

(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2017-502267
(P2017-502267A)

(43) 公表日 平成29年1月19日(2017.1.19)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 V	4 C 0 8 4
GO 1 N 33/531 (2006.01)	GO 1 N 33/531 A	4 H 0 4 5
GO 1 N 33/577 (2006.01)	GO 1 N 33/531 B	
GO 1 N 33/535 (2006.01)	GO 1 N 33/577 B	
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	GO 1 N 33/535	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 69 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-535634 (P2016-535634)
 (86) (22) 出願日 平成26年12月3日 (2014. 12. 3)
 (85) 翻訳文提出日 平成28年7月21日 (2016. 7. 21)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2014/068426
 (87) 国際公開番号 W02015/084994
 (87) 国際公開日 平成27年6月11日 (2015. 6. 11)
 (31) 優先権主張番号 61/911, 306
 (32) 優先日 平成25年12月3日 (2013. 12. 3)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 61/945, 860
 (32) 優先日 平成26年2月28日 (2014. 2. 28)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 61/946, 373
 (32) 優先日 平成26年2月28日 (2014. 2. 28)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 507044516
 プレジデント アンド フェローズ オブ
 ハーバード カレッジ
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02
 138, ケンブリッジ, クインシー
 ストリート 17
 (74) 代理人 110001302
 特許業務法人北青山インターナショナル
 (72) 発明者 ホレフ, ミハエル
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0
 2467, チェストナットヒル, サウス
 ストリート 205

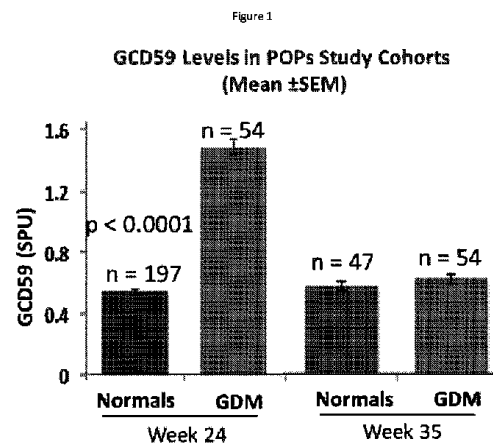
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 妊娠性糖尿病の評価のための方法および試薬

(57) 【要約】

本発明は、妊娠性糖尿病ならびに / または関連障害および / もしくは病態の評価における糖化 C D 5 9 のレベルを測定するためのアッセイ、診断、キット、およびアッセイ成分を含む。一部のキットは、C D 5 9 上の捕捉エピトープと会合し得る捕捉抗体を含み、前記捕捉エピトープは、リジン残基番号 4 1 (K 4 1) を欠き得る。キットは、C D 5 9 上の検出エピトープと会合し得る検出抗体も含み得る。このような検出エピトープは、糖化 K 4 1 を含み得る。

【選択図】 図 1



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

対象試料中の G C D 5 9 の濃度を測定するためのキットにおいて、前記対象試料は、妊娠対象から得られ、場合により、1 つ以上の内部対照を含み、C D 5 9 上の捕捉エピトープと会合し得る捕捉抗体であって、前記捕捉エピトープは、リジン残基番号 4 1 (K 4 1) を含まない捕捉抗体、C D 5 9 上の検出エピトープと会合し得る検出抗体であって、前記検出エピトープは、糖化 K 4 1 を含む検出抗体、およびタンパク質標準をさらに含むことを特徴とするキット。

10

【請求項 2】

請求項 1 に記載のキットにおいて、還元剤をさらに含むことを特徴とするキット。

【請求項 3】

請求項 2 に記載のキットにおいて、前記還元剤が、水素化ホウ素ナトリウムであることを特徴とするキット。

【請求項 4】

請求項 2 に記載のキットにおいて、前記還元剤が、有機溶媒中に存在することを特徴とするキット。

【請求項 5】

請求項 4 に記載のキットにおいて、前記有機溶媒が、トリエチレングリコールジメチルエーテル、テトラグリム、または 2 - メトキシエチルエーテルを含むことを特徴とするキット。

20

【請求項 6】

請求項 5 に記載のキットにおいて、前記有機溶媒が、2 - メトキシエチルエーテルを含むことを特徴とするキット。

【請求項 7】

請求項 4 乃至 6 の何れか 1 項に記載のキットにおいて、前記還元剤が、水素化ホウ素ナトリウムであることを特徴とするキット。

【請求項 8】

請求項 7 に記載のキットにおいて、前記水素化ホウ素ナトリウムが、前記有機溶媒中に約 0 . 1 M から約 1 0 M の濃度において存在することを特徴とするキット。

30

【請求項 9】

請求項 8 に記載のキットにおいて、前記水素化ホウ素ナトリウムが、2 - メトキシエチルエーテル中に 0 . 5 M の濃度において存在することを特徴とするキット。

【請求項 10】

請求項 1 乃至 9 の何れか 1 項に記載のキットにおいて、包装およびその使用説明書をさらに含むことを特徴とするキット。

【請求項 11】

請求項 1 乃至 10 の何れか 1 項に記載のキットにおいて、前記捕捉エピトープが、配列番号 2 のアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % の同一性を有するアミノ酸配列を含むことを特徴とするキット。

40

【請求項 12】

請求項 11 に記載のキットにおいて、前記捕捉エピトープが、配列番号 4 のアミノ酸配列と少なくとも 8 5 % の同一性を有するアミノ酸配列を含むことを特徴とするキット。

【請求項 13】

請求項 12 に記載のキットにおいて、前記捕捉抗体が、配列番号 2 のアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % の同一性を有する捕捉抗体ペプチド抗原を使用して生成されることを特徴とするキット。

【請求項 14】

請求項 13 に記載のキットにおいて、前記捕捉抗体が、配列番号 4 のアミノ酸配列と少

50

なくとも 85% の同一性を含む捕捉抗体ペプチド抗原を使用して生成されることを特徴とするキット。

【請求項 15】

請求項 13 に記載のキットにおいて、前記捕捉抗体が、配列番号 3 ~ 6 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む捕捉抗体ペプチド抗原を使用して生成されることを特徴とするキット。

【請求項 16】

請求項 15 に記載のキットにおいて、前記捕捉抗体ペプチド抗原が、1 つ以上の非天然アミノ酸を含むことを特徴とするキット。

【請求項 17】

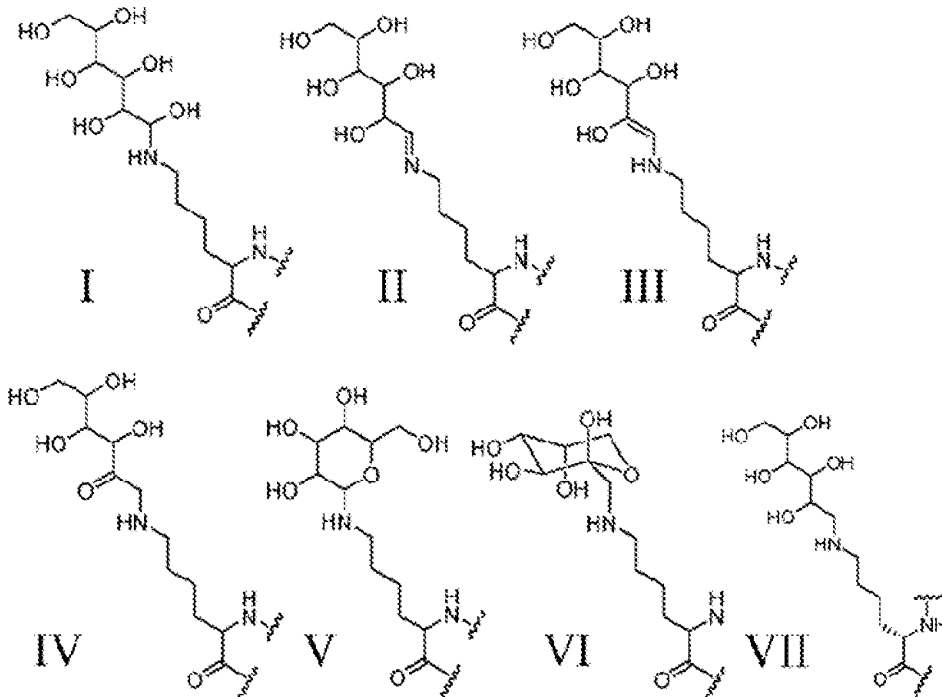
請求項 16 に記載のキットにおいて、前記捕捉抗体ペプチド抗原が、配列番号 7 または配列番号 8 のアミノ酸配列を含むことを特徴とするキット。

【請求項 18】

請求項 15 乃至 17 の何れか 1 項に記載のキットにおいて、前記捕捉抗体ペプチド抗原が環状であることを特徴とするキット。

【請求項 19】

請求項 18 に記載のキットにおいて、糖化 K 4 1 を含む前記検出エピトープが、構造 I ~ V I I からなる群から選択される化学構造を含むことを特徴とするキット。



【請求項 20】

請求項 19 に記載のキットにおいて、前記検出エピトープが、配列番号 9 のアミノ酸配列と少なくとも 70% の同一性を有するアミノ酸配列を含むことを特徴とするキット。

【請求項 21】

請求項 20 に記載のキットにおいて、前記検出抗体が、配列番号 9 ~ 11 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む検出抗体ペプチド抗原を使用して生成されることを特徴とするキット。

【請求項 22】

請求項 1 乃至 21 の何れか 1 項に記載のキットにおいて、前記タンパク質標準が、サロゲート化合物を含み、前記サロゲート化合物は、捕捉ドメインであって、前記捕捉ドメインは、前記捕捉抗体と会合する捕捉ドメイン、および検出ドメインであって、前記検出ドメインは、前記検出抗体と会合する検出ドメイン

10

20

30

40

50

を含むことを特徴とするキット。

【請求項 2 3】

請求項 2 2 に記載のキットにおいて、前記捕捉ドメインが、配列番号 2 ~ 8 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むことを特徴とするキット。

【請求項 2 4】

請求項 2 2 または 2 3 に記載のキットにおいて、前記検出ドメインが、配列番号 9 ~ 11 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むことを特徴とするキット。

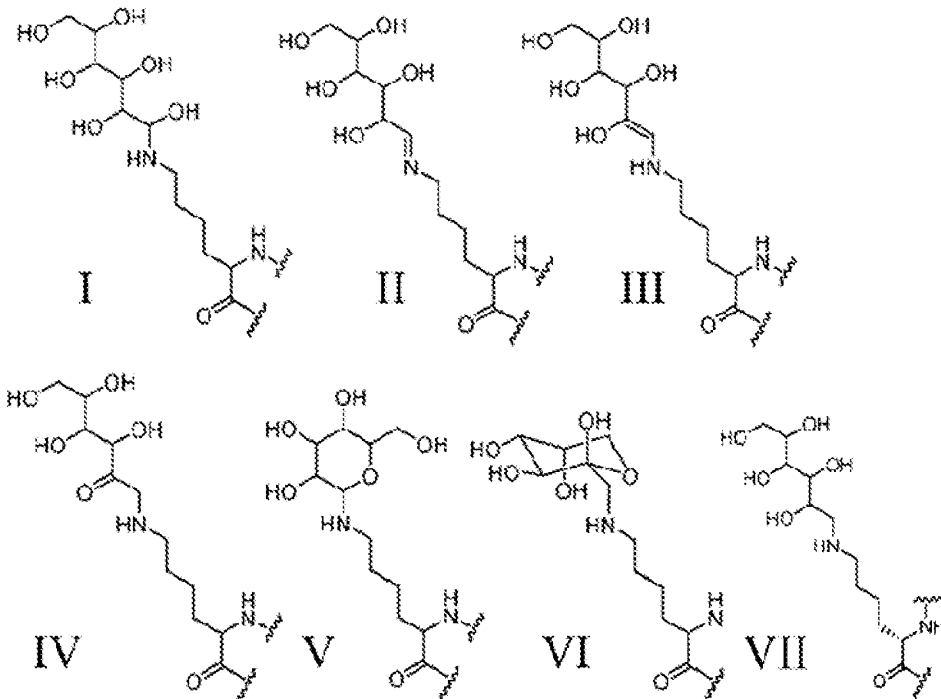
【請求項 2 5】

請求項 2 4 に記載のキットにおいて、前記検出ドメインが、糖化 K 5 残基を含むことを特徴とするキット。

10

【請求項 2 6】

請求項 2 5 に記載のキットにおいて、前記糖化 K 5 残基が、構造 I ~ VII からなる群から選択される化学構造を含むことを特徴とするキット。



20

30

【請求項 2 7】

請求項 2 2 乃至 2 6 の何れか 1 項に記載のキットにおいて、前記検出ドメインおよび前記捕捉ドメインが、リンカーにより結合していることを特徴とするキット。

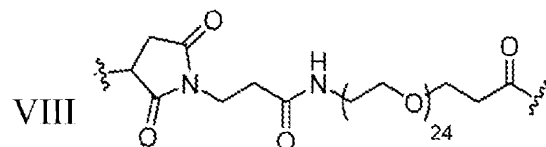
【請求項 2 8】

請求項 2 7 に記載のキットにおいて、前記リンカーが、ポリエチレングリコールを含むことを特徴とするキット。

【請求項 2 9】

請求項 2 8 に記載のキットにおいて、前記リンカーが、構造：

40



を含むことを特徴とするキット。

【請求項 3 0】

請求項 2 2 乃至 2 9 の何れか 1 項に記載のキットにおいて、前記捕捉抗体および前記検出抗体のそれぞれが、独立して、モノクローナルまたはポリクローナル抗体であることを特徴とするキット。

50

【請求項 3 1】

請求項 3 0 に記載のキットにおいて、前記捕捉抗体が、マウスモノクローナル抗体であることを特徴とするキット。

【請求項 3 2】

請求項 3 0 または 3 1 に記載のキットにおいて、前記検出抗体が、マウスまたはウサギ細胞に由来するモノクローナル抗体であることを特徴とするキット。

【請求項 3 3】

請求項 3 0 乃至 3 2 の何れか 1 項に記載のキットにおいて、前記抗体のそれぞれが、独立して、1 つ以上の検出可能な標識を含み得ることを特徴とするキット。

【請求項 3 4】

請求項 3 0 乃至 3 3 の何れか 1 項に記載のキットにおいて、二次検出抗体をさらに含むことを特徴とするキット。

【請求項 3 5】

請求項 3 4 に記載のキットにおいて、前記二次検出抗体が、1 つ以上の検出可能な標識を含むことを特徴とするキット。

【請求項 3 6】

請求項 3 5 に記載のキットにおいて、前記二次検出抗体が、セイヨウワサビペルオキシダーゼ (HRP) に結合していることを特徴とするキット。

【請求項 3 7】

請求項 3 6 に記載のキットにおいて、前記二次検出抗体の比色定量のための HRP 基質を含むことを特徴とするキット。

【請求項 3 8】

妊娠対象からの 1 つ以上の試料中の GCD59 の濃度を測定する方法において、
 a . 1 つ以上の妊娠期の中に前記妊娠対象から前記 1 つ以上の試料を得るステップと、
 b . 請求項 1 乃至 3 7 の何れか 1 項に記載のキットを使用して GCD59 の濃度を測定するステップと、
 を含むことを特徴とする方法。

【請求項 3 9】

請求項 3 8 に記載の方法において、前記 1 つ以上の試料をグルコース負荷後に採取することを特徴とする方法。

【請求項 4 0】

請求項 3 8 または 3 9 に記載の方法において、前記 1 つ以上の試料が、血液、尿、粘液、羊水および唾液からなる群から選択される体液試料であることを特徴とする方法。

【請求項 4 1】

請求項 4 0 に記載の方法において、前記 1 つ以上の試料が、少なくとも 1 つの血液試料および 1 つ以上の他の体液試料の組合せを含むことを特徴とする方法。

【請求項 4 2】

請求項 4 1 に記載の方法において、単一血液試料を含むことを特徴とする方法。

【請求項 4 3】

請求項 3 8 乃至 4 2 の何れか 1 項に記載の方法において、前記 1 つ以上の妊娠期が、妊娠約 20 から約 36 週を含むことを特徴とする方法。

【請求項 4 4】

請求項 4 3 に記載の方法において、前記 1 つ以上の妊娠期が、妊娠 24 週目を含むことを特徴とする方法。

【請求項 4 5】

対象における妊娠性糖尿病 (GDM) を診断する方法において、
 a . 1 つ以上の妊娠期の中に前記対象から 1 つ以上の試料を得るステップと、
 b . 請求項 1 乃至 3 7 の何れか 1 項に記載のキットを使用して前記 1 つ以上の試料中の GCD59 の濃度を測定するステップと、
 c . 前記 GCD59 の濃度が所定のカットオフ値よりも大きい場合に GDM の診断を提供

10

20

30

40

50

するステップと、
を含むことを特徴とする方法。

【請求項 4 6】

請求項 4 5 に記載の方法において、消費制限および / または要求を含まないことを特徴とする方法。

【請求項 4 7】

請求項 4 5 または 4 6 に記載の方法において、GDM の前記診断が、クラス A 1、クラス A 2、クラス B、クラス C、クラス D、クラス F、クラス R、クラス H およびクラス T からなる群から選択される GDM サブクラスの診断を含むことを特徴とする方法。

【請求項 4 8】

請求項 4 5 乃至 4 7 の何れか 1 項に記載の方法において、前記 1 つ以上の試料を、グルコース負荷後に採取することを特徴とする方法。

【請求項 4 9】

請求項 4 5 乃至 4 8 の何れか 1 項に記載の方法において、前記 1 つ以上の試料が、血液、尿、粘液、羊水および唾液からなる群から選択される体液試料であることを特徴とする方法。

【請求項 5 0】

請求項 4 9 に記載の方法において、単一血液試料を含むことを特徴とする方法。

【請求項 5 1】

請求項 4 5 乃至 5 0 の何れか 1 項に記載の方法において、前記 1 つ以上の妊娠期が、妊娠約 20 から約 36 週を含むことを特徴とする方法。

【請求項 5 2】

請求項 5 1 に記載の方法において、前記 1 つ以上の妊娠期が、妊娠 24 週目を含むことを特徴とする方法。

【請求項 5 3】

対象における GDM を診断する方法において、

- a . 1 つ以上の妊娠期の間前記対象から 1 つ以上の試料を得るステップと、
 - b . 請求項 1 乃至 3 7 の何れか 1 項に記載のキットを使用して前記 1 つ以上の試料中の GCD 5 9 の濃度を測定するステップと、
 - c . 前記 GCD 5 9 の濃度を、前記対象の 1 つ以上の他の分析の結果と比較するステップと、
 - d . 前記 GCD 5 9 の濃度および前記対象の前記 1 つ以上の他の分析の結果に基づき GDM の診断を提供するステップと、
- を含むことを特徴とする方法。

【請求項 5 4】

請求項 5 3 に記載の方法において、前記 1 つ以上の他の分析の結果が、インスリン、グルコースおよび GCD 5 9 以外の糖化タンパク質からなる群から選択される 1 つ以上のバイオマーカーのレベルを含むことを特徴とする方法。

【請求項 5 5】

請求項 5 4 に記載の方法において、前記 1 つ以上のバイオマーカーが、グルコースを含むことを特徴とする方法。

【請求項 5 6】

請求項 5 5 に記載の方法において、グルコースの前記レベルが、126 mg / dl よりも大きい空腹時血漿グルコースレベルまたは 200 mg / dl よりも大きいランダム血漿グルコースレベルを含むことを特徴とする方法。

【請求項 5 7】

請求項 5 3 に記載の方法において、前記 1 つ以上の他の分析が、グルコース負荷試験、経口グルコース耐性試験 (OGTT)、空腹時グルコース試験、ランダムグルコース試験、食後 2 時間グルコース試験、ヘモグロビン A 1 c (HbA 1 c) 試験、フルクトサミン試験および 1,5 - アンヒドログルシトール試験からなる群から選択される試験を含むこ

10

20

30

40

50

とを特徴とする方法。

【請求項 58】

請求項 53 乃至 57 の何れか 1 項に記載の方法において、前記 GDM の診断が、クラス A1、クラス A2、クラス B、クラス C、クラス D、クラス F、クラス R、クラス H およびクラス T からなる群から選択される GDM サブクラスの診断を含むことを特徴とする方法。

【請求項 59】

請求項 53 乃至 58 の何れか 1 項に記載の方法において、前記 1 つ以上の妊娠期が、妊娠約 20 から約 36 週を含むことを特徴とする方法。

【請求項 60】

請求項 59 に記載の方法において、前記 1 つ以上の妊娠期が、妊娠 24 週目を含むことを特徴とする方法。

【請求項 61】

対象における GDM を診断する方法において、前記対象が、GDM の 1 つ以上の事前兆候または GDM についての 1 つ以上のリスク因子を呈し、

- a. 1 つ以上の妊娠期の中に前記対象から 1 つ以上の試料を得るステップと、
 - b. 請求項 1 乃至 37 の何れか 1 項に記載のキットを使用して前記対象からの前記 1 つ以上の試料中の GCD59 の濃度を測定するステップと、
 - c. 前記 GCD59 の濃度が所定のカットオフ値よりも大きい場合に GDM の診断を提供するステップと、
- を含むことを特徴とする方法。

【請求項 62】

請求項 61 に記載の方法において、前記 1 つ以上の事前兆候が、1 つ以上の試験の結果を含み、前記 1 つ以上の試験が、前記対象が GDM を呈することを示すことを特徴とする方法。

【請求項 63】

請求項 61 または 62 に記載の方法において、前記 1 つ以上の試験が、OGTT 試験、空腹時グルコース試験、ランダムグルコース試験、食後 2 時間グルコース試験、HbA1c 試験、フルクトサミン試験および 1,5 - アンヒドログルシトール試験からなる群から選択される試験を含むことを特徴とする方法。

【請求項 64】

請求項 61 乃至 63 の何れか 1 項に記載の方法において、前記 1 つ以上の事前兆候が、GDM の 1 つ以上の症状を含むことを特徴とする方法。

【請求項 65】

請求項 64 に記載の方法において、前記 GDM の 1 つ以上の症状が、口渇、疲労、悪心、嘔吐、膀胱感染症、酵母菌感染症および視力障害からなる群から選択されることを特徴とする方法。

【請求項 66】

請求項 61 乃至 65 の何れか 1 項に記載の方法において、前記 GDM についての 1 つ以上のリスク因子が、肥満度指数 (BMI) の上昇、糖尿病の家族歴、前糖尿病の家族歴、GDM の家族歴、高齢出産、多嚢胞性卵巣症候群の罹患、喫煙歴、産歴、高コレステロールおよび小人症からなる群から選択されることを特徴とする方法。

【請求項 67】

請求項 61 乃至 65 の何れか 1 項に記載の方法において、前記 1 つ以上のリスク因子が、過体重 (約 25 から約 29.9 kg/m² の BMI)、グレード I 肥満 (約 30 から約 34.9 kg/m² の BMI)、グレード II 肥満 (約 35 から約 39.9 kg/m² の BMI) およびグレード III 肥満 (40 kg/m² 超の BMI) からなる群から選択される BMI カテゴリーの上昇を含むことを特徴とする方法。

【請求項 68】

請求項 61 乃至 65 の何れか 1 項に記載の方法において、前記 GDM についての 1 つ以

10

20

30

40

50

上のリスク因子が、前記対象の民族性を含むことを特徴とする方法。

【請求項 69】

請求項 68 に記載の方法において、前記民族性が、アフリカ系アメリカ人、先住アメリカ人、スペイン系アメリカ人および南アジア人からなる群から選択されることを特徴とする方法。

【請求項 70】

請求項 61 乃至 69 の何れか 1 項に記載の方法において、前記 1 つ以上の妊娠期が、妊娠約 20 から約 36 週を含むことを特徴とする方法。

【請求項 71】

請求項 70 に記載の方法において、前記 1 つ以上の妊娠期が、妊娠 24 週目を含むことを特徴とする方法。

10

【請求項 72】

対象における GDM を発症するリスクのレベルを割り当てる方法において、

- a . 前記対象から 1 つ以上の試料を得るステップと、
 - b . 請求項 1 乃至 37 の何れか 1 項に記載のキットを使用して前記 1 つ以上の試料中の GCD59 の濃度を測定するステップと、
 - c . 前記 GCD59 の濃度を、2 つ以上の GDM を発症するリスクのレベルに関連する 2 つ以上の濃度範囲と比較するステップと、
 - d . 前記 GCD59 の濃度を含む GDM を発症するリスクの濃度範囲および関連レベルを選択するステップと、
 - e . 前記対象に、前記選択された濃度範囲に関連する GDM を発症するリスクのレベルを割り当てるステップと、
- を含むことを特徴とする方法。

20

【請求項 73】

請求項 72 に記載の方法において、前記対象が、GDM についての 1 つ以上のリスク因子を呈することを特徴とする方法。

【請求項 74】

請求項 73 に記載の方法において、前記リスク因子が、肥満度指数 (BMI) の上昇、糖尿病の家族歴、前糖尿病の家族歴、GDM の家族歴、高齢出産、多嚢胞性卵巣症候群の診断、喫煙歴、産歴、高コレステロールおよび小人症からなる群から選択されることを特徴とする方法。

30

【請求項 75】

請求項 72 乃至 74 の何れか 1 項に記載の方法において、前記 1 つ以上の試料が、血液、尿、粘液、羊水および唾液からなる群から選択される体液試料であることを特徴とする方法。

【請求項 76】

請求項 75 に記載の方法において、単一血液試料を含むことを特徴とする方法。

【請求項 77】

GDM を罹患する 1 つ以上の対象に GDM 重症度のレベルを割り当てる方法において、

- a . 1 つ以上の妊娠期の中に前記 1 つ以上の対象から 1 つ以上の試料を得るステップと、
 - b . 請求項 1 乃至 37 の何れか 1 項に記載のキットを使用して前記 1 つ以上の試料中の GCD59 の濃度を測定するステップと、
 - c . 前記 GCD59 の濃度を、2 つ以上の GDM 重症度のレベルに関連する 2 つ以上の濃度範囲と比較するステップと、
 - d . 前記 GCD59 の濃度を含む GDM 重症度の濃度範囲および関連レベルを選択するステップと、
 - e . 前記 1 つ以上の対象に、前記選択された濃度範囲に関連する GDM 重症度のレベルを割り当てるステップと、
- を含むことを特徴とする方法。

40

【請求項 78】

50

請求項 77 に記載の方法において、前記 2 つ以上の GDM 重症度のレベルが、軽度、中程度および重度からなる群から選択される 2 つ以上のレベルを含むことを特徴とする方法。

【請求項 79】

請求項 77 または 78 に記載の方法において、前記 1 つ以上の試料が、血液、尿、粘液、羊水および唾液からなる群から選択される体液試料であることを特徴とする方法。

【請求項 80】

請求項 79 に記載の方法において、単一血液試料を含むことを特徴とする方法。

【請求項 81】

請求項 77 乃至 80 の何れか 1 項に記載の方法において、前記 1 つ以上の妊娠期が、妊娠約 20 から約 36 週を含むことを特徴とする方法。

10

【請求項 82】

請求項 81 に記載の方法において、前記 1 つ以上の妊娠期が、妊娠 24 週目を含むことを特徴とする方法。

【請求項 83】

GDM を罹患する対象における GDM をモニタリングする方法において、

- a. 前記 GDM を罹患する対象から 1 つ以上の妊娠期の中に 1 つ以上の試料を得るステップと、
 - b. 請求項 1 乃至 37 の何れか 1 項に記載のキットを使用して前記 1 つ以上の試料中の GCD59 の濃度を測定するステップと、
 - c. 前記 GCD59 の濃度をより早期に得られた結果と比較するステップと、
- を含むことを特徴とする方法。

20

【請求項 84】

請求項 83 に記載の方法において、前記より早期に得られた結果が、グルコース負荷試験、OGTT 試験、空腹時グルコース試験、ランダムグルコース試験、食後 2 時間グルコース試験、HbA1c 試験、フルクトサミン試験および 1,5 - アンヒドログルシトール試験からなる群から選択される試験からの結果を含むことを特徴とする方法。

【請求項 85】

請求項 83 または 84 に記載の方法において、前記より早期に得られた結果が、ベースライン GCD59 濃度値を含むことを特徴とする方法。

30

【請求項 86】

請求項 85 に記載の方法において、請求項 1 乃至 37 の何れか 1 項に記載のキットを使用して前記ベースライン GCD59 濃度値を得ることを特徴とする方法。

【請求項 87】

請求項 83 乃至 86 の何れか 1 項に記載の方法において、前記 1 つ以上の試料が、血液、尿、粘液、羊水および唾液からなる群から選択される体液試料であることを特徴とする方法。

【請求項 88】

請求項 83 乃至 87 の何れか 1 項に記載の方法において、前記 1 つ以上の妊娠期が、妊娠約 12 から約 36 週を含むことを特徴とする方法。

40

【請求項 89】

請求項 83 乃至 88 の何れか 1 項に記載の方法において、2 つ以上の試料を含み、前記 2 つ以上の試料を、約 2 週間おきから約 2 ヶ月おきに得ることを特徴とする方法。

【請求項 90】

分娩後対象における糖尿病病態をモニタリングする方法において、

- a. 前記分娩後対象から 1 つ以上の試料を得るステップと、
 - b. 請求項 1 乃至 37 の何れか 1 項に記載のキットを使用して前記 1 つ以上の試料中の GCD59 の濃度を測定するステップと、
 - c. 前記 GCD59 の濃度をより早期に得られた結果と比較するステップと、
- を含むことを特徴とする方法。

50

【請求項 9 1】

請求項 9 0 に記載の方法において、前記より早期に得られた結果が、グルコース負荷試験、OGTT 試験、空腹時グルコース試験、ランダムグルコース試験、食後 2 時間グルコース試験、HbA1c 試験、フルクトサミン試験および 1, 5 - アンヒドログルシトール試験からなる群から選択される試験からの結果を含むことを特徴とする方法。

【請求項 9 2】

請求項 9 0 または 9 1 に記載の方法において、前記より早期に得られた結果が、ベースライン GCD59 濃度値を含むことを特徴とする方法。

【請求項 9 3】

請求項 9 2 に記載の方法において、請求項 1 乃至 3 7 の何れか 1 項に記載のキットを使用して前記ベースライン GCD59 濃度値を得ることを特徴とする方法。

10

【請求項 9 4】

請求項 9 0 乃至 9 3 の何れか 1 項に記載の方法において、前記 1 つ以上の試料が、血液、尿、粘液、羊水および唾液からなる群から選択される体液試料であることを特徴とする方法。

【請求項 9 5】

請求項 9 0 乃至 9 4 の何れか 1 項に記載の方法において、2 つ以上の試料を含み、前記 2 つ以上の試料を、約 2 週間おきから約 2 ヶ月おきに個々に得ることを特徴とする方法。

【請求項 9 6】

対象における子癩前症を診断する方法において、
 a . 前記対象から 1 つ以上の試料を得るステップと、
 b . 請求項 1 乃至 3 7 の何れか 1 項に記載のキットを使用して前記 1 つ以上の試料中の GCD59 の濃度を測定するステップと、
 c . 前記 GCD59 の濃度が所定のカットオフ値よりも大きい場合に子癩前症の診断を提供するステップと、
 を含むことを特徴とする方法。

20

【請求項 9 7】

幼児対象における 1 つ以上の GDM 関連病態を軽減、反転および / または予防する方法において、

a . 前記幼児対象を妊娠している対象から 1 つ以上の妊娠期間に 1 つ以上の試料を得るステップと、
 b . 請求項 1 乃至 3 7 の何れか 1 項に記載のキットを使用して前記 1 つ以上の試料中の GCD59 の濃度を測定するステップと、
 c . 前記 GCD59 の濃度を使用して前記幼児対象における前記 1 つ以上の GDM 関連病態のリスク、存在および / または進行を決定するステップと、
 d . 前記幼児対象を妊娠している前記対象に治療を提供して前記幼児対象における前記 1 つ以上の GDM 関連病態を軽減、反転および / またはその発症を予防するステップと、
 を含むことを特徴とする方法。

30

【請求項 9 8】

請求項 9 7 に記載の方法において、前記 1 つ以上の GDM 関連病態が、巨人症、出生時外傷、高ビリルビン血症、低血糖症、発作および死産からなる群から選択されることを特徴とする方法。

40

【請求項 9 9】

請求項 9 7 または 9 8 に記載の方法において、前記 1 つ以上の試料が、血液、尿、粘液、羊水および唾液からなる群から選択される体液試料であることを特徴とする方法。

【請求項 1 0 0】

請求項 9 9 に記載の方法において、単一血液試料を含むことを特徴とする方法。

【請求項 1 0 1】

請求項 9 7 乃至 1 0 0 の何れか 1 項に記載の方法において、前記 1 つ以上の妊娠期間が、妊娠約 1 2 から約 3 6 週を含むことを特徴とする方法。

50

【請求項 102】

請求項 97 乃至 101 の何れか 1 項に記載の方法において、前記治療が、インスリン療法および食生活の改善からなる群から選択されることを特徴とする方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

政府支援

本発明は、National Institutes of Healthにより授与された助成金第DK095429-01号、標題「GLYCATED CD59 AS A NOVEL BIOMARKER OF GESTATIONAL DIABETES MELLITUS」のもと政府支援を受けてなされた。米国政府は、本発明における一定の権利を有し得る。

10

【背景技術】

【0002】

糖尿病は、血中グルコースレベルの上昇を特徴とする。血中グルコースレベルの上昇の持続は、糖化として公知のプロセスによりタンパク質に影響し得る。糖化は、タンパク質へのグルコースの非酵素的付着であり、糖尿病対象において組織損傷を引き起こす主要な病態生理学的機序とみなされる。糖化は、グルコースおよび/または他の還元糖と、タンパク質中のアミノ基との反応を含み、シッフ塩基またはアルドイミンの形成をもたらす。この不安定な付加物は、アマドリ転位を介してより安定なケトアミンに互変異生体化し得る。

20

【0003】

様々な糖化タンパク質、例として、アルブミン、ヘモグロビンなどが、糖尿病対象において同定されている。糖化タンパク質の機能は、影響されるアミノ基の局在に応じて弱めることができる。例えば、ヘモグロビンの鎖のアミノ末端糖化は、2, 3-ジホスホグリセレートへの応答性が減少し、酸素親和性が増加する糖化ヘモグロビン(HbA1c)を生じさせる。凝固系の主要なトロンビンインヒビター、アンチトロンビンIIIの糖化は、ヘパリンについてのその親和性を減少させ、糖尿病に伴う凝固亢進状態に寄与することが前提とされている。

【0004】

あるタンパク質のタンパク質「糖化」の程度の計測は、より短い期間の指標、例えば、グルコースレベルの直接計測よりも安定な血糖管理の指標を提供するための有価な臨床ツールであり得、最終的には、治療の効力を改善することに役立つ。本発明者らは、CD59のK41糖化が異常な血糖レベルと相関すること、およびK41における糖化がCD59の正常な活性を干渉することを既に示している(米国特許第6, 835, 545号明細書; 米国特許第7, 049, 082号明細書; および米国特許第7, 439, 330号明細書; これらのそれぞれの内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる)。

30

【0005】

しかしながら、糖尿病病態を検出および診断する改善された方法が依然として必要とされている。特に、ある患者集団は、そのような改善された方法から利益を受け得る。あるそのような患者集団としては、妊娠性糖尿病を発症するリスクのある妊娠女性が挙げられる。

40

【発明の概要】

【0006】

一部の実施形態において、本発明は、対象試料中のGCD59の濃度を測定するためのキットを提供する。このような対象試料は、妊娠対象から得ることができる。キットは、場合により、1つ以上の内部対照を含み得る。一部のキットは、CD59上の捕捉エピトープと会合し得る捕捉抗体を含み、前記捕捉エピトープは、リジン残基番号41(K41)を欠き得る。キットは、CD59上の検出エピトープと会合し得る検出抗体も含み得る。このような検出エピトープは、糖化K41を含み得る。本発明のキットは、タンパク質

50

標準も含み得る。一部の場合、キットは、包装およびその使用説明書を含み得る。

【0007】

一部の実施形態において、捕捉エピトープは、配列番号2のアミノ酸配列と少なくとも70%の同一性を有するアミノ酸配列を含み得る。一部の場合、捕捉エピトープは、配列番号4のアミノ酸配列と少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列を含み得る。本明細書に開示の捕捉抗体は、配列番号2のアミノ酸配列と少なくとも70%の同一性を含む捕捉抗体ペプチド抗原を使用して生成することができる。他の捕捉抗体は、配列番号4のアミノ酸配列と少なくとも85%の同一性を含む捕捉抗体ペプチド抗原を使用して生成することができる。さらなる捕捉抗体は、配列番号3～6からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む捕捉抗体ペプチド抗原を使用して生成することができる。捕捉抗体ペプチド抗原は、1つ以上の非天然アミノ酸を含み得る。このような捕捉抗体ペプチド抗原は、配列番号7または配列番号8のアミノ酸配列を含み得る。一部の場合、捕捉抗体ペプチド抗原は環状であり得る。

10

【0008】

一部の実施形態において、検出エピトープは、以下に提示される構造I～VIIからなる群から選択される化学構造を含む糖化K41を含み得る。検出エピトープは、配列番号9のアミノ酸配列と少なくとも70%の同一性を有するアミノ酸配列を含み得る。検出抗体は、配列番号9～11からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む検出抗体ペプチド抗原を使用して生成することができる。本発明のタンパク質標準は、サロゲート化合物を含み得、前記サロゲート化合物は、捕捉ドメインを含み、前記捕捉ドメインは、前記捕捉抗体、および検出ドメインと会合し、前記検出ドメインは、前記検出抗体と会合する。サロゲート化合物の捕捉ドメインは、配列番号2～8からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み得る。サロゲート化合物の検出ドメインは、配列番号9～11からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み得る。検出ドメインは、糖化リジン残基をさらに含み得る。このような糖化リジンは、以下に提示される構造I～VIIからなる群から選択される化学構造を含み得る。サロゲート化合物は、リンカーにより結合している検出ドメインおよび捕捉ドメインを含み得る。このようなリンカーは、ポリエチレングリコールを含み得る。リンカーは、以下に提示される構造VIIIによる構造を含み得る。

20

【0009】

一部の実施形態において、本発明のキットは、対象試料を還元するための1つ以上の還元剤を含み得る。このような還元剤は、水素化ホウ素ナトリウムを含み得る。一部の場合、水素化ホウ素ナトリウムは、還元剤溶液の一部として提供することができる。このような溶液は、水および/または1つ以上の有機溶媒を含み得る。一部の実施形態において、有機溶媒は、トリエチレングリコールジメチルエーテル、テトラグリムおよび2-メトキシエチルエーテルから選択することができる。水素化ホウ素ナトリウムは、還元剤溶液中に約0.1Mから約10Mの濃度において存在し得る。

30

【0010】

本発明の抗体は、モノクローナルまたはポリクローナル抗体であり得る。モノクローナル抗体は、マウスまたはウサギ細胞に由来し得る。抗体は、1つ以上の検出可能な標識も含み得る。二次検出抗体は、セイヨウワサビペルオキシダーゼ(HRP)に結合させることができる。このような抗体を含むキットは、比色定量のためのHRP基質を含み得る。

40

【0011】

本発明の方法は、妊娠対象からの1つ以上の試料中のGCD59の濃度を測定する方法において、1つ以上の妊娠期の間に妊娠対象から1つ以上の試料を得、本明細書に記載のキットを使用してGCD59の濃度を測定することを含む方法を含み得る。このような方法による試料としては、血液、尿、粘液、羊水および唾液からなる群から選択される体液試料を挙げることができる。一部の試料は、少なくとも1つの血液試料および1つ以上の他の体液試料の組合せを含み得る。一部の方法によれば、単一の血液試料を使用することができる。一部の方法によれば、妊娠期は、妊娠約20から約36週を含み得る。一部の場合、試料は、グルコース負荷後に採取することができる。

50

【0012】

一部の実施形態において、本発明は、対象における妊娠性糖尿病（GDM）を診断する方法において、1つ以上の妊娠期の間に対象から1つ以上の試料を得、キットを使用してそのような試料中のGCD59の濃度を測定し、GCD59の濃度が所定のカットオフ値よりも大きい場合にGDMの診断を提供することを含む方法を提供する。一部の場合、このような方法は、消費制限および/または要求の必要なしで実施することができる。このような方法による試料としては、血液、尿、粘液、羊水および唾液からなる群から選択される体液試料を挙げることができる。一部の試料は、少なくとも1つの血液試料および1つ以上の他の体液試料の組合せを含み得る。一部の方法によれば、単一の血液試料を使用することができる。一部の方法によれば、妊娠期は、妊娠約20から約36週を含み得る。一部の場合、GDMの診断は、クラスA1、クラスA2、クラスB、クラスC、クラスD、クラスF、クラスR、クラスHおよびクラスTからなる群から選択されるGDMサブクラスの診断を含み得る。

10

【0013】

本発明の一部の方法によれば、対象におけるGDMの診断は、1つ以上の妊娠期の間に対象から1つ以上の試料を得、キットを使用してGCD59の濃度を測定し、GCD59の濃度を対象の1つ以上の他の分析の結果と比較し、比較に基づきGDMの診断を提供することにより実施することができる。他の分析は、インスリン、グルコースおよびGCD59以外の糖化タンパク質からなる群から選択される1つ以上のバイオマーカーのレベルを含み得る。このようなバイオマーカーがグルコースレベルを含む場合、そのようなレベルは、空腹時血漿グルコースレベルまたはランダム血漿グルコースレベルを含み得る。さらなる分析は、グルコース負荷試験、経口グルコース耐性試験（OGTT）、空腹時グルコース試験、ランダムグルコース試験、食後2時間グルコース試験、ヘモグロビンA1c（HbA1c）試験、フルクトサミン試験および1,5-アンヒドログルシトール試験からなる群から選択される試験を含み得る。

20

【0014】

本明細書の開示は、対象におけるGDMを診断する方法において、そのような対象がGDMの1つ以上の事前兆候またはGDMについての1つ以上のリスク因子を呈する方法をさらに提供する。このような方法は、1つ以上の妊娠期の間に対象から1つ以上の試料を得、キットを使用して1つ以上の対象試料中のGCD59の濃度を測定し、GCD59の濃度が所定のカットオフ値よりも大きい場合にGDMの診断を提供することを含み得る。このような方法による事前兆候は、1つ以上の試験からの結果を含み得、そのような試験は、対象がGDMを呈することを示す。このような試験としては、OGTT試験、空腹時グルコース試験、ランダムグルコース試験、食後2時間グルコース試験、HbA1c試験、フルクトサミン試験および1,5-アンヒドログルシトール試験を挙げることができる。一部の場合、事前兆候は、GDMの1つ以上の症状を含み得る。このような症状としては、口渇、疲労、悪心、嘔吐、膀胱感染症、酵母菌感染症および視力障害を挙げることができる。GDMについてのリスク因子としては、肥満度指数（BMI）の上昇、糖尿病の家族歴、前糖尿病の家族歴、GDMの家族歴、高齢出産、多嚢胞性卵巣症候群の罹患、喫煙歴、産歴、高コレステロールおよび小人症を挙げることができる。対象がBMIの上昇を含む場合、BMIカテゴリーとしては、過体重（約25から約29.9 kg/m²のBMI）、グレードI肥満（約30から約34.9 kg/m²のBMI）、グレードII肥満（約35から約39.9 kg/m²のBMI）およびグレードIII肥満（40 kg/m²を超えるBMI）を挙げることができる。さらなるリスク因子は、対象の民族性を含み得る。このような民族性としては、限定されるものではないが、アフリカ系アメリカ人、先住アメリカ人、スペイン系アメリカ人および南アジア人を挙げることができる。

30

40

【0015】

一部の実施形態において、本発明の方法は、対象においてGDMを発症するリスクのレベルを割り当てるために使用することができる。このような方法は、対象から1つ以上の試料を得、キットを使用してそのような試料中のGCD59の濃度を測定し、GCD59

50

の濃度を、2つ以上のGDMを発症するリスクのレベルに関連する2つ以上の濃度範囲と比較し、そのようなGCD59の濃度を含むGDMを発症するリスクの濃度範囲および関連レベルを選択し、対象に、選択された濃度範囲に関連するGDMを発症するリスクのレベルを割り当てることを含む得る。

【0016】

本明細書に提示の一部の方法は、GDMを罹患する1つ以上の対象にGDM重症度のレベルを割り当てることを含み、1つ以上の妊娠期の間にそのような対象から1つ以上の試料を得、キットを使用して対象試料中のGCD59の濃度を測定し、GCD59濃度を、2つ以上のGDM重症度のレベルに関連する2つ以上の濃度範囲と比較し、GCD59の測定濃度を含むGDM重症度の濃度範囲および関連レベルを選択し、選択された濃度範囲

10

【0017】

本明細書において、GDMを罹患する対象におけるGDMをモニタリングする方法において、GDMを罹患する対象から1つ以上の妊娠期の間に1つ以上の試料を得、キットを使用して試料中のGCD59の濃度を測定し、得られたGCD59の濃度をより早期に得られた結果と比較することを含み方法も提供される。このようなより早期に得られた結果は、グルコース負荷試験、OGTT試験、空腹時グルコース試験、ランダムグルコース試験、食後2時間グルコース試験、HbA1c試験、フルクトサミン試験および1,5-アンヒドログルシトール試験からなる群から選択される試験からの結果を含み得る。より早期に得られた結果は、キットを使用して得られたベースラインGCD59濃度値も含み得る。一部の場合、試料は、約2週間おきから約2ヵ月おきに得ることができる。

20

【0018】

一部の実施形態において、本発明は、分娩後対象における糖尿病病態をモニタリングする方法において、分娩後対象から1つ以上の試料を得、キットを使用して試料中のGCD59の濃度を測定し、GCD59の濃度をより早期に得られた結果と比較することを含み方法を提供する。このようなより早期に得られた結果は、グルコース負荷試験、OGTT試験、空腹時グルコース試験、ランダムグルコース試験、食後2時間グルコース試験、HbA1c試験、フルクトサミン試験および1,5-アンヒドログルシトール試験からなる群から選択される試験からの結果を含み得る。より早期に得られた結果は、キットを使用して得られたベースラインGCD59濃度値も含み得る。一部の場合、試料は、約2週間おきから約2ヵ月おきに得ることができる。

30

【0019】

本明細書において、対象における子癇前症を診断する方法において、対象から1つ以上の試料を得、キットを使用して試料中のGCD59の濃度を測定し、GCD59の濃度が所定のカットオフ値よりも大きい場合に子癇前症の診断を提供することを含み方法が含まれる。幼児対象における1つ以上のGDM関連病態を軽減、反転および/または予防する方法において、幼児対象を妊娠している対象から1つ以上の妊娠期の間に1つ以上の試料を得、キットを使用して試料中のGCD59の濃度を測定し、GCD59の測定濃度を使用して幼児対象におけるGDM関連病態のリスク、存在および/または進行を決定し、幼児対象を妊娠している対象に治療を提供して幼児対象における1つ以上のGDM関連病態の発症を軽減、反転および/または予防することを含み方法も含まれる。GDM関連病態としては、巨人症、出生時外傷、高ビリルビン血症、低血糖症、発作および死産からなる群から選択される1つ以上を挙げることができる。このような方法による妊娠期は、妊娠約12から約36週を含み得る。一部の場合、治療は、インスリン療法および食生活の改善からなる群から選択することができる。

40

【図面の簡単な説明】

【0020】

上記および他の対象、特徴および利点は、添付の図面に説明されるとおり本発明の特定の実施形態の以下の詳細な説明から明らかである。図面は必ずしも縮尺通りではなく、代

50

わりに本発明の種々の実施形態の原理の説明が強調される。

【0021】

【図1】図1は、妊娠24および35週における子癩前症の予測因子（POP）研究コホートから得られた対象試料中の糖化CD59（GCD59）レベルを示すグラフを示す。

【図2】図2は、GCD59の増加濃度に関連する、分析されたコホート中の対象（妊娠性糖尿病（GDM）を有し、または有さない妊娠対象）の割合を示すグラフを示す。

【図3】図3は、GCD59レベルがGDMを有する妊娠対象を検出し得る特異度および感度を示す受信者動作特性（ROC）曲線を示すグラフを示す。

【図4】図4は、翻訳後修飾：糖化および還元hCD59サロゲートのハイブリッドペプチドサロゲートについてのHPLCトレースを示す。条件：500 μ lのH₂O/MeOH中0.50mg；インジェクション容量：36 μ l；勾配：10～60%、50分間；カラム：Jupiter 5u、C18、300（4.6mm内径、250mmL）；緩衝液：A：H₂O中0.05%のTFA；B：MeCN中0.05%のTFA；流速：1mL/分。

【発明を実施するための形態】

【0022】

概要

CD59が糖化されるという発見により、GCD59の量が正常レベルと異なる疾患の分析が容易になる。例えば、CD59の糖化のレベルは糖尿病において上昇することが発見されている（Qin, X. et al., Diabetes, 2004 Oct. 53 : 2653 - 61）。GCD59は体液中に存在することも決定されている。したがって、糖尿病またはCD59糖化に影響する他の疾患の発症、進行および/または退縮は、対象における体液試料中のGCD59のレベルをモニタリングすることによりモニタリングすることができる。

【0023】

本発明の実施形態は、糖尿病病態の安定な指標として糖化タンパク質、例えば、CD59として公知のGPIアンカー膜タンパク質のレベルを利用する。本明細書において使用される場合、CD59（膜反応溶解インヒビター（MIRL）、プロテクチン、HRF20およびH19としても公知）およびK41糖化CD59は、アクセッション番号M95708（Davies, A., et al., Journal J Exp. Med. 170(3), 637 - 654 (1989)）により開示されるmRNAから翻訳され得るポリペプチドである。CD59は、補体系のキー調節因子であり、糖尿病に伴う血管合併症の発病に関与する。高血糖条件下、CD59の糖化は、特に残基K41において増加する。本明細書において使用される場合、「K41-糖化CD59」または「GCD59」は、ヒトCD59のアミノ酸番号41において糖化されたCD59を指す（残基番号41は、シグナルおよびGPIシグナル配列の除去後に得られる成熟CD59タンパク質：LQCYNCPNPTADCKTAVNCS SDFDA CLITKAGLQVYNK CWK FEHCN FN DVTTRLRENE LTY YCCKKDLCNFNEQLEN（配列番号1）からカウントする）。HbA1cに対して、血中のK41糖化CD59（GCD59）の定常状態レベルの確立は、連続的な計測間のより短い間隔を可能とし得、かなり必要とされる血糖状態の中間推定および試験を受ける対象に対するより小さい負荷を提供する（Qin, X. et al., Diabetes, 2004 Oct. 53 : 2653 - 61）。

【0024】

一部の実施形態において、本発明は、K41糖化CD59（GCD59）レベル（一部の場合、それらは血糖レベルおよび妊娠性糖尿病（GDM）に関するため）を検出および計測するためのキット、方法および組成物を提供する。

【0025】

糖化CD59

糖化は、還元糖（例えば、グルコース）の、タンパク質、脂質、または他の分子中のア

10

20

30

40

50

ミノ基との非酵素的反応を含む。糖化糖は、直鎖または環状形態のいずれかで結合している。例えば、糖化CD59において、糖化糖は、直鎖または環状形態のいずれかでCD59に結合しており、シッフ塩基として公知の最初のアルドイミン付加物、環化グリコシルアミン、最初のシッフ塩基の互変異生体、ならびにアマドリ付加物の直鎖（ケト）および環状（1-デオキシ-フルクトピラノース）形態を含む。CD59の糖化産物およびそのペプチド断片は、米国特許第6,835,545号明細書；米国特許第7,049,082号明細書；および米国特許第7,439,330号明細書（これらのそれぞれの内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる）に記載されている。

【0026】

対照的に、グリコシル化は、タンパク質、脂質、または他の分子への糖の酵素的付着を含む。糖化タンパク質の例としては、N末端における糖化 - アミノ基を有するもの（例えば、糖化ヘモグロビン）およびタンパク質のリジンの - アミノ基が糖化されたもの（例えば、糖化アルブミン）が挙げられる。グルコースと優先的に、および非酵素的に反応し得る1つ以上の - アミノおよび / または - アミノ基を担持するそれらのタンパク質は、当業者により糖化モチーフを有すると認識される。

10

【0027】

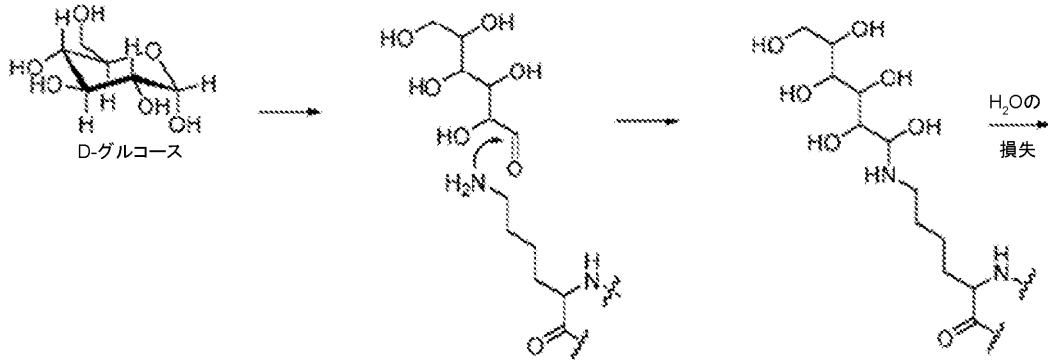
タンパク質の糖化は、高レベルのグルコースが糖尿病対象の標的器官中で細胞および組織損傷を経時的に誘導する主要な機序を表すと考えられる。タンパク質の糖化は、タンパク質が曝露されるグルコースレベルに依存する。血漿グルコースレベルは連続体として存在するため、糖化タンパク質が非糖尿病および糖尿病対象の両方に存在することは驚くべきことではないが、糖尿病対象におけるレベルが非糖尿病対象におけるレベルよりも高い。したがって、対象における糖尿病病態の診断および追跡ならびに糖尿病病態についての対象の集団のスクリーニングは、対象および / または対象集団における糖化タンパク質、例として、限定されるものではないが、GCD59のレベルを検出することにより達成することができる。

20

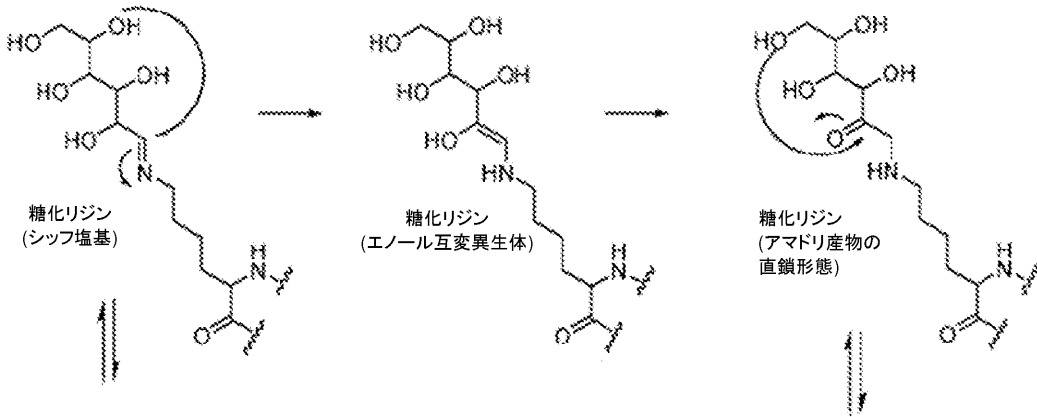
【0028】

一部の実施形態において、対象試料は、糖化リジン残基を含むGCD59を含み、そのような残基の糖化側鎖は、異なる化学結合の配置および立体化学構造を含む。リジン糖化は、リジン残基側鎖のアミノ基へのグルコースまたは他の還元糖残基の非酵素的付着を介して生じる。グルコースが最初にリジン側鎖と反応する場合、それは - アミノ基とシッフ塩基またはアルドイミンを形成する。この不安定なシッフ塩基は、環化してより安定なグリコシルアミンを形成し、または以下に示されるとおりアマドリ付加物に転位および環化し得る。

30



10



20



30

【 0 0 2 9 】

既に、CD59の過剰/異常なK41糖化は、異常な血糖レベルと相関することおよびK41における糖化がCD59の正常な活性を干渉することが決定されている。CD59は、補体の膜攻撃複合体(MAC)の末端成分に結合することにより正常に機能し、それにより補体のC9成分の膜挿入および重合を干渉する。CD59のK41残基における糖化は、MACの集合を妨げるCD59の能力を干渉する。CD59のK41糖化の結果として、MAC細孔形成の阻害が存在せず、このことが増殖性慢性糖尿病性合併症の発症をもたらすことが考えられている(米国特許第6,835,545号明細書、米国特許第7,049,082号明細書、米国特許第7,767,791号明細書、米国特許第8,008,024号明細書、米国特許第8,298,779号明細書および米国特許第7,439,330号明細書参照(これらのそれぞれの内容は、参照により全体として本明細書に組み込まれる)。

40

【 0 0 3 0 】

GCD59検出キット

一部の実施形態において、本発明は、GCD59の検出のためのキットを提供する。このようなキットは、対象試料中のGCD59を検出および定量し得る。本明細書において使用される場合、用語「対象試料」は、対象からの試料を指す。対象試料は、体液を含み

50

得る。このような体液対象試料としては、限定されるものではないが、血液、尿、粘液、羊水、血漿、腹水、脳脊髄液、痰、骨髄、滑液、房水、母乳、汗、糞便物質、涙液、腹腔液、リンパ液、膈分泌液、胚盤胞腔液、臍帯血および/または唾液を挙げることができる。

【0031】

一部の実施形態において、本発明のキットは、免疫学的アッセイを含み得る。本明細書において使用される場合、用語「免疫学的アッセイ」は、1つ以上の検出および/または計測の手段のための抗体の使用を含む任意のアッセイを指す。免疫学的アッセイ（例えば、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA））は、「サンドイッチアッセイ」を含み得る。本明細書において使用される場合、用語「サンドイッチアッセイ」は、検出される因子が少なくとも2つの抗体により結合され、ある抗体がそのような因子を捕捉し、別の抗体が検出が望まれるそのような因子の領域、特徴部またはエピトープとのみ会合する免疫学的アッセイを指す。このようなアッセイは、典型的には、捕捉抗体および検出抗体を含む。本明細書において使用される場合、用語「捕捉抗体」は、典型的には、アッセイにおいて検出される抗原または他の因子と会合し得る、基質に結合する免疫学的アッセイの抗体成分を指す。捕捉抗体は、1つ以上の捕捉エピトープに結合し得る。サンドイッチアッセイにおいて検出される因子を指す場合、本明細書において使用される場合、用語「捕捉エピトープ」は、そのようなサンドイッチアッセイにおいて検出抗体に結合するそのような因子の領域も、特徴部も、エピトープも含まないエピトープを指す。捕捉抗体の1つ以上の捕捉エピトープとの会合は、そのような因子の検出抗体との相互作用を容易にする方向で検出される因子を保持する。

【0032】

本明細書において使用される場合、用語「検出抗体」は、1つ以上の検出エピトープと会合する免疫学的アッセイの抗体成分を指す。サンドイッチアッセイにおいて検出される因子を指す場合、用語「検出エピトープ」は、そのようなサンドイッチアッセイにおいて検出されるそのような因子の領域、特徴部またはエピトープを含むエピトープを指す。検出抗体は、1つ以上の検出可能な標識と会合させて結合抗原の検出および/または定量を容易にすることができる。このような標識としては、限定されるものではないが、蛍光タグ、ビオチン部分および/または酵素を挙げることができる。酵素を含む検出可能な標識は、セイヨウワサビペルオキシダーゼ（HRP）を含み得る。

【0033】

一部の実施形態において、本発明のサンドイッチアッセイは、二次検出抗体を含み得る。本明細書において使用される場合、用語「二次検出抗体」は、検出抗体と会合し得る抗体を指す。二次検出抗体は、検出可能な標識を含み得る。このような標識としては、限定されるものではないが、蛍光タグ、ビオチン部分および/または酵素を挙げることができる。酵素を含む一部の検出可能な標識は、HRPを含み得る。

【0034】

一部の実施形態において、キットは、試薬および/または使用説明書を含み得る。このようなキットは、1つ以上の緩衝液を含み得る。これらとしては、限定されるものではないが、クエン酸緩衝溶液、酢酸緩衝溶液、リン酸緩衝溶液、塩化アンモニウム、炭酸カルシウム、塩化カルシウム、クエン酸カルシウム、グルビオン酸カルシウム、グルセプチン酸カルシウム、グルコン酸カルシウム、d-グルコン酸、グリセロリン酸カルシウム、乳酸カルシウム、プロパン酸、レブリン酸カルシウム、ペンタン酸、二塩基性リン酸カルシウム、リン酸、三塩基性リン酸カルシウム、リン酸水素カルシウム、酢酸カリウム、塩化カリウム、グルコン酸カリウム、カリウム混合物、二塩基性リン酸カリウム、一塩基性リン酸カリウム、リン酸カリウム混合物、酢酸ナトリウム、重炭酸ナトリウム、塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウム、乳酸ナトリウム、二塩基性リン酸ナトリウム、一塩基性リン酸ナトリウム、リン酸ナトリウム混合物、トロメタミン、水酸化マグネシウム、水酸化アルミニウム、アルギン酸、パイロジェンフリー水、等張性生理食塩水、リンガー液、エチルアルコールなど、および/またはそれらの組合せを挙げることができる。

【0035】

一部の実施形態において、キット成分は、水性媒体中で、または凍結乾燥形態のいずれかで包装することができる。キットの容器手段は、一般に、成分を装入することができ、好ましくは、好適にアリコート化することができる少なくとも1つのバイアル、試験管、フラスコ、瓶、シリンジまたは他の容器手段を含む。2つ以上のキット成分が存在する場合（標識試薬および標識を一緒に包装することができる）、キットは、一般に、追加の成分を別個に装入することができる第2、第3または他の追加の容器も含有し得る。一部のキットは、無菌の薬学的に許容可能な緩衝液および/または他の希釈剤を含有するための第2の容器手段も含み得る。

【0036】

一部の実施形態において、成分の種々の組合せを1つ以上のバイアル中に含めることができる。本発明のキットは、本発明の化合物および/または組成物、例えば、タンパク質、核酸を含有するための手段、ならびに市販のために厳重に密封される任意の他の試薬容器も含み得る。このような容器としては、所望のバイアルが保持される射出またはブロー成形プラスチック容器を挙げることができる。

【0037】

キット成分は、1つ以上の液体溶液中で提供することができる。このような液体溶液は、水溶液、例として、限定されるものではないが、無菌水溶液であり得る。一部のキット成分は、乾燥粉末として提供することができる。試薬および/または成分を乾燥粉末として提供する場合、そのような粉末は、好適な容量の溶媒の添加により再構成することができる。溶媒は、別の容器手段中で提供することができ、またはそのようなキットの個々の利用による供給を要求することができる。一部のキットは、キット成分の利用説明書を含み得、さらにキット中に含まれない任意の他の試薬の使用説明書も含み得る。説明書は、実行することができる変法を含み得る。

【0038】

一部の実施形態において、本発明のキットは、本明細書においてGCD59検出および/または定量アッセイと称される、GCD59の検出および/または定量のためのサンドイッチアッセイを含み得る。一部の場合、このようなアッセイは、Ghosh et al. (Ghosh et al., 2013. Am. J. Hematol. 88: 670-6、これらの内容は参照により全体として本明細書に組み込まれる)に記載のもの

【0039】

抗体、抗原およびアッセイ

本発明のGCD59検出および/または定量アッセイは、1つ以上の捕捉抗体、1つ以上の検出抗体、1つ以上の二次検出抗体および/またはタンパク質標準（場合により、1つ以上のサロゲート化合物を含む）を含み得る。本明細書において使用される場合、用語「抗体」は、最も広い意味で称され、具体的には、種々の実施形態、例として、限定されるものではないが、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば、少なくとも2つのインタクト抗体から形成される二重特異性抗体）、および所望の生物学的活性を示す限り、抗体断片、例えば、ダイアボディをカバーする。抗体は、主として、アミノ酸ベース分子であるが、1つ以上の改変（例として、限定されるものではないが、1つ以上の検出可能な標識の付加）も含み得る。本明細書に開示のGCD59検出および/または定量アッセイの捕捉抗体は、CD59と会合し得る。このような捕捉抗体は、CD59上に存在する1つ以上の捕捉エピトープと会合し得る。GCD59検出および/または定量アッセイにおいて、CD59上に存在する捕捉エピトープは、K41残基を含んでも含まなくてもよい。

【0040】

一部の実施形態において、捕捉エピトープは、成熟CD59タンパク質（N末端分泌およびGPISIGNAL配列を有さない、配列番号1）から選択することができる。CD59上に存在する一部の捕捉エピトープは、アミノ酸配列FEHCNFNNDVTTRLREN

10

20

30

40

50

E L T Y Y C C K K D L (配列番号 2) を含み得る。C D 5 9 上に存在する一部の捕捉エピトープは、アミノ酸配列 F E H C N F N D V T T R L R E N E L T Y Y C C K K (配列番号 3) を含み得る。C D 5 9 上に存在する一部の捕捉エピトープは、アミノ酸配列 H C N F N D V T T R L R E N E L T Y Y C C K K (配列番号 4) を含み得る。

【 0 0 4 1 】

一部の実施形態において、本発明の捕捉抗体は、ペプチド抗原を使用することにより産生することができる。本明細書において使用される場合、用語「ペプチド抗原」および「タンパク質抗原」は、1つ以上の宿主中で免疫応答を誘発してペプチドおよび/またはタンパク質と特異的に会合する抗体を生成するために使用することができるペプチドおよび/またはタンパク質を指す。C D 5 9 上に存在する捕捉エピトープに対応するペプチド抗原および/またはそのようなペプチドと部分的な同一性を有するペプチド抗原は、捕捉抗体を産生するために使用することができる。

10

【 0 0 4 2 】

この方法によれば、使用されるペプチド抗原と特異的に会合する捕捉抗体を産生することができる。配列番号 2 ~ 4 のいずれかのアミノ酸配列を含むペプチド抗原またはその誘導体は、捕捉抗体を産生するために使用することができる。C D 5 9 に対応するペプチド抗原は、捕捉抗体を産生するために使用される前に改変し、および/または突然変異させることができる。このような改変は、非コードアミノ酸の取り込みを含み得る。このような改変および/または突然変異は、そのようなペプチド抗原の適正な折り畳みを可能とし得る。一部の改変および/または突然変異は、そのようなペプチド抗原の安定性を増加させ、および/または所望の折り畳みを確保し得る。配列番号 4 を含むペプチド抗原は、アミノ酸配列 A C N F N D V T T R L R E N E L T Y Y C A A K (配列番号 5) を含むように突然変異させ、捕捉抗体を産生するために使用することができる。

20

【 0 0 4 3 】

一部の実施形態において、配列番号 2 を含むペプチド抗原は、捕捉抗体を産生するために突然変異させ、使用することができる。配列番号 2 を含むペプチド抗原は、非コードアミノ酸を含み得る。20個のコードタンパク質生成アミノ酸が同定されており、本明細書において、以下の1文字または3文字記号のいずれかにより称される：アスパラギン酸 (A s p : D)、イソロイシン (I l e : I)、トレオニン (T h r : T)、ロイシン (L e u : L)、セリン (S e r : S)、チロシン (T y r : Y)、グルタミン酸 (G l u : E)、フェニルアラニン (P h e : F)、プロリン (P r o : P)、ヒスチジン (H i s : H)、グリシン (G l y : G)、リジン (L y s : K)、アラニン (A l a : A)、アルギニン (A r g : R)、システイン (C y s : C)、トリプトファン (T r p : W)、バリン (V a l : V)、グルタミン (G l n : Q)、メチオニン (M e t : M)、アスパラギン (A s n : N)。天然では、コードされるアミノ酸はそれらの左旋性 (L) 立体異性形態で存在する。本明細書において称されるアミノ酸は、そうでないと示されている場合を除き、L - 立体異性体である。本明細書において使用される場合、用語「非コードアミノ酸」は、上記に列記の20個のコードアミノ酸中に存在しない側鎖または他の特徴部を有するアミノ酸を指し、それとしては、限定されるものではないが、N - メチルアミノ酸、N - アルキルアミノ酸、アルファ、アルファ二置換アミノ酸、ベータアミノ酸、D - アミノ酸、および当分野において公知の他の非コードアミノ酸を挙げることができる (米国特許出願公開第 2 0 1 1 / 0 1 7 2 1 2 6 号明細書参照、この内容は、参照により全体として本明細書に組み込まれる)。非コードアミノ酸のさらなる例としては、限定されるものではないが、 - アラニン (A) およびアルファ - アミノ - イソ酪酸 (A i b) が挙げられる。

30

40

【 0 0 4 4 】

一部の実施形態において、A F E H C N F N D V T T R L R E N E L T Y Y C A A K D L (配列番号 6) を含むペプチド抗原は、捕捉抗体を産生するために使用することができる、または捕捉抗体を産生するために使用される前に非コードアミノ酸 (例えば、 A および/または A i b) を含むように突然変異させることができる。このような突然変異ペプ

50

チド抗原は、アミノ酸配列 A F E H C N F N D V T T R L R E N E L T Y Y C (A) K D L (配列番号 7) および / または A F E H C N F N D V T T R L R E N E L T Y Y C (A i b) A K D L (配列番号 8) を含み得る。

【 0 0 4 5 】

一部の実施形態において、捕捉抗体を産生するために使用されるペプチド抗原は、そのようなペプチド抗原中に含まれるシステイン残基間のジスルフィド結合を含み得る。ジスルフィド結合を含む一部のペプチド抗原は、環状であり、および / または環状ループもしくはループ構造を含み得る。配列番号 4 または 5 のアミノ酸配列を含むペプチド抗原は、C 2 から C 2 0 のジスルフィド結合 (成熟 C D 5 9 配列中の残基 3 9 および 6 3 に対応する) を含み、そのような抗原中の環状ループの存在をもたらす。配列番号 6 ~ 8 のアミノ酸配列を含むペプチド抗原は、C 5 から C 2 3 のジスルフィド結合 (成熟 C D 5 9 配列中の残基 3 9 および 6 3 に対応する) を含み得、同様にそのような抗原中の環状ループ構造の存在をもたらす。

10

【 0 0 4 6 】

一部の実施形態において、本明細書に開示の G C D 5 9 検出および / または定量アッセイの検出抗体は、C D 5 9 上に存在する検出エピトープと会合し得る。G C D 5 9 検出および / または定量アッセイにおいて、C D 5 9 上に存在する検出エピトープは、本明細書において配列の一部として列記される場合に「 K * 4 1 」または「 K * 」とも称される糖化 4 1 を含んでも含まなくてもよい。

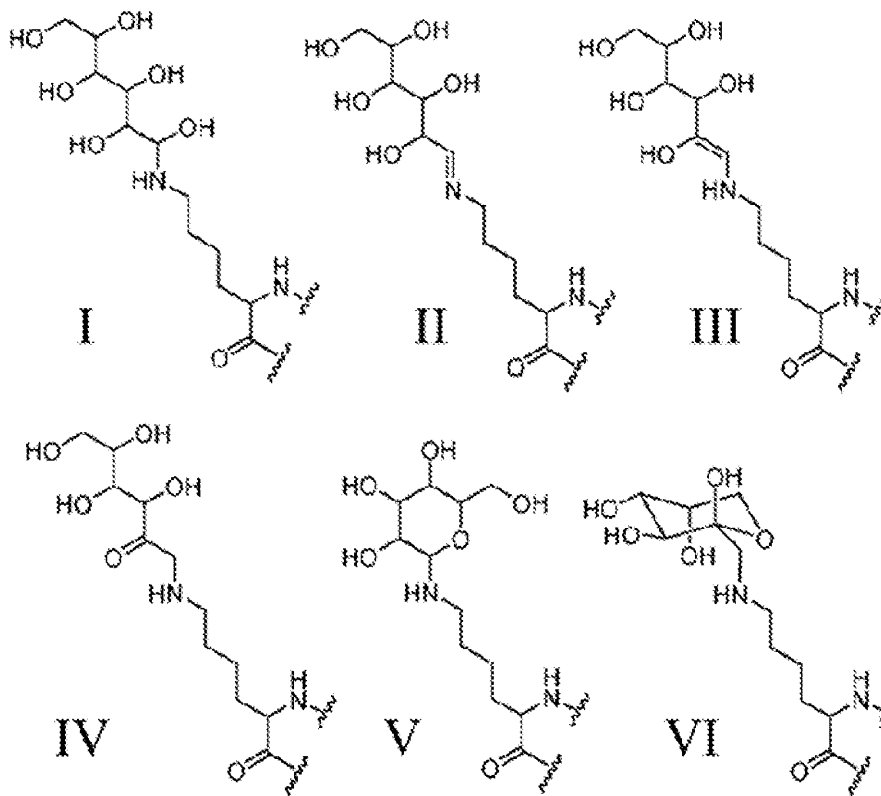
【 0 0 4 7 】

一部の実施形態において、検出エピトープは、成熟 C D 5 9 タンパク質 (N 末端分泌および G P I シグナル配列を有さない、配列番号 1) から選択することができる。C D 5 9 上に存在するこのような検出エピトープは、アミノ酸配列 N K C W K F E H C N F N D V (配列番号 9) を含み得る。

20

【 0 0 4 8 】

検出エピトープは、1 つ以上の糖化リジン残基も含み得る。糖化残基は、異なる化学結合の配置および立体化学構造を含み得る。検出エピトープの一部の糖化リジン残基は、リジン糖化および / または転位の間に形成される構造 (いかなる中間体形態も含む) のいずれかを含み得る。これとしては、構造 I ~ V I のいずれかが挙げられる。

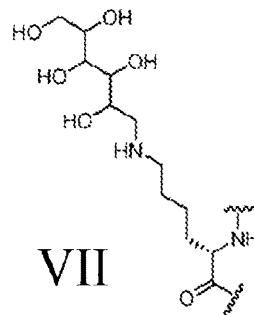


10

20

【0049】

一部の実施形態において、検出エピトープの糖化リジン残基は、アマドリ産物を含み得る。検出エピトープ上に存在するこのようなアマドリ産物は、直鎖または環状形態であり得る。一部の検出エピトープは、糖化側鎖がグルシトールリジンと同様に還元された糖化リジン残基を含み得る（構造VIIとして以下に図示）。



30

【0050】

一部の実施形態において、糖化リジン残基は、1つ以上の還元剤との化学反応を介して還元することができる。このような処理は、糖化リジン残基がグルシトールリジンの立体構造の採用するように誘導し得る。このような還元剤としては、限定されるものではないが、シッフ塩基を含む糖化リジン残基の還元のためのシアノ水素化ホウ素ナトリウム（ NaCNBH_3 ）ならびに/またはシッフ塩基を含む糖化リジン残基およびアマドリ産物を含む残基の両方の還元のための水素化ホウ素ナトリウム（ NaBH_4 ）を挙げることができる。

40

【0051】

本発明の検出抗体は、ペプチドおよび/またはタンパク質抗原を使用して1つ以上の宿主中で免疫応答を誘発することにより産生することができる。GCD59上の検出エピトープに対応するペプチド抗原および/またはそのようなペプチドと部分的な同一性を有するペプチド抗原は、検出抗体を産生するために使用することもできる。この方法によれば、使用されるペプチド抗原と特異的に会合する検出抗体を産生することができる。配列番

50

号9のアミノ酸配列を含むペプチド抗原は、検出抗体を産生するために使用することができる。

【0052】

一部の実施形態において、GCD59に対応するペプチド抗原は、検出抗体を産生するために使用される前に改変し、および/または突然変異させることができる。このような改変は、非コードアミノ酸の取り込みを含み得る。一部の場合、このような改変および/または突然変異は、そのようなペプチド抗原の所望の折り畳みを確保し、またはそのようなペプチド抗原の安定性をモジュレートし得る。突然変異ペプチド抗原はアミノ酸配列NKAWKFEHANFND(配列番号10)を含むように突然変異している配列番号9を含み得る。このようなペプチド抗原は、検出抗体を産生するために使用することができる。配列番号9および/または10を含む一部のペプチド抗原は、糖化K5残基(成熟CD59タンパク質(配列番号1)のK41に対応)を含み得る。このようなペプチド抗原のそのような糖化リジン残基は、リジン糖化および/または転位および/または還元の間形成される構造(いかなる中間体形態も含む)のいずれかを含み得る。これとしては、構造I~VIIのいずれかが挙げられる。

10

【0053】

本発明の一部のペプチドは、末端基修飾を含み得る。このような末端基修飾としては、本明細書において「Ac-」により示されるN末端アセチル化を挙げることができる。C末端残基は、本明細書において「-NH₂」により示されるカルボキサミド基を含み得る。

20

【0054】

一部の実施形態において、上記の抗体、抗体断片、それらのバリエーションまたは誘導体は、本明細書に記載の抗原タンパク質、ペプチド、エピトープおよび/またはドメインと特異的に免疫反応性である。本発明の抗体および/または抗原としては、Ghosh et al.(Ghosh et al., 2013, Am. J. Hematol. 88: 670-6、この内容は、参照により全体として本明細書に組み込まれる)により開示されるもののいずれかを挙げることができる。

【0055】

一部の場合、抗原は、免疫原としての使用前に1つ以上の抗原担体にコンジュゲートし、または1つ以上の抗原担体との融合タンパク質として合成することができる。本明細書において使用される場合、用語「抗原担体」は、1つ以上の抗原にコンジュゲートして免疫時の微粒子および/またはゲル形成を減少させることができるタンパク質、他の巨大分子構造のタンパク質複合体を指す。さらに、抗原担体は、免疫前、その間および/またはその後抗原安定性を増加させ得る。本明細書において使用することができる抗原担体としては、限定されるものではないが、キーホールリンペットヘモシアニン(KLH)、血清アルブミン、ウシサイログロブリン、ダイズトリプシンインヒビター、多抗原ペプチド系などを挙げることができる。一部の実施形態において、本発明の抗原は、KLH(米国特許5,855,919号明細書参照、この内容は参照により全体として本明細書に組み込まれる)にコンジュゲートすることができる。KLHは、抗原カップリングを容易にし、抗原と抗原担体との大きい比を可能として抗原特異的免疫反応を促進する多量のリジン残基を含む。

30

40

【0056】

本明細書において使用される場合、用語「抗体断片」は、インタクト抗体の任意の部分を指す。一部の実施形態において、抗体断片は、インタクト抗体からの抗原結合領域を含む。抗体断片の例としては、限定されるものではないが、Fab、Fab'、F(ab')₂、およびFv断片;ダイアボディ;直鎖抗体;単鎖抗体分子;および抗体断片から形成される多重特異性抗体を挙げることができる。抗体のパイン消化は、「Fab」断片と呼ばれる、それぞれ単一の抗原結合部位を有する2つの同一の抗原結合断片を産生する。残りの「Fc」断片も産生され、その名称は容易に結晶化するその能力を反映する。ペプシン処理は、2つの抗原結合部位を有し、依然として抗原を架橋し得るF(ab')₂

50

断片を生じさせる。本発明のキットは、それらの断片の1つ以上を含み得る。本明細書における目的のため、抗体は、重鎖および軽鎖可変ドメインならびにFc領域を含み得る。

【0057】

本明細書において使用される場合、用語「天然抗体」は、通常、2つの同一の軽(L)鎖および2つの同一の重(H)鎖から構成される約150,000ダルトンのヘテロ四量体糖タンパク質を指す。それぞれの軽鎖は、1つの共有ジスルフィド結合により重鎖に結合している一方、ジスルフィド結合の数は、異なる免疫グロブリンアイソタイプの重鎖間で変動する。それぞれの重鎖および軽鎖は、規則的に間隔の空いた鎖間ジスルフィド架橋も有する。それぞれの重鎖は、一方の末端において可変ドメイン(V_H)と、それに続く多数の定常ドメインを有する。それぞれの軽鎖は、一方の末端における可変ドメイン(V_L)およびその他方の末端における定常ドメインを有し；軽鎖の定常ドメインは、重鎖の第1の定常ドメインと並んでおり、軽鎖可変ドメインは、重鎖の可変ドメインと並んでいる。

10

【0058】

本明細書において使用される場合、用語「可変ドメイン」は、抗体間で配列が広範に異なる特異的抗体ドメインを指し、それぞれの特定の抗体の、その特定の抗原についての結合および特異性を担う。本明細書において使用される場合、用語「Fv」は、完全抗原認識および抗原結合部位を含む抗体断片を指す。これらの領域は、タイトな非共有会合の1つの重鎖および1つの軽鎖可変ドメインの二量体からなる。

【0059】

本明細書において使用される場合、用語「軽鎖」は、定常ドメインのアミノ酸配列をベースとするカッパおよびラムダと呼ばれる2つの明らかに区別されるタイプの1つに割り当てられる任意の脊椎動物種からの抗体の成分を指す。抗体の重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列に応じて、抗体は、異なるクラスに割り当てることができる。インタクト抗体の5つの主要なクラス：IgA、IgD、IgE、IgG、およびIgMが存在し、それらのいくつかは、サブクラス(アイソタイプ)、例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、およびIgA2にさらに分けることができる。本明細書において使用される場合、用語「単鎖Fv」または「scFv」は、 V_H および V_L 抗体ドメインの融合タンパク質を指し、それらのドメインは一緒に結合して単一ポリペプチド鎖になる。Fvポリペプチドリンカーにより、scFvが抗原結合のための所望の構造を形成することが可能になり得る。

20

30

【0060】

本明細書において使用される場合、用語「ダイアボディ」は、2つの抗原結合部位を有する小さい抗体断片を指す。ダイアボディは、同一のポリペプチド鎖中で軽鎖可変ドメイン V_L に連結している重鎖可変ドメイン V_H を含む。短すぎて同一鎖上の2つのドメイン間の対合を許容しないリンカーを使用することにより、ドメインは別の鎖の相補的ドメインと強制的に対合され、2つの抗原結合部位を作出する。ダイアボディは、より詳細には、例えば、欧州特許第404,097号明細書；国際公開第93/11161号パンフレット；およびHollinger et al. (Hollinger, P. et al., PNAS, 1993, 90: 6444-8) (これらのそれぞれの内容は、参照により全体として本明細書に組み込まれる)に記載されている。

40

【0061】

本明細書において使用される場合、用語「モノクローナル抗体」は、実質的に均一な細胞(またはクローン)の抗体の集団から得られる抗体を指し、すなわち、集団をなす個々の抗体は、同一であり、および/または同一のエピトープに結合し、但し、モノクローナル抗体の産生の際に生じ得る考えられるバリエーションを除き、そのようなバリエーションは、一般に少量で存在する。典型的には、異なる決定基(エピトープ)に対して指向される異なる抗体を含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、それぞれのモノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対して指向される。

【0062】

50

修飾語「モノクローナル」は、抗体の実質的に均一な集団から得られる抗体の特徴を示し、任意の特定の方法による抗体の産生を要求するものと解釈すべきではない。

【0063】

一部の場合、モノクローナル抗体は、ウサギモノクローナル抗体であり得る。このような抗体は、例えば、米国特許第5,675,063号明細書、同第7,429,487号明細書、同第7,732,168号明細書、同第8,062,867号明細書もしくは同第8,367,408号明細書または米国特許出願公開第2011/0020934号明細書もしくは同第2014/0004566号明細書（これらのそれぞれの内容は参照により全体として本明細書に組み込まれる）に教示される方法のいずれかにより産生することができる。このような方法は、ウサギ形質細胞腫細胞、ウサギ融合パートナー細胞および/またはウサギハイブリドーマ細胞の使用を含み得る。ウサギ形質細胞腫細胞としては、限定されるものではないが、米国特許第5,675,063号明細書に記載されており、ATCCアクセッション番号CRL-11872に対応する240E1-1細胞を挙げることができる。ウサギ融合パートナー細胞は、癌遺伝子（例えば、mycおよび/またはabl癌遺伝子）を発現し得、それとしては、限定されるものではないが、米国特許第5,675,063号明細書に記載されており、ATCCアクセッション番号HB11870に対応する240E1-1-2細胞を挙げることができる。一部の場合、ウサギハイブリドーマとしては、米国特許第5,675,063号明細書にも記載されているATCCアクセッション番号HB-11871のものを挙げることができる。

10

【0064】

本明細書におけるモノクローナル抗体は、重鎖および/または軽鎖の一部が、特定の種に由来し、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中の対応配列と同一または相同である一方、鎖の残りは別の種に由来し、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中の対応配列と同一または相同である「キメラ」抗体（免疫グロブリン）、ならびにそのような抗体の断片を含む。

20

【0065】

本明細書において使用される場合、用語「ヒト化抗体」は、1つ以上の非ヒト（例えば、ネズミ）抗体源からの最小部分を含み、残りは1つ以上のヒト免疫グロブリン源に由来するキメラ抗体を指す。大部分、ヒト化抗体は、レシピエントの抗体からの超可変領域からの残基が、所望の特異性、親和性、および/またはキャパシティを有する非ヒト種、例えば、マウス、ラット、ウサギまたは非ヒト霊長類の抗体（ドナー抗体）からの超可変領域からの残基により置き換えられているヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）である。

30

【0066】

本明細書において使用される場合、用語「超可変領域」は、抗原結合を担うアミノ酸残基を含む抗体の抗原結合ドメイン内の領域を指す。超可変領域内に存在するアミノ酸は、相補性決定領域（CDR）の構造を決定する。本明細書において使用される場合、用語「CDR」は、標的抗原またはエピトープに相補的な構造を含む抗体の領域を指す。

【0067】

一部の実施形態において、本発明の化合物および/または組成物は、抗体模倣物であり得る。本明細書において使用される場合、用語「抗体模倣物」は、抗体の機能または効果を模倣し、それらの分子標的に特異的に結合し、それらの分子標的に対して高い親和性を有する任意の分子を指す。一部の抗体模倣物は、タンパク質足場としてのフィブロネクチンIII型ドメイン（Fn3）を取り込むように設計されるモノボディであり得る（米国特許第6,673,901号明細書；米国特許第6,348,584号明細書）。抗体模倣物としては、当分野において公知のもの、例として、限定されるものではないが、アフィボディ分子、アフィリン、アフィチン、アンチカリン、アビマー、セントリン、DARPIINS（商標）、FynomerおよびKunitzならびにドメインペプチドを挙げることができる。別の実施形態において、抗体模倣物は、1つ以上の非ペプチド領域を含み得る。

40

50

【0068】

本明細書において使用される場合、用語「抗体バリエーション」は、天然抗体と比較してアミノ酸配列、組成または構造のいくらかの差異を含む構造および/または機能が抗体に類似する生体分子を指す。

【0069】

抗体の調製は、モノクローナルであろうとポリクローナルであろうと、当分野において公知である。抗体の産生のための技術は、当分野において周知であり、例えば、Harlow and Lane, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988およびHarlow and Lane, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999に記載されている。モノクローナル抗体の産生は、抗原に特異的に結合するリンパ球を誘発するための1つ以上のタンパク質、ペプチドまたは他の分子を含む1つ以上の抗原による宿主免疫を含み得る。リンパ球を回収し、不死化細胞系と融合させる。融合細胞のみの成長を支持するための選択剤を有する好適な培養培地中で、得られたハイブリドーマ細胞を培養する。

10

【0070】

一部の場合、本発明の抗体は、組換え方法、例えば、米国特許第4,816,567号明細書、米国特許出願公開第2004/0067496号明細書、または国際公開第2014/004586A1号パンフレット、または国際公開第2004/032841号パンフレット(これらのそれぞれの内容は、参照により全体として本明細書に組み込まれる)に記載のものにより作製することもできる。本発明の抗体をコードする核酸(例えば、DNA、RNA、cDNA)配列は、慣用の手順を使用する単離、増幅および/または配列決定を介して容易に得ることができる。例えば、所望の抗体の重鎖および軽鎖をコードする核酸は、そのような核酸に特異的に結合し得るオリゴヌクレオチドプローブを使用するポリメラーゼ技術(例えば、PCR、RT-PCR)により増幅させることができる(Orlandi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86(1989)3833-7(この内容は参照により全体として本明細書に組み込まれる))。一部の場合、ハイブリドーマ細胞は、好ましい核酸源として機能し得る。核酸は、単離し、またはそうでなければ得たら、発現ベクター中に配置することができる。次いで、抗体発現のために発現ベクターを宿主細胞中に形質移入することができる。宿主細胞としては、限定されるものではないが、サルCOS細胞、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞、VERO細胞、HeLa細胞、HEK293細胞、NS0細胞、W138細胞、BHK細胞、COS-7細胞、Caco-2細胞、MDCK細胞および骨髄腫細胞(ならびにそれらのサブクラスおよびバリエーション)を挙げることができる。一部の場合、そのような宿主細胞は、他の場合、免疫グロブリンタンパク質を産生しない。本発明の抗体は、ヒト重鎖および軽鎖定常ドメインのコード配列を使用して核酸中に存在し得る他の種からの相同配列(米国特許第4,816,567号明細書もしくは同第7,462,697号明細書、国際公開第2004/016740号パンフレットもしくは国際公開第2005/016950号パンフレット、または欧州特許出願公開第1651659号明細書もしくは同第1539947号明細書参照、これらのそれぞれの内容は、参照により全体として本明細書に組み込まれる)を置き換えるように公知の抗体をコードする核酸を改変することにより得ることもできる。

20

30

40

【0071】

本発明の抗体は、1つ以上の公知の抗体の最適化を介して発生させることもできる。このような最適化は、1つ以上の所望の特性の変更を含み得る。抗体を最適化する方法は、例えば、Strohl, WR and Strohl LM, "Therapeutic Antibody Engineering," Cambridge: Woodhead Publishing(2012), Chapter 6(この内容は参照により全体として本明細書に組み込まれる)に見出すことができる。一部の場合、抗体は、その結合パートナーについての親和性をモジュレートするように最適化することができる。このような最適化は、1つ以上のアミノ酸の付加、欠失または置換による抗体アミノ酸配列の

50

変更を含み得る。一部の場合、抗体は、米国特許第 8,404,816 号明細書、国際公開第 2006/050491 号パンフレットまたは欧州特許第 1819830 号明細書（これらのそれぞれの内容は参照により全体として本明細書に組み込まれる）に記載の方法のいずれかにより最適化することができる。

【0072】

抗体親和性をモジュレートする変更は、一部の場合、抗体 CDR 領域に対して行うことができる。結合パートナーについての抗体親和性は、当分野において公知の方法、例として、限定されるものではないが、ELISA、表面プラズモン共鳴 (SPR) および結合平衡除外アッセイ技術により評価することができる。

【0073】

タンパク質標準

本発明のキットは、1つ以上のタンパク質標準を含む。本明細書において使用される場合、用語「タンパク質標準」は、校正に使用され、アッセイにより評価される1つ以上の因子の正確な定量を可能とするために使用される免疫学的アッセイの成分を指す。タンパク質標準は、免疫学的アッセイにより分析される1つ以上の因子の公知の濃縮物を含み得る。一部のタンパク質標準は、そのような因子のバリエーションを含み得る。本発明の一部のタンパク質標準は、定量される1つ以上のタンパク質のサロゲートとして作用する合成構築物を含むサロゲート化合物を含み得る。本明細書において使用される場合、用語「サロゲート化合物」は、ある文脈において別の実体の代わりとなる実体を指す。本発明の一部のサロゲート化合物は、タンパク質標準として使用されるように設計され、タンパク質標準調製物中で CD59 またはそのバリエーションを置き換える。このようなサロゲート化合物は、成熟 CD59 タンパク質（配列番号 1）から取られた2つ以上のアミノ酸配列を含み得る。このようなサロゲート化合物アミノ酸配列は、1つ以上の捕捉ドメインを含み得る。本明細書において使用される場合、用語「捕捉ドメイン」は、1つ以上の捕捉抗体と会合するタンパク質ドメインを指す。本発明のサロゲート化合物は、1つ以上の検出ドメインも含み得る。本明細書において使用される場合、用語「検出ドメイン」は、1つ以上の検出抗体と会合するタンパク質ドメインを指す。

【0074】

本発明のサロゲート化合物は、本明細書に記載の捕捉エピトープのいずれかおよび/または本明細書に記載の捕捉エピトープのいずれかと対応する本明細書に記載のペプチド抗原のいずれかを含む捕捉ドメインを含み得る。一部の捕捉ドメインは、配列番号 2~8 の1つ以上のアミノ酸配列を含み得る。

【0075】

一部の実施形態において、本発明のサロゲート化合物は、本明細書に記載の検出エピトープのいずれかおよび/または本明細書に記載の検出エピトープのいずれかと対応する本明細書に記載のペプチド抗原のいずれかを含む検出ドメインを含み得る。一部の検出ドメインは、配列番号 9 または 10 のアミノ酸配列の1つ以上を含み得る。一部の検出ドメインは、糖化リジン残基を含み得る。検出ドメインのこのような糖化リジン残基は、リジン糖化および/または転位の間に形成される構造（いかなる中間体形態を含む）のいずれかを含み得る。これらとしては、構造 I~VI（還元構造 VII を含む）のいずれかを挙げることができる。

【0076】

一部の実施形態において、本発明のサロゲート化合物は、国際特許出願第 PCT/US 2012/024645 号明細書、標題、翻訳後修飾タンパク質のサロゲートおよびその使用 (Surrogates of Post-Translationally Modified Proteins and Uses Thereof)（この内容は参照により全体として本明細書に組み込まれる）に開示のサロゲート化合物のいずれかを含み得る。

【0077】

検出ドメイン上に存在する糖化リジン残基は、アマドリ産物を含み得る。検出ドメイン

10

20

30

40

50

上に存在するこのようなアマドリ産物は、直鎖または環状形態であり得る。一部の検出ドメインは、グルシトールリジンを含み得る。

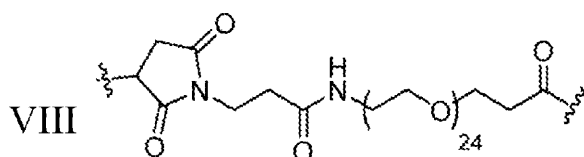
【0078】

一部の実施形態において、本発明のサロゲート化合物の捕捉ドメインおよび検出ドメインは、リンカーにより結合している。本明細書において使用される場合、用語「リンカー」は、タンパク質、ペプチド、ドメインまたは部分に結合させるために使用される化合物または分子を指す。リンカーは、独立して環状または非環状、置換または非置換、分枝鎖状または非分枝鎖状のヘテロ脂肪族部分であり得る。さらなる実施形態において、リンカーは、約1から約500原子長であり得る。いっそうさらなる実施形態において、リンカーは、ポリマー領域を含み得る。このようなポリマー領域は、約1から約100モノマーを含み得る。さらなる実施形態において、ポリマー領域は、約10から約60モノマーを含み得る。いっそうさらなる実施形態において、ポリマー領域は、約20から約40モノマーを含み得る。このようなポリマー領域は、エチレングリコールモノマーを含み得る。さらなる実施形態において、ポリマー領域は、プロピレングリコールモノマーを含み得る。いっそうさらなる実施形態において、リンカーは、電荷を含まなくてよい。

10

【0079】

一部の実施形態において、本発明のリンカーは、VIIIによる構造：

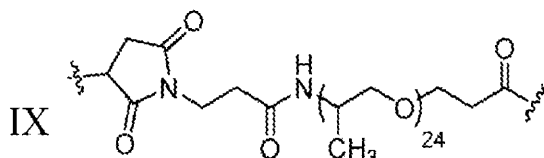


20

を含み得る。

【0080】

一部の実施形態において、本発明のリンカーは、IXによる構造：



30

を含み得る。

【0081】

本明細書に記載のタンパク質標準は、対象試料とともにアッセイしてアッセイされる1つ以上の因子の濃度を測定することができる。本明細書に記載の一部のタンパク質標準は、対象試料とともにアッセイしてそのような試料中のGCD59濃度の測定を可能とする。一部の場合、糖化リジンの代替形態を含むGCD59の濃度を測定する。本発明の一部のアッセイは、それぞれにおいて既知濃度のタンパク質標準を有する種々の溶液の調製を含み得る。これらの溶液を対象試料とともにアッセイし、それを使用してアッセイにより産生される1つ以上のシグナルに対してそれぞれのタンパク質標準溶液の既知濃度をプロットすることにより標準曲線を作成することができる。次いで、標準曲線を対象試料分析から産生されるシグナルと比較し、それを使用して分析される1つ以上の因子についての濃度値を外挿する。

40

【0082】

一部の実施形態において、本発明のタンパク質標準は、国際出願第PCT/US2012/024645号明細書（この内容は、参照により全体として本明細書に組み込まれる）に開示のサロゲート化合物のいずれかを含み得る。このようなサロゲート化合物の合成の方法は、さらに国際出願第PCT/US2012/024645号明細書に開示のサロゲート化合物について開示のもののいずれかを含み得る。

【0083】

バリエーション

50

本明細書に開示のタンパク質のいずれか（例として、限定されるものではないが、抗体、融合タンパク質、サロゲート化合物、ペプチドおよび/またはペプチド抗原）は、1つ以上の核酸、複数の核酸、核酸の断片により独立してコードされ得る全ポリペプチド、複数のポリペプチドまたはポリペプチドの断片または上記のいずれかのバリエーションとして存在し得る。本明細書において使用される場合、用語「ポリペプチド」は、ペプチド結合により一緒に結合していることが最も多いアミノ酸残基（天然または非コード）のポリマーを指す。この用語は、本明細書において使用される場合、任意のサイズ、構造、または機能のタンパク質、ポリペプチドおよびペプチドを指す。一部の例において、コードされるポリペプチドは、約50アミノ酸よりも小さく、この場合、ポリペプチドはペプチドと称される。ポリペプチドがペプチドである場合、それは少なくとも約2、3、4または少なくとも5アミノ酸残基長である。したがって、ポリペプチドとしては、遺伝子産物、天然存在ポリペプチド、合成ポリペプチド、ホモログ、オルソログ、パラログ、断片ならびに上記の他の等価物、バリエーション、およびアナログが挙げられる。ポリペプチドは、単一分子であり得、または多分子複合体、例えば、ダイマー、トリマーもしくはテトラマーであり得る。これらは、単鎖または多重鎖ポリペプチドも含み得、会合または結合している。ポリペプチドという用語は、1つ以上のアミノ酸残基が対応する天然存在アミノ酸の人工化学アナログであるアミノ酸ポリマーにも当てはまり得る。

10

【0084】

本明細書において使用される場合、用語「バリエーション」は、タンパク質またはペプチドを指す場合、それらのアミノ酸配列が天然または参照配列と異なる分子を指す。アミノ酸配列バリエーションは、天然または参照配列と比較してアミノ酸配列内のある位置における置換、欠失、および/または挿入を有し得る。ペプチドバリエーションは、1つ以上の非コードアミノ酸を含み得る。一部のペプチド、ポリペプチドおよび/またはその断片は、天然および非コードアミノ酸および/もしくは修飾アミノ酸の両方を含み得、またはもっぱら非コードアミノ酸を含み得る。非コードアミノ酸としては、限定されるものではないが、
- アラニンおよび - アミノイソ酪酸を挙げることができる。

20

【0085】

通常、バリエーションは、天然または参照配列と約50%の同一性（相同性）から約99%の同一性を有する。一部のバリエーションは、天然または参照配列と約50%から約75%の同一性、約60%から約85%の同一性、約70%から約95%の同一性または約80%から約99%の同一性を含み得る。

30

【0086】

本明細書において使用される場合、用語「天然」または「出発」は、配列を指す場合、比較を行うことができる元の分子を指す相対的な用語である。天然または出発配列は、野生型配列と混同すべきでない。天然配列または分子は、野生型（天然で見出されるその配列）を表し得るが、野生型配列と同一である必要はない。

【0087】

本明細書において使用される場合、用語「ホモログ」は、それがアミノ酸配列に当てはまる場合、第2の種の第2の配列と実質的な同一性を有する他の種の対応配列を意味する。

40

【0088】

本明細書において使用される場合、用語「アナログ」は、1つ以上のアミノ酸変更、例えば、親ポリペプチドの特性を依然として維持するアミノ酸残基の置換、付加または欠失だけ異なるポリペプチドバリエーションを含むことを意味する。

【0089】

本明細書において使用される場合、用語「誘導体」は、用語「バリエーション」と同義的に使用され、参照分子または出発分子に対して何らかが改変または変更された分子を指す。

【0090】

検出可能な標識および/またはアミノ酸、例えば、1つ以上のリジンを、本発明のペプチド配列に付加することができる（例えば、N末端またはC末端の終端において）。検出

50

可能な標識は、ペプチド精製または局在化に使用することができる。リジンを使用してペプチド溶解度を増加させ、またはビオチン化を可能とすることができる。あるいは、ペプチドまたはタンパク質のアミノ酸配列のカルボキシおよびアミノ酸末端領域において局在するアミノ酸残基は、場合により、欠失させ、トランケート配列を提供することができる。あるいは、あるアミノ酸（例えば、C末端またはN末端残基）は配列の使用に応じて欠失させることができ、例えば、可溶性であり、または固体担体に結合しているより大きい配列の一部としての配列の発現の場合である。

【0091】

「置換バリエーション」は、タンパク質を指す場合、天然または出発配列中の少なくとも1つのアミノ酸残基が除去され、同一位置におけるその場所に異なるアミノ酸が挿入されたものである。置換は、分子中の1つのアミノ酸のみが置換された場合、単置換であり得、またはそれらが、2つ以上のアミノ酸が同一分子中で置換された場合、多置換であり得る。

10

【0092】

本明細書において使用される場合、用語「保存的アミノ酸置換」は、通常、配列中に存在するアミノ酸の、類似サイズ、電荷、または極性の異なるアミノ酸による置換を指す。保存的置換の例としては、非極性（疎水性）残基、例えば、イソロイシン、バリンおよびロイシンの、別の非極性残基との置換が挙げられる。同様に、保存的置換の例としては、1つの極性（親水性）残基の、別のものとの置換、例えば、アルギニンとリジンとの間、グルタミンとアスパラギンとの間、グリシンとセリンとの間の置換が挙げられる。さらに、塩基性残基、例えば、リジン、アルギニンもしくはヒスチジンの、別のものとの置換、または1つの酸性残基、例えば、アスパラギン酸もしくはグルタミン酸の、別の酸性残基との置換が、保存的置換の追加の例である。非保存的置換の例としては、非極性（疎水性）アミノ酸残基、イソロイシン、バリン、ロイシン、アラニン、メチオニンの、極性（親水性）残基、例えば、システイン、グルタミン、グルタミン酸もしくはリジンとの置換および/または極性残基の、非極性残基との置換が挙げられる。

20

【0093】

本明細書において使用される場合、用語「挿入バリエーション」は、タンパク質を指す場合、1つ以上のアミノ酸が、天然または出発配列中の特定の位置におけるアミノ酸に直接隣接して挿入されたものである。本明細書において使用される場合、用語「直接隣接して」は、出発または参照アミノ酸のアルファ - カルボキシまたはアルファ - アミノ官能基のいずれかに連結している隣接アミノ酸を指す。

30

【0094】

本明細書において使用される場合、用語「欠失バリエーション」は、タンパク質を指す場合、天然または出発アミノ酸配列中の1つ以上のアミノ酸が除去されたものである。通常、欠失バリエーションは、分子の特定領域中の1つ以上のアミノ酸が欠失している。

【0095】

本明細書において使用される場合、用語「誘導体」は、本明細書において称される場合、有機タンパク質性または非タンパク質性誘導体化剤による1つ以上の修飾、および翻訳後修飾を含む天然または出発タンパク質のバリエーションを含む。共有結合修飾は、タンパク質の標的化アミノ酸残基を、選択側鎖もしくは末端残基と反応し得る有機誘導体化剤と反応させることにより、または選択組換え宿主細胞中で機能する翻訳後修飾の機序を利用することにより慣習的に導入される。得られる共有結合誘導体は、生物学的活性に重要な残基の同定を対象とするプログラムにおいて、免疫アッセイに、または組換え糖タンパク質の免疫親和性精製のための抗タンパク質抗体の調製に有用である。このような修飾は、当分野における通常の技能の範囲内であり、過度の実験なしで実施される。

40

【0096】

本明細書において使用される場合、用語「特徴部」は、タンパク質を指す場合、分子の区別されるアミノ酸配列ベース成分として定義される。本発明のタンパク質の特徴部としては、表面出現、局所立体構造形状、折り畳み、ループ、半ループ、ドメイン、半ドメイ

50

ン、部位、末端またはそれらの任意の組合せが挙げられる。

【0097】

本明細書において使用される場合、用語「折り畳み」は、タンパク質を指す場合、エネルギー最小化時のアミノ酸配列の得られる立体構造を指す。折り畳みは、折り畳みプロセスの二次または三次レベルで生じ得る。二次レベルの折り畳みの例としては、ベータシートおよびアルファヘリックスが挙げられる。三次レベルの折り畳みの例としては、エネルギー力の凝集または分離に起因して形成されるドメインおよび領域が挙げられる。このようにして形成された領域としては、疎水性および親水性ポケットなどが挙げられる。

【0098】

本明細書において使用される場合、用語「ターン」は、タンパク質立体構造に関する場合、ペプチドまたはポリペプチドの骨格の方向を変更する屈曲部を指し、1、2、3またはそれより多いアミノ酸残基を含み得る。

10

【0099】

本明細書において使用される場合、用語「ループ」は、タンパク質を指す場合、ペプチドまたはポリペプチドの骨格の方向を反転させるように機能し得るペプチドまたはポリペプチドの構造的特徴部を指し、4つ以上のアミノ酸残基を含む。Oliva et al. は、少なくとも5つのクラスのタンパク質ループを同定している (Oliva, B. et al., 1997. 266 (4) : 814 - 30)。

【0100】

本明細書において使用される場合、用語「半ループ」は、タンパク質を指す場合、それが由来するループとして同定されたアミノ酸残基の少なくとも半数を有するループの部分を指す。ループは必ずしも偶数のアミノ酸残基を含有し得ないことが理解される。したがって、ループが奇数のアミノ酸を含有し、または奇数のアミノ酸を含むと同定された場合において、奇数のループの半ループは、ループの整数部分または次の整数部分 (ループのアミノ酸の数 / 2 + / - 0.5 個のアミノ酸) を含む。例えば、7アミノ酸ループと同定されたループは、3アミノ酸または4アミノ酸 ($7 / 2 = 3.5 + / - 0.5$ は、3または4である) の半ループをもたらし得る。

20

【0101】

本明細書において使用される場合、用語「ドメイン」は、タンパク質を指す場合、1つ以上の同定可能な構造または機能的特徴または特性 (例えば、糖化残基を含む、1つ以上の因子との会合能、タンパク質 - タンパク質相互作用の部位として機能する) を有するタンパク質またはペプチドのモチーフを指す。

30

【0102】

本明細書において使用される場合、用語「半ドメイン」は、タンパク質を指す場合、それが由来するドメインとして同定されたアミノ酸残基の少なくとも半数を有するドメインの部分を指す。ドメインは必ずしも偶数のアミノ酸残基を含有し得ないことが理解される。したがって、ドメインが奇数のアミノ酸を含有し、または奇数のアミノ酸を含むと同定された場合において、奇数のドメインの半ドメインは、ドメインの整数部分または次の整数部分 (ドメインのアミノ酸の数 / 2 + / - 0.5 個のアミノ酸) を含む。例えば、7アミノ酸ドメインと同定されたドメインは、3アミノ酸または4アミノ酸 ($7 / 2 = 3.5 + / - 0.5$ は、3または4である) の半ドメインをもたらし得る。サブドメインがドメインまたは半ドメイン内で同定され得、これらのサブドメインが、それらが由来するドメインまたは半ドメイン中で同定された構造的または機能的特性の全てに満たない構造的または機能的特性を有することも理解される。本明細書のドメイン型のいずれかを含むアミノ酸は、ポリペプチドの骨格に沿って隣接している必要はない (すなわち、非隣接アミノ酸が構造的に折り畳まれて、ドメイン、半ドメインまたはサブドメインをもたらし得る) ことも理解される。

40

【0103】

本明細書において使用される場合、用語「部位」は、アミノ酸ベースの実施形態に関する場合、「アミノ酸残基」および「アミノ酸側鎖」と同義的に使用される。部位は、本発

50

明のポリペプチドベース分子内で改変、操作、変更、誘導体化または変動され得るペプチドまたはポリペプチド内の位置を表す。

【0104】

本明細書において使用される場合、用語「末端 (termini)」または「末端 (terminus)」は、タンパク質を指す場合、ペプチドまたはポリペプチドの端部を指す。このような端部は、ペプチドまたはポリペプチドの第1または最終部位にのみ限定されるのではなく、末端領域中の追加のアミノ酸を含み得る。本発明のポリペプチドベース分子は、N末端（遊離アミノ基 (NH₂) を有するアミノ酸により終端する）およびC末端（遊離カルボキシル基 (COOH) を有するアミノ酸により終端する）の両方を有すると特徴付けすることができる。本発明のタンパク質は、一部の場合、ジスルフィド結合または非共有結合により結び付けられた複数のポリペプチド鎖（マルチマー、オリゴマー）から構成される。これらの種類のタンパク質は、複数のN末端およびC末端を有する。あるいは、ポリペプチドの末端は、それらが場合により非ポリペプチドベース部分、例えば、有機コンジュゲートで始まり、または終了するように改変することができる。

10

【0105】

これらの特徴部のいずれかが本発明の分子の成分として同定または定義されると、これらの特徴部のいくつかの操作および/または改変のいずれも、移動、交換、反転、欠失、ランダム化または二重化により実施することができる。さらに、特徴部の操作は本発明の分子の改変と同一の結果をもたらす得ることが理解される。例えば、ドメインの欠失を含む操作は、全長未満の分子をコードする核酸の改変のような分子の長さの変更をもたらす。

20

【0106】

改変および操作は、当分野において公知の方法、例えば、部位特異的突然変異誘発により達成することができる。次いで、得られる改変分子は、インビトロまたはインビボアッセイ、例えば、本明細書に記載のものまたは当分野において公知の任意の他の好適なスクリーニングアッセイを使用して活性について試験することができる。

【0107】

一部の実施形態において、本発明のタンパク質および/またはペプチドは、同位体である1つ以上の原子を含み得る。本明細書において使用される場合、用語「同位体」は、1つ以上の追加の中性子を有する化学元素を指す。本発明の一部のポリペプチドは、重水素化することができる。本明細書において使用される場合、用語「重水素化する」は、物質中の1つ以上の水素原子を重水素同位体により置き換えるプロセスを指す。重水素同位体は、水素の同位体である。水素の核は1つのプロトンを含む一方、重水素核はプロトンおよび中性子の両方を含む。本発明のポリペプチドは、重水素化して1つ以上の物理的特性、例えば、安定性を変化させ、または診断および/もしくは実験用途における使用を可能とすることができる。

30

【0108】

コンジュゲートおよび組合せ

一部の実施形態において、本発明のポリペプチドは、1つ以上の同種または異種分子と複合体化、コンジュゲートし、または組み合わせることができる。本明細書において使用される場合、用語「同種分子」は、出発分子に対して構造または機能の少なくとも1つにおいて類似する分子を指す一方、「異種分子」は、出発分子に対して構造または機能の少なくとも1つにおいて異なるものである。したがって、構造ホモログは、実質的に構造的に類似し得る分子である。このようなホモログは、同一であり得る。機能ホモログは、実質的に機能的に類似し得る分子である。一部の場合、このようなホモログは同一であり得る。

40

【0109】

一部の実施形態において、本発明のポリペプチドは、コンジュゲートを含み得る。本発明のこのようなコンジュゲートとしては、天然存在の物質またはリガンド、例えば、タンパク質（例えば、ヒト血清アルブミン (HSA)、低密度リポタンパク質 (LDL)、高

50

密度リポタンパク質（HDL）、またはグロブリン）；炭水化物（例えば、デキストラン、プルラン、キチン、キトサン、イヌリン、シクロデキストリンまたはヒアルロン酸）；または脂質を挙げることができる。コンジュゲートは、組換えまたは合成分子、例えば、合成ポリマー、例えば、合成ポリペプチド、ポリアミノ酸コンジュゲートおよびオリゴヌクレオチド（例えば、アプタマー）でもあり得る。ポリアミノ酸の例としては、限定されるものではないが、ポリリジン（PLL）、ポリL-アスパラギン酸、ポリL-グルタミン酸、スチレン-無水マレイン酸コポリマー、ポリ（L-ラクチド-co-グリコリド）コポリマー、ジビニルエーテル-無水マレイン酸コポリマー、N-（2-ヒドロキシプロピル）メタクリルアミドコポリマー（HMPA）、ポリエチレングリコール（PEG）、ポリビニルアルコール（PVA）、ポリウレタン、ポリ（2-エチルアクリル酸）、N-イソプロピルアクリルアミドポリマー、またはポリホスファジンが挙げられる。ポリアミンの例としては、ポリエチレンイミン、ポリリジン（PLL）、スペルミン、スペルミジン、ポリアミン、シュードペプチド-ポリアミン、ペプチド模倣ポリアミン、デンドリマーポリアミン、アルギニン、アミジン、プロタミン、カチオン性脂質、カチオン性ポルフィリン、ポリアミンの第4級塩、またはアルファヘリカルペプチドが挙げられる。

10

【0110】

核酸

一部の実施形態において、核酸は、本発明のポリペプチドをコードし得る。このような核酸分子としては、限定されるものではないが、DNA分子、RNA分子、ポリヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、mRNA分子、ベクター、プラスミドなどを挙げることができる。本発明は、細胞、細胞系、ハイブリドーマなども含む。一部の細胞は、本発明のポリペプチドをコードする核酸分子を発現するようにプログラミングまたは生成することができる。

20

【0111】

試料

一部の実施形態において、本発明のアッセイは、対象試料中の糖化CD59レベルの評価を容易にする。対象試料は、GCD59を含み得、K41糖化残基は、変動する化学結合の配置および立体化学構造を含む糖化側鎖を含む。このような糖化側鎖構造の例としては、I~VIが挙げられる。

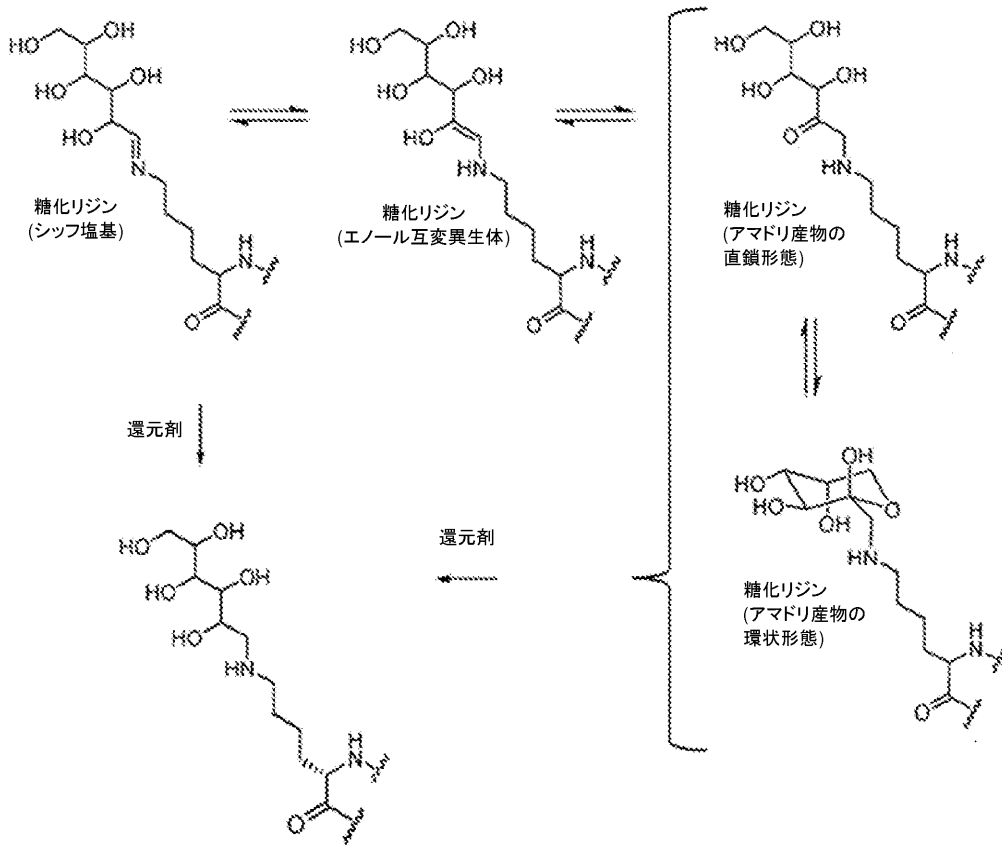
【0112】

対象試料中のGCD59の検出（GCD59は、糖化側鎖構造のいずれかを含む）は、本発明のアッセイを使用して実施することができる。このようなアッセイは、そのようなGCD59糖化側鎖構造の1つ以上を認識し得る検出抗体を含み得る。このようなアッセイは、対象試料の前処理なしで実施することもできる。

30

【0113】

一部の実施形態において、本発明のアッセイは、対象試料がGCD59検出前に1つ以上の還元剤により前処理されることを要求し得る。還元剤による対象試料の処理は、1つ以上の糖化側鎖構造を還元し得る（以下参照）。



10

20

【0114】

本明細書において使用される場合、用語「還元剤」は、酸化還元反応の間に電子を供与する化学薬剤を指す。還元剤としては、限定されるものではないが、水素化ホウ素ナトリウム (NaBH_4) およびシアノ水素化ホウ素ナトリウム (NaCNBH_3) を挙げることができる。GCD59分析前の1つ以上の還元剤による対象試料の前処理を実施して糖化側鎖の構造を変更することができる。一部の場合、本発明の検出抗体は、K41がグルシトールリジンを含むGCD59に指向させることができる。このような検出抗体を含むアッセイは、分析前に対象試料を還元して糖化K41を還元することを要求し得る。一部の試料は、 NaCNBH_3 により前処理することができる。 NaCNBH_3 前処理は、シッフ塩基を含む糖化K41残基をグルシトールリジンに還元する。一部の試料は、 NaBH_4 により前処理することができる。 NaBH_4 前処理は、シッフ塩基またはアマドリ産物を含む糖化K41残基をグルシトールリジンに還元する。 NaBH_4 の化学特性および有機還元におけるその使用は、当分野において周知である。このような特性および使用は、Rohm and Haas: The Sodium Borohydride Digest, 2003, pages 1 - 212 (この内容は参照により全体として本明細書に組み込まれる)に見出し、詳述することができる。

30

【0115】

本発明のキットは、1つ以上の還元剤を単独または溶液中で提供し得る。還元剤溶液は、種々の溶媒の1つ以上を含み得る。一部の場合、還元剤溶液は、溶媒として水を含む。一部の場合、還元剤溶液は、1つ以上の有機溶媒を含み得る。有機溶媒は、炭素ベース成分を含む溶媒である。有機溶媒としては、限定されるものではないが、1,1-ジクロロエタン、1,2-ジクロロエタン、1,2-ジメトキシ-エタン、1-ブタノール、1-ヘプタノール、1-ヘキサノール、1-オクタノール、1-ペンタノール、1-プロパノール、2-アミノエタノール、2-ブタノール、2-ブタノン、2-メトキシエチルエーテル、2-ペンタノール、2-ペンタノン、2-プロパノール、3-ペンタノール、3-ペンタノン、酢酸、アセトン、アセトニトリル、アセチルアセトン、アニリン、アニソール、ベンゼン、ベンゾニトリル、ベンジルアルコール、二硫化炭素、四塩化炭素、クロロ

40

50

ベンゼン、クロロホルム、シクロヘキサン、シクロヘキサノール、シクロヘキサノン、ジエチルエーテル、ジエチルアミン、ジエチレングリコール、ジグリム、ジメトキシエタン（グリム）、ジメチルスルホキシド（DMSO）、ジメチルエーテル、N,N-ジメチルホルムアミド（DMF）、N,N-ジメチルアセトアミド、ジメチルフタレート、ジメチルスルホキシド（DMSO）、ジ-n-ブチルフタレート、ジオキサン、エタノール、エーテル、酢酸エチル、アセト酢酸エチル、安息香酸エチル、エチレングリコール、グリセリン、ヘプタン、2-エチルヘキサノール、ヘキサメチルホスホラミド、ヘキサメチルリントリアミド（Hexamethylphosphorous triamide）（HMPT）、ヘキサン、i-ブタノール、メタノール、酢酸メチル、メチルト-ブチルエーテル（MTBE）、塩化メチレン、N,N-ジメチルアニリン、ニトロメタン、N-メチル-2-ピロリジノン、ペンタン、石油エーテル（リグロイン）、ピリジン、t-ブチルアルコール、テトラグリム、テトラヒドロフラン（THF）、トルエン、トリエチルアミン、ニトロメタンおよびトリエチレングリコールジメチルエーテルを挙げることができる。一部の実施形態において、還元剤溶液は、トリエチレングリコールジメチルエーテル、2-メトキシエチルエーテルおよび/またはテトラグリム溶媒を含み得る。

10

20

30

40

50

【0116】

有機溶媒を含む還元剤溶液としては、 NaBH_4 溶液を挙げることができる。種々の有機溶媒中の NaBH_4 の溶解度は、Rohm and Haas: The Sodium Borohydride Digest, 2003の8ページに見出すことができる。 NaBH_4 の市販の調製物を使用して試料処理のための還元剤溶液を調製し、または本発明のキット中に含めるべき還元剤溶液を調製することができる。このような市販の調製物としては、限定されるものではないが、99%の水素化ホウ素ナトリウムの2-メトキシエチルエーテル中溶液0.5M；99%の水素化ホウ素ナトリウムのテトラグリムエーテル中溶液3M；99%の水素化ホウ素ナトリウムのトリエチレングリコールジメチルエーテル中溶液2.0M；99.5%の水素化ホウ素ナトリウムの2-メトキシエチルエーテル中溶液0.5M；99.5%の水素化ホウ素ナトリウムのテトラグリムエーテル中溶液3M；99.5%の水素化ホウ素ナトリウムのトリエチレングリコールジメチルエーテル中溶液2.0M；99.9%の水素化ホウ素ナトリウムのテトラグリムエーテル中溶液3M；99.9%の水素化ホウ素ナトリウムのトリエチレングリコールジメチルエーテル中溶液2.0M；99.95%の水素化ホウ素ナトリウムの2-メトキシエチルエーテル中溶液0.5M；99.95%の水素化ホウ素ナトリウムのテトラグリムエーテル中溶液3M；99.95%の水素化ホウ素ナトリウムのトリエチレングリコールジメチルエーテル中溶液2.0M；99.99%の水素化ホウ素ナトリウムの2-メトキシエチルエーテル中溶液0.5M；99.99%の水素化ホウ素ナトリウムのテトラグリムエーテル中溶液3M；99.99%の水素化ホウ素ナトリウムのトリエチレングリコールジメチルエーテル中溶液2.0M；99.999%の水素化ホウ素ナトリウムの2-メトキシエチルエーテル中溶液0.5M；99.999%の水素化ホウ素ナトリウムのテトラグリムエーテル中溶液3M；99.999%の水素化ホウ素ナトリウムのトリエチレングリコールジメチルエーテル中溶液2.0M；および99.9%の水素化ホウ素ナトリウムの2-メトキシエチルエーテル中溶液0.5Mを挙げることができる。

【0117】

試料処理のために調製され、または本発明のキット中に含めるために調製された還元剤溶液は、約0.1Mから約10M濃度の還元剤を含み得る。一部の場合、本発明の還元剤溶液は、試料を処理するために使用される前に希釈を要求する原液を含み得る。本発明の還元剤原液は、1M超の濃度の還元剤、例として、限定されるものではないが、1.5M、2M、3M、4M、5Mまたは10Mを含み得る。一部の場合、還元剤原液は、試料処理前に0.5Mから1Mの還元剤濃度に希釈される。希釈は、原液に見出される同一溶媒を使用して、または異なる溶媒により実施することができる。例えば、有機溶媒を含む原液は、試料処理前に水により希釈することができる。

【0118】

一部の場合、対象試料は、1 Mの濃度の還元剤と、約1 : 1の比から約1 : 1000の試料と還元剤の比において組み合わせることができる。一部の対象試料は、約1 : 5、1 : 10、1 : 20、1 : 100または1 : 500の比において1 M濃度の還元剤と組み合わせることができる。組み合わせた後、対象試料 - 還元剤溶液は、約20分から約2時間、約1時間から約4時間、約3時間から約24時間、約12時間から約3日間、約2日間から約5日間または少なくとも5日間インキュベートして試料還元の発生を可能とすることができる。

【0119】

用途

本発明のGCD59検出キットは、1つ以上の試料中のGCD59を検出および/または定量するために使用することができる。このような試料は、1つ以上の対象に由来し得る。一部の対象としては、女性対象、妊娠対象、分娩後対象および/または幼児対象を挙げることができる。

10

【0120】

本発明の1つ以上のキットにより測定されたGCD59濃度レベルは、1つ以上の疾患、障害および/または病態の診断に有用であり得る。したがって、本発明の一部の実施形態は、本発明の1つ以上のキットを使用して1つ以上の疾患、障害および/または病態を診断する方法を含み得る。一部の場合、本発明の1つ以上のキットにより測定されたGCD59濃度レベルは、1つ以上の疾患、障害および/または病態を発症するリスクの決定に有用であり得る。本明細書において、本発明の1つ以上のキットを使用して1つ以上の疾患、障害および/または病態を発症するリスクを決定する方法も存在する。本発明の1つ以上のキットにより測定されたGCD59濃度レベルは、1つ以上の対象が患う1つ以上の疾患、障害および/または病態の重症度の決定に有用であり得る。したがって、本発明の方法は、本発明の1つ以上のキットを使用して1つ以上の対象が患う1つ以上の疾患、障害および/または病態の重症度を決定することを含み得る。一部の場合、本発明の1つ以上のキットにより測定されたGCD59濃度レベルは、1つ以上の対象が患う1つ以上の疾患、障害および/または病態の発症、進行または退縮のモニタリングに有用であり得る。したがって、本発明の実施形態は、本発明の1つ以上のキットを使用して1つ以上の対象が患う1つ以上の疾患、障害および/または病態の発症、進行または退縮をモニタリングする方法を含み得る。

20

30

【0121】

一部の実施形態において、本発明の1つ以上のキットにより測定されたGCD59濃度レベルは、1つ以上の対象が患う1つ以上の疾患、障害および/または病態の治療の過程の決定に有用であり得る。したがって、本発明は、本発明の1つ以上のキットを使用して1つ以上の対象が患う1つ以上の疾患、障害および/または病態のための治療の過程を決定し、したがってそのような対象を治療する方法を含み得る。1つ以上の疾患、障害および/または病態の軽減、反転および/または予防する方法において、1つ以上の対象試料中のGCD59の存在および/または濃度を測定するステップ、前記対象における1つ以上の疾患、障害および/または病態のリスク、存在および/または進行を決定するステップならびにしたがって対象を治療するステップを含む方法も提供される。

40

【0122】

本発明の一部の方法は、糖尿病を有する個体からの血漿試料から調製されたGCD59の内部対照を含み得る。本明細書において使用される場合、用語「内部対照」は、分析される1つ以上の因子の存在、不存在またはレベルに関して判断するために参照および/または比較の点としてアッセイにおいて使用される1つ以上の試料を指す。一部の内部対照試料は、陰性または陽性対照試料を含み得る。陰性対照試料は、分析される1つ以上の因子を欠くことが既知である試料である。陽性対照試料は、分析される1つ以上の因子を含むことが既知である試料である。このような対照は、異なる濃度のGCD59（例えば、低、中程度および高濃度）を含み得る。一部の実施形態において、GCD59内部対照は、糖尿病を有する個体からのプール血漿試料から得ることができる。GCD59内部対照

50

を用いて得られた分析値は、予め規定された基準により個体分析を許容または拒絶するために使用することができる。このような基準としては、限定されるものではないが、Westgard et al. により開示されているWestgard基準 (Westgard, J. O. et al., 1981. Clin Chem; 27: 493 - 501、この内容は、参照により全体として本明細書に組み込まれる) を挙げるることができる。

【0123】

一部の場合、本発明の方法は、Ghosh et al. (Ghosh et al., 2013. Am. J. Hematol. 88: 670 - 6、この内容は、参照により全体として本明細書に組み込まれる) により記載のもののいずれかにより実施することができる。

10

【0124】

糖尿病

一部の実施形態において、本発明のキットは、糖尿病の検出、診断および/または予後診断において有用であり得る。糖尿病は、高血糖症とも称される血中グルコースレベルの上昇を特徴とする疾患である。インスリンは、他のホルモン、例として、限定されるものではないが、グルカゴンおよびエピネフリンとともに、血中の正常なグルコースレベルの維持に重要である。細胞受容体へのインスリン結合は、グルコースの細胞取り込みを容易にし、細胞にエネルギー源を提供し、血中のグルコースレベルを低下させる (Rodger, W., CMAJ. 1991. 145 (10): 1227 - 37)。インスリンは、膵臓細胞により発現され、その発現は、血中グルコースレベルが上昇した場合に上方調節される。糖尿病において、インスリンレベルおよび/またはインスリンに対する感受性が破壊され、細胞グルコース取り込みを低減させ、グルコースの循環レベルを上昇させる。2つの主要な糖尿病の形態は、インスリン依存性 (本明細書において若年性糖尿病またはI型糖尿病とも称される) およびインスリン非依存性 (本明細書において成人発症糖尿病またはII型糖尿病とも称される) である。I型糖尿病はあまり一般的でなく、典型的には、主要なインスリン源、細胞の自己免疫破壊によりもたらされる。糖尿病を有する者の90%以上は、II型糖尿病を罹患する。この疾患の形態は、インスリン分泌の低減および/またはインスリンに対する感受性の低減を特徴とする (例えば、細胞中のグルコース取り込みを刺激するインスリンの能力の低減) (Rodger, W., Non-insulin-dependent (Type II) diabetes mellitus. CMAJ. 1991. 145 (12) 1571 - 81)。II型糖尿病は、部分的には、遺伝的感受性に起因して生じ、過体重および/または肥満の対象において生じることが最も多いと考えられる。

20

30

【0125】

本明細書において使用される場合、用語「糖尿病患者」は、1つ以上のタイプのインスリン欠損 (例えば、インスリンレベルの低減および/またはインスリン感受性の低減) を含む個体を指す。糖尿病患者という用語は、限定されるものではないが、若年性糖尿病 (I型糖尿病)、成人発症糖尿病 (II型糖尿病)、妊娠性糖尿病 (GDM)、およびインスリン欠損の任意の他の病態を有する個体を含む。用語「糖尿病患者」は、当分野の用語であり、医療関係機関に携わる者に公知であり、理解されており、その公式的な定義は、Harrison's Principles of Medicine (Harrisons, Vol 14, Principles of Internal Medicine, Eds. Fauci, A. S., E. Braunwald, K. J. Isselbacher, J. D. Wilson, J. B. Martin, D. L. Kasper, S. L. Hauser, D. L. Longo, McGraw-Hill, New York, 1999) に見出すことができる。

40

【0126】

妊娠性糖尿病 (GDM)

一部の実施形態において、本発明のキットは、妊娠性糖尿病 (GDM) の検出、診断および/または予後診断において有用であり得る。本明細書において使用される場合、用語

50

「妊娠性糖尿病」または「GDM」は、妊娠によりもたらされる血中グルコースレベルの上昇、炭水化物不耐性および/またはインスリン感受性の低減を特徴とする糖尿病病態を指す。一部の場合、GDM診断は、各国において、そこで従事する医師に勧告を發布するそのような国からの専門機関により設定された異なる標準に依存し得る。GDMは妊娠者の最大18%に発症し得、短期および長期効果の両方を含め、母子ともに発症する有害転帰を伴う。現在、女性対象におけるGDMの診断およびモニタリングは、血中グルコースレベルの計測にほぼ依存する。血中グルコースは、一定流量であり、多数の外部因子、例として、食事および活動のレベルにより影響される。グルコースレベルは、1時間ごとに変化し得る。このことは、試験を受ける対象に対して食事要求および/または制限を課すことによりGDM試験を複雑化する。

10

【0127】

GDMは、妊娠女性に発症する最も普及した障害の1つであり、妊娠の間、出産時およびさらには出産後に合併症のより大きいリスクが付随する。さらに、このような合併症は、母子ともに発症し得る。GDMを有する個体は、炭水化物をエネルギーに適切に分解する能力を欠く(Okun, N., Can Fam Physician, 1997, 43: 88-93)。一部の場合、GDM診断は、妊娠の間の高い血中グルコースレベルの検出を介し、および/またはグルコース負荷に応答する能力の減少の観察を介して実施することができる。このような診断は、第3のトリメスターにおいて行われることが最も多い。GDMをもたらす機序は依然として不明瞭であるが、一部の場合、妊娠の間に上昇するホルモンが正常なインスリンシグナリング、例として、限定されるものではないが、インスリン耐性を干渉し得ることが考えられる。このインスリンシグナリング機能不全は、細胞グルコース取り込みの減少および血中グルコースレベルの上昇をもたらす。本明細書に開示の試験は、GCD59レベルがGDMを含む対象において上昇することを示す。

20

【0128】

GDMスクリーニングおよび診断

GDMは、最も一般的な妊娠の医学的合併症の1つである。各国において、GDM診断は、各国内で従事する医師への勧告の發布を担う専門機関により設定された規格により決定することができる。米国内の専門機関間で、および米国内の専門機関と外国の専門機関との間で、GDM診断のアプローチ法に関して議論がなされている。このような米国専門機関としては、限定されるものではないが、National Institutes of Health (NIH)、American Diabetes Association (ADA) および American Congress of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) を挙げることができる。このような国際機関としては、限定されるものではないが、国際糖尿病・妊娠学会 (International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups) (IADPSG) を挙げることができる。米国および外国の専門機関は、異なる試験、そのような試験の異なる分析に基づき、それらのアプローチを調整し得、ヘルスケアおよび経済的圧力により影響を受け得る。実際、GDMを定義するための因子および診断のための基準は、経時的に変化し得る。したがって、一部の実施形態において、本明細書に記載のGDMのための診断試験は、妊娠女性、胎児、および新生児の健康に關与する各国における専門機関により發布された最新の勧告に従って実施することができる。

30

40

【0129】

一部の現在の米国実務によれば、GDMについての全ての妊娠女性のスクリーニングが示唆される。一部の場合、スクリーニングは、患者病歴のレビュー、臨床リスク因子の評価および/またはグルコース負荷を含む1つ以上の試験を含み得る。本明細書において使用される場合、用語「グルコース負荷」は、対象へのグルコースの投与を特徴とする試験構成要素を指す。グルコース負荷試験は、典型的には、グルコース負荷に対する対象における応答を評価する。これは、血中グルコースレベルの分析を含み得る。グルコース負荷の間に投与されるグルコースの量は、変動し得る。典型的な試験は、約50gから約10

50

0 g のグルコースの投与を含む。他の実施形態において、75 g のグルコースが投与される。一部の場合、GCD59 レベルは、1 回以上のグルコース負荷後または食後に評価することができる。

【0130】

GDM を発症するリスクが最小である「低リスク」な妊娠対象は、25 歳未満の者を含み、正常な体重を有し、糖尿病の家族歴を有さず（最も軽度の血縁者のレベルにおいて）、異常なグルコース代謝の病歴を有さず、不良な産科転帰の病歴を有さず、高リスク民族性（例えば、スペイン系アメリカ人、先住アメリカ人、アフリカ系アメリカ人および南アジア人）の者ではない。妊娠対象リスク評価は、典型的には、最初の出生前訪問の間に実施される。GDM を発症するリスクがより高い女性（例えば、肥満、GDM の個人歴、糖尿、糖尿病の家族歴など）は、典型的には、可及的速やかに試験を受ける。このような女性における初回試験が陰性である場合、妊娠 24 週から 28 週の間には再試験が推奨される。

10

【0131】

血漿グルコースレベルは、グルコース負荷の不存在下で GDM を示し得る。本明細書に開示の一部の方法は、空腹時グルコース試験を含む。このような試験によれば、空腹時血漿グルコース（FPG）レベルを測定することができる。空腹時血漿グルコースレベルは、絶食期間後に直接計測されるグルコースのレベルを指す。絶食期間は、約 1 時間から約 24 時間であり得る。ある実施形態において、FPG レベルは、絶食の約 12 時間後に計測することができる。妊娠対象において、126 mg / dl よりも高い空腹時血漿グルコースレベルが、妊娠性糖尿病を示す。

20

【0132】

一部の実施形態において、ランダムグルコース試験は、実施することができる。このような試験は、ランダム血漿グルコースレベル（随時血漿グルコースレベルとも称される）を計測する。ランダムグルコースレベルは、いかなる消費制限および / または要求（例えば、絶食）もなしで得られるグルコースレベルを指す。妊娠対象において、200 mg / dl よりも高いランダム血漿グルコースレベルが、そのような対象における GDM を示す。ある実施形態において、第 2 の計測が、GDM の診断を確認するために FGP レベルおよびランダム血漿レベルの両方について翌日要求される。本発明の一部の実施形態において、GCD59 レベルは、消費制限および / または要求（例えば、絶食）なしで得ることもできる。

30

【0133】

高血糖症がより些細な場合において、他のアプローチが診断に必要であり得る。高リスクであると同定された妊娠対象において、1 ステップアプローチが十分であり得る。1 ステップアプローチによれば、診断は、いかなる先行する血中グルコーススクリーニングもなしで経口グルコース耐性試験（OGTT）により実施することができる。平均リスクの個体については、2 ステップアプローチが典型的に実施される。2 ステップアプローチによれば、グルコース負荷を含む初回スクリーニングが実施される。2 ステップアプローチの初回スクリーニングにおいて、2001 年において作製された American College of Obstetricians and Gynecologists による勧告は、50 g の 1 時間経口グルコース負荷試験（GCT）の使用を要求する（Committee on Obstetric Practice, The American College of Obstetricians and Gynecologists: Committee Opinion, 2011）。1 時間経口 GCT は、50 g のグルコースの経口投与の 1 時間後の血中グルコース濃度を計測する。GDM を有する妊娠対象の 80% は、130 mg / dl のカットオフ値を上回る血中グルコースレベルを含み、90% は、140 mg / dl のカットオフ値を上回るレベルを含む。本明細書において使用される場合、用語「カットオフ値」は、診断決定または他のタイプの決定に関して指標となすことができる値またはレベルを指し、所与のカットオフ値未満のレベルは、所与のカットオフを上回るレベルに基づく決定と異なる決定をもたらす（American Diabetes Association

40

50

ciation, Diabetes Care. 31(1): S62 - S67)。

【0134】

2ステップアプローチの第2のステップにおいて、100g OGTTが実施される。本明細書において使用される場合、用語「経口グルコース耐性試験」または「OGTT」は、グルコースを利用する身体的能力を計測する試験を指す。このような試験は、典型的には、午前中に開始され、対象は、8～12時間絶食する。ベースライン濃度は、初回血液試料に基づき確立される。本明細書において使用される場合、用語「ベースライン」は、計測値、レベルまたは値を指す場合、後続の計測値、レベルまたは値を比較する初回計測値、レベルまたは値を指す。初回血液試料が採取された後、対象はグルコース溶液を与えられ、計測濃度のグルコースを飲む。100g OGTTにおいて、100gのグルコースは、グルコース溶液中で投与される。対象は、典型的には、5分の時間枠内に飲み終えることが要求される。最後に、OGTTは、後続の血液試料を得て血中グルコースおよび/またはインスリンレベルをモニタリングすることを含む。100g OGTTによれば、妊娠対象におけるGDMの診断は、対象血中グルコースレベルがベースライン読み取り値について95mg/dlのカットオフ値、グルコース投与1時間後の180mg/dlのカットオフ値、グルコース投与2時間後の155mg/dlのカットオフ値および/またはグルコース投与3時間後の140mg/dlのカットオフを超過する場合に行うことができる。一部の実施形態において、GDMの診断は、4つの試験のうち2つが血中グルコースレベルの上昇を生じさせることを要求し得る。

10

【0135】

一部の場合、75g OGTTがGDM診断への2ステップアプローチの第2のステップにおいて実施される。75g OGTTは、100g OGTTにより実施されるが、但し、75gのみのグルコースが投与される。75g OGTTによれば、妊娠対象におけるGDMの診断は、対象血中グルコースレベルがベースライン読み取り値について95mg/dlのカットオフ値、グルコース投与1時間後の180mg/dlのカットオフ値および/またはグルコース投与2時間後の155mg/dlのカットオフ値を超過した場合に行うことができる。一部の実施形態において、GDMの診断は、4つの試験のうち2つが血中グルコースレベルの上昇を生じさせることを要求し得る。

20

【0136】

一部の場合、食後2時間グルコース試験がGDMスクリーニング間に実施される。食後2時間グルコース試験は、食事2時間後の血中グルコースレベルの分析を含む。

30

【0137】

一部の場合、1,5-アンヒドログルシトール試験をGDMスクリーニングの間に実施することができる。1,5-アンヒドログルシトールレベルのレベルは、高血糖症(血中グルコースレベルは、180mg/dlを上回る)の期間の間に低減され、高血糖病態が終了した後に正常に戻るために最大2週間を要求する(McGill, J. B. et al., Diabetes Care. 2004. 27(8): 1859 - 65)。1,5-アンヒドログルシトール試験は、対象が長期間の高血糖症に耐えたか否かを決定するために行うことができる。

40

【0138】

一部の場合、ヘモグロビンA1c(HbA1c)試験をGDMスクリーニングの間に実施することができる。このような試験は、血中のヘモグロビンの糖化型HbA1cのレベルを計測する。HbA1cレベルは、高血糖症の期間の間に増加する。HbA1cは、HbA1cを含む赤血球が置き換えられるまで、約8週間から約12週間、血中に残留し、それによりHbA1cがその期間の間の総血中グルコースレベルの良好な長期読み取り対象となる(http://medweb.bham.ac.uk/easdec/prevention/what_is_the_hba1c.htm)。

【0139】

一部の実施形態において、フルクトサミン試験をGDMスクリーニングの間に実施することができる。フルクトサミンレベルは、高血糖病態下で上昇する。フルクトサミンのレ

50

ベルの上昇は、高血糖病態が治まった後、2から3週間上昇したままであり、それによりそれらが高い血中グルコースレベルの良好な長期指標となる (Delpiere, G. et al., Biochem J. 2002. 365: 801-8)。

【0140】

一部の実施形態において、対象試料は、妊娠前に得、分析することができる。このような対象試料は、女性対象から得ることができる。対象試料は、GDMおよび/または妊娠後期に子癇前症を発症するリスクのレベルを決定するために使用することもできる。

【0141】

一部の実施形態において、GCD59レベルを測定するための本発明のキットおよび方法は、本明細書に記載の試験のいずれかと組み合わせることができる。このような試験としては、限定されるものではないが、グルコース負荷試験、経口グルコース耐性試験、空腹時グルコース試験、ランダムグルコース試験、食後2時間グルコース試験、ヘモグロビンA1c (HbA1c) 試験、フルクトサミン試験および1,5-アンヒドログルシトール試験を挙げることができる。一部の実施形態において、GCD59レベルを測定するための本発明のキットおよび方法は、GDMまたは他の糖尿病病態の診断、予後診断および/またはモニタリングの目的のためにそのような試験と組み合わせることができる。

10

【0142】

GCD59レベルを測定するための本発明のキットおよび方法は、他の糖化タンパク質の検出と組み合わせることができる。体液内に存在する多くの他のタンパク質は、糖化され得るアミノ基を含む。このようなタンパク質としては、糖化アルブミン、糖化ヘモグロビン、糖化免疫グロブリン、糖化ヘモペキシン、糖化ビタミンD結合タンパク質、糖化フィブリノゲンアルファ鎖、糖化アポリポタンパク質A1、糖化トランスフェリン、糖化マクログロブリンアルファ2、糖化補体成分4A、糖化フィブリノゲンベータ鎖、糖化フィブリノゲンアルファ鎖、糖化アンヒドロラーゼドメイン含有タンパク質14B、糖化アミロイド感受性アミノオキシダーゼ銅含有前駆体、糖化アンジオテンシン変換酵素アイソフォーム1前駆体、糖化ペプチダーゼファミリーM2アンジオテンシン変換酵素、糖化アコニターゼ1、糖化リソソーム酸ホスファターゼアイソフォーム1前駆体、糖化膵炎関連タンパク質、糖化アルファ-アクチニン-4、トロンボスポンジン1型モチーフを有する糖化メタロプロテイナーゼ、糖化アスパルチルグルコサミニダーゼ、糖化アデノシルホモシステイナーゼ、糖化アルファ-2-HS-糖タンパク質、糖化アルコールデヒドロゲナーゼNADP⁺、糖化アルド-ケトレダクターゼファミリー1、糖化アルデヒドデヒドロゲナーゼファミリー1メンバーL1、糖化フルクトース-ビスリン酸アルドラーゼB、糖化膵臓アミラーゼアルファ2A、および糖化アポリポタンパク質A4を挙げることができる (Ukita et al., Clin. Chem. (1991) 37: 504; Johansen et al., Glycobiol. (2006) 16: 844; および Davies et al., J. Exp. Med. (1989) 170: 637)。一部の実施形態において、GCD59は、上記列記の糖化タンパク質のいずれかを含むバイオマーカーのパネルまたはアレイの一部として検出することができる。

20

30

【0143】

GDMカテゴリー

一部の実施形態において、妊娠対象は、ある基準に基づき疾患の異なるサブカテゴリーに分類することができる。2つのこのようなカテゴリーとしては、耐糖能異常 (IGT) を有する者および空腹時血糖異常 (IFG) を有する者が挙げられる。これらのカテゴリーは、グルコースレベルが正常を上回るが、GDMのレベルを生じない、またはGDM診断についての要求を満たさない対象に指定される。このようなカテゴリーへの対象の分類を決定する因子は、各国ごとに異なり得、そのような国内で従事する医師への勧告の提供を担うそのような国内で専門機関により管理され得る。

40

【0144】

一部の実施形態において、妊娠対象は、正常な空腹時グルコースレベル (100 mg / dl 未満) を有する者およびレベルがGDMの暫定診断 (レベルが126 mg / dl より

50

も大きい一部の場合)をもたらす者と比較してそのような対象における空腹時グルコースレベルが約100mg/dlから約125mg/dlを含む場合にIFGと診断することができる。一部の場合、妊娠対象は、OGTT結果後にIGTと診断することができる。一部の場合、IGTを有する妊娠対象は、正常レベル(レベルが140mg/dl未満である一部の場合)を有する者およびレベルがGDMの暫定診断(レベルが200mg/dlよりも大きい一部の場合)をもたらす者と比較してグルコース投与2時間後の約140mg/dlから約199mg/dlの血中グルコースレベルを含み得る。

【0145】

一部の実施形態において、IGTおよび/またはIFGを有する妊娠対象は、前糖尿病を有すると称される。本明細書において使用される場合、用語「前糖尿病」は、糖尿病を10
発症する高いリスクを特徴とする病態を指す(American Diabetes Association, Diabetes Care, 2008, 31(1): S62-S67)。前糖尿病のカテゴリーへの対象の指定を決定する因子は、各国ごとに異なり得、そのような国内で従事する医師への勧告の提供を担うそのような国内の専門機関により管理され得る。

【0146】

一部の場合、GDMを罹患する妊娠対象は、本明細書において「WhiteのGDMクラス」と称されるDr. Priscilla Whiteにより開発されたGDMのクラスを含むカテゴリーに割り当てることができる(Dunn, P.M., Dr. Priscilla White (1900-1989) of Boston and pregnancy diabetes. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. 2004 May; 89(3): F276-8、参照により全体として本明細書に組み込まれる)。このようなGDMクラスとしては、表1に列記されるもののい20
ずれかを挙げるることができる。

表1. GDM クラス

クラス	説明
A1	インスリン非依存性
A2	インスリン依存性
B	糖尿病患者 <10 歳、20 歳以降に発症
C	糖尿病患者 10~19 歳、10~19 歳の間に発症、血管合併症なし
D	糖尿病患者 >20 歳、10 歳以前に発症、血管合併症あり
F	腎症あり
R	網膜症あり
T	既往腎臓移植あり
H	心疾患あり

【0147】

WhiteのGDMクラスとしては、クラスA1、クラスA2、クラスB、クラスC、クラスD、クラスF、クラスR、クラスTおよびクラスHが挙げられる。これらのうち、クラスA1およびクラスA2は、GDMを有するが、先在糖尿病を有さない対象を分類するために使用される。他のクラスは、妊娠前のある時点において発症した糖尿病を罹患する妊娠対象をカテゴリー化するために使用される。

【0148】

一部の実施形態において、GDMは、GDM重症度の2つ以上のレベルによりカテゴリー化することができる。本明細書において使用される場合、用語「GDM重症度のレベル40
40

10

20

30

40

50

」は、典型的には、重度でない、からより重度までの様々なレベルの合併症または負の転帰を特徴とする疾患のカテゴリーを指す。GDM重症度は、そのような合併症または負の転帰と相関する1つ以上の因子のレベルに基づき割り当てることができる。他の実施形態において、GDM重症度は、血中グルコースの代謝に基づき割り当てることができる。GDM重症度は、GCD59のレベルにより決定することもできる。このような実施形態において、軽度、中程度および重度のGDMレベルは、対象試料から得られたGCD59の濃度レベルが所定のカットオフ値間に収まる場合に対象に割り当てることができる。

【0149】

事前兆候およびリスク因子

典型的には、GDMについての症状は存在しない。一部の場合、症状は生じ、それとしては、限定されるものではないが、口渇、疲労、悪心、嘔吐、膀胱感染症、酵母菌感染症および視覚障害 (<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/000896.htm>) が挙げられる。疾患の事前兆候は、典型的には、試験結果 (例えば、グルコースレベルの上昇、糖化タンパク質のレベルの上昇) を含む。

10

【0150】

GDMについてのリスク因子としては、限定されるものではないが、肥満度指数 (BMI) の上昇、糖尿病またはGDMの家族歴、高齢出産、多嚢胞性卵巣症候群の病歴、喫煙歴、産歴、高コレステロール、小人症および民族性を挙げることができる (Ross, G., Australian Family Physician. 2006. 35 (6) : 392 - 6; Bjorge, T. et al., Am J Epid. 2004. 160 (12) : 1168 - 76; Ma, R. M. et al., Diabetes Care. 2007. 30 (11) : 2960 - 1)。一部の場合、リスク因子の存在または不存在は、女性対象の試験および/または治療に関する1つ以上の行動過程に影響し得る。

20

【0151】

本明細書において使用される場合、用語「肥満度指数」は、所与の対象の体脂肪のレベルと相関する対象の体重および身長から計算された数字を指す。この値は、キログラムの対象の体重をメートルの (身長)² により割ることにより対象から得られる。一部の場合、BMI値は、以下のとおり解釈することができる: 18.5 kg/m² 未満 - 標準体重未満; 18.5 kg/m² ~ 24.9 kg/m² - 正常; 25.0 kg/m² ~ 29.9 kg/m² - 過体重; 30.0 kg/m² ~ 34.9 kg/m² - グレードI肥満; 35.0 kg/m² ~ 39.9 kg/m² - グレードII肥満および40 kg/m² 超 - グレードIII肥満。このような解釈によれば、過体重の対象は、GDMを発症する2.14倍の増加リスクを含む (Yessoufou, A. et al., Experimental Diabetes Research. 2011. 2011: 1 - 12)。肥満対象は、GDMを発症する3.56倍の増加リスクを含み、重度に肥満の対象は、GDMを発症する8.56倍の増加リスクを含む。BMI解釈は、各国において異なり得、そのような国内で従事する医師のためのガイドラインの設定を担う専門機関および/または政府機関により決定することができる。

30

【0152】

前糖尿病および/またはGDMの病歴を有する妊娠対象は、GDMを発症するより高いリスクを有する。さらに、糖尿病、前糖尿病および/またはGDMの家族歴を有する妊娠対象は、GDMを発症するより高いリスクを有する。対象の病歴および/または家族歴は、典型的には、最初の出生前訪問の間にレビューされる。一部の実施形態において、対象の病歴および/または家族歴は、対象試験および/または治療についての決定を行うために使用することができる。

40

【0153】

高齢出産も、GDMを発症するリスク因子である。GDMを有する妊娠対象の割合は、様々な年齢群間で変動する (Ross, G., Australian Family Physician. 2006. 35 (6) : 392 - 6)。20歳未満の妊娠対象の約1

50

%がGDMを妊娠の間に発症する一方、20から24歳の妊娠対象の約1.8%がGDMを発症し、25から29歳の妊娠対象の約2.5%がGDMを発症し、30から34歳の妊娠対象の約4.1%がGDMを発症し、35から39歳の妊娠対象の約6.5%がGDMを発症し、40から45歳の妊娠対象の約9.8%がGDMを発症し、45歳を超える妊娠対象の約12.8%がGDMを発症する。

【0154】

GDMの割合は、民族性によっても影響され、アフリカ系アメリカ人、先住アメリカ人、スペイン系アメリカ人および南アジア人（例として、限定されるものではないが、太平洋諸島の住民）の妊娠対象で発症率が高い（Kim, S. Y. et al., *Prev Chronic Dis*. 2012. 9: E88）。

10

【0155】

GDM関連病態

GDMは、母子についての周産期および出生後の合併症の主な原因である。GDMを罹患する妊娠対象は、分娩時の合併症、帝王切開の回数の増加、子癇前症/子癇、流産および/または妊娠後糖尿病のリスクに直面し得る。GDMを罹患する妊娠対象の子として生まれた幼児対象は、巨人症、出生異常、出生時外傷、高ビリルビン血症、低血糖症、発作および死産に直面し得る。

【0156】

GDMに伴う主な有害転帰の1つは、巨人症である。本明細書において使用される場合、巨人症という用語は、高出生時体重を特徴とする幼児対象における病態を指す。本明細書において使用される場合、高出生時体重は、約8ポンド、13オンスを上回る、または4kgをほぼ上回る出生時体重を指す。本明細書において使用される場合、用語「幼児対象」は、幼児である対象を指し、出生から約1歳までの対象を包含する。巨人症を特徴とする幼児対象は、全出生児の約10%である。GDMを有する妊娠対象の子として生まれた幼児対象に伴う異常または困難な出産（本明細書において難産とも称される）および/または出生時外傷は、そのような幼児対象の大きいサイズに起因し、出生の間に母子ともに身体的ストレスを惹起することが多い（Najafian, M. et al., *Obstetrics and Gynecology*. 2012. 2012: 353791）。GDMを罹患する妊娠対象において、血中グルコースレベルの上昇は、典型的には、発育中の子への胎盤を通るグルコースおよび栄養素の輸送の増加をもたらす（Yessoufou, A. et al., *Experimental Diabetes Research*. 2011. 2011: 1-12）。発育中の子における過剰な栄養素レベルは、出生後にそのような子を低血糖症の発症、または低い血中グルコースの危険にもさらし得る。子宮中の栄養素レベルの増加は、発育中の子によるインスリン産生の上昇をもたらす。出生後、胎盤栄養素の移動は停止し、幼児対象における循環インスリンの上昇が血中グルコースレベルの降下を惹起する。

20

30

【0157】

妊娠関連高血圧障害、例えば、子癇前症も、GDMに関連することが示されている（Feig, D. S. et al., *PLoS Med*. 2013. 10(4): e1001425）。子癇前症は、血圧の上昇およびタンパク尿（尿中のタンパク質）を特徴とする妊娠対象における深刻な医学的病態である。研究は、GDMを有する妊娠対象が子癇前症を発症するより高いリスクを有することを示す。子癇前症のリスクがグルコースに対する不耐とともに増加することも示されている。さらに、子癇前症を有する妊娠対象は、インスリン耐性のより高い発症率を有することが示されている。

40

【0158】

妊娠期

本発明の実施形態の文脈において、妊娠を含む時間の長さは、2つ以上の妊娠期に分けることができる。本明細書において使用される場合、用語「妊娠期」は、任意の時間的、発生的および/または生理学的に定義される妊娠期間を指す。妊娠期は、妊娠週数を含み得る。ヒト妊娠の典型的期間は、約40から約42週であり（しかし、一部の場合、42

50

週を超えて延長し得る)、妊娠対象の最後の月経周期の終わりから起算される。したがって、妊娠期は、妊娠約0から約46、約0から約42、約2から約42、約4から約42、約8から約42、約12から約42、約16から約42、約20から約42、約24から約42、約28から約42、約32から約42、約36から約42、約12から約36、約16から約36、約20から約36、約24から約36、約10から約28、約16から約28、約20から約28、約16から約24、または約18から約24週を含み得る。一部の場合、妊娠期は、妊娠1週目、2週目、3週目、4週目、5週目、6週目、7週目、8週目、9週目、10週目、11週目、12週目、13週目、14週目、15週目、16週目、17週目、18週目、19週目、20週目、21週目、22週目、23週目、24週目、25週目、26週目、27週目、28週目、29週目、30週目、31週目、32週目、33週目、34週目、35週目、36週目、37週目、38週目、39週目、40週目、41週目、42週目、43週目、44週目、45週目、46週目または46週目後を含み得る。妊娠期は、妊娠月数も含み得る。妊娠の典型的期間は、9~10ヵ月である。したがって、妊娠期は、妊娠約1ヵ月目から約10ヵ月目、約2ヵ月目から約10ヵ月目、約3ヵ月目から約10ヵ月目、約4ヵ月目から約10ヵ月目、約5ヵ月目から約10ヵ月目、約6ヵ月目から約10ヵ月目、約7ヵ月目から約10ヵ月目、約8ヵ月目から約10ヵ月目、約9ヵ月目から約10ヵ月目、約1ヵ月目から約9ヵ月目、約2ヵ月目から約9ヵ月目、約3ヵ月目から約9ヵ月目、約4ヵ月目から約9ヵ月目、約5ヵ月目から約9ヵ月目、約6ヵ月目から約9ヵ月目、約7ヵ月目から約9ヵ月目、約8ヵ月目から約9ヵ月目、約1ヵ月目から約6ヵ月目、約1ヵ月目から約4ヵ月目、約1ヵ月目から約3ヵ月目、約3ヵ月目から約9ヵ月目、約3ヵ月目から約6ヵ月目、約4ヵ月目から約6ヵ月目、約3ヵ月目から約7ヵ月目、約2ヵ月目から約7ヵ月目または約2ヵ月目から約6ヵ月目を含み得る。一部の場合、妊娠期は、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10ヵ月目を含み得る。他の実施形態において、妊娠期は、トリメスターを含み得る。妊娠期間は、3つのトリメスターに分けることができる。第1のトリメスターは、妊娠約1ヶ月から約3ヶ月および/または妊娠約1週目から約12週目を含み得る。第1のトリメスターの間、典型的な発育は、約28g(または約1オンス)の体重および約7.6cmから約10cm(または約3から約4インチ)長の身長への胎児成長を含む。第2のトリメスターは、妊娠約4ヵ月から約6ヶ月および/または妊娠約13週から約28週であり得る。第2のトリメスターの間、典型的な発育は、約910g(または約2ポンド)の体重および約23cmから約31cm(または約9インチから約12インチ)長の身長への胎児成長を含む。第3のトリメスターは、妊娠約7ヵ月から約9ヶ月および/または妊娠約29から約40週であり得る。第3のトリメスターの間、典型的な発育は、約3.2kg(または約7ポンド)の体重および約45cmから約51cm(または約18から約20インチ)長の身長への胎児成長を含む。

10

20

30

【0159】

一部の実施形態において、妊娠期は、胎児発育の段階であり得る。このような段階としては、限定されるものではないが、胚盤胞形成、胎盤形成、胚形成、心臓発生、肺発生、肝臓発生、腎臓発生、胃腸発生および神経系発生を挙げることができる。

40

【0160】

モニタリングおよび治療法

本明細書に開示の分析は、対象から得られた単一試料の使用を含み得る。このような試料は、体液試料を含み得る。体液試料としては、限定されるものではないが、血液、尿、粘液、羊水、唾液および/または本明細書に開示の他の試料タイプを挙げることができる。バイオマーカーレベルは、単一対象試料中で、または複数の対象試料中で分析することができる。GCD59レベルは、例えば、経時的にモニタリングすることができる。本明細書において使用される場合、用語「モニタリング」は、経時的に観察、評価および/または計測する行動を指す。観察、評価および/または計測は、1つ以上の量または値の形式で記録することができる。

50

【0161】

一部の実施形態において、モニタリングの目的のための値は、濃度値を含み得る。モニタリングは、典型的には、後続値を比較することができる初回またはベースライン値を得ることにより実施される。モニタリングの間、1つ以上の後続値を得、ベースライン値および/または任意の他の既に得られた値と比較することができる。後続値は、短期比較、長期比較、毎週の比較、毎月の比較などの目的のために得ることができる。短期比較は、対象への特定の負荷（例えば、グルコース負荷）に応答する対象試料中の1つ以上のバイオマーカーレベルをモニタリングするために使用することができる。このような対象試料は、10、20、30、40、50、75および/または150分ごとに得、分析して比較のための後続値を生成することができる。短期比較のための対象試料は、後続値の生成のために1、2、3、4、5、10、12および/または24時間ごとに得ることができる。このような対象試料は、血液、尿、粘液、羊水、唾液および/または本明細書に開示の任意の他の体液を含み得る。グルコースレベルおよび/または糖化タンパク質のレベルをそのような試料から得ることもできる。一部の場合、GCD59のレベル（例として、限定されるものではないが、濃度値）を短期比較のための対象試料から得ることができる。

10

【0162】

一部の実施形態において、長期比較は、対象中の1つ以上のバイオマーカーレベル/濃度をモニタリングするために使用することができる。長期比較のために得られた後続値は、週ごと、月ごと、3ヵ月ごと、年ごとおよび/または少なくとも年ごとに得ることができる。長期比較は、約2週間から約2か月おきに得られた対象試料から得られた後続値を含み得る。このような対象試料は、体液試料を含み得る。このような体液試料は、血液、尿、粘液、羊水、唾液および/または本明細書に開示の任意の他の体液試料を含み得る。一部の実施形態において、グルコースレベルは、長期比較のために試料から得ることができる。他の実施形態において、糖化タンパク質のレベルを長期比較のための試料から得ることができる。さらなる実施形態において、GCD59レベル（例えば、GCD59濃度レベル）を得ることができる。

20

【0163】

GDMをモニタリングに関する実施形態において、観察、評価および/または計測値としては、限定されるものではないが、体重、血中グルコースレベル、糖化タンパク質（例えば、GCD59）のレベル、バイオマーカーレベル、胎児体重、胎児サイズおよびBMIを反映する値を挙げるることができる。GDMのモニタリングは、反復試験および/または観察を介して実施することができる。ベースライン値は、妊娠前、最初の出生前健康診断時または所与の妊娠間隔内で得ることができる。ベースライン値は、例えば、妊娠12週から36週から、妊娠約20週から約36週および/または妊娠約24週から約28週（例として、妊娠24週目の間、妊娠25週目の間、妊娠26週目の間、妊娠27週目の間および/または妊娠28週目の間に得ることができる。一部のベースライン値は、濃度値であり得る。このような濃度値は、種々の資源から得ることができる。ベースライン濃度値は、体液、例として、限定されるものではないが、血液、尿、粘液、羊水、唾液および/または本明細書に開示の任意の他の体液試料から得ることもできる。

30

【0164】

一部の実施形態において、ベースライン値は、GDMに関する1つ以上の因子を評価するために使用される1つ以上の試験の結果を含み得る。このような試験としては、限定されるものではないが、グルコース負荷試験（GCT）、OGTT、空腹時グルコース試験、ランダムグルコース試験、食後2時間グルコース試験、HbA1c試験、フルクトサミン試験および1,5-アンヒドログルシトール試験を挙げるることができる。

40

【0165】

GDMモニタリングの間、1つ以上の後続値を得、ベースライン値および/または任意の他の既に得られた値と比較することができる。一部の後続値は、短期比較、長期比較、毎週の比較、毎月の比較、トリメスター比較、経分娩（transpartum）比較（例えば、出産前後の比較）、経妊娠（transgestational）比較（例えば

50

、妊娠前、妊娠前後および／または妊娠後の間の比較）および妊娠間比較（例えば、第1の妊娠と第2、第3および／または第4の妊娠との間）の目的のために得ることができる。短期比較は、対象への特定の負荷（例えば、グルコース負荷）に応答する1つ以上のバイオマーカーレベルをモニタリングするために使用することができる。短期比較のために得られた体液試料は、10、20、30、40、50、75および／または150分ごとに得、分析して比較のための後続値を生成することができる。他の実施形態において、短期比較のための体液は、後続値の生成のために1、2、3、4、5、10、12および／または24時間ごとに得ることができる。短期比較のための一部の体液試料は、血液、尿、粘液、羊水、唾液および／または本明細書に開示の任意の他の体液を含み得る。一部の場
10
場合、グルコースレベルをそのような試料から得ることができる。糖化タンパク質のレベル（例として、限定されるものではないが、濃度値）を短期比較のための体液から得ることもできる。このようなレベルは、GCD59レベルを含み得る。

【0166】

一部の実施形態において、長期比較は、妊娠対象中の1つ以上のバイオマーカーレベル／濃度をモニタリングするために使用することができる。長期比較のために得られる後続値は、週ごと、月ごと、 trimesterごと、妊娠ごとならびに／または妊娠前、妊娠前後および妊娠後の期間のそれぞれにおいて得ることができる。一部の長期比較は、約2週間から約2ヵ月おきに得られた対象試料から得られた後続値を含み得る。一部のそのような対象試料は、体液試料を含み得る。このような体液試料は、血液、尿、粘液、羊水、唾液
20
および／または本明細書に開示の任意の他の体液試料を含み得る。一部の場
場合、グルコースレベルを長期比較のための試料から得ることができる。他の実施形態において、糖化タンパク質のレベルを長期比較のための試料から得ることができる。さらなる実施形態において、GCD59レベル（例えば、GCD59濃度レベル）を得ることができる。

【0167】

モニタリングを実施して1つ以上の病態および／または疾患の発症を観察することができる。一部のモニタリングは、GDMおよび／または子癇前症の発症を決定するために実施することができる。このような実施形態において、得られたベースライン値は、GDM
30
および／または子癇前症を示し得ず；しかしながら、得られた後続値は発症を示し得る。発症は、対象試料、例として、限定されるものではないが、体液をモニタリングすることにより決定することができる。このような体液としては、血液、尿、粘液、羊水、唾液
および／または本明細書に開示の任意の他の体液試料を挙げることができる。一部の対象試料において、グルコースレベルをモニタリングしてGDMおよび／または子癇前症の発症を決定することができる。他の実施形態において、糖化タンパク質のレベルをモニタリングしてGDM
30
および／または子癇前症の発症を決定することができる。さらなる実施形態において、GCD59レベル（例えば、GCD59濃度レベル）をモニタリングしてGDM
および／または子癇前症の発症を決定することができる。

【0168】

一部の実施形態において、モニタリングを実施して1つ以上の病態および／または疾患の進行または退縮を観察または評価することができる。一部のモニタリングを実施してGDM
40
および／または子癇前症の進行または退縮を観察または評価することができる。この
ような実施形態において、得られたベースライン値は、GDMおよび／または子癇前症を示し得；しかしながら、得られた後続値は、疾患の進行または退縮を示し得る。進行または退縮は、対象試料、例として、限定されるものではないが、体液をモニタリングすることにより評価することができる。このような体液としては、血液、尿、粘液、羊水、唾液
40
および／または本明細書に開示の任意の他の体液試料を挙げることができる。一部の
実施形態において、グルコースレベルをモニタリングしてGDMおよび／または子癇前症の
進行または退縮を評価することができる。他の実施形態において、糖化タンパク質のレベルをモニタリングしてGDM
40
および／または子癇前症の進行または退縮を評価することができる。さらなる実施形態において、GCD59レベル（例えば、GCD59濃度レベル）をモニタリングしてGDM
40
および／または子癇前症の進行または退縮を評価することがで

10

20

30

40

50

きる。

【0169】

一部の実施形態において、モニタリングを実施して分娩後対象における糖尿病病態の進行を観察または評価することができる。本明細書において使用される場合、用語「分娩後対象」は、出産して間もない対象を指す。分娩後対象としては、約1時間前、約1日前、約1ヵ月前、約3ヵ月前および/または約1年前に出産した対象を挙げることができる。本発明のキットは、分娩後対象から得られた1つ以上の試料中のGCD59レベルを測定するために使用することができる。分娩後対象から得られた1つ以上の試料から得られたこのようなGCD59レベルは、そのような分娩後対象における1つ以上の糖尿病病態を診断、予後診断またはそうでなければ分析するために使用することができる。

10

【0170】

一部の実施形態において、対象試料の評価を実施して適切な治療法の形式を適用することができる。このような対象試料は、GDMを有する妊娠対象から得ることができる。GDMのための治療方針は、食生活の改善、活動の増加、運動の増加、定期的な血中グルコースモニタリングおよび/またはインスリン療法を含み得る。妊娠対象からの試料の評価に基づく1つ以上の治療方針の選択および妊娠対象への選択された治療方針の1つ以上の適用は、そのような妊娠対象の子として生まれた幼児対象に影響するGDM関連病態を予防し得る。このような妊娠対象から得られた試料は、1つ以上のバイオマーカーのレベルについて評価して1つ以上の治療方針を選択することができる。このようなバイオマーカーとしては、糖化タンパク質、例として、限定されるものではないが、GCD59を挙げることができる。妊娠対象試料から得られたGCD59濃度値を使用してGDMの治療のための1つ以上の治療法を選択することができる。このような実施形態において、そのような妊娠対象の子として生まれた幼児対象における1つ以上のGDM関連病態を軽減、反転および/または予防することができる。

20

【0171】

本発明の一部の方法は、GDMのための治療を受ける対象をモニタリングするために使用することができる。このような方法は、本明細書に記載のモニタリングのタイプのいずれかから得られた見識に基づき治療投与量および/または治療法のタイプを調整することを含み得る。

【0172】

コンパニオン診断

一部の実施形態において、本発明のアッセイをコンパニオン診断として使用することができる。本明細書において使用される場合、用語「コンパニオン診断」は、結果が対象の診断または治療を支援するアッセイを指す。コンパニオン診断は、患者疾患、障害または病態重症度レベルの階層化に有用であり得、コストを低減させ、臨床試験の期間を短縮し、安全性を増加させ、および/または有効性を増加させるための治療レジメンおよび用量の調節を可能とする。コンパニオン診断は、疾患、障害または病態の発症を予測し、予防療法の処方支援のために使用することができる。一部のコンパニオン診断は、1つ以上の臨床試験のために対象を選択するために使用することができる。一部の場合、コンパニオン診断アッセイは、規定の治療と連携させて治療最適化を容易にすることができる。

30

40

【0173】

一部の実施形態において、本発明のGCD59検出アッセイは、血糖レベルに関連する疾患、障害および/または病態のためのコンパニオン診断として有用であり得る。本発明の一部のコンパニオン診断は、糖尿病、前糖尿病または他の糖尿病病態、例として、限定されるものではないが、GDMの重症度の予測および/または決定に有用であり得る。本発明の一部のコンパニオン診断は、糖尿病合併症を発症するリスクにより対象を階層化するために使用することができる。このような糖尿病合併症としては、限定されるものではないが、糖尿病性ケトアシドーシス、高血糖症、低血糖症、高血糖症高浸透圧状態、糖尿病性昏睡、呼吸器の感染症、歯周病、心損傷、腎損傷、感覚減少、失明、心血管疾患、筋肉の衰えおよび卒中を挙げることができる。本発明の一部のコンパニオン診断は、抗糖尿

50

病および代謝疾患薬物のための薬物開発を容易にし、促進するために使用することができる。

【0174】

ポイントオブケア試験

一部の実施形態において、本明細書に記載のキットおよびアッセイは、ポイントオブケア試験に使用することができる。本明細書において使用される場合、用語「ポイントオブケア試験」は、対象を医学的ケアを受けている部位において、またはその付近で実施される医学的試験を指す。ポイントオブケア試験は、試験、試験結果のレビューおよび治療のより短い間隔を容易にし得る。ポイントオブケア試験は、患者の試験も可能とし、同日の間におよび/または同一の医療訪問の間にそのような試験の結果により決定された治療を受けることも可能とし得る。

10

【0175】

定義

動物：本明細書において使用される場合、用語「動物」は、動物界の任意のメンバーを指す。一部の実施形態において、「動物」は、任意の発生段階におけるヒトを指す。一部の実施形態において、「動物」は、任意の発生段階における非ヒト動物も指し得る。ある実施形態において、非ヒト動物は、哺乳動物（例えば、齧歯類、マウス、ラット、ウサギ、サル、イヌ、ネコ、ヒツジ、ウシ、霊長類、またはブタ）である。一部の動物としては、限定されるものではないが、哺乳動物、鳥類、爬虫類、両生類、魚類、および蠕虫を挙げることができる。一部の動物は、トランスジェニック動物、遺伝子操作動物、またはクローンである。

20

【0176】

およそ：本明細書において使用される場合、用語「およそ」または「約」は、1つ以上の目的値に適用される場合、記述される参照値と類似する値を指す。ある実施形態において、用語「およそ」または「約」は、特に記載のない限り、またはそうでなければ文脈から明らかでない限り、記述される参照値の前後（大きいまたは小さい）25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、またはそれより小さい範囲内の値の範囲を指す（このような数が考えられる値の100%を超過する場合を除く）。

30

【0177】

と会合している：本明細書において使用される場合、用語「と会合している」、「コンジュゲートしている」、「結合している」、「付着している」および「テザリングしている」は、2つ以上の部分に関して使用される場合、それらの部分が直接または結合剤として機能する1つ以上の追加の部分を通して互いに物理的に会合または連結して十分に安定的な構造を形成し、その結果、それらの部分がその構造が使用される条件、例えば、生理学的条件下で物理的に会合したままであることを意味する。「会合」は、厳密には、直接共有化学結合を介するものである必要はない。これは、「会合している」実体が物理的に会合したままであるように十分に安定的なイオンもしくは水素結合またはハイブリダイゼーションベースの連結性または疎水性相互作用も示唆し得る。

40

【0178】

検出可能な標識：本明細書において使用される場合、「検出可能な標識」は、別の実体と付着し、取り込まれ、または会合する1つ以上のマーカー、シグナル、または部分を指し、それらのマーカー、シグナルまたは部分は、当分野において公知の方法、例として、ラジオグラフィ、蛍光、化学発光、酵素活性、吸光度、免疫学的検出などにより容易に検出される。検出可能な標識としては、放射性同位体、フルオロフォア、クロモフォア、酵素、色素、金属イオン、リガンド、例えば、ビオチン、アビジン、ストレプトアビジンおよびハプテン、量子ドット、ポリヒスチジンタグ、mycタグ、flagタグ、ヒトインフルエンザヘマグルチニン(HA)タグなどを挙げることができる。検出可能な標識は、それらが付着し、取り込まれ、または会合する実体中の任意の位置において局在化させ

50

ることができる。例えば、これらは、ペプチドまたはタンパク質と付着し、その中に取り込まれ、またはそれと会合する場合、アミノ酸、ペプチド、もしくはタンパク質内に存在し、またはNもしくはC末端において局在させることができる。

【0179】

エピトープ：本明細書において使用される場合、「エピトープ」は、免疫系の1つ以上の成分、例として、限定されるものではないが、抗体と相互作用し得る分子上の表面または領域を指す。一部の実施形態において、タンパク質またはタンパク質モジュールを指す場合、エピトープは、アミノ酸の直鎖ストレッチまたは折り畳まれた1つ以上のアミノ酸鎖により形成される三次元構造により形成される曲面パッチを含み得る。

【0180】

特徴部：本明細書において使用される場合、「特徴部」は、特徴、特性、または独特なエレメントを指す。

【0181】

断片：「断片」は、本明細書において使用される場合、部分を指す。例えば、タンパク質の断片は、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たポリペプチドを含み得る。一部の実施形態において、タンパク質の断片は、少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、150、200、250またはそれより多いアミノ酸を含む。抗体断片は、酵素的消化に供され、またはそれ自体で合成された抗体の部分を含み得る。

【0182】

妊娠：本明細書において使用される場合、用語「妊娠」は、妊娠期間に関して意味し、その結果、「妊娠前」は、妊娠前の1つ以上の期間を指し、「妊娠前後」は、妊娠を含む期間を指し、「妊娠後」は、妊娠後の1つ以上の期間を指す。

【0183】

同一性：本明細書において使用される場合、用語「同一性」は、ポリマー分子間、例えば、オリゴヌクレオチド分子（例えば、DNA分子および/またはRNA分子）間、および/またはポリペプチド分子間の全体的な関連性を指す。2つのアミノ酸配列の同一性パーセントの計算は、例えば、2つの配列を最適な比較目的のためにアラインすることにより実施することができる（例えば、最適なアラインメントのために第1および第2のアミノ酸配列の一方または両方にギャップを導入することができ、比較目的のために同一でない配列を無視することができる）。ある実施形態において、比較目的のためにアラインされる配列の長さは、参照配列の長さの少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%である。次いで、対応するアミノ酸残基位置のアミノ酸を比較する。第1の配列中のある位置が第2の配列中の対応する位置と同一のアミノ酸により占有されている場合、分子はその位置において同一である。2つの配列間の同一性パーセントは、2つの配列の最適なアラインメントのために導入する必要があるギャップの数、およびそれぞれのギャップの長さを考慮し、配列により共有される同一位置の数の関数である。配列の比較および2つの配列間の同一性パーセントの決定は、数学的アルゴリズムを使用して達成することができる。例えば、2つのヌクレオチド配列間の同一性パーセントは、Computational Molecular Biology, Lesk, A.M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D.W., ed., Academic Press, New York, 1993; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987; Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A.M., and Griffin, H

10

20

30

40

50

. G . , eds . , Humana Press , New Jersey , 1994 ; およ
び Sequence Analysis Primer , Gribskov , M . and
Devereux , J . , eds . , M Stockton Press , New Y
ork , 1991 (これらのそれぞれは参照により本明細書に組み込まれる) に記載の
ものなどの方法を使用して決定することができる。例えば、2つのヌクレオチド配列間の同
一性パーセントは、例えば、MeyersおよびMiller (CABIOS , 1989
 , 4 : 11 - 17) のアルゴリズムを使用して決定することができ、これはALIGNプ
ログラム (バージョン 2 . 0) に組み込まれており、PAM120加重残基表、ギャップ
長さペナルティ12およびギャップペナルティ4を使用する。あるいは、2つのヌクレオ
チド配列間の同一性パーセントは、NWSgapdna.CMPマトリックスを使用する
GCGソフトウェアパッケージ中のGAPプログラムを使用して決定することができる。
配列間の同一性パーセントを決定するために一般に用いられる方法としては、限定される
ものではないが、参照により本明細書に組み込まれるCarillo, H. , and Lipman, D. , SIAM J Applied Math. , 48 : 1073 (19
88) に開示のものが挙げられる。同一性を決定するための技術は、公的に利用可能なコ
ンピュータプログラムにコード化されている。2つの配列間の同一性を決定するための例
示的なコンピュータソフトウェアとしては、限定されるものではないが、GCGプログラ
ムパッケージ、Devereux, J. , et al. , Nucleic Acids
Research , 12 (1) , 387 (1984) 、BLASTP、BLASTN、
およびFASTA Altschul, S.F. et al. , J. Molec. Bio
l. , 215 , 403 (1990) が挙げられる。

10

20

【0184】

単離された：本明細書において使用される場合、用語「単離された」は、「分離された」と同義であるが、分離が手作業により実施されたという推定を伴う。一実施形態において、単離された物質または実体は、それが事前に会合した（天然環境か実験環境かを問わない）成分の少なくとも一部から分離されたものである。単離された物質は、それらが会合していた物質に対して変動レベルの純度を有し得る。単離された物質および/または実体は、それらが最初に会合した他の成分の少なくとも約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、またはそれより多くから分離することができる。一部の実施形態において、単離された薬剤は、約80%、約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、または約99%を上回って純粋である。本明細書において使用される場合、物質は、それが他の成分を実質的に含まない場合、「純粋」である。

30

【0185】

実質的に単離された：「実質的に単離された」は、化合物が、それが形成または検出された環境から実質的に分離されることを意味する。部分分離物は、例えば、本開示の化合物が濃縮された組成物を挙げることができる。実質的分離物としては、重量基準で少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、もしくは少なくとも約99%の本開示の化合物、またはその塩を含有する組成物を挙げることができる。化合物およびその塩を単離する方法は、当分野において定型的である。一部の実施形態において、物質または実体の単離は、化学会合および/または結合の破壊を含む。ある実施形態において、単離は、単離される物質または実体が既に合わさった成分からの分離のみを含み得、そのような破壊を含まない。

40

【0186】

改変された：本明細書において使用される場合、用語「改変された」は、親または参照分子または実体と比較して分子または実体の変化した状態または構造を指す。分子は、多くの手法で、例として、化学的、構造的、および機能的に改変することができる。一部の実施形態において、本発明の化合物および/または組成物は、非コードアミノ酸の導入により改変する。

50

【0187】

突然変異：本明細書において使用される場合、用語「突然変異」は、変化および/または変更を指す。突然変異は、タンパク質（例として、ペプチドおよびポリペプチド）および/または核酸（例として、ポリ核酸）の変化および/または変更であり得る。一部の突然変異は、タンパク質および/または核酸配列の変化および/または変更を含む。このような変化および/または変更は、1つ以上のアミノ酸（タンパク質および/またはペプチドの場合）および/またはヌクレオチド（核酸および/またはポリ核酸の場合）の付加、置換および/または欠失を含み得る。突然変異がアミノ酸および/またはヌクレオチドの付加および/または置換を含む実施形態において、このような付加および/または置換は、1つ以上のアミノ酸および/またはヌクレオチド残基を含み得、改変されたアミノ酸および/またはヌクレオチドを含み得る。

【0188】

非ヒト脊椎動物：本明細書において使用される場合、「非ヒト脊椎動物」は、ヒト（*Homo sapiens*）を除く全ての脊椎動物、例として、野生および飼育種を含む。非ヒト脊椎動物の例としては、限定されるものではないが、哺乳動物、例えば、アルパカ、パンテン、パイソン、ラクダ、ネコ、ウシ、シカ、イヌ、ロバ、ガヤル、ヤギ、モルモット、ウマ、ラマ、ラバ、ブタ、ウサギ、トナカイ、ヒツジ、スイギュウ、およびヤクが挙げられる。

【0189】

パラトープ：本明細書において使用される場合、「パラトープ」は、抗体の抗原結合部位を指す。

【0190】

患者：本明細書において使用される場合、「患者」は、治療を求め得、もしくは必要とし得、治療を要求し、治療を受けており、治療を受ける対象、または特定の疾患もしくは病態について熟練（例えば、資格）専門家による治療中の対象を指す。

【0191】

ペプチド：本明細書において使用される場合、用語「ペプチド」は、約50アミノ酸長以下、例えば、約5、10、15、20、25、30、35、40、45、または50アミノ酸長のアミノ酸の鎖を指す。

【0192】

目的タンパク質：本明細書において使用される場合、用語「目的タンパク質」または「所望のタンパク質」は、本明細書に提供されるものならびにその断片、突然変異体、バリエーション、および変更物を含む。

【0193】

領域：本明細書において使用される場合、用語「領域」は、帯域または一般区域を指す。一部の実施形態において、タンパク質またはタンパク質モジュールを指す場合、領域は、タンパク質もしくはタンパク質モジュールに沿うアミノ酸の直鎖配列を含み得、または三次元区域、エピトープおよび/もしくはエピトープのクラスターを含み得る。一部の領域は、末端領域を含む。本明細書において使用される場合、用語「末端領域」は、所与の薬剤の終端または末端において局在する領域を指す。タンパク質を指す場合、末端領域は、Nおよび/またはC末端を含み得る。N末端は、1つ以上の部分または実体による改変またはコンジュゲーションを有し、または有さない遊離アミノ基を有するアミノ酸を含むタンパク質の終端を指す。C末端は、1つ以上の部分または実体による改変またはコンジュゲーションを有し、または有さない遊離カルボキシル基を有するアミノ酸を含むタンパク質の終端を指す。したがって、Nおよび/またはC末端領域は、Nおよび/またはC末端ならびに包囲するアミノ酸を含み得る。一部のNおよび/またはC末端領域は、約3アミノ酸から約30アミノ酸、約5アミノ酸から約40アミノ酸、約10アミノ酸から約50アミノ酸、約20アミノ酸から約100アミノ酸および/または少なくとも100アミノ酸を含む。一部の実施形態において、N末端領域は、N末端を含むが、C末端を含まない任意の長さのアミノ酸を含み得る。一部のC末端領域は、C末端を含むが、N末端を含

まない任意の長さのアミノ酸を含み得る。

【0194】

抗体認識の領域：本明細書において使用される場合、用語「抗体認識の領域」は、対応する抗体により特異的に認識および結合される1つ以上の抗原上の、または2つ以上の抗原間の1つ以上の領域を指す。一部の抗体認識の領域は、1、2、3、4、5、6、7、8、9または少なくとも10アミノ酸残基を含み得る。抗体認識の領域は、2つのタンパク質間の、または互いに近接する同一タンパク質の2つのドメイン間の接合部を含み得る。

【0195】

試料：本明細書において使用される場合、用語「試料」は、資源から採取され、および/または分析もしくは処理のために提供されるアリコートまたは部分を指す。試料としては、組織学的または細胞学的標本、組織、体液および/または生検物を挙げることもできる。一部の試料は、生物学的資源、例えば、組織、細胞または成分部分からのものであり得る。一部の試料は、体液試料を含み得る。体液試料としては、限定されるものではないが、血液、尿、粘液、羊水、唾液、リンパ液、滑液、脳脊髄液、羊膜帯血 (amniotic cord blood)、膿液および精液)を挙げることもできる。一部の試料は、生物全体またはその組織、細胞もしくは成分部分のサブセット、またはその分画もしくは一部、例として、限定されるものではないが、例えば、血漿、血清、脊髄液、リンパ液、皮膚の外部片、呼吸器、腸および尿生殖路、涙液、唾液、乳汁、血液細胞、腫瘍、器官から調製されるホモジネート、溶解物または抽出物であり得、またはそれを含み得る。一部の試料は、細胞成分、例えば、タンパク質または核酸分子を含有し得る媒体、例えば、栄養ブロスまたはゲルであり、またはそれを含み得る。

【0196】

シグナル配列：本明細書において使用される場合、語句「シグナル配列」は、タンパク質の輸送または局在化を指向し得る配列を指す。

【0197】

安定的：本明細書において使用される場合、「安定的」は、反応混合物から有用な純度の程度で単離後に残るほど十分に堅牢である化合物または実体を指す。一部の実施形態において、安定的化合物は、所望の三次元立体構造または折り畳みを維持する。

【0198】

安定化された：本明細書において使用される場合、用語「安定化する」、「安定化された」、「安定化された領域」は、安定をなし、または安定的になることを意味する。安定性は、絶対値に対して計測することができる。一部の実施形態において、安定性は、参照化合物または実体に対して計測する。

【0199】

対象：本明細書において使用される場合、用語「対象」は、例えば、実験、診断、予防および/または治療目的のために本発明のキットまたは方法を適用することができる任意の生物を指す。典型的な対象としては、動物(例えば、哺乳動物、例えば、マウス、ラット、ウサギ、非ヒト霊長類、およびヒト)および/または植物が挙げられる。本明細書において称される場合、「対象試料」は、1つ以上の対象に由来する試料を含む。

【0200】

実質的には：本明細書において使用される場合、用語「実質的には」は、目的の特徴または特性の全範囲もしくは程度またはそれに近い範囲もしくは程度を示す定性的条件を指す。生物学分野の当業者は、生物学および化学的現象が、完了し、および/または完全性に進行し、もしくは絶対的結果を達成もしくは回避することは、あるとしても、まれであることを理解する。したがって、用語「実質的には」は、多くの生物学および化学的現象において固有の完全性の潜在的な欠落を補足するために本明細書において使用される。

【0201】

を罹患する：疾患、障害、および/または病態「を罹患する」個体は、疾患、障害、お

10

20

30

40

50

よび／または病態の1つ以上の症状が診断されており、またはそれを呈する。

【0202】

に対して感受性である：疾患、障害、および／または病態「に対して感受性である」個体は、その疾患、障害、および／または病態の症状が診断されておらず、および／またはそれを呈し得ないが、疾患またはその症状を発症する傾向を有する。一部の実施形態において、疾患、障害、および／または病態（例えば、癌）に対して感受性である個体は、以下の1つ以上により特徴決定することができる：（1）その疾患、障害、および／または病態の発症に関連する遺伝子突然変異；（2）その疾患、障害、および／または病態の発症に関連する遺伝子多型；（3）その疾患、障害、および／または病態に関連するタンパク質および／または核酸の発現および／または活性の増加および／または減少；（4）その疾患、障害、および／または病態の発症に関連する習慣および／または生活様式；（5）その疾患、障害、および／または病態の家族歴；ならびに（6）その疾患、障害、および／または病態の発症に関連する微生物への曝露および／またはそれによる感染症。疾患、障害、および／または病態に対して感受性である一部の個体は、その疾患、障害、および／または病態を発症しない。

10

【0203】

合成：用語「合成」は、手作業により産生、調製、および／または製造されることを意味する。本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチドまたは他の分子の合成は、化学的または酵素的であり得る。

20

【0204】

治療：本明細書において使用される場合、用語「治療」は、特定の感染症、疾患、障害、および／または病態の1つ以上の症状もしくは特徴の部分的または完全な緩和、改良、改善、軽減、それらの発症の遅延、進行の阻害、重症度の低減、および／または発症率の低減を指す。例えば、癌の「治療」は、生存の延長ならびに腫瘍の成長、および／または拡散の阻害を指し得る。治療は、疾患、障害、および／または病態に伴う病変を発症するリスクを減少させる目的のため、疾患、障害、および／もしくは病態の徴候を示さない対象、ならびに／または疾患、障害、および／もしくは病態の初期徴候のみを示す対象に施すことができる。

【0205】

均等物および範囲

当業者は、単に定型的な実験を使用して、本明細書に記載の本発明による具体的な実施形態の多くの均等物を認識し、または確認することができる。本発明の範囲は、上記の詳細な説明に限定されるものではなく、付属の特許請求の範囲に記載されるものである。

30

【0206】

特許請求の範囲において、冠詞、例えば、「a」、「an」、および「the」は、反対であることが記載されており、またはそうでなければ文脈から明確でない限り、1つまたは2つ以上を意味し得る。群の1つ以上のメンバー間の「または」を含む特許請求の範囲または詳細な説明は、反対であることが示されており、またはそうでなければ文脈から明らかでない限り、群メンバーの1つ、2つ以上、または全てが所与の産物またはプロセスに存在し、用いられ、またはそうでなければ関連する場合、満たされるとみなす。本発明は、群の正確に1つのメンバーが所与の産物またはプロセスに存在し、用いられ、またはそうでなければ関連する実施形態を含む。本発明は、2つ以上の、または全ての群メンバーが所与の産物またはプロセスに存在し、用いられ、またはそうでなければ関連する実施形態を含む。

40

【0207】

用語「含む」は、無制限であるものとし、追加の要素またはステップの包含を許容するが、要求するものではないことも留意されたい。したがって、用語「含む」が本明細書において使用される場合、用語「からなる」も、包含および開示される。

【0208】

50

範囲が与えられる場合、終点を含める。さらに、特に記載のない限り、またはそうでなければ、文脈および当業者の理解から明らかでない限り、範囲として表現される値は、文脈が特に明示しない限り範囲の下限値の単位の10分の1まで、本発明の異なる実施形態において記述される範囲内の任意の規定値または下位範囲を想定し得ることを理解すべきである。

【0209】

さらに、従来技術の範囲内である本発明の任意の特定の実施形態は、特許請求の範囲のいずれか1つ以上から明示的に排除され得ることを理解すべきである。このような実施形態は当業者に公知であると考えられるため、それらは、排除が本明細書に明示されていない場合であっても、排除され得る。本発明の組成物の任意の特定の実施形態（例えば、任意の核酸またはそれによりコードされるタンパク質；任意の産生方法；任意の使用方法など）は、従来技術の存在に関連するか否かにかかわらず、任意の理由でいずれか1つ以上の請求の範囲から排除され得る。

10

【0210】

全ての引用源、例えば、参照文献、刊行物、データベース、データベースエントリー、および本明細書に引用される技術は、引用中で明示されていない場合であっても、参照により本出願に組み込まれる。引用源および本出願の記述が矛盾する場合、本出願の記述が優先される。セクションおよび表の見出しは、限定的なものではない。

【実施例】

【0211】

20

実施例 1

還元合成サロゲート化合物合成

サロゲート化合物として使用される還元合成タンパク質標準を以下の方法により合成した。システイン残基2および20（成熟CD59の残基39および63に対応）の間のジスルフィド結合を含むAc-ACNFNDVTTRLRENELTYCAAK-NH₂（配列番号5）およびN-ヒドロキシスクシンイミジル-75-N-（3-マレイミドプロピオニル）-アミド-4、7、10、13、16、19、22、25、28、31、34、37、40、43、46、49、52、55、58、61、64、67、70、73-テトラコサオキサペントヘプタコンタノエート、MAL-DPEG（登録商標）24-NHSEステルとしても公知（Quanta Biodesign, Powell, OH；）分子量：1394.55、単一化合物ディスクリートポリ-（エチレングリコール）「DPEG（登録商標）」Spacer（82個の原子および95.2）を、等モル量でジメチルスルホキシド（DMSO）中で溶解させた。トリエチルアミンを滴加してpHを7.0に到達させ、反応混合物を室温において1時間攪拌した。

30

【0212】

分析的高速液体クロマトグラフィー（HPLC）モニタリングは、反応の完了を示した。次いで、上記の反応混合物に、1当量のAc-NKAWKFEHANFNDC-OH（配列番号11）（成熟CD59のK41に対応するK5はグルシトールリジンを含んだ）を添加し、攪拌を1時間継続した。分析的HPLCモニタリングは、反応物質の消失および新たなピークの形成を示した。産物をHPLCにより、LC-60 Luna Prep C18カラム、10 μm、60 x 300 mmを用いて、等張条件を使用して精製して化合物をロードした（5%のB、10分間、次いで15%、5分間）、次いでB中15~45%のA、60分間の線形勾配、A = アセトニトリル中0.05%のトリフルオロ酢酸（TFA）、B = 水中0.05%のTFA）、流速 = 100 mL / 分。所望の産物が > 97%の純度において得られた。アミノ酸分析は、以下の結果（計算値）を生じさせた：Ala 5.2（5）；Arg 1.8（2）；Asp 8.1（8）；Glu 3.2（3）；His 0.82（1）；Leu 1.9（2）；Lys 2.1（2）；Phe 3.0（3）；Thr 2.9（3）；Tyr 2.0（2）；Val 1.0（1）。図4参照。

40

【0213】

50

実施例 2

アマドリ含有サロゲート化合物合成

サロゲート化合物を含むアマドリ含有合成タンパク質標準を以下の方法により合成する。システイン残基 2 および 20 (成熟 CD59 中の残基 39 および 63 に対応) の間のジスルフィド結合を含む Ac - ACNFNNDVTTRLRENE LTY YCAAK - NH₂ (配列番号 5) および MAL - DPEG (登録商標) 24 - NHS エステル (分子量: 1394.55; 単一化合物 DPEG (登録商標) Spacer は、82 個の原子および 95.2 A である; Quanta Biodesign) を、等モル量で DMSO 中で溶解させる。トリエチルアミンを滴加して pH を 7.0 に到達させ、反応混合物を室温において 1 時間攪拌する。

【0214】

分析的 HPLC モニタリングは、反応の完了を示す。上記の反応混合物に、アマドリ産物を含む 1 当量の Ac - NKAWKFEHANFNDC - OH (配列番号 11) (K5 (成熟 CD59 中の K41 に対応) が糖化されている) を添加し、攪拌を 1 時間継続する。分析的 HPLC モニタリングは、反応物質の消失および新たなピークの形成を示す。産物を HPLC により、LC - 60 Luna Prep C18 カラム、10 μm、60 x 300 mm を用いて、等張条件を使用して精製して化合物をロードする (5% の B、10 分間、次いで 15%、5 分間、次いで B 中 15 ~ 45% の A、60 分間の線形勾配、A = アセトニトリル中 0.05% の TFA、B = 水中 0.05% の TFA)、流速 = 100 mL / 分。次いで、所望の産物が得られる。

【0215】

実施例 3

還元剤により前処理された試料を用いる GCD59 サンドイッチ ELISA

GCD59 サンドイッチ酵素結合免疫吸着アッセイ (ELISA) は、血清または血漿 GCD59 を計測する。基本要素は、捕捉抗体としての抗 CD59 ネズミモノクローナル抗体 4466 (10A7)、検出抗体としての抗 グルシトールリジンウサギモノクローナル抗体 (クローン 42)、ヤギ抗ウサギ IgG - H & I 交差吸着抗体、二次検出抗体としてのセイヨウワサビペルオキシダーゼ (HRP) コンジュゲート (Bethyl Laboratories, Montgomery, TX)、およびリンカーにより連結している 2 つの CD59 ドメインを含むタンパク質標準として使用される合成糖化 CD59 サロゲート化合物を含む。プレートを捕捉抗体によりコーティングする。これを実施するため、捕捉抗体を 1 x ダルベッコリン酸緩衝生理食塩水 (DPBS; Lonza, Basel, Switzerland) 中で 3 μg / ml の最終濃度に希釈する。Immulon 4 HBX プレート (Thermo Fisher, Waltham, MA) のウェルを、100 μl の 3 μg / ml の捕捉抗体溶液によりコーティングする。次いで、プレートを振盪条件下で 4 において少なくとも 16 時間一晩インキュベートする。翌朝、0.05% の Tween (登録商標) - 20 (BioRad Laboratories, Hercules, CA) を有する 1 x リン酸緩衝生理食塩水 (PBS; Lonza, Basel, Switzerland) を含むプレート洗浄緩衝液 (緩衝液 D) によりプレートを 3 回洗浄する。次いで、PBS 中のタンパク質不含ブロッキング緩衝液 (緩衝液 B)、pH 7.4 (Thermo Scientific, Waltham, MA) により、振盪条件下で室温において 1 時間プレートをブロッキングする。プレートを緩衝液 D により 2 回再度洗浄し、室温において 2 時間空気乾燥させ、塩化ポリビニル (PVC) フィルムラップ (VWR International, Radnor, PA) 中でラッピングし、-20 において貯蔵する。

【0216】

血清または血漿試料を、新たに、または -80 において貯蔵されたアリコートから解凍して分析する。冷凍試料を水浴中で 37 において解凍し、ボルテックスに供し、アッセイにおいて使用するまで氷上に配置する。次いで、新たなおよび解凍試料を水素化ホウ素ナトリウム (NaBH₄; Sigma - Aldrich, St. Louis, MO) に

10

20

30

40

50

より還元する。還元のため、それぞれの試料からの50 μ lのアリコート微小遠心チューブ(VWR International, Radnor, PA)中に配置し、新たに調製された2.5 μ lの1MのNaBH₄と合わせる。次いで、試料を室温において1時間インキュベートしてから1mlの1%酢酸(VWR International, Radnor, PA)によりクエンチする。試料をピペティングにより完全に混合し、次いでボルテックスに供する。得られた試料混合物は、5%濃度の元の試料を含む。希釈試料は、それぞれからの200 μ lを、10mMのエチレンジアミン四酢酸(EDTA; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)および1%のNonidet P40(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)を含む800 μ lの緩衝液Cと合わせるによりさらに希釈し、ボルテックスに供し、1%の試料濃度をもたらす。200 μ lの得られた溶液を、15mlのBD Falcon Tube(Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ)中の10mlの緩衝液Cに添加し、ボルテックスに供することにより十分に混合し、0.02%の最終試料濃度をもたらす。

10

20

30

40

50

【0217】

合成糖化CD59サロゲート化合物試料を原液から調製する。原液は、1mlの1 \times PBS(Lonza, Basel, Switzerland)中で溶解され、100本の使い捨て微小遠心チューブ中に、それぞれのチューブ中に10 μ lでアリコート化された1mgのサロゲート化合物標準を含む。原液は、使用まで-80において貯蔵することができる。標準校正曲線の作成のため、タンパク質標準原液として使用される合成糖化CD59サロゲート化合物を使用して個々のチューブ中の3ng/ml、2ng/ml、1ng/ml、0.5ng/ml、0.25ng/mlおよび0.125ng/mlの標準校正曲線濃度を調製する。それぞれの濃度の100 μ lをアッセイにおいてトリプリケートで分析する。

【0218】

希釈試料および標準を添加する前、捕捉抗体コートプレートを室温に約30分間加温する。100 μ lのそれぞれの希釈試料および調製標準をプレートウェルに添加し、次いでプレートを室温において振盪させながら1時間インキュベートする。次いで、プレートを緩衝液Dにより4回洗浄し、ペーパータオル上で吸い取って過剰の洗浄緩衝液を除去する。タンパク質不含T20ブロッキング緩衝液、pH7.4;(Thermo Fisher, Waltham, MA)を含む緩衝液Aを1 \times PBS中で1:10に希釈し、それを使用して検出抗体を2.5 μ g/mlの最終濃度に希釈する。次いで、希釈された検出抗体溶液をアッセイプレートのそれぞれのウェルに添加し、室温において振盪させながら2時間インキュベートする。次いで、プレートを緩衝液Dにより4回洗浄し、ペーパータオル上で吸い取って過剰の洗浄緩衝液を除去する。

【0219】

PBSを含む10%緩衝液A中で二次検出抗体の0.5 μ g/ml原液を1:35, 000に希釈し、100 μ lをアッセイプレートのそれぞれのウェルに添加する。次いで、プレートを室温において振盪条件下で1時間インキュベートする。次いで、プレートを緩衝液Dにより4回洗浄する。

【0220】

結合二次検出抗体は、HRP基質を使用して比色検出する。1ステップUltra テトラメチルベンジジン(TMB)-ELISA(Thermo Fisher, Waltham, MA)を室温において使用前に5~6時間インキュベートする。次いで、100 μ lをそれぞれのウェルに添加し、室温において振盪条件下で18分間発色させておく。次いで、反応を10%v/vの硫酸(VWR International, Radnor, PA)により停止させる。それぞれのウェルについての吸光度値を、分光光度分析(Multiskan FC, Thermo Fisher, Waltham, MA)を介して450nmにおいて反応停止の30分以内に得る。標準曲線は、タンパク質標準試料として使用される合成糖化CD59サロゲート化合物から得られる吸光度値を使用して、

得られる吸光度をそれぞれについての既知濃度に対してプロットすることにより作成する。

【0221】

GCD59濃度値は、標準ペプチド単位(Standard Peptide Units)(SPU)として提示する。1SPUは、較正に使用される標準曲線において得られる1ng/mlの合成GCD59サロゲート化合物に対応するOD読み取り値として定義する。SPUで表現される試料中のGCD59の濃度の測定は、ELISAプレート中の試料について計測される吸光度値に対応する標準曲線上で合成GCD59サロゲート化合物の濃度を同定することにより実施する。

【0222】

実施例4

還元剤前処理を用いないGCD59サンドイッチELISA

最初にプレートを捕捉抗体によりコーティングする。これを実施するため、捕捉抗体を0.05Mの炭酸-重炭酸緩衝液(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)中で3µg/mlの最終濃度に希釈する。Immulon 4HBXプレート(Thermo Fisher, Waltham, MA)のウェルを、100µlの3µg/mlの捕捉抗体溶液によりコーティングする。次いで、プレートを4において振盪条件下で一晩(少なくとも16時間)インキュベートする。翌朝、プレートを緩衝液Dにより3回洗浄し、次いで緩衝液Bにより室温において振盪条件下で1時間ブロッキングする。プレートを緩衝液Dにより再度2回洗浄し、室温において2時間空気乾燥させ、PVCフィルムラップ(VWR International, Radnor, PA)中でラッピングし、-20において貯蔵する。

【0223】

血清または血漿試料を、新たに、または-80において貯蔵されたアリコートから解凍して分析する。試料を水浴中で37において解凍し、ボルテックスに供し、アッセイにおいて使用するまで氷上に配置する。試料を緩衝液C中で1%に希釈し、分析前にボルテックスに供する。200µlの得られた溶液を、15mlのBDFalcon Tube(Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ)中の10mlの緩衝液Cに添加し、ボルテックスに供することにより十分に混合し、0.02%の最終試料濃度をもたらす。

【0224】

シグナルおよびGPIシグナル配列を欠く成熟ヒトCD59中のK41に対応する、配列番号11の5番目の位置におけるアマドリ修飾リジン残基を含む合成糖化CD59サロゲート化合物を、タンパク質標準として使用される原液から調製する。原液は、1mlの1xPBS(Lonza, Basel, Switzerland)中で溶解され、100本の使い捨て微小遠心チューブ中に、それぞれのチューブ中に10µlでアリコート化された1mlの合成糖化CD59サロゲート化合物を含む。原液は、使用まで-80において貯蔵することができる。標準較正曲線の作成のため、タンパク質標準原液として使用される合成糖化CD59サロゲート化合物を使用して個々のチューブ中の3ng/ml、2ng/ml、1ng/ml、0.5ng/ml、0.25ng/mlおよび0.125ng/mlの標準較正曲線濃度を調製する。それぞれの濃度の100µlをアッセイにおいてトリプリケートで分析する。

【0225】

希釈試料およびサロゲート化合物標準を添加する前、捕捉抗体コートプレートを室温に約30分間加温する。100µlのそれぞれの希釈試料および調製サロゲート化合物標準をプレートウェルに添加し、次いでプレートを室温において振盪させながら1時間インキュベートする。次いで、プレートを緩衝液Dにより4回洗浄し、ペーパータオル上で吸い取って過剰の洗浄緩衝液を除去する。緩衝液Aを1xPBS中で1:10に希釈し、それを使用して検出抗体を2.5µg/mlの最終濃度に希釈する。次いで、希釈された検出抗体溶液をアッセイプレートのそれぞれのウェルに添加し、室温において振盪させながら

10

20

30

40

50

2時間インキュベートする。次いで、プレートを緩衝液Dにより4回洗浄し、ペーパータオル上で吸い取って過剰の洗浄緩衝液を除去する。

【0226】

PBSを含む10%緩衝液A中で二次検出抗体の0.5 μg/ml原液を1:35,000に希釈し、100 μlをアッセイプレートのそれぞれのウェルに添加する。次いで、プレートを室温において振盪条件下で1時間インキュベートする。次いで、プレートを緩衝液Dにより4回洗浄する。

【0227】

結合二次検出抗体は、HRP基質を使用して比色検出する。1ステップUltra TMB-ELISA (Thermo Fisher, Waltham, MA)を室温において使用前に5~6時間インキュベートする。次いで、100 μlをそれぞれのウェルに添加し、室温において振盪条件下で18分間発色させておく。次いで、反応を10% v/vの硫酸 (VWR International, Radnor, PA)により停止させる。それぞれのウェルについての吸光度値を、分光光度分析 (Multiskan FC, Thermo Fisher, Waltham, MA)を介して450 nmにおいて反応停止の30分以内に得る。標準曲線は、タンパク質標準試料として使用される合成糖化CD59サロゲート化合物から得られる吸光度値を使用し、得られた吸光度をそれぞれについての既知濃度に対してプロットすることにより作成する。

10

【0228】

次いで、それぞれについて得られた吸光度値を使用し、タンパク質標準値として使用された合成糖化CD59サロゲート化合物を使用して作成された標準曲線とそれらと比較して外挿を介してGCD59濃度値を得る。

20

【0229】

実施例5

妊娠性糖尿病研究

妊娠患者からの試料をGCD59濃度について分析した。試料は、Brigham & Women's病院において2006年から2008年において実施された「子癇前症の予測因子 (POP) 研究」に参加する1600人の対象のコホートから得た。POP研究における女性を慎重にモニタリングし、専門の内分泌学者により追跡した。このコホートからの251個の試料は、妊娠24週目の対象からのものだった。これらのうち、54個はGDMの診断を有した一方、197個は有さなかった。101個の試料は、妊娠35週目の同一対象からのものだった。これらは、GDMと診断された54人の対象およびGDM診断を有さない対象からランダムに選択された47人の対象からの試料を含んだ。

30

【0230】

分析されたそれらの対象から、GDMの診断を有する対象は、より高い平均年齢 (34歳 ± 5歳と31歳 ± 5歳) 体重 (152 lbs ± 35 lbsと140 lbs ± 22 lbs) および肥満度指数 (BMI、28 kg/m² ± 6 kg/m²と24 kg/m² ± 4 kg/m²) を有した。

【0231】

これらの試料中のGCD59濃度の分析は、GDMの診断を有する対象と、有さない対象との間の明確な分離を24週の時点において示した (図1参照)。さらに、GCD59濃度は、GDMと診断された対象から35週において採取された試料中で下降し、GDMの管理のための治療に対する応答を反映した。

40

【0232】

図2は、GCD59のそれぞれの濃度に関連する、GDMと診断された対象およびGDM診断を有さない対象 (健常者) を含む分析されたコホートにおける対象の割合を示すグラフである。

【0233】

結論: GCD59のELISAの結果は、健常な対象とGDMを罹患する対象との間の明確な差異を示し、感度および特異度は90%を超える。図3は、GCD59レベルがG

50

DMを有する妊娠対象を検出し得る特異度を示す受信者動作特性（ROC）曲線を示すグラフである。

【0234】

実施例6

妊娠対象の階層化

500人の妊娠対象を採用する。全ての対象は、標準的血糖中グルコース評価（例として、限定されるものではないが、100g OGTTと3時間のモニタリング）ならびに妊娠22および24週の間GCD59レベルの同時分析を受ける。一部の対象について、追跡計測を35週目において実施する。早産および出産後の測定基準をそれぞれの対象について評価する。GCD59を血糖中グルコース評価および他の測定基準と比較して相関を探索する。GCD59レベルは、血糖中グルコースレベルと相関すると予測される。

10

【0235】

実施例7

コンパニオン診断

GCD59濃度レベルの測定のためのキットをコンパニオン診断として使用して、抗糖尿病および代謝疾患薬物の薬物開発を容易にし、促進し、患者診断を支援し、患者モニタリングを支援し、疾患関連合併症を発症するリスクのある個体を同定する。キットを使用してGCD59濃度レベルに基づき対象を階層化し、臨床試験のための対象を選択する。キットを使用して前糖尿病、糖尿病または代謝疾患を有し、または有すると考えられる患者についての治療タイプおよび投与量を決定する。

20

【0236】

実施例8

リスク階層化

GCD59レベルの検出および/または定量のためのキットは、糖尿病合併症を発症するリスクにより対象を階層化するために使用する。GCD59レベルをそのようなリスクと相関させるため、疫学研究（例として、限定されるものではないが、大規模疫学の糖尿病のコントロールと合併症に関する試験（Diabetes Complications Control Trial）（DCCT））からの保管試料を、キットを使用して分析する。DCCT試験からの保管試料を分析する。DCCTは、1983年から1993年の間に実施され、集中的な抗糖尿病治療がI型糖尿病を患う患者において生じる早期血管合併症の発症または進行に影響するか否かを評価するために設計された主要な多施設ランダム化臨床研究であった。この試験は、米国およびカナダからの1,441人の対象を含んだ（DCCT and EDIC: The Diabetes Control and Complications Trial and Follow-up Study. U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health. 2008 May. NIH Publication No. 08-3874）。キットを使用して試料を分析し、試験において評価された測定基準と相関させる。相関を将来的な分析において使用してGCD59レベルを使用して糖尿病合併症を発症するリスクにより対象を階層化する。

30

40

【0237】

実施例9

糖化タンパク質の予測

糖化タンパク質、例えば、ヒト血清アルブミン、低密度リオポタンパク質（lioprotein）、およびCD59（表2、それぞれエントリー1~3）が文献中で報告された（Ukita et al., Clin. Chem. (1991) 37: 504; Johansen et al., Glycobiol. (2006) 16: 844; およびDavies et al., J. Exp. Med. (1989) 170: 637）。それらの3つの参考文献は、それぞれ、尿中の1,823、1,152、および1,400個のタンパク質を報告した。それらの3つのデータセットを分析することにより、6

50

58個のタンパク質が3つ全ての試験に共通すると同定された (Marimuthu et al., J. Proteome Res., (2011) 10:2734; Adachi et al., Genome Biol. (2006) 7:R80; および Li et al., Rapid Commun. Mass Spectrom. (2010) 24:823)。NetGlycate-1.0ソフトウェア (www.cbs.dtu.dk/services/NetGlycate-1.0; および Johansen et al., Glycobiol. (2006) 16:844) を用いるこれらの658個のタンパク質の試料の分析は、エントリー1、9、および13~30 (表2) のタンパク質が尿中で糖化される可能性が高いことを予測した。分析は、エントリー1、9、および13~30のタンパク質のいずれかが、少なくとも1つのリジンについて1つの糖化潜在スコアカットオフ > 0.9 を有することを示した。

10

【0238】

658個のタンパク質のうち、エントリー4~12 (表2) のタンパク質は、血漿および赤血球中で糖化されることが既に見出された (Marimuthu et al., J. Proteome Res., (2011) 10:2734)。

表 2. 例示的糖化タンパク質のリスト

エントリー	タンパク質の説明	遺伝子記号
1	ヒト血清アルブミン ¹	Alb ¹
2	低密度リオポタンパク質 ¹	LDL ¹
3	CD59 ⁴	CD59
4	ヘモペキシン ²	HPX ³
5	ビタミンD 結合タンパク質 ²	GC ³
6	フィブリノゲンアルファ鎖 ²	FGA ³
7	アポリポタンパク質 A1 ²	APOA1 ³
8	トランスフェリン ²	TF ³
9	マクログロブリンアルファ ²	A2M ³
10	補体成分 4A ²	C4A ³
11	フィブリノゲンベータ鎖 ²	FGB ³
12	フィブリノゲンアルファ鎖 ²	FGA ³
13	アブヒドロラーゼドメイン含有タンパク質 1 4B	ABHD14B ³
14	アミロライド感受性アミノキシダーゼ (銅含有)前駆体	ABP1 ³
15	アンジオテンシン変換酵素アイソフォーム 1 前駆体	ACE ³
16	ペプチダーゼファミリーM2 アンジオテンシン変換酵素	ACE2 ³
17	アコニターゼ 1	ACO1 ³
18	リソソーム酸性ホスファターゼアイソフォーム 1 前駆体	ACP2 ³
19	膵炎関連タンパク質	ACPP ³
20	アルファ-アクチニン-4	ACTN4 ³
21	トロンボスポンジン 1 型モチーフを有するメタロプロテイナーゼ	ADAMTS1 ³
22	アスパルチルグルコサミニダーゼ	AGA ³
23	アデノシルホモシステイナーゼ	ACHY ³
24	アルファ-2-HS-糖タンパク質	AHSG ³
25	アルコールデヒドロゲナーゼ(NADP ⁺)	AKR1A1 ³
26	アルド-ケトレダクターゼファミリー1	AKR1B1 ³
27	アルデヒドデヒドロゲナーゼファミリー1 メンバーL1	ALDH1L1 ³
28	フルクトースビスリン酸アルドラーゼ B	ALDOB ³
29	アミラーゼアルファ 2A(膵臓)	AMY2A ³
30	アポリポタンパク質 A4	APOA4 ³

¹ Ukita *et al.*, *Clin. Chem.* (1991) 37:504.² Zhang *et al.*, *J. Proteome. Res.*, (2011) 10:3076.³ Marimuthu *et al.*, *J. Proteome. Res.*, (2011) 10:2734.⁴ Davies *et al.*, *J. Exp. Med.* (1989) 170:637.

実施例 10

内部対照としての対象試料の使用

アッセイは、糖尿病を有する個体からのプール血漿試料から調製された3つの濃度（低、中程度および高濃度）のGCD59の内部対照を使用して実施する。内部対照試料から得られた値を使用してWestgard基準（Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, et al. A multi-rule Shewhart chart for quality control in clinical chemistry. Clin Chem 1981; 27: 493 - 501）に従う事前に規定された基準により個々のELISA分析を許容または拒絶する。

【0240】

還元剤による前処理を含むアッセイ（実施例3による）については、上記のとおり、内部対照血漿試料を還元し、クエンチし、 -80°C における貯蔵のために1%に希釈する。アッセイの継続前、内部対照試料を解凍し、0.2%、0.1%、および0.05%に希釈する。内部対照試料は、それぞれのアッセイプレート上でデュプリケートで分析する。

【0241】

実施例4によるアッセイ（還元剤処理を要求しない）については、上記のとおり内部対照血漿試料を1%に希釈し、 -80°C において貯蔵する。アッセイの継続前、内部対照試料を解凍し、0.2%、0.1%、および0.05%に希釈する。内部対照試料は、それぞれのアッセイプレート上でデュプリケートで分析する。

【0242】

実施例 11

有機溶媒を有する還元剤溶液

試料を実施例3の方法により調製および分析し、但し、試料還元手順を除く。血清または血漿試料を新たに、または -80°C において貯蔵されたアリコートから解凍して分析する。冷凍試料を 37°C において水浴中で解凍し、ボルテックスに供し、アッセイにおいて使用するまで氷上に配置する。次いで、新たなおよび解凍試料を水素化ホウ素ナトリウム（ NaBH_4 ; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO）により還元する。

【0243】

還元剤溶液は、水中で、またはトリエチレングリコールジメチルエーテル、テトラグリムおよび2-メトキシエチルエーテルから選択される有機溶媒中で NaBH_4 を含む。水を有する還元剤溶液は、1Mの NaBH_4 を含む。トリエチレングリコールジメチルエーテルを有する還元剤溶液は、2Mの NaBH_4 を含む。テトラグリムを有する還元剤溶液は3Mの NaBH_4 を含み、2-メトキシエチルエーテルを有する還元剤溶液は0.5Mの NaBH_4 （Sigma-Aldrich, St. Louis, MO）を含む。1Mよりも高い濃度における有機溶媒中の NaBH_4 の溶液は、有機溶媒溶液を水中に添加することにより水中で希釈する。1M未満の濃度における有機溶媒中の NaBH_4 の溶液をそのまま使用する。還元剤溶液を試料と合わせる前、トリエチレングリコールジメチルエーテルまたはテトラグリムを含む溶液は水により1Mに希釈する。

【0244】

還元のため、それぞれの試料からの $50\mu\text{l}$ のアリコートを微小遠心チューブ（VWR International, Radnor, PA）中に装入し、 $2.5\mu\text{l}$ の1Mの NaBH_4 溶液または $5\mu\text{l}$ の0.5Mの NaBH_4 溶液（または $2.5\mu\text{mol}$ の NaBH_4 の当量を提供する容量）により処理する。次いで、試料を室温において1時間インキュベートしてから1mlの1%酢酸（VWR International, Radnor, PA）によりクエンチする。試料をピペティングにより完全に混合し、次いでボルテックスに供する。

【0245】

実施例 12

還元剤溶液比較

10

20

30

40

50

健常者 (N) および糖尿病患者 (D) 血清 / 血漿試料を室温において解凍し、それぞれの群内でプールした (N プールまたは D プールを形成するため)。プールされた N および D 試料をピペティングにより混合し、ボルテックスに供し、氷上で保持した。次いで、試料をそれぞれ $50 \mu\text{l}$ でサブアリコート化して 4 つの糖尿病患者試料 (D 1 ~ D 4) および 4 つの健常者試料 (N 1 ~ N 4) を得た。表 3 による 4 つの NaBH_4 調製形式のそれぞれについて希釈標準溶液を調製した。表中、MME は 2 - メトキシエチルエーテルを指し、TGDE はトリエチレングリコールジエチルエーテルを指し、TG はテトラグリムを指す。原液および NaBH_4 は、Sigma - Aldrich (St. Louis, MO) から購入した。

表 3. 還元剤溶液

調製物 番号	原液	希釈標準溶液
1	MME 中 0.5 M の NaBH_4	0.5 M (無希釈)
2	TGDE 中 2 M の NaBH_4	1 M (水により希釈)
3	TG 中 3 M の NaBH_4	1 M (水により希釈)
4	水中 1M の NaBH_4	1 M (無希釈)

10

20

【0246】

D 1 および N 1 試料を $5 \mu\text{l}$ の調製物 1 により処理し、D 2 および N 2 試料を $2.5 \mu\text{l}$ の調製物 2 により処理し、D 3 および N 3 試料を $2.5 \mu\text{l}$ の調製物 3 により処理し、D 4 および N 4 試料を $2.5 \mu\text{l}$ の調製物 4 により処理した。反応を室温において 1 時間実施してから 1 ml の 1 % 酢酸によりクエンチした。試料をピペティングにより混合し、5 % の還元試料を含む最終溶液をもたらした。次いで、 $200 \mu\text{l}$ の試料を $800 \mu\text{l}$ の血清希釈緩衝液と合わせるにより、試料を 1 % の還元試料にさらに希釈した。血清希釈緩衝液は、 15 ml のタンパク質不含 T 20 ブロッキング緩衝液 (Thermo Fisher, Waltham, MA)、 10 ml の 0.5 M の EDTA、 5 ml の NP 40 および 470 ml の滅菌水を合わせるにより調製した。得られた溶液を 15 秒間ボルテックスに供した。次いで、1 % の還元試料を 2 つの $500 \mu\text{l}$ のアリコートにサブアリコート化し、それらを分析まで -80 において冷凍した。

30

【0247】

実施例 3 の方法による還元試料に対して ELISA 分析を実施した。最終吸光度読み取り値から外挿された GCD 59 濃度値を標準ペプチド単位 (SPU) で表 4 に提示する。

表 4. GCD59 濃度値

試料	GCD59 (SPU)
D1	0.70
D2	0.53
D3	0.56
D4	0.67
N1	0.15
N2	0.15
N3	0.14
N4	0.15

10

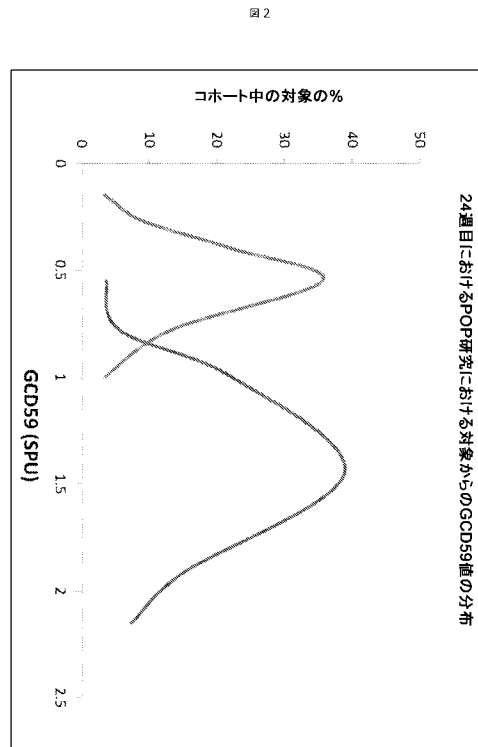
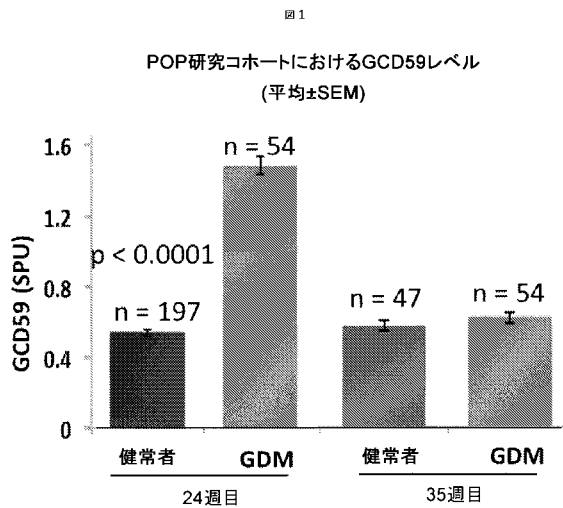
【 0 2 4 8 】

結果は、調製物 1 により還元された試料が最大レベルの検出可能な G C D 5 9 を生じさせ、調製物 4 により処理された試料はわずかに高い検出レベルを生じさせることを示す。

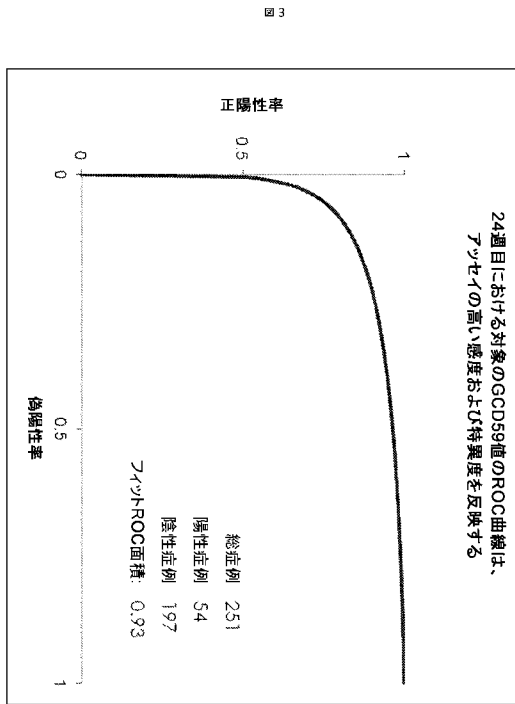
20

【 図 1 】

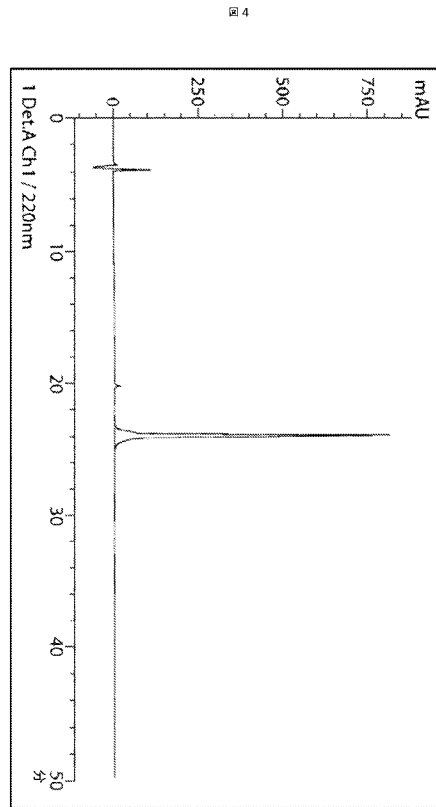
【 図 2 】



【 図 3 】



【 図 4 】



【 配列表 】

2017502267000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2014/068426

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - G01N 33/53 (2015.01) CPC - C12Q 1/54 (2015.01) 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) - C07C 45/00, 45/41; C07K 16/18; C12Q 1/54; G01N 33/53 (2015.01) USPC - 4357.1, 14; 568/490, 495 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched CPC - C07C 45/00, 45/41; C07K 16/18; C12Q 1/54; G01N 33/53 (2015.01) (keyword delimited) Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Orbit, Google Patents, Google Scholar, Google, PubMed Search terms used: glycated CD59, gestational diabetes, 2-methoxyethyl ether, organic solvent, reducing agent		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2012/109538 A2 (PRESIDENT AND FELLOWS OF HARVARD COLLEGE) 16 August 2012 (15.08.2012) entire document	1-3
-		4-9
Y	US 4,950,712 A (LETOURNEUR et al) 21 August 1990 (21.08.1990) entire document	4-9
Y	US 5,248,832 A (LEE) 28 September 1993 (28.09.1993) entire document	1-9
A	US 2004/0166531 A1 (HALPERIN) 26 August 2004 (26.08.2004) entire document	1-9
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>		
* 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 "g" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 26 February 2015		Date of mailing of the international search report 30 MAR 2015
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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2014/068426

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.: 10-102
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

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	15/08	(2006.01)	A 6 1 P	3/10
A 6 1 P	15/00	(2006.01)	A 6 1 P	15/08
A 6 1 P	7/00	(2006.01)	A 6 1 P	15/00
A 6 1 K	45/00	(2006.01)	A 6 1 P	7/00
A 6 1 K	38/28	(2006.01)	A 6 1 K	45/00
C 0 7 K	16/28	(2006.01)	A 6 1 K	37/26
			C 0 7 K	16/28
				Z N A

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, 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, KM, 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, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, 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, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(72) 発明者 ハルペリン, ホセ, アルベルト

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 4 6 , ブルックライン, ベーコンストリート 1 4
3 3

Fターム(参考) 4C084 AA01 AA02 AA17 DB34 NA05 ZA511 ZA512 ZA811 ZA812 ZC351
ZC352
4H045 AA11 AA30 DA76 EA50 FA74

专利名称(译)	评估妊娠期糖尿病的方法和试剂		
公开(公告)号	JP2017502267A	公开(公告)日	2017-01-19
申请号	JP2016535634	申请日	2014-12-03
[标]申请(专利权)人(译)	哈佛大学校长及研究员协会		
申请(专利权)人(译)	哈佛大学校董委员会		
[标]发明人	ホレフミハエル ハルペリンホセアルベルト		
发明人	ホレフ,ミハエル ハルペリン,ホセ,アルベルト		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/531 G01N33/577 G01N33/535 A61P3/10 A61P15/08 A61P15/00 A61P7/00 A61K45/00 A61K38/28 C07K16/28		
CPC分类号	A61P15/00 A61P15/08 G01N33/566 G01N33/689 G01N2333/70596 G01N2400/02 G01N2440/38 G01N2800/042 G01N2800/368 G01N33/577 G01N33/581 G01N33/6854 G01N33/6893		
FI分类号	G01N33/53.V G01N33/531.A G01N33/531.B G01N33/577.B G01N33/535 A61P3/10 A61P15/08 A61P15/00 A61P7/00 A61K45/00 A61K37/26 C07K16/28.ZNA		
F-TERM分类号	4C084/AA01 4C084/AA02 4C084/AA17 4C084/DB34 4C084/NA05 4C084/ZA511 4C084/ZA512 4C084 /ZA811 4C084/ZA812 4C084/ZC351 4C084/ZC352 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/DA76 4H045 /EA50 4H045/FA74		
优先权	61/911306 2013-12-03 US 61/945860 2014-02-28 US 61/946373 2014-02-28 US		
其他公开文献	JP2017502267A5 JP6542219B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明包括用于评估妊娠糖尿病和/或相关疾病和/或病症的糖化CD59水平的测定, 诊断, 试剂盒和测定组分。一些试剂盒包含可与CD59上的捕获表位结合的捕获抗体, 该表位可能缺少41号赖氨酸残基 (K41)。试剂盒还可包含能够与CD59上的检测表位相关联的检测抗体。这样的检测表位可以包括糖化的K41。[选型图]图1

