部または一部を共有結合することによって、ＤＮＡを修飾することもできる。そのような非免疫グロブリンポリペプチドを、本発明の抗体の定常ドメインに置き換えるか、または本発明の抗体の一抗原結合部位の可変ドメインに置き換えて、キメラ二価抗体を作ることができる。
【００８０】
別の実施形態においては、当業者に既知の様々な方法で、本発明のポリクローナル抗体を生成することもできる。ポリクローナル抗体をｉｎ ｖｉｖｏで産生するために、宿主動物、例えば、ウサギ、ラット、マウス、ヒツジ、またはヤギ等を、例えば、腹腔内注射および／または皮内注射によって、遊離ペプチドまたは担体結合ペプチドのいずれかで免疫する。注射物質は一般に、約１００μｇのペプチドまたは担体タンパク質を含有するエマルジョンである。宿主種に応じて、様々なアジュバントを使用して免疫応答を高めることもできる。アジュバントとしては、フロイントアジュバント（完全および不完全）、水酸化アルミニウム等のミネラルジェル、リゾレシチン等の表面活性物質、プルロニックポリオール（ｐｌｕｒｏｎｉｃ ｐｏｌｙｏｌ）、ポリアニオン、ペプチド、油エマルジョ

ン、キーホールリンペットヘモシアニン、ジニトロフェノール、および潜在的に有用なヒトアジュバント、例えばカルメット・ゲラン桿菌（ＢＣＧ：ｂａｃｉｌｌｅ　ｃａｌｍｅｔｔｅ－ｇｕｅｒｉｎ）およびコリネバクテリウム・パルバムなどが挙げられるが、その限りではない。そのようなアジュバントも、当技術分野で周知である。例えば、固体面に吸着された遊離ペプチドを使用したＥＬＩＳＡアッセイで、検出できる有用な抗体価を提供するために、例えば、約２週間の間隔で、数回のブースター注射が必要なこともある。当技術分野で周知の方法に従えば、免疫された動物由来の血清中の抗体価を抗体の選択によって、例えば、固体支持体上へのペプチド吸着および選択された抗体の溶離によって、高めることができる。

【００８１】

本発明に含まれる抗体はまた、当業者に既知の様々なファージ提示法を使用して生成することもできる。ファージ提示法では、機能的抗体ドメインをコードするポリヌクレオチド配列を担持するファージ粒子の表面に機能的抗体ドメインが提示される。ある特定の実施形態においては、そのようなファージを利用して、レパートリー抗体ライブラリーまたはコンビナトリアル抗体ライブラリー（例えば、ヒトまたはネズミ）から発現される抗原結合ドメインを提示することができる。抗原、例えば、標識された抗原あるいは固体面もしくはビーズに結合または捕捉された抗原を使用して、関心対象の抗原に結合する抗原結合ドメインを発現するファージを選択または同定することができる。これらの方法で使用されるファージは一般に、ファージポリヌクレオチドＩＩＩタンパク質またはポリヌクレオチドＶＩＩＩタンパク質のいずれかに組換え的に融合したＦａｂ、Ｆｖ、またはジスルフィド安定化抗体ドメインを有するファージから発現されるｆｄおよびＭ１３結合ドメインを含む繊維状ファージである。本発明の抗体を作るために使用することができるファージ提示法の例としては、ブリンクマン（Ｂｒｉｎｋｍａｎ）ら著、ジャーナル・オブ・イムノロジカル・メソッズ（Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ）、１９９５年、第１８２巻、ｐｐ．４１～５０；エイムス（Ａｍｅｓ）ら著、ジャーナル・オブ・イムノロジカル・メソッズ（Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ）、１９９５年、第１８４巻，ｐｐ．１７７～１８６；ケトルボロー（Ｋｅｔｔｌｅｂｏｒｏｕｇｈ）ら著、欧州免疫学会誌（Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．）、１９９４年、第２４巻、ｐｐ．９５２～９５８；パーシック（Ｐｅｒｓｉｃ）ら著、遺伝子（Ｇｅｎｅ）、１９９７年、第１８７巻、ｐｐ．９～１８；バートン（Ｂｕｒｔｏｎ）ら著、免疫学における進歩（Ａｄｖａｎｃｅｓ　ｉｎ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ）、１９９４年、第５７巻、ｐｐ．１９１～２８０；ＰＣＴ出願第ＰＣＴ／ＧＢ９１／０１１３４号；ＰＣＴ国際公開第９０／０２８０９号；国際公開第９１／１０７３７号；国際公開第９２／０１０４７号；国際公開第９２／１８６１９号；国際公開第９３／１１２３６号；国際公開第９５／１５９８２号；国際公開第９５／２０４０１号；および米国特許第５，６９８，４２６号明細書；米国特許第５，２２３，４０９号明細書；米国特許第５，４０３，４８４号明細書；米国特許第５，５８０，７１７号明細書；米国特許第５，４２７，９０８号明細書；米国特許第５，７５０，７５３号明細書；米国特許第５，８２１，０４７号明細書；米国特許第５，５７１，６９８号明細書；米国特許第５，４２７，９０８号明細書；米国特許第５，５１６，６３７号明細書；米国特許第５，７８０，２２５号明細書；米国特許第５，６５８，７２７号明細書；米国特許第５，７３３，７４３号明細書および米国特許第５，９６９，１０８号明細書（それぞれを参照により全体として本明細書に援用する）に開示されているもの等が挙げられる。

【００８２】

上述の参考文献に記述されている通り、ファージ選択後、ファージ由来の抗体コード領域を単離して、ヒト抗体を含む抗体全体、または他の任意の所望の抗原結合フラグメントを生成するために使用することができ、また、例えば以下に詳述する、哺乳動物細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵母、および細菌を含む、所望の宿主で発現させることができる。

【００８３】

一本鎖Ｆｖｓ等の抗体フラグメントおよび抗体を産生するために使用できる技術の例としては、米国特許第４，９４６，７７８号明細書および米国特許第５，２５８，４９８号

明細書；ヒューストン（Ｈｕｓｔｏｎ）ら著、酵素学における方法（Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ）、１９９１年、第２０３巻、ｐｐ．４６～８８；シュー（Ｓｈｕ）ら著、米国科学アカデミー紀要（Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ）、１９９３年、第９０巻、ｐｐ．７９９５～７９９９；およびスケラ（Ｓｋｅｒｒａ）ら著、サイエンス（Ｓｃｉｅｎｃｅ）、１９８８年、第２４０巻、ｐｐ．１０３８～１０４０（それぞれを参照により全体として本明細書に援用する）に記述されているもの等がある。

【００８４】

ヒトにおける抗体のｉｎ　ｖｉｖｏでの使用およびｉｎ　ｖｉｔｒｏでの検出アッセイを含む、幾つかの用途には、キメラ抗体、ヒト化抗体、またはヒト抗体を使用することが好ましいであろう。キメラ抗体は、例えばネズミモノクローナル免疫グロブリン由来の可変領域およびヒト免疫グロブリン定常領域を有する抗体等の、抗体の異なる部分が異なる動物種に由来する分子である。キメラ抗体を産生する方法は当技術分野で既知である。（例えば、モリソン（Ｍｏｒｒｉｓｏｎ）著、サイエンス（Ｓｃｉｅｎｃｅ）、１９８５年、第２２９巻、ｐ．１２０２；オーイ（Ｏｉ）ら著、バイオテクニックス（ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ）、１９８６年、第４巻、ｐ．２１４；ギリース（Ｇｉｌｌｉｅｓ）ら著、ジャーナル・オブ・イムノロジカル・メソッズ（Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ）、１９８９年、第１２５巻、ｐｐ．１９１～２０２；および米国特許第５，８０７，７１５号明細書；米国特許第４，８１６，５６７号明細書；および米国特許第４，８１６，３９７号明細書（参照により全体として本明細書に援用する）を参照されたい）。

【００８５】

ヒト化抗体は、所望の抗原に結合し、また非ヒト種由来の１つまたは複数の相補性決定領域（ＣＤＲ：ｃｏｍｐｌｅｍｅｎｔａｒｉｔｙ　ｄｅｔｅｒｍｉｎｉｎｇ　ｒｅｇｉｏｎｓ）およびヒト免疫グロブリン分子由来のフレームワーク領域を有する非ヒト種由来の抗体分子である。多くの場合、ヒトフレームワーク領域のフレームワーク残基は、抗原結合を変えるために、好ましくは改良するために、ドナー抗体のＣＤＲおよびフレームワーク領域に由来する対応する残基で置換されている。これらのフレームワーク置換は、当技術分野で周知の方法によって、例えば、抗原結合にとって重要なフレームワーク残基を同定するためのＣＤＲおよびフレームワーク残基の相互作用のモデル化、ならびに特定の位置における異常なフレームワーク残基を同定するための配列比較によって同定される。（例えば、クイーン（Ｑｕｅｅｎ）ら著、米国特許第５，６９３，７６２号明細書および米国特許第５，５８５，０８９号明細書；およびリーチマン（Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ）ら著、ネイチャー（Ｎａｔｕｒｅ）、１９８８年、第３３２巻、ｐ．３２３（参照により全体として本明細書に援用する）を参照されたい）。例えば、ＣＤＲグラフトを含む、当技術分野で既知の種々の技術を使用して、抗体をヒト化することができる（欧州特許第２３９，４００号明細書；ＰＣＴ国際公開第９１／０９９６７号；米国特許第５，２２５，５３９号明細書；米国特許第５，５３０，１０１号明細書；および米国特許第５，５８５，０８９号明細書）；ベニアリング（ｖｅｎｅｅｒｉｎｇ）またはリサーファイシング（ｒｅｓｕｒｆａｃｉｎｇ）（欧州特許第５９２，１０６号明細書；欧州特許第５１９，５９６号明細書；パドラン（Ｐａｄｌａｎ）著，モレキュラー・イムノロジー（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ），１９９１年、第２８（４／５）巻、ｐｐ．４８９～４９８；ストゥドゥニカ（Ｓｔｕｄｎｉｃｋａ）ら著、プロテイン・エンジニアリング（Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ）、１９９４年、第７巻（６）、ｐｐ．８０５～８１４；ログスカ（Ｒｏｇｕｓｋａ）ら著、米国科学アカデミー紀要（Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ）、１９９４年、第９１巻、ｐｐ．９６９～９７３；および鎖シャフリング（米国特許第５，５６５，３３２号明細書）；（それぞれを参照により全体として本明細書に援用する））。

【００８６】

外来タンパク質に対する免疫反応を回避または軽減するために、完全なヒト抗体は、ヒト患者の治療処置に特に望ましい。ヒト抗体は、ヒト免疫グロブリン配列由来の抗体ライ

ブラリーを使用した上述のファージ提示法を含む、当技術分野で既知の種々の方法で作ることができる。米国特許第４，４４４，８８７号明細書および米国特許第４，７１６，１１１号明細書；およびＰＣＴ国際公開第９８／４６６４５号、国際公開第９８／５０４３３号、国際公開第９８／２４８９３号、国際公開第９８／１６６５４号、国際公開第９６／３４０９６号、国際公開第９６／３３７３５号、および国際公開第９１／１０７４１号；（それぞれを参照により全体として本明細書に援用する）も参照されたい。

【００８７】

機能的内因性免疫グロブリンを発現することはできないが、ヒト免疫グロブリンポリヌクレオチドを発現できるトランスジェニックマウスを使用して、ヒト抗体を産生することもできる。例えば、ヒト重鎖および軽鎖免疫グロブリンポリヌクレオチド複合体を、ランダムに、または相同な組換えによって、マウス胚性幹細胞に導入することができる。あるいは、ヒト重鎖および軽鎖ポリヌクレオチドに加えて、ヒト可変領域、定常領域、および多様性領域を、マウス胚性幹細胞に導入してもよい。マウス重鎖および軽鎖免疫グロブリンポリヌクレオチドを、別々にまたは相同な組換えによるヒト免疫グロブリン遺伝子座の導入と同時に、非機能性にすることができる。特に、J_H領域のホモ接合欠失は、内因性抗体産生を妨げる。キメラマウスを作り出すために、修飾された胚性幹細胞を増殖させて、胚盤胞に微量注入した。次いで、ヒト抗体を発現するホモ接合仔を作り出すために、キメラマウスを繁殖させる。トランスジェニックマウスを、通常の方法により、選択された抗原で、例えば、本発明のポリペプチドの全部または一部で免疫する。

【００８８】

したがって、そのような技術を使用すれば、有用なヒトＩｇＧ，ＩｇＡ，ＩｇＭ，ＩｇＤおよびＩｇＥ抗体を産生することが可能である。ヒト抗体を産生するための技術の概観については、ロンバーグ（Ｌｏｎｂｅｒｇ）およびハスザー（Ｈｕｓｚａｒ）著、インターナショナル・レビュー・オブ・イムノロジー（Ｉｎｔｌ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．）、１９９５年，第１３巻、ｐｐ．６５～９３を参照されたい。ヒト抗体およびヒトモノクローナル抗体を産生するための技術に関する詳細な議論およびそのような抗体を産生するためのプロトコールについては、例えば、ＰＣＴ国際公開第９８／２４８９３号；国際公開第９２／０１０４７号；国際公開第９６／３４０９６号；国際公開第９６／３３７３５号；欧州特許第０５９８８７７号明細書；米国特許第５，４１３，９２３号明細書；米国特許第５，６２５，１２６号明細書；米国特許第５，６３３，４２５号明細書；米国特許第５，５６９，８２５号明細書；米国特許第５，６６１，０１６号明細書；米国特許第５，５４５，８０６号明細書；米国特許第５，８１４，３１８号明細書；米国特許第５，８８５，７９３号明細書；米国特許第５，９１６，７７１号明細書；米国特許第５，９３９，５９８号明細書；米国特許第６，０７５，１８１号明細書；および米国特許第６，１１４，５９８号明細書（それぞれを参照により全体として本明細書に援用する）を参照されたい。加えて、上述の技術と類似した技術を使用して、選択された抗原に対するヒト抗体を提供するように、アブジェニクス社（Ａｂｇｅｎｉｘ，Ｉｎｃ．）（フリーモント（Ｆｒｅｍｏｎｔ）、カリフォルニア）、プロテイン・デザイン・ラボ社（Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｄｅｓｉｇｎ Ｌａｂｓ，Ｉｎｃ．）（マウンテン・ビュー（ＭｏｕｎｔａｉｎＶｉｅｗ）、カリフォルニア）およびジェンファーム（Ｇｅｎｐｈａｒｍ）（サンノゼ（Ｓａｎ Ｊｏｓｅ）、カリフォルニア）等の会社に依頼することができる。

【００８９】

いったん本発明の抗体分子が動物、細胞株により産生されるか、化学的に合成されるか、または組換えで発現されると、本発明の抗体分子は、免疫グロブリンまたはポリペプチド分子を精製するための技術分野で既知のいずれかの方法で、例えば、クロマトグラフィー（例えば、イオン交換クロマトグラフィー、特に特異的抗原に対するアフィニティによるアフィニティクロマトグラフィー、プロテインＡクロマトグラフィー、およびサイジングカラム（ｓｉｚｉｎｇ ｃｏｌｕｍｎ）クロマトグラフィー）、遠心分離、示差溶解度で、またはタンパク質精製のための他の任意の標準技術で、精製する（すなわち、単離する）ことができる。加えて、本発明の抗体、またはそれらのフラグメントを、本明細書に

記述されているかさもなければ当技術分野で既知である非相同ポリペプチド配列に融合して、精製を容易にすることができる。

【００９０】

一実施形態において、本発明は、チロシンＵＳＰ２ａタンパク質に特異的に免疫反応する抗体、あるいはそれらのフラグメントまたはバリアントを提供する。

一実施形態において、本発明は、配列番号１配列番号２およびそれらのバリアントからなる群から選択される配列を特異的に認識する新規なモノクローナル抗体を提供する。

【００９１】

本発明はさらに、上述の通りに産生された２つ以上のモノクローナル抗体を含有する混合物を提供する。好ましい実施形態において、本混合物は、同一ＵＳＰ２ａタンパク質に由来する異なるＵＳＰ２ａペプチドに対して生じた２つ以上のモノクローナル抗体を含有する。別の好ましい実施形態において、本混合物は、異なるＵＳＰ２ａペプチドに対して生じた２つ以上のモノクローナル抗体を含有し、その少なくとも２つは異なるＵＳＰ２ａタンパク質に由来する。

【００９２】

一実施形態において、本抗体混合物は、配列番号１および配列番号２からなる群から選択されるアミノ酸配列を含有するペプチドに対して生じた２つ以上の抗体を含有する。

好ましい実施形態においては、特異的に免疫反応性である抗体とは、約５×１０$^{-2}$未満、１×１０$^{-2}$、５．ｔｉｍｅｓ×１０$^{-3}$、１×１０$^{-3}$、５×１０$^{-4}$、または１×１０$^{-4}$の解離定数すなわちＫｄを有するものを含む。より好ましい実施形態においては、特異的に免疫反応性である抗体は、約５×１０$^{-5}$、１×１０$^{-5}$、５×１０$^{-6}$、１×１０$^{-6}$、５×１０$^{-7}$、１×１０$^{-7}$、５×１０$^{-8}$、または１×１０$^{-8}$未満の解離定数すなわちＫｄを有するものを含む。さらにより好ましい実施形態においては、特異的に免疫反応性である抗体は、約５×１０$^{-9}$、１×１０$^{-9}$、５×１０$^{-10}$、１×１０$^{-10}$、５×１０$^{-11}$、１０×１０$^{-11}$、５×１０$^{-12}$、１×１０$^{-12}$、５×１０$^{-13}$、１×１０$^{-13}$、５×１０$^{-14}$、１×１０$^{-14}$、５×１０$^{-15}$、または１×１０$^{-15}$未満の解離定数すなわちＫｄを有するものを含む。

核酸

一実施形態において、本発明は、本発明のペプチドをコードする核酸、またはその相補配列を提供する。

【００９３】

別の実施形態において、本発明は、上述の２つ以上の核酸を含有する混合物を提供する。さらなる実施形態においては、本発明はまた、単離されたオリゴヌクレオチドを含むプローブおよび／またはプライマーも提供し、そのオリゴヌクレオチドは、ストリンジェントな環境で、本発明のＵＳＰ２ａペプチドをコードしている核酸の少なくとも１２の連続したヌクレオチド、またはそれらの相補配列、またはそれらの自然発生的突然変異体にハイブリダイズするヌクレオチド配列の領域を含む。

【００９４】

一実施形態において、本発明は上述の２つ以上のプローブおよび／またはプライマーを含有する混合物を提供する。一実施形態において、本発明はまた、本発明の抗体（それらの抗体フラグメントまたはバリアントを含むかあるいは抗体フラグメントまたはそれらのバリアントからなる分子を包含する）をコードする核酸も提供する。ある特定の実施形態において、本発明の核酸は、本発明の抗ＵＳＰ２ａタンパク質抗体発現細胞株によって発現される重鎖のV_Hドメインのいずれか１つのアミノ酸配列を有する１つのV_Hドメイン（例えば、ハイブリドーマ）および本発明の抗ＵＳＰ２ａタンパク質抗体発現細胞株によって発現される軽鎖のアミノ酸配列を有するV_Lドメインを含むか、あるいはそれらからなる抗体（その抗体フラグメントまたはバリアントを含むか、あるいはその抗体フラグメントまたはバリアントからなる分子を包含する）をコードする。別の実施形態において、本発明の核酸分子は、本発明の抗ＵＳＰ２ａタンパク質抗体発現細胞株によって発現される重鎖のV_Hドメインのいずれか１つのアミノ酸配列を有するV_Hドメイン、または本発

明の抗ＵＳＰ２ａタンパク質抗体発現細胞株によって発現される軽鎖のアミノ酸配列を有する１つのV_Lドメインを含むか、あるいはそれらからなる抗体（その抗体フラグメントまたはバリアントを含むか、あるいはその抗体フラグメントまたはバリアントからなる分子を包含する）をコードする。

【００９５】

さらなる実施形態において、本発明の抗体をコードする２つ以上の核酸を、混合物で提供することができる。当業者に既知の標準技術を使用して、結果的にアミノ酸置換をもたらす、例えば、部位特異的ミュタポリヌクレオチドシスおよびＰＣＲ仲介ミュタポリヌクレオチドシスをはじめとする突然変異を、本発明の分子をコードするヌクレオチド配列に導入することができる。これを使用して、所望の抗体、例えば、本明細書に記述されているヒト化抗体を調製することができる。好ましい実施形態において、バリアント（誘導体を包含する）は、参照V_Hドメイン、V_HＣＤＲ１、V_HＣＤＲ２、V_HＣＤＲ３、V_Lドメイン、V_LＣＤＲ１、V_LＣＤＲ２、またはV_LＣＤＲ３に対して、５０未満のアミノ酸置換、４０未満のアミノ酸置換、３０未満のアミノ酸置換、２５未満のアミノ酸置換、２０未満のアミノ酸置換、１５未満のアミノ酸置換、１０未満のアミノ酸置換、５未満のアミノ酸置換、４未満のアミノ酸置換、３未満のアミノ酸置換、または２未満のアミノ酸置換をコードする。一実施形態において、エピトープをコードする核酸は、発現されたポリペプチドの検出および精製を助けるために、エピトープタグ（例えば、赤血球凝集素、（「ＨＡ」）タグまたはフラッグ（ｆｌａｇ）タグ）として第２の核酸と組み換えられる。例えば、ヒト細胞株で発現される非変性融合タンパク質の即時精製のためのシステムは、ジャンクネヒト（Ｊａｎｋｎｅｃｈｔ）らにより記述されている（米国科学アカデミー紀要（Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ）、１９９１年、第８８巻、ｐｐ．８９７２～８９７）。このシステムでは、ポリヌクレオチドのオープンリーディングフレームが６つのヒスチジン残基を有するアミノ末端タグに翻訳によって融合するように、第２の核酸をワクシニア組換えプラスミドにサブクローニングする。タグは、融合タンパク質のためのマトリックス結合ドメインの役割を果たす。組換え型ワクシニアウイルスに感染した細胞からの抽出物を、Ni^{2+}ニトリロ酢酸アガロースカラムに負荷し、ヒスチジンタグ付きタンパク質を、イミダゾール含有バッファーで選択的に溶離させる。

【００９６】

ある特定の抗体をコードする核酸を含有するクローンは入手できないが、抗体分子の配列は分かっている場合、免疫グロブリンをコードする核酸を化学的に合成することも、適当なソース（抗体を発現しているいずれかの組織または細胞、例えばその配列の３’末端および５’末端にハイブリダイズできる合成プライマーを使用したＰＣＲ増幅で本発明の抗体を発現させるために選択されたハイブリドーマ細胞等から生成される、例えば抗体ｃＤＮＡライブラリー、またはｃＤＮＡライブラリー（またはそれらから単離される、核酸、好ましくはｐｏｌｙＡ＋ＲＮＡ）から得ることもできる。あるいは、同定しようとしている特定の核酸配列に特異的なオリゴヌクレオチドプローブ、例えば、所望の抗体をコードするｃＤＮＡライブラリーからのｃＤＮＡクローンを使用したクローニングを使用することができる。次いで、当技術分野で周知の方法を使用して、ＰＣＲで生成される増幅された核酸を、複製可能なクローニングベクターにクローニングする。

用途

ＵＳＰ２ａペプチド、ＵＳＰ２ａペプチドをコードする核酸、ＵＳＰ２ａペプチドと特異的に免疫反応する抗体、ならびに本発明の核酸は、調査研究および疾患検出、診断、予後および特定の種類の癌、特に、前立腺癌の処置に有用である。

【００９７】

非限定的例として、ｉｎ ｖｉｔｒｏでもｉｎ ｖｉｖｏでも、診断方法、検出方法、スクリーニング方法および／または治療方法を含め、本発明のＵＳＰ２ａポリペプチドを精製、検出および標的化するために、本発明の抗体を使用することができる。例えば、生体試料中のＵＳＰ２ａバイオマーカーのレベルを定性的および定量的に測定する免疫測定法で、プローブ、プライマーおよび抗体を使用することができる。（例えば、ハーロー（

Ｈａｒｌｏｗ）ら著、抗体：実験マニュアル（Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ）、コールド・スプリング・ハーバ・ラボラトリー・プレス（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ）、第２版、１９８８年（参照により全体として本明細書に援用する）を参照されたい）。

【００９８】

一実施形態において、本発明のプローブ、プライマーおよび抗体は、本発明のＵＳＰ２ａペプチドの配列を含有するＵＳＰ２ａタンパク質の誤発現と関連した機能障害を同定するため、例えばＵＳＰ２ａタンパク質のレベル、ＵＳＰ２ａタンパク質をコードする核酸のレベルを、患者から単離された細胞の試料で検出するため；例えば、細胞中のＵＳＰ２ａ ｍＲＮＡレベルを測定したり、ゲノムＵＳＰ２ａ遺伝子が変異しているか欠失しているかを決定したりするための、診断検査キットの一部として使用することができる。例えば転写および／または翻訳を抑制することによってタンパク質の発現を抑制するために、対象ＵＳＰ２ａタンパク質の１つまたは複数をコードする細胞ｍＲＮＡおよび／またはゲノムＤＮＡと、細胞条件下で特異的にハイブリダイズする（例えば結合する）オリゴヌクレオチドプローブまたはそれらの誘導体の投与またはｉｎ ｓｉｔｕでの生成を指す「アンチセンス」治療の一部としても、本発明のこれらのプローブおよびプライマーを使用することができる。さらなる実施形態において、本発明の抗体を後述する治療にも使用することができる。

【００９９】

一実施形態において、本発明のＵＳＰ２ａペプチドは、（１）ＵＳＰ２ａ関連の疾患または状態（例えば、癌、過剰増殖状態、メタボリックシンドローム等）の診断（２）疾患の予後（例えば、１つの生物学的状態から別の状態への疾患進行または退行をモニタリングすること）、（３）疾患に対する対象の感受性（リスク）の決定、または（４）疾患治療の有効性の評価のためのバイオマーカーの役割を果たすことができる。本発明の特異的バイオマーカーとしては、上述の標的ＵＳＰ２ａペプチド、それらのバリアント、誘導体または結果として生じる抗体などがあるが、その限りではない。一実施形態において、生物学的状態を、当技術分野で既知のｘおよびｐという値によって数学的に定義することができる。いったんモデルの生物学的状態が数学的に明示されると、コンピュータを使用した上式の数値積分は、例えば、生物学的変数の時間発展×（ｔ）したがって経時的な生物学的状態の発展を決定する。さらなる実施形態において、生検試料、または罹患したヒトまたは動物に由来する細胞培養物に対して、測定を実施することもできる。罹患した生物系の例としては、疾患の細胞モデルまたは動物モデルあるいは患者などが挙げられる。

【０１００】

一実施形態において、ベースラインレベルは「正常レベル」（例えば、正常な対象からの試料中のレベル）であってもよい。したがって、ベースラインレベルと比較するとき、疾患細胞成長に関して評価しようとしている試料が、バイオマーカー発現の測定可能な増加、減少、または実質的無変化を有するかどうかを、バイオマーカー発現または生物活性の対照またはベースラインに基づいて決定することができる。別の実施形態において、ベースラインレベルは、本明細書で正常であると考えられる（すなわち、非腫瘍の、腫瘍性形質転換を経験していない、不適当な細胞成長を示さない）対象に由来するかまたは個体群に由来する試料で確定されたベースラインレベルを指す「陰性対照」であってもよい。別の実施形態においては、ベースラインが、疾患の陽性診断を示すこともある。そのようなベースラインは、本明細書で「陽性対照」ベースラインとも呼ばれ、対象、別の対象または個体群からの試料で確定されたバイオマーカー発現または生物活性のレベルを指し、ここで試料は、その細胞試料に関するデータに基づいて、疾患を有する（すなわち、腫瘍性、不適当な細胞成長を示している、癌性）と考えられる。別の実施形態において、対象疾患の進行または退行を経時的にモニタリングできるように、かつ／または所与の治療プロトコールの有効性を経時的に評価できるように、テストしようとしている対象の以前の試料からベースラインレベルを確定することができる。好ましい実施形態において、バイオマーカー発現のベースラインレベルを確定する方法は、試料のタイプ、試料が得られる

組織または器官、評価すべき対象の状態、および、上述のアッセイの焦点または目的（例えば、診断、病期診断、モニタリング）に基づいて選択される。より好ましい実施形態において、その方法は、対象の試料を評価するために使用されるであろう方法と同じである。最も好ましい実施形態において、ベースラインレベルは、評価される予定の細胞と同じ細胞型を使用して確定される。

【０１０１】

一実施形態において、バイオマーカー発現または生物活性のベースラインレベルは、対象から得られる自家対照試料において確定される。自家対照試料は、単離された細胞の試料、組織試料または体液試料であってもよく、好ましくは細胞試料または組織試料である。さらなる実施形態において、対照試料は同一細胞型のものであるかまたは同一細胞型に由来すべきである。好ましい実施形態において、評価しようとしている試料にとって対照試料が最善のベースラインとして機能するように、評価しようとしている試料と同じ器官、組織または体液から対照試料を得る。一実施形態において、アッセイの目的が異常な細胞成長の診断であるとき、対照試料は、正常な細胞、組織、または体液を代表すると考えられる細胞群、組織または体液から、あるいは最小限、腫瘍細胞成長を遂げそうにないかまたは潜在的に腫瘍細胞成長を示す傾向がなさそうな、細胞または組織から採取することが望ましい。例えば、評価しようとしている試料が、外見上異常な細胞の領域、例えば腫瘍塊である場合、好ましくは、腫瘍塊が成長している組織または器官における、外見上正常な組織の区域（すなわち、腫瘍塊以外の、好ましくは腫瘍塊からある程度離れた領域）から、対照試料を得る。一態様において、評価しようとしている腫瘍が結腸にあれば、テスト試料は結腸の疑わしい腫瘍塊から取得し、対照試料は、塊がある区域から離れていて、かつ制御されない細胞増殖の徴候を示さない、結腸の異なる区域から取得する。

【０１０２】

一実施形態において、テスト試料とベースラインとの間の発現レベルの差は、核酸レベルまたはペプチドレベルのどちらで測定しても、その差が少なくとも２０％、３０％、４０％、５０％、好ましくは少なくとも７０％、より好ましくは８０％、９０％、さらにより好ましくは２倍、３倍、４倍、５倍、１０倍またはそれを上回る倍数であれば、そのテストの特定の目的上、疑問の余地がないと考えられる。一実施形態において、標的ＵＳＰ２ａバイオマーカーは、細胞の異なる部分に由来してもよく、また細胞表面受容体であってもよいが、細胞内タンパク質でもあり得る。ＵＳＰ２ａタンパク質は、試料中で過剰発現されることもあり、低発現のこともある。標的遺伝子またはタンパク質のレベルは、遺伝子の発現レベルを決定するための発現アッセイ等の従来の方法で、遺伝子産物のレベルを決定するための生化学アッセイで、またはＵＳＰ２ａによく反応する抗体を使用する免疫測定法で、決定することができる。検出方法の例としては、当業者に既知のもの、または数多くのテキストおよび研究室マニュアル（例えば、オースベル（Ａｕｓｕｂｅｌ）ら著、「分子生物学における短いプロトコール（Ｓｈｏｒｔ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ）、第３版、１９９５年、ジョン・ワイリー・アンド・サンズ社（Ｊｏｈｎ　Ｗｉｌｅｙ　＆　Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ）を参照されたい）で教示されているもの等が挙げられる。適切であれば、組織または血清等の体液における細胞表面分子として、標的ＵＳＰ２ａを同定することができる。

【０１０３】

例えば、ＵＳＰ２ａバイオマーカーの核酸を検出する方法としては、ＲＮＡフィンガープリント法、ノーザンブロット法、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）、リガーゼ連鎖反応、Ｑβレプリカーゼ、等温増幅法、鎖置換増幅、転写増幅システム、ヌクレアーゼ保護（ＳＩヌクレアーゼまたはＲＮＡｓｅ保護アッセイ）、ならびに国際公開第８８／１０３１５号、国際公開第８９／０６７００号、ＰＣＴ／ＵＳ８７／００８８０号、ＰＣＴ／ＵＳ８９／０１０２５号に開示されている方法（その全てを参照により本明細書に援用する）などがあるが、その限りではない。

【０１０４】

一実施形態において、ＵＳＰ２ａバイオマーカーの核酸の発現レベルの検出は、（ｉ）

本発明のプローブまたはプライマーを提供すること；（ｉｉ）プローブまたはプライマーを試料と接触させること；および（ｉｉｉ）プローブまたはプライマーの、試料中の核酸へのハイブリダイゼーションにより、ＵＳＰ２ａバイオマーカー核酸の有無またはレベルを検出することを含んでもよい。本方法はまた、検出前に、ＵＳＰ２ａバイオマーカーの核酸を増幅することも含んでもよい。例えば、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）またはライゲーション連鎖反応（ＬＣＲ：ｌｉｇａｔｉｏｎ ｃｈａｉｎ ｒｅａｃｔｉｏｎ）で、本プローブまたは本プライマーを使用することができる。テスト試料（例えば、患者対象から）と対照試料（例えば、正常対象から）との間の発現レベルの差は、関心対象の生物学的状態を示す。使用されるプローブまたはプライマーは、上述の２つ以上のプローブまたはプライマーの混合物であってもよい。

【０１０５】

さらなる実施形態において、核酸検出方法はまた、本発明のＵＳＰ２ａペプチドをコードする核酸で表される領域に広がる遺伝子病変の有無を、対象の試料で検出することも含む。遺伝子病変の検出は、（ｉ）ＵＳＰ２ａ遺伝子からの１つまたは複数のヌクレオチドの欠失；本遺伝子への１つまたは複数のヌクレオチドの付加、本遺伝子の１つまたは複数のヌクレオチドの置換、本遺伝子の大規模染色体再編成；本遺伝子のメッセンジャーＲＮＡ転写産物のレベルの変化；本遺伝子のメッセンジャーＲＮＡ転写産物の非野生型スプライシングパターンの存在；本タンパク質の非野生型レベル；および／またはＵＳＰ２ａタンパク質の異所性レベル；の少なくとも１つの存在を確認することを含む。

【０１０６】

代替実施形態において、ＵＳＰ２ａタンパク質のレベルは、ＵＳＰ２ａタンパク質と特異的に免疫反応する本発明の抗体を使用した免疫測定法で検出される。好ましくは、検出方法は、試料を本発明の抗体（抗体混合物を包含する）と接触させること、およびＵＳＰ２ａバイオマーカータンパク質の有無またはレベルを決定することを含む。テスト試料（例えば、患者対象から）と対照試料（例えば、正常な対象から）との間の発現レベルの差は、関心対象の生物学的状態を示す。使用される抗体は、２つ以上の抗体の混合物であってもよく、上述のＵＳＰ２ａペプチドの混合物に対して生じた抗体であってもよい。

【０１０７】

特異的抗体－抗原結合を検出するための、当技術分野で既知の様々な方法を使用することができる。本発明に従って実施することができる例示的な免疫測定法としては、蛍光偏光免疫測定法（ＦＰＩＡ：ｆｌｕｏｒｅｓｃｅｎｃｅ ｐｏｌａｒｉｚａｔｉｏｎ ｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ）、蛍光免疫測定法（ＦＩＡ：ｆｌｕｏｒｅｓｃｅｎｃｅ ｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ）、酵素免疫測定法（ＥＩＡ：ｅｎｚｙｍｅ ｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ）、比濁阻害免疫測定法（ＮＩＡ：ｎｅｐｈｅｌｏｍｅｔｒｉｃ ｉｎｈｉｂｉｔｉｏｎ ｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ）、酵素結合免疫吸着測定法（ＥＬＩＳＡ）、および 放射免疫測定法（ＲＩＡ）などがある。ゾラ（Ｚｏｌａ）著、モノクローナル抗体：技術のマニュアル（Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｍａｎｕａｌ ｏｆ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ）、ｐｐ．１４７～１５８（ＣＲＣプレス社（ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．）、１９８７年。一実施形態において、検出可能な標識は、対象抗体に付けることができ、アッセイ装置および適合する免疫測定手順の利用可能性によってしばしば決定される方法の様々な使用のニーズを満たすために選択される。適当な標識としては、放射性核種（例えば、^{125}Ｉ、^{131}Ｉ、^{35}Ｓ、^{3}Ｈ、または^{32}Ｐ）、酵素（例えば、アルカリホスファターゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ、ルシフェラーゼ、またはβ－ガラクトシダーゼ）、蛍光部分またはタンパク質（例えば、フルオレセイン、ローダミン、フィコエリトリン、ＧＦＰ、またはＢＦＰ）、または発光部分（例えば、クオンタム・ドット社（Ｑｕａｎｔｕｍ Ｄｏｔ Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ）、パロ・アルト、カリフォルニアにより供給される、Ｑｄｏｔ（商標）ナノ粒子）などが、限定なしに含まれる。上述の様々な免疫測定法を実施する際に使用される一般的な技術は、当業者に知られている。

【０１０８】

本発明の別の実施形態において、本発明の抗体（すなわち、一次抗体）は標識される必

要がなく、一次抗体に結合する標識された第２の抗体を使用して、その存在を検出することができる。

【０１０９】

一実施形態において、抗体を基材上に整列させ、例えば、「抗体タンパク質分析チップ（Ａｎｔｉｂｏｄｙ　Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ａｎａｌｙｓｉｓ　Ｃｈｉｐ）」と題する同一発明者による出願（参照により全体として本明細書に援用する）に記述されている、抗体アレイ法でバイオマーカーの検出を実施することが可能である。

【０１１０】

別の実施形態において、ｉｎ　ｖｉｖｏ撮像等の、ｉｎ　ｖｉｖｏ診断検査に抗体を使用することができる。概して、免疫シンチグラフィーを使用して関心対象の細胞または組織の位置を特定するために、抗体を放射性核種（^{111}Ｉｎ、^{99}Ｔｃ、^{14}Ｃ、^{131}Ｉ、^{125}Ｉ、または^{3}Ｈ等）で標識する。さらなる実施形態においては、当技術分野で周知の技術に従って、抗体を病理学における染色試薬として使用することも可能である。

【０１１１】

本発明の一実施形態は、テスト試料中のＵＳＰ２ａレベルを決定することを含む、癌の診断方法である。この方法で、ＵＳＰ２ａレベルは癌細胞の存在を示す。正常なベースライン対照と比較して高レベルでのＵＳＰ２ａの存在は、癌の存在、そのような癌に対する可能性のある易罹患性または抗癌治療処置に対する感受性の表れである。ＵＳＰ２ａのレベルは、例えば（本発明により提供されるプローブ／プライマー、またはそれらの混合物を使用した）ＵＳＰ２ａ遺伝子の発現レベルを決定するための発現アッセイ等の従来の方法で、遺伝子産物のレベルを決定するための生化学的アッセイで、また免疫測定法で、決定することができる。この方法の一実施形態においては、ＵＳＰ２ａを組織における細胞表面分子として同定することにより、または固定化され得る、血清等の、体液中で可溶型のＵＳＰ２ａを検出することにより、ＵＳＰ２ａのレベルを決定することができる。患者テスト試料を、ＵＳＰ２ａに特異的に結合する抗体、またはそのフラグメントと接触させること、および抗ＵＳＰ２ａ抗体またはフラグメントがＵＳＰ２ａタンパク質に結合したかどうかを決定することによって、ＵＳＰ２ａレベルを決定することができる。ＵＳＰ２ａに特異的に結合する第１のモノクローナル抗体および第１の抗体に結合する第２の抗体を使用することにより、ＵＳＰ２ａレベルを決定することができる。この方法を使用して、患者における癌の予後を決定したり、患者の治療処置に対する感受性を決定したりすることができる。

【０１１２】

本発明のさらなる実施形態は、腫瘍の診断方法または腫瘍の成長もしくは退行をモニタリングする方法あるいは患者の腫瘍治療である。本方法は、患者試料中のＵＳＰ２ａレベルを決定することを含む。

【０１１３】

一実施形態において、本発明はさらに、疾患診断、予後、リスク評価、および／または治効決定のためのキットを提供する。そのようなキットは、例えば、患者の疾患（例えば、癌）が薬物、化合物、化学療法剤、または生物学的処置剤を用いた所与の処置または治療に抵抗性であるか感受性であるかを決定したり予測したりするために、疾患に関する患者の診断、疾患進行のモニタリング、患者試料（例えば、生検）のテストで使用するために、臨床において有用である。さらなる実施形態において、キットはまた、本発明の核酸または核酸混合物あるいは本発明の抗体または抗体混合物を含む予測セットも提供する。別の実施形態において、キットは、使用される予定の特異的検出方法、例えば、上記、および当技術分野で既知の、核酸アッセイおよび免疫測定法に望ましい試薬を含んでもよい。

【０１１４】

好ましい実施形態において、キットは好ましくはテスト試料中のＵＳＰ２ａの発現または活性を検出する何らかの手段を含有し、また好ましくは、本発明のプローブ、ＰＣＲプライマー、または核酸の混合物、あるいは本発明の抗体、抗体の混合物、ＵＳＰ２ａに結

合する抗原結合ペプチド、そのフラグメントを包含する。キットは、本明細書で予見される診断方法を実施するために必要なあらゆる試薬を含むことができる。抗体、またはそのフラグメントを別のユニット、例えば、マーカーに結合させたり、固体担体（基材）に固定化したりすることができる。さらなる実施形態において、ＵＳＰ２ａ：抗体複合体検出のための第２の抗体を含むことができる。一実施形態において、キットは、テスト試料中の細胞型特有の対照マーカーを検出するための手段を含むことができる。抗体、またはそのフラグメントは、遊離型で存在してもよく、またはプラスチック製の皿、試験管、試験棒等の基材に固定化されていてもよい。キットはまた、陽性対照または陰性対照の検出および／または標識に適した試薬、洗浄液、希釈バッファー等、ならびに使用説明書も含むことができる。

【０１１５】

より具体的には、本発明によれば、ＵＳＰ２ａ発現または生物活性を検出する手段は、本明細書に既述の、ＵＳＰ２ａ発現または生物活性の検出方法で使用することができる好適な試薬であってもよい。そのような試薬としては、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、ＵＳＰ２ａまたはそのフラグメント（バイオマーカーコード遺伝子のＵＳＰ２ａ特異的制御領域を含む）にハイブリダイズする、本発明のプローブまたはプライマー、または核酸の混合物；ＵＳＰ２ａまたはそのフラグメントをコードするｍＲＮＡの増幅用ＲＴ－ＰＣＲプライマー；および／またはＵＳＰ２ａに選択的に結合する本発明の抗体または抗体の混合物、その抗原結合フラグメントまたは他の抗原結合ペプチドなどが挙げられるが、その限りではない。

【０１１６】

別の実施形態において、本発明のアッセイキットのＵＳＰ２ａマーカーおよび／または対照マーカーを検出するための手段は、検出可能なタグまたは検出可能な標識に結合されていてもよい。そのようなタグは、ＵＳＰ２ａまたは対照マーカーを検出するために使用される試薬の検出を可能にする適当なタグであってもよく、また本明細書に記述されている当技術分野で既知の分光学的、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って検出可能な、組成物または標識などを含むが、その限りではない。

【０１１７】

さらなる実施形態において、本発明のアッセイキットを検出するための手段は、基材上に固定化されていてもよい。そのような基材は、例えば既述の検出方法のいずれかで使用され得る検出試薬の固定化に適した基材を包含することができる。簡単に記載すると、検出手段の固定化に適した基材としては、所望の標的分子を検出するための検出手段の活性および／または能力に著しく影響せずに検出手段と結合を形成することができる、固体の有機支持体、バイオポリマー支持体または無機支持体等の固体支持体が挙げられる。例示的な有機固体支持体としては、ポリスチレン、ナイロン、フェノール－ホルムアルデヒド樹脂、アクリルコポリマー（例えば、ポリアクリルアミド）等のポリマー類、安定化した無傷の全細胞、および安定化した粗製全細胞／膜ホモジネートなどが挙げられるが、その限りではない。例示的なバイオポリマー支持体としては、セルロース、ポリデキストラン類（例えば、セファデックス（Ｓｅｐｈａｄｅｘ）（登録商標））、アガロース、コラーゲンおよびキチンなどが挙げられるが、その限りではない。例示的な無機支持体としては、ガラスビーズ（多孔質および非多孔質）、ステンレススチール、金属酸化物（例えば、多孔質セラミックス例えばZrO_2、TiO_2、Al_2O_3、およびＮｉＯ等）および砂などが挙げられるが、その限りではない。

その他の用途

一実施形態において、本発明は、ＵＳＰ２ａ発現または活性を調節することによって、例えば、特定のタンパク質－タンパク質相互作用を増強したり混乱させたりすることによって、細胞の成長、分化、または生存の１つまたは複数を調節する方法を提供する。概して、ｉｎ　ｖｉｖｏで実行しようと、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで実行しようと、またはｉｎ　ｓｉｔｕで実行しようと、本方法は、細胞を、本発明のＵＳＰ２ａペプチド、核酸、または抗体の有効量で処理すること、細胞の（ｉ）成長速度、（ｉｉ）分化、または（ｉｉｉ）

生存、の少なくとも１つを含む。本明細書に記載の調節効果は、シグナル伝達経路の研究者、ならびに疾患処置に有用である。

【０１１８】

別の実施形態において、本発明は、本発明のＵＳＰ２ａをコードする核酸に特異的にハイブリダイズするアンチセンス核酸を提供するが、ここでアンチセンス核酸はＵＳＰ２ａの発現を抑制する。さらなる実施形態において、本発明は、ＵＳＰ２ａの発現が抑制されるように、試料をｉｎ　ｖｉｔｒｏまたはｉｎ　ｖｉｖｏで本発明のアンチセンス核酸と接触させることによって本発明のＵＳＰ２ａの発現を抑制する方法を提供する。

【０１１９】

別の実施形態において、本発明の抗体は、結合して、ポリペプチド多量体化および／または本発明のＵＳＰ２ａのリガンドへの結合を競合的に抑制することができ、したがって、シグナル伝達におけるＵＳＰ２ａの活性を調節することができる。

【０１２０】

一実施形態において、ＵＳＰ２ａＭＡｂは、細胞膜上に位置する対応するＵＳＰ２ａタンパク質またはペプチドに結合すると同時に、その膜上の対応するＵＳＰ２ａを発現する細胞でアポトーシスを誘発する。ＭＡｂはまた、細胞数を減少させることも、対応するＵＳＰ２ａを発現する細胞（ＵＳＰ２ａ発現細胞として知られる）の細胞成長を抑制することもできる。好ましい実施形態において、細胞数の減少または細胞成長の抑制は、少なくとも約１０％、約２０％、約３０％、約４０％、約５０％、約６５％、約７５％またはそれを上回る。別の実施形態において、ＵＳＰ２ａ発現細胞は疾患細胞、例えば、癌または腫瘍細胞である。より好ましい実施形態において、癌は、大腸癌、膵臓癌、肺癌、胃癌、肝細胞癌、乳癌および甲状腺癌を包含するが、その限りではない。

【０１２１】

一実施形態において、ＭＡｂはまた、ＵＳＰ２ａ発現細胞の増殖を、好ましくは少なくとも約１０％、約２０％、約３０％、約４０％、約５０％、約６５％、約７５％、またはそれを上回る割合で抑制する。別の実施形態において、ＭＡｂは、ＵＳＰ２Ａ発現細胞の細胞成長を、好ましくは少なくとも約１０％、約２０％、約３０％、約４０％、約５０％、約６５％、約７５％、またはそれを上回る割合で抑制する。好ましくは、ＵＳＰ２ａ発現細胞は疾患細胞、例えば、癌または腫瘍細胞である。より好ましくは、癌は、大腸癌、膵臓癌、肺癌、胃癌、肝細胞癌、乳癌および甲状腺癌を包含するが、その限りではない。

【０１２２】

したがって、本発明の抗体は、ＵＳＰ２ａのアゴニストまたはアンタゴニストの役割を果たすことができる。例えば、本発明は、本発明のポリペプチドとの受容体／リガンド相互作用を、部分的にまたは完全に、混乱させる抗体を包含する。本発明はまた、リガンド結合を妨げるが、受容体活性化を妨げない、受容体特異的抗体も含む。受容体活性化（すなわち、シグナル伝達）は、本明細書に記述されているかさもなければ当技術分野で知られている技術によって決定することができる。例えば、受容体活性化は、免疫沈降法に続くウエスタンブロット解析で、受容体またはその基質のリン酸化（例えば、チロシンまたはセリン／トレオニンの）を検出することによって決定することができる。

【０１２３】

一実施形態において、本方法は、ＵＳＰ２ａタンパク質またはＵＳＰ２ａタンパク質のリガンド結合からのシグナル伝達の効果を刺激するかまたは無効にする、本発明のモノクローナル抗体、アンチセンス核酸、またはＵＳＰ２ａペプチド等のＵＳＰ２ａ治療法を用いて実行することができる。本発明のアンチセンス核酸は、標的ＵＳＰ２ａ遺伝子の発現を抑制し、一方でペプチドまたは抗体は、野生型ＵＳＰ２ａタンパク質とのリガンド相互作用を競合的に抑制し得る。

【０１２４】

さらなる実施形態において、本発明のＵＳＰ２ａペプチドは、アルブミン等の、担体タンパク質と一緒に動物系（例えば、ウサギまたはマウス等）に導入することができる。あるいは、ペプチドが十分な長さのもの（例えば、少なくとも約１５～２５アミノ酸）であ

れば、ポリペプチドを担体なしで提供することができる。

【０１２５】

一実施形態において、治療用の組成物は、腹腔内注射、静脈内注射、皮下注射、および筋肉内注射による投与、およびその他の投与方式、例えば経口、粘膜、吸入による、舌下等のために処方される。

【０１２６】

一実施形態において、本発明の核酸および抗体は、担体と共に送達することもできる。水または水溶液、食塩水、デキストロース水溶液およびグリセロール水溶液は、担体として、特に注射剤に好ましく使用される。担体はまた、薬学的に許容される担体でもあり得る。

【０１２７】

別の実施形態において、本発明の抗体のいずれかをコードする核酸はまた、所望の細胞において、本発明の抗体のいずれかを送達および発現させるためにも使用することができる。発現ベクターを抗体の発現のために使用できることは明白である。発現ベクターは、当技術分野で既知のいずれかの手段で、例えば、腹腔内、静脈内、筋肉内、皮下、髄腔内、脳室内、経口、経腸的、非経口的、鼻腔内、経皮的、舌下、または吸入等により投与することができるが、その限りではない。例えば、発現ベクターの投与は、注射、経口投与、パーティクルガンまたはカテーテル挿入投与、および局所（ｔｏｐｉｃａｌ）投与をはじめとする、局所（ｌｏｃａｌ）投与または全身投与を包含する。当業者は、ｉｎ ｖｉｖｏで外因性タンパク質の発現を得るための発現ベクターの投与に精通している。例えば、米国特許第６，４３６，９０８号明細書；米国特許第６，４１３，９４２号明細書；および米国特許第６，３７６，４７１号明細書を参照されたい（それぞれを参照により全体として援用する）。

【０１２８】

本発明の治療用ポリヌクレオチドおよびポリペプチドは、遺伝子送達媒体を使用して送達することができる。遺伝子送達媒体はウイルス起源であってもよく、非ウイルス起源であってもよい（一般に、ジョリー（Ｊｏｌｌｙ）著、癌遺伝子療法（Ｃａｎｃｅｒ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ）、１９９４年、第１巻、ｐ．５１；キムラ（Ｋｉｍｕｒａ）著、ヒト遺伝子療法（Ｈｕｍａｎ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ）、１９９４年、第５巻、ｐ．８４５；コネリー（Ｃｏｎｎｅｌｌｙ）著、ヒト遺伝子療法（Ｈｕｍａｎ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ）、１９８５年、第１巻、ｐ．１８５；およびカプリット（Ｋａｐｌｉｔｔ）著、ネイチャー・ジェネティクス（Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ）、１９９４年、第６巻、ｐ．１４８を参照されたい）。そのようなコード配列の発現は、内因性哺乳動物または非相同プロモータを使用して誘発することができる。コード配列の発現は、恒常的であることもでき、制御することもできる。

【０１２９】

所望のポリヌクレオチドの送達および所望の細胞における発現のためのウイルスベースのベクターは、当技術分野で周知である。例示的なウイルスベースの媒体としては、組換え型レトロウイルス、例えば、ＰＣＴ国際公開第９０／０７９３６号；国際公開第９４／０３６２２号；国際公開第９３／２５６９８号；国際公開第９３／２５２３４号；国際公開第９３／１１２３０号；国際公開第９３／１０２１８号；国際公開第９１／０２８０５号；米国特許第５，２１９，７４０号明細書；米国特許第４，７７７，１２７号明細書；英国特許第２，２００，６５１号明細書；および欧州特許第０３４５２４２号明細書；アルファウイルスベースのベクター、例えば、シンドビスウイルス（Ｓｉｎｄｂｉｓ ｖｉｒｕｓ）ベクター、セムリキ森林熱ウイルス（Ｓｅｍｌｉｋｉ ｆｏｒｅｓｔ ｖｉｒｕｓ）（ＡＴＣＣ ＶＲ－６７；ＡＴＣＣ ＶＲ－１２４７）、ロスリバーウイルス（Ｒｏｓｓ Ｒｉｖｅｒ ｖｉｒｕｓ）（ＡＴＣＣ ＶＲ－３７３；ＡＴＣＣ ＶＲ－１２４６）およびベネズエラウマ脳炎ウイルス（Ｖｅｎｅｚｕｅｌａｎ ｅｑｕｉｎｅ ｅｎｃｅｐｈａｌｉｔｉｓ ｖｉｒｕｓ）（ＡＴＣＣ ＶＲ－９２３；ＡＴＣＣ ＶＲ－１２５０；ＡＴＣＣ ＶＲ１２４９；ＡＴＣＣ ＶＲ－５３２））、およびアデノ随伴ウイルス（

ＡＡＶ：ａｄｅｎｏ－ａｓｓｏｃｉａｔｅｄ　ｖｉｒｕｓ）ベクター、例えば、ＰＣＴ国際公開第９４／１２６４９号、国際公開第９３／０３７６９号；国際公開第９３／１９１９１号；国際公開第９４／２８９３８号；国際公開第９５／１１９８４号および国際公開第ＷＯ９５／００６５５号；（それぞれを参照により全体として本明細書に援用する）などが挙げられるが、その限りではない。キュリエル（Ｃｕｒｉｅｌ）著、ヒト遺伝子療法（Ｈｕｍ．Ｇｅｎｅ　Ｔｈｅｒ．）、１９９２年、第３巻、ｐ．１４７に記述されている、殺したアデノウイルスに連結されたＤＮＡの投与も使用することができる。

【０１３０】

殺したアデノウイルスのみに連結されたまたは連結されていないポリカチオン濃縮ＤＮＡ（例えば、キュリエル（Ｃｕｒｉｅｌ）著、ヒト遺伝子療法（Ｈｕｍ．Ｇｅｎｅ　Ｔｈｅｒ．）、１９９２年、第３巻、ｐ．１４７参照）；リガンド連結ＤＮＡ（例えば、ウー（Ｗｕ）著、ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー（Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．）、１９８９年、第２６４巻、ｐ．１６９８５参照）；真核細胞送達媒体細胞（例えば、米国特許第５，８１４，４８２号明細書；ＰＣＴ国際公開第９５／０７９９４号；国際公開第９６／１７０７２号；国際公開第９５／３０７６３号；および国際公開第９７／４２３３８号参照）および核酸電荷中和（ｎｕｃｌｅｉｃ　ｃｈａｒｇｅ　ｎｅｕｔｒａｌｉｚａｔｉｏｎ）または細胞膜との融合を含むがその限りではない、非ウイルス送達媒体および非ウイルス送達方法も使用することができる。

【０１３１】

裸のＤＮＡを使用することもできる。例示的な裸のＤＮＡ導入方法は、ＰＣＴ国際公開第９０／１１０９２号および米国特許第５，５８０，８５９号明細書（参照により全体として本明細書に援用する）に記述されている。遺伝子送達媒体の役割を果たすことができるリポソームは、米国特許第５，４２２，１２０号明細書；ＰＣＴ国際公開第９５／１３７９６号；国際公開第９４／２３６９７号；国際公開第９１／１４４４５号；および欧州特許第０５２４９６８号明細書（参照により全体として本明細書に援用する）に記述されている。さらなる手法は、フィリップ（Ｐｈｉｌｉｐ）著、分子細胞生物学（Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌ．）、１９９４年、第１４巻、ｐ．２４１１およびウォッフェンディン（Ｗｏｆｆｅｎｄｉｎ）著、米国科学アカデミー紀要（Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ）、１９９４年、第９１巻、ｐ．１５８１に記述されている。

【０１３２】

他の製剤は、リポソーム等の担体を含むが、その限りではない、当技術分野で既知の好適な送達方式を含む。例えば、マハト（Ｍａｈａｔｏ）ら著、医薬品調査（Ｐｈａｒｍ．Ｒｅｓ．）、１９９７年、第１４巻、ｐｐ．８５３～８５９を参照されたい。リポソーム製剤としては、サイトフェクチン、多層小胞および単層小胞などが挙げられるが、その限りではない。

【０１３３】

別の実施形態において、本発明ではまた、他の分子、例えば検出可能な標識等に結合された本発明の核酸または抗体、治療薬または細胞傷害性薬物を含む組成物の投与も考慮される。作用剤は、放射性同位体、毒素、トキソイド、催炎物質、酵素、アンチセンス分子、ペプチド、サイトカインまたは化学療法剤を含むことができるが、その限りではない。抗体をそのような分子と結合する方法は一般に当業者に知られている。例えば、ＰＣＴ国際公開第９２／０８４９５号；国際公開第９１／１４４３８号；国際公開第８９／１２６２４号；米国特許第５，３１４，９９５号明細書；および欧州特許第３９６，３８７号明細書；（その開示内容を参照により全体として本明細書に援用する）を参照されたい。

【０１３４】

処置に必要な薬用量は、投与経路の選択、製剤の性質、対象の病気の性質、対象の大きさ、体重、表面積、年齢および性別；投与されている他の薬物、主治医の判断によって異なる。好適な薬用量は０．０１～１０００．０ｍｇ／ｋｇの範囲である。

【０１３５】

別段の指示がない限り、本発明の実施は、当技術分野の技術の範囲内である、細胞生物

学、細胞培養、分子生物学、微生物学、組換えＤＮＡ、および免疫学の従来技術を使用する。

【０１３６】

そのような技術は、文献および本明細書で十分に説明されている。例えば、分子クローニング実験マニュアル（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ）、第2版、サムブルック（Ｓａｍｂｒｏｏｋ）、フリッチェ（Ｆｒｉｔｓｃｈ）およびマニアティス（Ｍａｎｉａｔｉｓ）編（コールド・スプリング・ハーバ・ラボラトリー・プレス（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ）：１９８９年）；ＤＮＡクローニング（ＤＮＡ Ｃｌｏｎｉｎｇ）、第Ｉ巻および第１１巻（Ｄ．Ｎ．グロバー（Ｇｌｏｖｅｒ）編、１９８５年）；オリゴヌクレオチド合成（Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ）（Ｍ．Ｊ．ゲイト（Ｇａｉｔ）編、１９８４年）；マリス（Ｍｕｌｌｉｓ）ら著、米国特許第４，６８３，１９５号明細書；核酸ハイブリダーゼーション（Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｈｙｂｒｉｄｉｚａｔｉｏｎ）（Ｂ．Ｄ．ヘイムス（Ｈａｍｅｓ）およびＳ．Ｊ．ヒギンス（Ｈｉｇｇｉｎｓ）編、１９８４年）；転写と翻訳（Ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｉｏｎ Ａｎｄ Ｔｒａｎｓｌａｔｉｏｎ）（Ｂ．Ｄ．ヘイムス（Ｈａｍｅｓ）およびＳ．Ｊ．ヒギンス（Ｈｉｇｇｉｎｓ）編、１９８４年）；動物細胞の培養（Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｏｆ Ａｎｉｍａｌ Ｃｅｌｌｓ）（Ｒ．１．フレッシュニー（Ｆｒｅｓｈｎｅｙ）著、アラン（Ａｌａｎ）Ｒ．リス（Ｌｉｓｓ）社、１９８７年）；固定化細胞および酵素（ＩＲＬプレス（ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ）、１９８６年）；Ｂ．パーバル（Ｐｅｒｂａｌ）著、分子クローニングのための実践ガイド（Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ｇｕｉｄｅ Ｔｏ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ（１９８４年）；学術論文、酵素学における方法（Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ）（アカデミック・プレス社（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．）、ニューヨーク）；哺乳動物細胞のための遺伝子送達ベクター（Ｇｅｎｅ Ｔｒａｎｓｆｅｒ Ｖｅｃｔｏｒｓ Ｆｏｒ Ｍａｍｍａｌｉａｎ Ｃｅｌｌｓ）、（Ｊ．Ｈ．ミラー（Ｍｉｌｌｅｒ）およびＭ．Ｐ．カルロス（Ｃａｌｏｓ）編、１９８７年、コールド・スプリング・ハーバ・ラボラトリー（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ）；酵素学における方法（Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ）、第１５４巻および第１５５巻（ウー（Ｗｕ）ら編）、細胞および分子生物学における免疫化学的方法（メイヤー（Ｍａｙｅｒ）およびウォーカ（Ｗａｌｋｅｒ）編、アカデミック・プレス（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ）、ロンドン、１９８７年）；実験免疫学ハンドブック、第Ｉ～ＩＶ巻（Ｄ．Ｍ．ウィア（Ｗｅｉｒ）およびＣ．Ｃ．ブラックウェル（Ｂｌａｃｋｗｅｌｌ）編、１９８６年）；マウス胚操作（Ｍａｎｉｐｕｌａｔｉｎｇ ｔｈｅ Ｍｏｕｓｅ Ｅｍｂｒｙｏ）、（コールド・スプリング・ハーバ・ラボラトリー・プレス（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ）、コールド・スプリング・ハーバ（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ）、ニューヨーク、１９８６年）を参照されたい。

【０１３７】

本発明は、本発明の説明に役立つが本発明を限定しない、下記の実施例を参照することによってより良く理解されるであろう。

【実施例】

【０１３８】

実施例１－ＵＳＰ２ａに対するポリクローナル抗血清の産生および特徴付け

ＳＰＦウサギ（メイン・バイオテクノロジー・サービシーズ社（Ｍａｉｎｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，Ｉｎｃ））を使用して、ポリクローナル抗血清を生成した。４８匹のウサギを使用した。ポリクローナル抗体は、下文でＵＳＰ２ａ－１およびＵＳＰ２ａ－２と呼ばれ、またＡＴＣＣに寄託されている（それぞれ、ＡＴＣＣ寄託番号＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿および＿＿＿＿＿＿＿＿＿）。

【０１３９】

表２に示す本発明のペプチドのいずれかを各ウサギに注射した。

【０１４０】
【表２】

表２．注射したペプチド

USP2a-1 (配列番号 1)	LTRPRTYGPSSLLDYDRGRPL
USP2a-2 (配列番号 2)	GGGK RAESQTRGTE RPLGS

ウサギを出血させ、次いで得られた抗血清をプールして、抗血清を産生させた同一エピトープを使用してアフィニティ精製した。下記の手順に従って、アフィニティ精製を実行した：

［ステップ１：アフィニティカラム調製］

配列番号１または配列番号２のペプチドを活性セファロースビーズ１ｍｌにカップリングすることにより、免疫アフィニティカラムを調製した。

［ステップ２：抗血清の負荷］

抗血清を、濃度２μｇ／ｍＬでペプチド－セファロースカラムに負荷し、３７℃で１時間インキュベートした。

［ステップ３：溶離］

カラムを数回洗浄した後、０．０２％ナトリウムアジドを含有する溶離バッファーを使用して、結合した抗体の溶離を実施した。抗体含有画分をプールし、Ｕ．Ｖ．分光光度計を使用して２８０ｎｍにおける光学濃度を読み取ることによって、免疫精製した抗体の最終濃度を決定した。

［ステップ４：免疫精製された抗体のＥＬＩＳＡテスト］

ブロッキング試薬シーブロック（ＳｅａＢｌｏｃｋ）を純濃度でウェルに負荷し、３７℃で３０分間インキュベートした。インキュベーション後、４つの血清試料（出血前Ｒｂ１、出血前Ｒｂ２、ペプチド１およびペプチド２）を異なる６濃度でウェルに加えた。０．１５Ｍ　ＰＢＳを使用して、４試料を、１：５０、１：２５０、１：１２５０、１：６２５０、１：３１２５０、および１：１５６０００の濃度に希釈した。４血清のこれらの濃度の各々をウェルに加え、次いで室温で３０分間インキュベートした。最後に、０．０５％Ｔｗｅｅｎ（登録商標）２０を含む０．１５Ｍ　ＰＢＳを使用して、二次抗体、抗ＲｂＨＲＰ、（ＨＲＰ－ロット番号８６５６９）を１：１００００の濃度に希釈し、室温で３０分間インキュベートした。表３および表４に示されている試料の最終濃度は、Ｕ．Ｖ．分光光度計を使用して４５０ｎｍにおける吸光度を読み取ることによって決定した。

【０１４１】
【表３】

表３．出血前Ｒｂ１および２試料分析

濃度	抗血清に対する ELISA 反応性 Rb1	抗血清に対する ELISA 反応性 Rb2
1:50	0.33	0.34
1:250	0.24	0.02
1:1250	0.36	0.03
1:6250	0.33	0.01
1:31250	0.20	0.20
1:156000	0.43	0.13

【０１４２】

【表４】

表４．ＵＳＰ２ａ－１試料分析

濃度	抗血清に対するELISA反応性 USP2a ペプチド 1	抗血清に対するELISA反応性 USP2a ペプチド 2
1:50	0.79	0.87
1:250	0.58	0.58
1:1250	0.94	0.85
1:6250	0.93	0.63
1:31250	0.86	0.95
1:156000	0.64	0.53

全ての特許、特許出願、および本明細書に引用された公開されている参考文献を、参照により全体として本明細書に援用する。本発明は、具体的に示されており、その好ましい実施形態に言及しながら記述してきたが、添付の特許請求の範囲によって包囲される本発明の範囲から逸脱することなく、形式および詳細の様々な変更を行えることは、当業者に理解されるであろう。

【配列表】

2014532408000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2012/061543

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - G01N 33/53 (2013.01)
USPC - 435/6.14
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)
IPC(8) - C12N 9/00; C12Q 1/00, 1/37, 1/68; G01N 33/53, 33/574 (2013.01)
USPC - 435/6.1, 6.14, 6.19, 7.1, 23, 69.1, 183, 320.1, 325, 350

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
CPC - A61K 38/00; C12Q 1/6837, 1/6886; G01N 33/574, 33/57434

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

PatBase, Google Patents, Google, PubMed

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2002/20736 A2 (TODD et al) 14 March 2002 (14.03.2002) entire document	1-15, 17-22
Y		16
Y	US 2008/0050278 A1 (FARINA et al) 28 February 2008 (28.02.2008) entire document	16
A	US 2005/0196754 A1 (DRMANAC et al) 08 September 2005 (08.09.2005) entire document	1-22
A	GRANER et al. 'The Isopeptidase USP2a regulates the stability of fatty acid synthase in prostate cancer.' Cancer Cell 5(3): 253-261. March 2004. entire document	1-22

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐

* 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 application or patent 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
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
30 January 2013	08 FEB 2013
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: Blaine R. Copenheaver PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2009)

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,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,BN,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,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC

(72)発明者 ムラカ、パトリック ジェイ.
アメリカ合衆国 ０１２０１ マサチューセッツ州 ピッツフィールド ストラットフォード アベニュー ８エイ

Ｆターム(参考) 4B024 AA12 BA36 BA41 CA04 GA11
4H045 AA11 AA30 BA10 BA17 CA41 DA76 DA86 EA50