(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2016-512242
(P2016-512242A)
(43)公表日　平成28年4月25日(2016.4.25)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C07K 16/10	***(2006.01)***	C07K	16/10	ZNA	4B064
G01N 33/53	***(2006.01)***	G01N	33/53	D	4H045
G01N 33/577	***(2006.01)***	G01N	33/577	B	
G01N 33/576	***(2006.01)***	G01N	33/576	Z	
G01N 33/543	***(2006.01)***	G01N	33/543	501A	

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 133 頁）　最終頁に続く

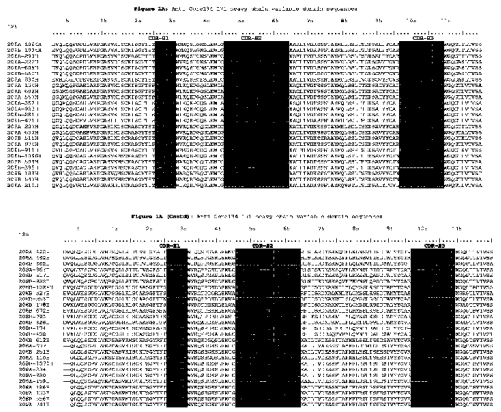
(21)出願番号　特願2016-500144 (P2016-500144)
(86)(22)出願日　平成25年12月23日 (2013.12.23)
(85)翻訳文提出日　平成27年11月13日 (2015.11.13)
(86)国際出願番号　PCT/US2013/077499
(87)国際公開番号　WO2014/143343
(87)国際公開日　平成26年9月18日 (2014.9.18)
(31)優先権主張番号　61/783,529
(32)優先日　平成25年3月14日 (2013.3.14)
(33)優先権主張国　米国(US)

(71)出願人　391008788
アボット・ラボラトリーズ
ＡＢＢＯＴＴ　ＬＡＢＯＲＡＴＯＲＩＥＳ
アメリカ合衆国　イリノイ州　アボツト　パーク　アボツト　パーク　ロード　１００
(74)代理人　110001173
特許業務法人川口國際特許事務所
(72)発明者　ツィーマン，ロバート
アメリカ合衆国、イリノイ・６００６４、アボット・パーク、アボット・パーク・ロード・１００

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ＨＣＶコア脂質結合ドメインモノクローナル抗体

(57)【要約】
Ｃ型肝炎ウイルス（ＨＣＶ）抗原の検出のためのモノクローナル抗体が提供される。この抗体は、ＨＣＶコア抗原のアミノ酸残基１３４－１７１の脂質結合ドメインの少なくとも１つのエピトープと特異的に免疫反応性である。さらに、ＨＣＶ感染を検出するための、抗体を使用するイムノアッセイ方法、抗体を含むキットおよび組成物が提供される。



【特許請求の範囲】
【請求項１】
ＨＣＶコア抗原の脂質結合ドメインと特異的に免疫反応性であるモノクローナル抗体。
【請求項２】
ＨＣＶコア抗原が、ＨＣＶのアミノ酸残基１３４－１７１である、請求項１に記載のモノクローナル抗体。
【請求項３】
アミノ酸配列ＭＧＹＩＰＬＶＧＡＰＬＧＧＡＡＲＡＬＡＨＧＶＲＶＬＥＤＧＶＮＹＡＴＧＮＬＰＧによって形成される少なくとも１つのエピトープに特異的に結合する、請求項１に記載のモノクローナル抗体。
【請求項４】
ＨＣＶコア抗原のアミノ酸１４１－１６１、１３４－１５４および１５１－１７１によって形成されるエピトープと免疫反応性である、請求項１に記載のモノクローナル抗体。
【請求項５】
ＨＣＶコア抗原の脂質結合ドメインと特異的に免疫反応性であるモノクローナル抗体であって、表１Ａに列挙されている抗体からなる群より選択される重鎖可変ドメインおよび表１Ｂに列挙されている抗体からなる群より選択される軽鎖可変ドメインを有するモノクローナル抗体。
【請求項６】
請求項１に記載のモノクローナル抗体を含むイムノアッセイ試薬であって、抗体が検出可能な標識で標識されている、イムノアッセイ試薬。
【請求項７】
請求項１に記載のモノクローナル抗体を含むイムノアッセイ試薬であって、抗体が固相に結合している、イムノアッセイ試薬。
【請求項８】
ＨＣＶ抗原に対するさらなる抗体をさらに含む、請求項６または請求項７に記載のイムノアッセイ試薬。
【請求項９】
さらなる抗体が、さらなる抗コア抗体である、請求項８に記載のイムノアッセイ試薬。
【請求項１０】
試験試料中のＨＣＶの検出のためのイムノアッセイであって、
（ｉ）ＨＣＶを含有すると疑われる試験試料を、ＨＣＶコア抗原を指向する第１の抗体と接触させて、第１の抗体と試験試料中に位置する抗原との間の複合体を形成させる工程、
（ｉｉ）工程（ｉ）において形成された前記複合体を、請求項１から６のいずれか一項に記載の抗体と接触させ、請求項１から６のいずれか一項に記載の抗体と工程（ｉ）において形成された複合体中の抗原との間の複合体を形成する工程であって、請求項１から６のいずれかに記載の抗体は検出可能に標識されている工程、および
（ｉｉｉ）工程（ｉｉ）において形成された複合体の標識を検出する工程
を含むイムノアッセイ。
【請求項１１】
第１の抗体が、ＨＣＶコア抗原のＤＮＡ結合ドメインを指向する、請求項１０に記載のイムノアッセイ。
【請求項１２】
工程（ｉｉ）の抗体が、蛍光標識によって標識されている、請求項１０に記載のイムノアッセイ。
【請求項１３】
標識が、アクリジニウムである、請求項１２に記載のイムノアッセイ。
【請求項１４】
工程（ｉ）の抗体が、固相に結合している、請求項１０に記載のイムノアッセイ。
【請求項１５】

工程（ｉ）の抗体が、工程（ｉｉ）の抗体とは異なる請求項１から６のいずれか一項に記載の抗体を含む、請求項１０に記載のイムノアッセイ。
【請求項１６】
工程（ｉ）の抗体が、工程（ｉｉ）の抗体と同じ請求項１から６のいずれか一項に記載の抗体を含む、請求項１０に記載のイムノアッセイ。
【請求項１７】
試験試料が患者から得られ、方法が、患者を診断する、予後診断する、または患者の治療／予防処置の有効性を評価する工程をさらに含み、方法が患者の治療／予防処置の有効性を評価する工程をさらに含む場合、方法が、有効性を改善する必要があれば患者の治療／予防処置を改変する工程をさらに含む又は含まない、請求項１０に記載のイムノアッセイ方法。
【請求項１８】
自動化システムまたは半自動化システムにおける使用のために適合されている、請求項１７に記載のイムノアッセイ方法。
【請求項１９】
請求項１に記載の免疫診断試薬、および試験試料中のＨＣＶの検出のためのイムノアッセイにおける免疫診断試薬の使用のための指示書を含むキット。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本出願は、２０１３年３月１４日に提出された米国仮特許出願第６１／７８３，５２９号に対する優先権を主張するＰＣＴ特許出願として提出された。上記の出願の本文全体は、その全体を参照により本明細書に組み込む。
【０００２】
本開示は、ＨＣＶコアタンパク質に対する新規なモノクローナル抗体、ならびにＨＣＶ感染の検出のためのその使用のための方法および組成物に関する。
【背景技術】
【０００３】
ＷＨＯ統計値によると、世界中で１７０，０００，０００人もの人々が、肝臓のウイルス感染であるＣ型肝炎ウイルス（ＨＣＶ）に感染している。ＨＣＶに感染した人の７５から８５％は、慢性感染に進行し、これらの症例のおよそ２０％は、感染の２０年後に肝硬変または肝細胞癌を含む慢性Ｃ型肝炎の合併症を発症する。ＨＣＶ感染に現在推奨される処置は、インターフェロン薬物とリバビリン薬物との併用であるが、この処置は全ての症例で有効なわけではなく、Ｃ型肝炎関連の肝臓病の末期においては、肝臓移植が示される。現在、ＨＣＶ感染を防ぐために利用できるワクチンは存在せず、したがって、感染を避けるあらゆる警戒が取られなければならない。
【０００４】
したがって、患者のケア、ならびに血液および血液製剤によるまたは密接な個人的接触によるＣ型肝炎ウイルス（ＨＣＶ）の伝搬の予防は、感度の高い検出アッセイを用いた過度の用心を必要とする。このことは、ＨＣＶのキャリアおよびＨＣＶ汚染された血液もしくは血液製剤をスクリーニングして同定するための、特異的な方法を必要とする。ＨＣＶ曝露の血清学的決定は、ヒト血漿または血清に存在するＨＣＶの検出に依存する。これは、ウイルスによってコードされる明らかな構造タンパク質および非構造タンパク質の検出によって、達成され得る。
【０００５】
ＨＣＶウイルスは、フラビウイルス（Ｆｌａｖｉｖｉｒｉｄａｅ）科ヘパシウイルス（Ｈｅｐａｃｉｖｉｒｕｓ）属における、（＋）センス一本鎖エンベロープＲＮＡウイルスである。このウイルスゲノムは、およそ１０ｋｂ長であり、３０１１個のアミノ酸ポリタンパク質前駆体をコードする。ＨＣＶゲノムは、独特のポリタンパク質をコードする大きな１つのオープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）を有する。このポリタンパク質は、細

胞性およびウイルス性のプロテアーゼによって、３つの構造タンパク質、すなわち、コアタンパク質、Ｅ１タンパク質、およびＥ２タンパク質、ならびに少なくとも６つの非構造タンパク質であるＮＳ２タンパク質、ＮＳ３タンパク質、ＮＳ４Ａタンパク質、ＮＳ４Ｂタンパク質、ＮＳ５ＡタンパクおよびＮＳ５Ｂタンパク質に、翻訳と同時におよび翻訳後に処理される。（Ｃｈｏｏら、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４４：３５９－３６２（１９８９））。

【０００６】

ＨＣＶ曝露後に、ウイルスは、感受性の肝細胞に侵入し、ウイルス複製が起こる。およそ１０日間の暗黒期の間、ウイルスは顕在化せず（すなわち、ウイルスＲＮＡは検出できず）、血清トランスアミナーゼレベルは、正常値の範囲内であり、ＨＣＶに対する免疫反応の証拠は何ら存在しない（Ｂｕｓｃｈら、Ｔｒａｎｓｆｕｓｉｏｎ　４０：１４３（２０００））。代表的に、曝露の約１０日間後に、ＨＣＶ　ＲＮＡは検出可能であり、しばしば、ウイルス負荷は、血清１ｍｌ当たり１００，０００－１２０，０００，０００のＨＣＶ　ＲＮＡコピーである。典型的には、数週間後、ＡＬＴレベルにおける増加が観察され、これは、肝臓の炎症を示す。抗体は、曝露の平均約７０日間後に検出される。

【０００７】

血清／血漿中の、ＨＣＶに対する抗体の検出によるまたはウイルス特異的分子（例えば、ＨＣＶ　ＲＮＡまたはＨＣＶコアタンパク質）によるかのいずれかである、ＨＣＶに対する曝露についての血液のスクリーニングは、患者のケアの不可欠および重要な部分である。これらの試験によりＨＣＶに曝露されていると同定されている個体に由来する血液または血液製剤は、血液供給から取り除かれ、血液製剤のレシピエントへの流通のために利用されない（米国特許第６，１７２，１８９号を参照されたい。）。これらの試験はまた、ＨＣＶ感染に起因する肝臓病を診断するための臨床現場においても使用され得る。

【０００８】

血清学的抗体試験は、ウイルスポリタンパク質の選択された断片を表す組換え抗原または合成ペプチドの使用に依存する。第１世代抗ＨＣＶスクリーニング試験は、非構造ＮＳ－４タンパク質（Ｃ１００－３）に位置する配列から生じた組換えタンパク質（ＨＣＶ遺伝子型１ａ）に対する抗体の検出に基づいていた（Ｃｈｏｏら、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４４：３５９（１９８９）；Ｋｕｏら、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４４：３６２（１９８９））。第１世代アッセイは、慢性ＨＣＶ感染を有する個体のおよそ１０％および急性ＨＣＶ感染を示す患者の１０－３０％までにおいて、抗体を検出し損なった。第２世代抗ＨＣＶアッセイは、ＨＣＶゲノム（ＨＣＶ遺伝子型１ａ）の３つの異なる領域から組み込まれた組換えタンパク質を有する。これらの領域は、コアタンパク質、ＮＳ３タンパク質およびＮＳ４タンパク質由来のアミノ酸配列を含み（Ｍｉｍｍｓら、Ｌａｎｃｅｔ　３３６：１５９０（１９９０）；Ｂｒｅｓｔｅｒｓら、Ｖｏｘ　Ｓａｎｇ　６２：２１３（１９９２））、ＨＣＶ感染した血液ドナーを同定することにおいて第１世代を凌ぐ顕著な改善を可能にした（Ａａｃｈら、Ｎ　Ｅｎｇｌ　Ｊ　Ｍｅｄ　３２５：１３２５（１９９１）；Ｋｌｅｉｎｍａｎら、Ｔｒａｎｓｆｕｓｉｏｎ　３２：８０５（１９９２））。第２世代アッセイは、慢性ＨＣＶ症例の１００％近く（Ｈｉｎｏ　Ｋ．、Ｉｎｔｅｒｖｉｒｏｌｏｇｙ　３７：７７（１９９４））および感染１２週間後までの急性症例のほぼ１００％（Ａｌｔｅｒら、Ｎ　Ｅｎｇｌ　Ｊ　Ｍｅｄ　３２７：１８９９（１９９２）；Ｂｒｅｓｔｅｒｓら、Ｖｏｘ　Ｓａｎｇ　６２：２１３（１９９２））において、抗体を検出する。第３世代試験は、ＮＳ５領域由来のアミノ酸配列ならびにコア、ＮＳ３およびＮＳ４由来の抗原を発現する組換えタンパク質を含む。幾つかの研究は、第３世代試験と第２世代試験とを比較し、感受性におけるわずかな改善を示した（Ｌｅｅら、Ｔｒａｎｓｆｕｓｉｏｎ　３５：８４５（１９９５）；Ｃｏｕｒｏｕｃｅら　Ｔｒａｎｓｆｕｓｉｏｎ　３４：７９０－７９５（１９９４））が、この改善は、主に、ＮＳ５タンパク質を含めるよりもむしろＮＳ３タンパク質の変化に起因する（Ｃｏｕｒｏｕｃｅら、Ｌａｎｃｅｔ　３４３：８５３（１９９４））。

【０００９】

一般に、第２および第３世代のＨＣＶ抗体試験は、ＨＣＶに対する曝露の約７０日後に曝露を検出する。ＨＣＶは、持続的な、そして多くの場合生涯にわたる感染を確立するので、ＨＣＶに対する抗体の検出は、ＨＣＶに対する曝露を決定するための非常に効率的な方法を表す。しかし、抗体試験のみでは、曝露後７０日間以内のＨＣＶ感染固体を検出し損なうことが多い。

【００１０】

ＨＣＶ抗原についての試験は、ＨＣＶに対する曝露を、抗体試験よりも有意に早く検出し、血清転換前の期間にＨＣＶに対する曝露を検出するための核酸試験に対する代替法を表すことが、示唆されている。ＨＣＶ抗原検出試験は、迅速であり、単純であり、試料抽出または他の前処理を必要としない場合があり、およびＨＣＶ　ＲＮＡ試験において起こり得る操作の誤り（例えば、汚染）を起こしにくい。したがって、ＨＣＶコア抗原試験は、血液ドナーをスクリーニングするためまたは抗ウイルス治療をモニタリングするための、ＨＣＶ　ＲＮＡに対する実際的な代替法を提示する。

【００１１】

既存のＨＣＶ抗原試験は、血清中または血漿中のＨＣＶコア抗原の存在を検出することに依存する。ＨＣＶコアタンパク質は、ポリタンパク質の最初の１９１アミノ酸を含むＨＣＶの構造タンパク質であり、ゲノムＲＮＡにキャプシド形成する内部ウイルスコートを形成する。２つの異なる種類の血清学的アッセイが、開発されており、これらは、血清におけるＨＣＶコア抗原の検出を可能にする。１つのアッセイ形式は、対象におけるＨＣＶコア抗原を血清転換前に検出し、血液ドナーをスクリーニングする際に利用されており、他方で、他のアッセイ形式は、そのＨＣＶ抗体状態にかかわらずＣ型肝炎患者においてのみコア抗原を検出し、ＨＣＶに対する曝露を診断するために臨床研究室においてまたは抗体治療をモニタリングするために利用されている。現在利用可能なコア抗原検出アッセイは、全て、コアタンパク質のアミノ酸１－１２５に位置するＨＣＶコアのＤＮＡ結合ドメインに対する抗体を使用する。コアタンパク質はまた、アミノ酸１３４－１７１の間に位置する脂質結合ドメインをも含有する。コアタンパク質のこの部分由来の抗原は現在までに記載されておらず、今まで、コア検出は、ＤＮＡ結合ドメインに対する抗体を必要とすると考えられていた。

【先行技術文献】

【特許文献】

【００１２】

【特許文献１】米国特許第６，１７２，１８９号明細書

【非特許文献】

【００１３】

【非特許文献１】Ｃｈｏｏら、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４４：３５９－３６２（１９８９）

【非特許文献２】Ｂｕｓｃｈら、Ｔｒａｎｓｆｕｓｉｏｎ　４０：１４３（２０００）

【非特許文献３】Ｋｕｏら、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４４：３６２（１９８９）

【非特許文献４】Ｍｉｍｍｓら、Ｌａｎｃｅｔ　３３６：１５９０（１９９０）

【非特許文献５】Ｂｒｅｓｔｅｒｓら、Ｖｏｘ　Ｓａｎｇ　６２：２１３（１９９２）

【非特許文献６】Ａａｃｈら、Ｎ　Ｅｎｇｌ　Ｊ　Ｍｅｄ　３２５：１３２５（１９９１）

【非特許文献７】Ｋｌｅｉｎｍａｎら、Ｔｒａｎｓｆｕｓｉｏｎ　３２：８０５（１９９２）

【非特許文献８】Ｈｉｎｏ　Ｋ.、Ｉｎｔｅｒｖｉｒｏｌｏｇｙ　３７：７７（１９９４）

【非特許文献９】Ａｌｔｅｒら、Ｎ　Ｅｎｇｌ　Ｊ　Ｍｅｄ　３２７：１８９９（１９９２）

【非特許文献１０】Ｌｅｅら、Ｔｒａｎｓｆｕｓｉｏｎ　３５：８４５（１９９５）

【非特許文献１１】Ｃｏｕｒｏｕｃｅら　Ｔｒａｎｓｆｕｓｉｏｎ　３４：７９０－７９５（１９９４）

【非特許文献１２】Ｃｏｕｒｏｕｃｅら、Ｌａｎｃｅｔ　３４３：８５３（１９９４）
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【００１４】
したがって、ＨＣＶコア抗原を容易に検出し得る結合タンパク質は、患者におけるＨＣＶ曝露の検出の利用可能な方法を著しく改善する。したがって、スクリーニング試験において容易に利用され得る新規な抗体についての必要性が認識されている。
【課題を解決するための手段】
【００１５】
（発明の要旨）
本発明は、一般に、ＨＣＶコア抗原の脂質結合ドメインに特異的に免疫反応性であるモノクローナル抗体を対象とする。より具体的には、ＨＣＶコア抗原は、ＨＣＶのアミノ酸残基１３４－１７１である。より特定の実施形態において、抗体は、アミノ酸配列ＭＧＹＩＰＬＶＧＡＰＬＧＧＡＡＲＡＬＡＨＧＶＲＶＬＥＤＧＶＮＹＡＴＧＮＬＰＧによって形成される少なくとも１つのエピトープに特異的に結合する。より詳細な実施形態において、抗体は、ＨＣＶコア抗原のアミノ酸１４１－１６１、１３４－１５４および１５１－１７１によって形成されるエピトープと免疫反応性である。
【００１６】
本発明の別の態様は、ＨＣＶコア抗原の脂質結合ドメインと特異的に免疫反応性であるモノクローナル抗体であって、図１Ａに列挙される抗体からなる群より選択される重鎖可変ドメインおよび図１Ｂに列挙される抗体からなる群より選択される軽鎖可変ドメインを有するモノクローナル抗体を提供する。
【００１７】
本明細書に記載の抗体のいずれかは、イムノアッセイ試薬として調製され得、特に、このような試薬は、好ましくは、検出可能標識によって標識されることが企図される。
【００１８】
なお他の実施形態において、本発明のイムノアッセイ試薬は、固相に結合している本明細書で開示される抗体の１つ以上を含む。
【００１９】
本発明の抗体を含むイムノアッセイ試薬は、ＨＣＶ抗原に対するさらなる抗体をさらに含み得る。例えば、このようなさらなる抗体は、さらなる抗コア抗体である。
【００２０】
本発明のさらなる態様は、試験試料中のＨＣＶの検出のためのイムノアッセイであって、
（ｉ）ＨＣＶを含有すると疑われる試験試料を、ＨＣＶコア抗原を指向する第１の抗体と接触させて、前記第１の抗体と前記試験試料中に位置する抗原との間の複合体を形成する工程、
（ｉｉ）工程（ｉ）において形成された前記複合体を、請求項１から６のいずれかに記載の抗体と接触させ、請求項１から６のいずれかに記載の抗体と工程（ｉ）において形成された複合体中の抗原との間の複合体を形成する工程であって、請求項１から６のいずれかに記載の抗体は検出可能に標識されている工程、および
（Ｉｉｉ）工程（ｉｉ）において形成された複合体の標識を検出する工程
を含むイムノアッセイを対象とする。
【００２１】
より詳細な実施形態において、イムノアッセイは、第１の抗体がＨＣＶコア抗原のＤＮＡ結合ドメインを指向することをさらに特徴とし得る。より特定の実施形態において、工程（ｉｉ）で使用される抗体は、蛍光標識によって標識されている。例示的な実施形態において、標識は、アクリジニウムである。
【００２２】
いくつかの実施形態において、イムノアッセイは、工程（ｉ）の抗体が固相上にコーテ

ィングされているイムノアッセイである。特に好ましい実施形態において、工程（ｉ）の抗体は、工程（ｉｉ）の抗体とは異なる抗体を含む。あるいは、イムノアッセイは、工程（ｉ）の抗体が工程（ｉｉ）の抗体と同じ抗体を含むイムノアッセイである。

【００２３】

本発明のイムノアッセイのいずれかは、患者から得られた試験試料において使用され得、この方法は、患者を診断する、患者を予後診断する、または患者の治療／予防処置の有効性を評価する工程をさらに含み、方法が患者の治療／予防処置の有効性を評価する工程をさらに含む場合、方法は、有効性を改善する必要があれば患者の治療／予防処置を改変する工程を場合によってさらに含む。

【００２４】

本明細書でさらに詳細に記載されるように、本発明のイムノアッセイのいずれかは、自動化システムまたは半自動化システムにおける使用のために容易に適合され得ることが、当業者によって理解される。

【図面の簡単な説明】

【００２５】

【図１Ａ－１】本発明の好ましい抗体の重鎖可変ドメインを示す図である。

【図１Ａ－２】本発明の好ましい抗体の重鎖可変ドメインを示す図である。

【図１Ｂ－１】本発明の好ましい抗体の軽鎖可変ドメインを示す図である。

【図１Ｂ－２】本発明の好ましい抗体の軽鎖可変ドメインを示す図である。

【図２】図１Ａのアラインメントから派生したクラスタリング図の２つの表現を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【００２６】

本発明は、Ｃ型肝炎ウイルスコア抗原、詳細には、コア抗原のアミノ酸１３４－１７１の間の脂質結合ドメインを指向するモノクローナル抗体の開発を記載する。使用した免疫源は、合成ペプチドであり、ハイブリドーマのスクリーニングは、免疫源ペプチドと１３４－１７１領域内の３つの重複するより小さいペプチドのセットとの両方を利用した。さらに、アミノ酸１－１６９を表す組換えコア抗原を、ＨＣＶコアタンパク質と反応性であると同定されたモノクローナル抗体の効力を決定するためのスクリーニングのために使用した。抗体は、抗原、免疫源ペプチドおよび免疫源を含むより小さい重複するペプチドに対する、これらの反応性によって描写される。免疫源ペプチドに対する抗体の結合反応速度論を、ＢＩＡｃｏｒｅ　４０００装置を用いたＳＰＲ（表面プラスモン共鳴）によって決定した。組換えコア抗原に対する免疫反応性を、標準的ＥＬＩＳＡによって決定した。

【００２７】

さらに、本発明のモノクローナル抗体が、コア抗原の存在を分析する際に有用であることを示すために、コア抗原捕捉マイクロタイタープレートアッセイを、ＨＣＶコアのＤＮＡ結合ドメイン内のエピトープを指向するモノクローナル抗体（例えば、アミノ酸１－１２５）を捕捉試薬として、本発明の１３４－１７１指向抗体を検出試薬として用いて実施した。これらのアッセイは、本発明の１３４－１７１指向抗体の、ＨＣＶコア抗原検出イムノアッセイのための有用性を実証する結果を出した。これは、ＨＣＶコアの２つの主要ドメインを捕捉および検出のために独立して標識する抗原捕捉アッセイの最初の実証である。以前に報告されたコア抗原検出アッセイは、ＤＮＡ結合ドメインの範囲内（例えば、アミノ酸１－１２５）のエピトープに結合する抗体を使用する。

【００２８】

本発明の抗体を産生するため、ＢＳＡに連結したアミノ酸１３４－１７１からのＨＣＶコア遺伝子型１コンセンサス配列からなる合成ペプチドによってマウスを免疫化した。より具体的には、免疫源は、以下の配列を有した：

【００２９】

【化１】

MGYIPLVGAPLGGAARALAHGVRVLEDGVNYATGNLPG

【００３０】

さらに、３つの特異的なＮ末端ビオチン化エピトープ領域に対するモノクローナル抗体の結合もまた、性質決定され、実施例においてさらに議論される。具体的には、３つの重複するエピトープは、上記の領域に由来し、以下の配列を有した：

【００３１】

【化２】

HCVc 134-154 MGYIPLVGAPLGGAARALAHG

HCVc 141-161 GAPLGGAARALAHGVRVLEDG

HCVc 151-171 LAHGVRVLEDGVNYATGNLPG

【００３２】

免疫源を、ＢＳＡにコンジュゲートし、抗体を産生した。別の実施形態において、免疫源を、ＴＴおよび原線維にコンジュゲートした。ＴＴ配列は、マウスにおいてより強力な免疫反応を提供するために、しばしば使用される。ＴＴコンジュゲートの配列は、以下であった：

【００３３】

【化３】

Ac-Met-Gly-Tyr-Ile-Pro-Leu-Val-Gly-Ala-Pro-Leu-Gly-Gly-Ala-Ala-Arg-Ala-Leu-Ala-His-Gly-Val-Arg-Val-Leu-Glu-Asp-Gly-Val-Asn-Tyr-Ala-Thr-Gly-Asn-Leu-Pro-Gly-Gln-Tyr-Ile-Lys-Ala-Asn-Ser-Lys-Phe-Ile-Gly-Ile-Thr-Glu-Leu-NH2

原線維コンジュゲートの配列は、以下であった：

【００３４】

【化４】

Ac-Met-Gly-Tyr-Ile-Pro-Leu-Val-Gly-Ala-Pro-Leu-Gly-Gly-Ala-Ala-Arg-Ala-Leu-Ala-His-Gly-Val-Arg-Val-Leu-Glu-Asp-Gly-Val-Asn-Tyr-Ala-Thr-Gly-Asn-Leu-Pro-Gly-Gln-Gln-Lys-Phe-Gln-Phe-Gln-Phe-Glu-Gln-Gln-NH2

【００３５】

Ｂリンパ球を、骨髄腫融合パートナーと融合し、ハイブリドーマを作製して、これを、免疫源ペプチド、免疫源ペプチド配列内の３つの重複するペプチドおよび組換えＨＣＶコア抗原に対する反応性について、スクリーニングした。Ｂｉａｃｏｒｅ　４０００を用いる反応速度論プロファイリングは、抗体のクラスターの同定を可能にした。ここで、クラスターは、免疫源ペプチドまたは重複する１３４－１７１領域のより短いペプチドに対して結合するその能力によって規定される。これらの結果を、ＥＬＩＳＡによって決定される組換え抗原に対する免疫反応性またはその欠如と組み合わせ、類似の特徴（特異性）を有すグループへの抗体のさらなる描写を可能にした。

【００３６】

実施例においてより詳細に議論されるスクリーニング結果を簡潔にまとめると、最も大きな免疫反応は、ＢＳＡに連結したペプチドによって免疫化されたマウスにおいて見られた。さらに、これらのマウスからの応答は、主として１４１－１６１領域に集中したが、アミノ酸１３４－１５４領域および１５１－１７１領域に対するある程度の応答もまた存在した。ＴＴに連結したＨＣＶペプチドにより、免疫反応が見られたが、この応答は、ＢＳＡによるものほど強くなかった。この応答は、全ての３エピトープ領域にわたって広が

っていた。他方で、原線維ネットワークを形成するペプチドに連結したアミノ酸１３４－１７１ペプチドを用いて免疫化したマウスは、有意な免疫反応を示さなかった。本発明の抗体は、図１Ａおよび１Ｂ、ならびに実施例においてより詳細に記載される。

【００３７】

これらの研究のために使用されるＨＣＶコア抗原を、イー・コリ（Ｅ．ｃｏｌｉ）において発現させ、以前に公開された方法（Ｂｏｕｌａｎｔら、Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．（２００５）、７９（１７）：１１３５３－１１３６５）に基づく、ＩＭＡＣを用いた後に逆相ＨＰＬＣを用いる２工程プロセスにおいて精製した。

【００３８】

この様式で、ＨＣＶコアの脂質結合ドメインに特異的な相当たくさんのモノクローナル抗体を産生した。これらのモノクローナル抗体は、感染固体の血清および血漿におけるＨＣＶコア抗原の検出のための診断アッセイの開発において、有用性を有する。本発明の前に、ＨＣＶ全長コアペプチドに対する結合活性を示したコアアミノ酸１３４－１７１領域内の複数のエピトープに対するモノクローナル抗体の生成は、何ら報告されていなかった。本発明のモノクローナル抗体を利用することは、ＨＣＶコア抗原の２つの主要なドメインが標的化される、コア抗原検出のためのイムノアッセイの開発を可能にする。以前のコア抗原アッセイは、アミノ酸１－１２５（核酸結合ドメイン）内のエピトープを指向するモノクローナル抗体の使用を記載した。以前に記載されたモノクローナル抗体は、ＨＣＶコアの核酸結合ドメインを標的することしかできないので、これらは、最善でも、コアタンパク質断片、崩壊産物、または内部翻訳開始により生じるより小さなコアタンパク質の検出において、非効率的およびしばしば無効であった。本発明は、試験試料中に存在するＨＣＶコアをより効率的および迅速に検出するための試薬として使用可能である特異的モノクローナル抗体を提供することにより、以前のアッセイにおけるこれらの欠点を初めて克服した。

【００３９】

特に、本明細書に記載の抗体は、ＨＣＶコア抗原を検出のために有用な試薬であり、ＨＣＶの生活環の調査を容易にするために有用な試薬である。上述のように、ＨＣＶにコードされたタンパク質は、リボソームが内部リボソーム侵入部位（ＩＲＥＳ）に結合し、翻訳を開始し、ウイルスポリタンパク質の合成をもたらし、このポリタンパク質は開裂して古典的ＨＣＶタンパク質であるｐ２１コア、Ｅ１、Ｅ２、ｐ７および非構造タンパク質を産生する、協奏的なプロセスにおいて発現される。ウイルスポリメラーゼを含むあらゆるウイルス酵素は、コア遺伝子領域における翻訳の開始なしには作製できない。この一時的な関係性ゆえに、この領域における翻訳事象は、全てのＨＣＶタンパク質の発現を制御すると考えられている。したがって、コア遺伝子およびその遺伝子産物の完全な理解が、ウイルスの生活環の理解に必須であり、ウイルス病原性のメカニズムに対する我々の理解に光を投げかけ得る。近年、ミニコアと呼ばれる保存的ウイルスタンパク質の新規なファミリーが、記載されている（Ｅｎｇら、Ｊ　Ｖｉｒｏｌ．２００９年４月；８３（７）：３１０４－３１１４）。これらのタンパク質は、コア遺伝子と同じリーディングフレーム内でコードされるが、全長コアタンパク質の翻訳後プロセシングよりもむしろ内部翻訳開始事象に由来すると考えられる。記載されるミニコアタンパク質の１つは、「９１ミニコア」と呼ばれ、コア内の推定開始コドンから名付けられる。「１３４ミニコア」もまた存在し、多くのＨＣＶ単離物におけるメチオニンをコードするコドン１３４における翻訳開始に由来するとの仮説が立てられる。しかし、本質的に脂質結合ドメインに由来するミニコアの検出を可能にする試薬は、利用可能ではない。このようなタンパク質は、ＨＣＶ持続性において重要な役割を果たし得る。

【００４０】

モノクローナル抗体は、ＨＣＶコア１３４－１７１に由来する直鎖状の合成ペプチドに対して惹起されるので、これらが、感染した個体に存在するＨＣＶコアのネイティブの完全なコア抗原またはプロセシング形態に結合するか否かは未知である。しかし、本発明のモノクローナル抗体は、アミノ酸１３４－１７１からの直鎖状ＨＣＶコア領域によって呈

示される少なくとも１つ以上のエピトープに結合することができるので、このような結合は、これらのモノクローナル抗体をＨＣＶ検出アッセイにおいて著しく有用であるようにするために充分である。本発明のモノクローナル抗体のいくつかは、組換えコア抗原と反応し、それ以外はこれと反応しない。このことは、コアアミノ酸１３４－１７１領域内に、直鎖状エピトープと高次構造エピトープとの両方が存在することを示唆する。直鎖状エピトープまたは高次構造エピトープのいずれかを認識する抗体は、概して、感染細胞内のウイルスアセンブリおよびウイルス生活環の研究のために非常に有用なツールである。

【００４１】

最後に、これらの試薬はまた、脂質結合ドメインのみの存在を決定することが所望されるイムノアッセイにおいても使用され得る。感染固体におけるミニコアの循環レベルに関してわずかしか分かっていないので、これらは、アミノ酸１－１２５の領域を含有するコアタンパク質よりもずっと高いレベルで存在する。アミノ酸１－１２５の領域外のＨＣＶコアペプチドを検出する抗体を提供することで、本発明は、これらの現在利用可能なアッセイよりもずっと感度の高いＨＣＶコア抗原検出アッセイを提供する。

【００４２】

（定義）

本明細書で使用される場合、抗体、タンパク質またはペプチドと二次化学種との相互作用に関する用語「特異的結合」または「特異的に結合すること」は、この相互作用が、化学種における特定の構造（例えば、抗原決定基またはエピトープ）の存在に依存すること、例えば、抗体が、タンパク質を全体的に認識し結合するよりもむしろ、特異的タンパク質構造を認識し結合することを意味する。抗体がエピトープ「Ａ」に対して特異的である場合、標識「Ａ」を含有する反応物中のエピトープＡを含有する分子（または遊離の未標識Ａ）の存在は、抗体に結合する標識Ａ量を低下させる。

【００４３】

用語「抗体」は、本明細書で使用される場合、広範に、２つの重（Ｈ）鎖および２つの軽（Ｌ）鎖である４つのポリペプチド鎖からなる任意の免疫グロブリン（Ｉｇ）分子、またはＩｇ分子の必須エピトープ結合特性を保持したその任意の機能的断片、変異体、バリアントまたは派生物をいう。このような変異体抗体、バリアント抗体、または誘導体抗体の形式は、当該分野で公知である。その非限定実施形態が、以下で議論される。

【００４４】

全長抗体において、各重鎖は、重鎖可変領域（本明細書でＨＣＶＲまたはＶＨと略される。）および重鎖定常領域からなる。重鎖定常領域は、３つのドメイン、ＣＨＬ、ＣＨ２およびＣＨ３からなる。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書でＬＣＶＲまたはＶＬと略される。）および軽鎖定常領域からなる。軽鎖定常領域は、１つのドメイン、ＣＬからなる。ＶＨおよびＶＬ領域は、フレームワーク領域（ＦＲ）と呼ばれるより保存的な領域が散在する相補性決定領域（ＣＤＲ）と呼ばれる超可変性の領域にさらに細分化され得る。各ＶＨおよびＶＬは、３つのＣＤＲおよび４つのＦＲからなり、これらは、アミノ末端からカルボキシ末端へ以下の順番で並んでいる：ＦＲ１、ＣＤＲ１、ＦＲ２、ＣＤＲ２、ＦＲ３、ＣＤＲ３、ＦＲ４。免疫グロブリン分子は、任意の型（例えば、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＡおよびＩｇＹ）、クラス（例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１およびＩｇＡ２）またはサブクラスであってもよい。

【００４５】

用語「Ｆｃ領域」は、免疫グロブリン重鎖のＣ末端領域を規定するために使用され、免疫グロブリン重鎖は、インタクトな抗体のパパイン消化によって生成され得る。Ｆｃ領域は、ネイティブ配列Ｆｃ領域であっても、バリアントＦｃ領域であってもよい。免疫グロブリンのＦｃ領域は、一般に、２つの定常ドメインであるＣＨ２ドメインおよびＣＨ３ドメイン、および場合によってＣＨ４ドメインを含む。抗体エフェクター機能を変えるためのＦｃ部分におけるアミノ酸残基の置き換えは、当該分野で公知である（Ｗｉｎｔｅｒら米国特許第５，６４８，２６０号および同第５，６２４，８２１号）。抗体のＦｃ部分は、いくつかの重要なエフェクター機能、例えば、サイトカイン誘導、ＡＤＣＣ、食作用

、補体依存性細胞毒性（ＣＤＣ）、ならびに抗体および抗原－抗体複合体の半減期／クリアランス速度を媒介する。いくつかの場合、これらのエフェクター機能は治療抗体に望ましいが、他の場合、治療目的に依存して、不必要であるまたは有害ですらあり得る。特定のヒトＩｇＧイソ型、特にＩｇＧ１およびＩｇＧ３は、それぞれＦｃγＲ５および補体Ｃｌｑへの結合を介して、ＡＤＣＣおよびＣＤＣを媒介する。新生児Ｆｃレセプター（ＦｃＲｎ）は、抗体の循環半減期を決定する重要な構成要素である。少なくとも１つのアミノ酸残基が、抗体の定常領域、例えば抗体のＦｃ領域において置き換えられ、抗体のエフェクター機能が改変される。免疫グロブリンの２つの同一の重鎖の二量体化は、ＣＨ３ドメインの二量体化によって媒介され、ヒンジ領域内のジスルフィド結合によって安定化される（Ｈｕｂｅｒら Ｎａｔｕｒｅ；２６４：４１５－２０；Ｔｈｉｅｓら １９９９ Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ； ２９３：６７－７９。）。重鎖－重鎖ジスルフィド結合を妨げるヒンジ領域内のシステイン残基の突然変異は、ＣＨ３ドメインの二量体化を不安定化させる。ＣＨ３二量体化を担う残基は、同定されている（Ｄａｌｌ’Ａｃｑｕａ １９９８ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ３７：９２６６－７３）。したがって、一価の半Ｉｇを生成することが、可能である。興味深いことに、これらの一価の半Ｉｇ分子は、ＩｇＧおよびＩｇＡサブクラスの両方について、天然で見出されている（Ｓｅｌｉｇｍａｎ １９７８ Ａｎｎ Ｉｍｍｕｎｏｌ １２９：８５５－７０；Ｂｉｅｗｅｎｇａら １９８３ Ｃｌｉｎ Ｅｘｐ Ｉｍｍｕｎｏｌ ５１：３９５－４００）。ＦｃＲｎ：Ｉｇ Ｆｃ領域の化学量論は、２：１であると決定されており（Ｗｅｓｔら ２０００ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ３９：９６９８－７０８）、半Ｆｃは、ＦｃＲｎ結合を媒介するために充分である（Ｋｉｍら １９９４ Ｅｕｒ Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ；２４：５４２－５４８。）。ＣＨ３ドメインの二量体化を破壊する突然変異は、ＣＨ３二量体化のために重要な残基がＣＨ３ ｂシート構造の内側境界上に位置している一方で、ＦｃＲｎ結合を担う領域はＣＨ２－ＣＨ３ドメインの外側境界上に位置しているため、ＦｃＲｎ結合に対してより大きな悪影響を有さなくてもよい。しかし、半Ｉｇ分子は、通常抗体の大きさよりもより小さい大きさに起因して、組織浸透において特定の利点を有し得る。少なくとも１つのアミノ酸残基は、本発明の結合タンパク質の定常領域、例えばＦｃ領域において置き換えられ得、重鎖の二量体化が破壊されて、半ＤＶＤ Ｉｇ分子をもたらす。ＩｇＧの抗炎症活性は、ＩｇＧ Ｆｃ断片のＮ連結グリカンのシアリル化に完全に依存する。抗炎症活性のための正確なグリカン必要条件が決定され、それにより、適切なＩｇＧ１ Ｆｃ断片が作製されることによって大きく増大された効力を有する完全組換えシアリル化ＩｇＧ１ Ｆｃを生成し得る（Ａｎｔｈｏｎｙ，Ｒ．Ｍ．ら（２００８）Ｓｃｉｅｎｃｅ ３２０：３７３－３７６）。

【００４６】

抗体の「抗原結合部分」という用語（または単純に「抗体部分」）は、本書中で使用される場合、抗原に対して特異的に結合する能力を保持する抗体の１つ以上の断片をいう。抗体の抗原結合機能は、完全長抗体の断片によって実施され得ることが示されている。このような抗体実施形態はまた、二特異的、二重特異的、または多特異的形式であってもよく、具体的には、２種以上の異なる抗原に結合する形式であってもよい。抗体の「抗原結合部分」という用語内に含まれる結合断片の例としては、（ｉ）ＶＬ、ＶＨ、ＣＬおよびＣＨ１ドメインからなる一価の断片であるＦａｂ断片；（ｉｉ）ヒンジ領域におけるジスルフィド架橋によって連結する２つのＦａｂ断片を含む二価の断片であるＦ（ａｂ’）$_2$断片；（ｉｉｉ）ＶＨおよびＣＨ１ドメインからなるＦｄ断片；（ｉｖ）抗体の１本の腕のＶＬおよびＶＨドメインからなるＦｖ断片；（ｖ）１つの可変ドメインを含むｄＡｂ断片（Ｗａｒｄら、（１９８９）Ｎａｔｕｒｅ ３４１：５４４－５４６、Ｗｉｎｔｅｒら、ＰＣＴ公開ＷＯ９０／０５１４４Ａ１、参照により本明細書に組み込む。）；ならびに（ｖｉ）単離された相補性決定領域（ＣＤＲ）が挙げられる。さらに、Ｆｖ断片の２つのドメインであるＶＬおよびＶＨは別個の遺伝子によってコードされているが、これらは、組換え方法を用いて、これらを１つのタンパク質鎖として作製することができる合成リンカーによって合わせられ得、このタンパク質鎖において、ＶＬおよびＶＨ領域の対は、一

価の分子を形成する（単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）として公知である；例えば、Ｂｉｒｄら（１９８８）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４２：４２３－４２６；およびＨｕｓｔｏｎら（１９８８）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８５：５８７９－５８８３を参照されたい。）。このような単鎖抗体はまた、抗体の「抗原結合部分」という用語の範囲内に含まれることが企図される。単鎖抗体の他の形態、例えばダイアボディもまた含まれる。ダイアボディは、ＶＨおよびＶＬドメインが１つのポリペプチド鎖において発現されるが、同じ鎖において２つのドメインの間を対合するためには短すぎるリンカーを使用するため、ドメインを別の鎖の相補的ドメインと対合するように強いて２つの抗原結合部位を作る、二価の二特異性抗体である。（例えば、Ｈｏｌｌｉｇｅｒ Ｐ．ら（１９９３）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９０：６４４４－６４４８；Ｐｏｌｊａｋ Ｒ．Ｊ．ら（１９９４）Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ ２：１１２１－１１２３を参照されたい。）このような抗体結合部分は、当該分野で公知である。（例えば、ＫｏｎｔｅｒｍａｎｎおよびＤｕｂｅｌ編、Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ（２００１）Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ．Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ．７９０ ｐｐ．（ＩＳＢＮ ３－５４０－４１３５４－５）を参照されたい。）さらに、単鎖抗体はまた、直列したＦｖセグメントの一対（ＶＨ－－ＣＨ１－ＶＨ－－ＣＨ１）を含む「直鎖抗体」をも含み、これは、相補的軽鎖ポリペプチドと一緒になって、一対の抗原結合領域を形成する（Ｚａｐａｔａら、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．８（１０）：１０５７－１０６２（１９９５）；および米国特許第５，６４１，８７０号）。

【００４７】

用語「多価結合タンパク質」は、本明細書を通して、２つ以上の抗原結合部位を含む結合タンパク質を述べるために使用される。一態様において、多価結合タンパク質は、３つ以上の抗原結合部位を有するように操作され、一般に、天然に存在する抗体ではない。二重可変ドメイン（ＤＶＤ）結合タンパク質は、２つ以上の抗原結合部位を含み、四価または多価の結合タンパク質である。ＤＶＤは、本書中で記載される場合、一特異的である、すなわち、ＨＣＶコアタンパク質などの１つの抗原に結合可能である、または多特異的、すなわち、２種以上の抗原に結合可能である。２つの重鎖ＤＶＤポリペプチドおよび２つの軽鎖ＤＶＤポリペプチドを含むＤＶＤ結合タンパク質は、ＤＶＤ－Ｉｇと呼ばれ、例えば、米国特許第７，６１２，１８１号に記載される。この開示は、参照により本明細書に組み込む。ＤＶＤ－Ｉｇの各半分は、重鎖ＤＶＤポリペプチドおよび軽鎖ＤＶＤポリペプチド、および２つの抗原結合部位を含む。各結合部位は、１つの抗原結合部位につき抗原結合に全部で６つのＣＤＲが関与する重鎖可変ドメインおよび軽鎖可変ドメインを含む。

【００４８】

結合タンパク質の「機能的抗原結合部位」は、標的抗原に結合可能である部位である。抗原結合部位の抗原結合親和性は、抗原結合部位が由来する親抗体ほど強い必要はないが、抗原に結合する能力は、抗原に結合する抗体を評価するための公知の種々の方法の任意の１つを用いて測定可能でなければならない。その上、本明細書の多価抗体の各抗原結合部位の抗原結合親和性は、定量的に同じである必要はない。

【００４９】

「免疫グロブリン定常ドメイン」は、重鎖または軽鎖定常ドメインをいう。ヒトＩｇＧ重鎖および軽鎖定常ドメインアミノ酸配列は、当該分野で公知である。

【００５０】

用語「モノクローナル抗体」または「ｍＡｂ」は、本明細書で使用される場合、実質的に均一な抗体の集団、すなわち、集団を構成する個々の抗体がわずかな量で存在し得る天然に存在し得る突然変異を除いて同一である集団から、得られる抗体をいう。モノクローナル抗体は、高度に特異的であり、１つの抗原を指向する。さらに、代表的には異なる決定基（エピトープ）を指向する異なる抗体を含むポリクローナル抗体調製物と対照的に、各ｍＡｂは、抗原における１つの決定基を指向する。修飾語「モノクローナル」は、任意の特定の方法による抗体の産生を必要とするとは解釈されない。

【００５１】

用語「ヒト抗体」は、本明細書で使用される場合、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列に由来する可変領域および定常領域を有する抗体を含むことが企図される。本開示のヒト抗体は、例えばＣＤＲ、特にＣＤＲ３において、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列によってコードされていないアミノ酸残基（例えば、インビトロのランダム突然変異誘発もしくは部位特異的突然変異誘発、またはインビボの体細胞突然変異によって誘導された突然変異）を含み得る。しかし、用語「ヒト抗体」は、本明細書で使用される場合、別の哺乳動物種、例えばマウスの生殖系列に由来するＣＤＲがヒトフレームワーク配列上にグラフトされている抗体を含むことは、意図されない。

【００５２】

用語「組換えヒト抗体」は、本明細書で使用される場合、組換え手段によって調製されるか、発現されるか、作製されるかまたは単離される全てのヒト抗体、例えば、宿主細胞内にトランスフェクトされた組換え発現ベクターを用いて発現された抗体（以下の第ＩＩ節Ｃにおいてさらに詳細に記載する。）、組換えコンビナトリアルヒト抗体ライブラリーから単離された抗体（Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ Ｈ．Ｒ．（１９９７）ＴＩＢ Ｔｅｃｈ．１５：６２－７０；Ａｚｚａｚｙ Ｈ．およびＨｉｇｈｓｍｉｔｈ Ｗ．Ｅ．（２００２）Ｃｌｉｎ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．３５：４２５－４４５；Ｇａｖｉｌｏｎｄｏ Ｊ．Ｖ．およびＬａｒｒｉｃｋ Ｊ．Ｗ．（２００２）ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ２９：１２８－１４５；Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ Ｈ．および Ｃｈａｍｅｓ Ｐ．（２０００）Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ Ｔｏｄａｙ ２１：３７１－３７８）、ヒト免疫グロブリン遺伝子についてのトランスジェニックである動物（例えば、マウス）から単離された抗体（Ｔａｙｌｏｒ、Ｌ．Ｄ．ら（１９９２）Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２０：６２８７－６２９５；Ｋｅｌｌｅｒｍａｎｎ Ｓ－Ａ．およびＧｒｅｅｎ Ｌ．Ｌ．（２００２）Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｏｐｉｎｉｏｎ ｉｎ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １３：５９３－５９７；Ｌｉｔｔｌｅ Ｍ．ら（２０００）Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ Ｔｏｄａｙ ２１：３６４－３７０を参照されたい。）、またはヒト免疫グロブリン遺伝子配列の他のＤＮＡ配列へのスプライシングを含む任意の他の手段により調製されるか、発現されるか、作製されるかもしくは単離される抗体を、含むことを企図する。このような組換えヒト抗体は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列由来の可変領域および定常領域を有する。このような組換えヒト抗体は、インビトロ突然変異誘発（または、ヒトＩｇ配列についての動物トランスジェニックが使用される場合には、インビボ体細胞突然変異誘発）に供され、その結果、組換え抗体のＶＨおよびＶＬ領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖系列ＶＨおよびＶＬ配列に由来するまたはこれに関連する配列がインビボのヒト抗体生殖系列レパートリーの中に天然に存在し得ない配列であるようになる。

【００５３】

「親和性成熟」抗体は、その１つ以上のＣＤＲにおいて１つ以上の改変を有する抗体であって、この改変は、抗原についての抗体の親和性において、このような改変を有さない親抗体と比較して改善をもたらす抗体である。例示的な親和性成熟抗体は、標的抗原についてのナノモル濃度またはピコモル濃度ですらある親和性を有する。親和性成熟抗体は、当該分野で公知の手順によって産生される。Ｍａｒｋｓら ＢｉｄＴｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １０：７７９－７８３（１９９２）は、ＶＨおよびＶＬドメインシャフリングによる親和性成熟を記載する。ＣＤＲおよび／またはフレームワーク残基のランダム突然変異誘発は、以下によって記載される：Ｂａｒｂａｓら Ｐｒｏｃ Ｎａｔ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ，ＵＳＡ ９１：３８０９－３８１３（１９９４）；Ｓｃｈｉｅｒら Ｇｅｎｅ １６９：１４７－１５５（１９９５）；Ｙｅｌｔｏｎら Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５５：１９９４－２００４（１９９５）；Ｊａｃｋｓｏｎら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５４（７）：３３１０－９（１９９５）；Ｈａｗｋｉｎｓら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２６：８８９－８９６（１９９２）、ならびに活性増大アミノ酸残基による選択的突然変異位置、接触または超変異位置における選択的突然変異は、米国特許第６，９１４，１２８ Ｂ１号に記載される。

【００５４】

用語「キメラ抗体」は、１つの種由来の重鎖および軽鎖可変領域配列および別の種由来の定常領域配列を含む抗体、例えば、ヒト定常領域に連結したマウス重鎖および軽鎖可変領域を有する抗体をいう。

【００５５】

用語「ＣＤＲグラフト抗体」は、１つの種由来の重鎖および軽鎖可変領域を含むが、ＶＨおよび／またはＶＬの１つ以上のＣＤＲ領域の配列が、別の種のＣＤＲ配列と置き換わっている抗体、例えば、１つ以上のマウスＣＤＲ（例えば、ＣＤＲ３）がヒトＣＤＲ配列と置き換わっているマウス重鎖および軽鎖可変領域を有する抗体をいう。

【００５６】

用語「ヒト化抗体」は、非ヒト種（例えば、マウス）由来の重鎖および軽鎖可変領域配列を含むが、ＶＨおよび／またはＶＬ配列の少なくとも一部が、より「ヒト様」に、すなわち、よりヒト生殖系列可変配列に類似するように改変されている抗体をいう。ヒト化抗体の１つの型は、ヒトＣＤＲ配列が非ヒトＶＨおよびＶＬ配列に導入されて、対応する非ヒトＣＤＲ配列と置き換わっている、ＣＤＲグラフト抗体である。また、「ヒト化抗体」は、目的の抗原に免疫特異的に結合し、実質的にヒト抗体のアミノ酸配列を有するフレームワーク（ＦＲ）領域および実質的に非ヒト抗体のアミノ酸配列を有する相補性決定領域（ＣＤＲ）を含む、抗体またはそのバリアント、誘導体、アナログもしくは断片である。本明細書で使用される場合、ＣＤＲの文脈における用語「実質的に」は、非ヒト抗体ＣＤＲのアミノ酸配列に対し少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％または少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を有するＣＤＲをいう。ヒト化抗体は、少なくとも１つの、代表的には２つの、可変ドメイン（Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、ＦａｂＣ、Ｆｖ）の実質的に全てを含み、ここで、ＣＤＲ領域の全てまたは実質的に全ては、非ヒト免疫グロブリン（すなわち、ドナー抗体）のＣＤＲ領域に対応し、フレームワーク領域の全てまたは実質的に全ては、ヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のフレームワーク領域である。１つの態様において、ヒト化抗体はまた、免疫グロブリン定常領域（Ｆｃ）、代表的にはヒト免疫グロブリンの定常領域（Ｆｃ）の少なくとも一部を含む。いくつかの実施形態において、ヒト化抗体は、軽鎖および重鎖の少なくとも可変ドメインの両方を含有する。抗体はまた、重鎖のＣＨ１、ヒンジ、ＣＨ２、ＣＨ３およびＣＨ４領域を含み得る。いくつかの実施形態において、ヒト化抗体は、ヒト化軽鎖のみを含有する。いくつかの実施形態において、ヒト化抗体は、ヒト化重鎖のみを含有する。特定の実施形態において、ヒト化抗体は、軽鎖のヒト化可変ドメインおよび／またはヒト化重鎖のみを含有する。

【００５７】

用語「Ｋａｂａｔ番号付け」、「Ｋａｂａｔ定義」および「Ｋａｂａｔラベリング」は、相互交換可能に使用される。当該分野で認識されるこれらの用語は、抗体またはその抗原結合部分の重鎖および軽鎖可変領域における他のアミノ酸残基よりも可変（すなわち、超可変）であるアミノ酸残基の番号付けのシステムをいう（Ｋａｂａｔら（１９７１）Ａｎｎ．ＮＹ Ａｃａｄ，Ｓｃｉ．１９０：３８２－３９１およびＫａｂａｔ，Ｅ．Ａ．ら（１９９１）Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、第５版、Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ、ＮＩＨ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ Ｎｏ．９１－３２４２）。重鎖可変領域について、超可変領域は、ＣＤＲ１についてアミノ酸位置３１から３５、ＣＤＲ２についてアミノ酸位置５０から６５、およびＣＤＲ３についてアミノ酸位置９５から１０２の範囲に及ぶ。軽鎖可変領域について、超可変領域は、ＣＤＲ１についてアミノ酸位置２４から３４、ＣＤＲ２についてアミノ酸位置５０から５６、およびＣＤＲ３についてアミノ酸位置８９から９７の範囲に及ぶ。

【００５８】

本明細書で使用される場合、用語「ＣＤＲ」は、抗体可変配列内の相補性決定領域をいう。重鎖および軽鎖の可変領域各々において、３つのＣＤＲが存在し、これらは、可変領域の各々について、ＣＤＲ１、ＣＤＲ２およびＣＤＲ３と名付けられる。用語「ＣＤＲセ

ット」は、本明細書で使用される場合、抗原に結合可能である１つの可変領域に生じる３つのＣＤＲの群をいう。これらのＣＤＲの正確な境界は、異なるシステムに従って別個に規定されている。Ｋａｂａｔによって記載されるシステム（Ｋａｂａｔら、Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ（Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ、Ｂｅｔｈｅｓｄａ、Ｍｄ．（１９８７）および（１９９１））は、抗体の任意の可変領域に適用可能な明確な残基番号付けシステムのみならず、３つのＣＤＲを規定する正確な残基境界をも提供する。これらのＣＤＲは、Ｋａｂａｔ ＣＤＲと呼ばれ得る。Ｃｈｏｔｈｉａおよび共同研究者ら（Ｃｈｏｔｈｉａ ＆ Ｌｅｓｋ、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１－９１７（１９８７）およびＣｈｏｔｈｉａら、Ｎａｔｕｒｅ ３４２：８７７－８８３（１９８９））は、Ｋａｂａｔ ＣＤＲ内の特定の下位部分が、アミノ酸配列のレベルで大きな多様性を有することを除きほぼ同一なペプチド骨格構造を採用することを見出した。これらの下位部分は、Ｌ１、Ｌ２およびＬ３またはＨ１、Ｈ２およびＨ３と名付けられ、ここで、「Ｌ」および「Ｈ」は、それぞれ軽鎖領域および重鎖領域をいう。これらの領域は、Ｃｈｏｔｈｉａ ＣＤＲと呼ばれ、Ｋａｂａｔ ＣＤＲと重複する境界を有する。Ｋａｂａｔ ＣＤＲと重複する、ＣＤＲを規定する他の境界は、Ｐａｄｌａｎ（ＦＡＳＥＢ Ｊ．９：１３３－１３９（１９９５））およびＭａｃＣａｌｌｕｍ（Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ ２６２（５）：７３２－４５（１９９６））によって記載されている。なお他のＣＤＲ境界定義は、本明細書のシステムの１つに厳密に従わなくてもよいが、特定の残基もしくは残基の群またはＣＤＥ全体ですら抗原結合に有意に影響を与えないという予測または実験的知見の観点から、これらが短かろうと長かろうと、それでもなおＫａｂａｔ ＣＤＲと重複する。本明細書で使用される方法は、これらのシステムのいずれかに従って規定されるＣＤＲを利用し得るが、特定の実施形態は、ＫａｂａｔまたはＣｈｏｔｈｉａの規定したＣＤＲを用いる。

【００５９】

本明細書で使用される場合、用語「フレームワーク」または「フレームワーク配列」は、ＣＤＲを除いた残りの可変領域の配列をいう。ＣＤＲ配列の正確な規定は、異なるシステムによって決定され得るので、フレームワーク配列の意味は、それに対応して異なって解釈される。６つのＣＤＲ（軽鎖のＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２およびＣＤＲ－Ｌ３、ならびに重鎖のＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２およびＣＤＲ－Ｈ３）はまた、軽鎖および重鎖においてフレームワーク領域を各鎖４つの領域（ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３およびＦＲ４）に分け、ここで、ＣＤＲ１はＦＲ１とＦＲ２との間に、ＣＤＲ２はＦＲ２とＦＲ３と間に、およびＣＤＲ３はＦＲ３とＦＲ４との間に位置づけられる。特定の下位領域ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３またはＦＲ４を特定することなく、別の言い方であるフレームワーク領域は、１つの天然に存在する免疫グロブリン鎖の可変領域内のＦＲを合わせて言い表す。本明細書で使用される場合、ＦＲは、フレームワーク領域を構成する４つの下位領域のうちの１つの表し、ＦＲｓは、４つの下位領域の２つ以上を表す。本明細書で使用される場合、用語「生殖系列抗体遺伝子」または「遺伝子断片」は、遺伝子再編および特定の免疫グロブリンの発現についての突然変異をもたらす成熟プロセスが起こっていない非リンパ細胞によってコードされる免疫グロブリン配列をいう。（例えば、Ｓｈａｐｉｒｏら、Ｃｒｉｔ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２２（３）：１８３－２００（２００２）；Ｍａｒｃｈａｌｏｎｉｓら、Ａｄｖ Ｅｘｐ Ｍｅｄ．Ｂｉｏｌ．４８４：１３－３０（２００１）を参照されたい。）。本開示の種々の実施形態によって提供される利点の１つは、生殖系列抗体遺伝子は、成熟抗体遺伝子よりも、種において個体の不可欠なアミノ酸配列構造特徴を保存する可能性が高いという認識に発し、したがって、この種において治療的に使用される場合、外来性供給源由来であると認識されにくい。

【００６０】

本明細書で使用される場合、用語「ヒト化抗体」は、目的の抗原に免疫特異的に結合し、実質的にヒト抗体のアミノ酸配列を有するフレームワーク（ＦＲ）領域および実質的に非ヒト抗体のアミノ酸配列を有する相補性決定領域（ＣＤＲ）を含む、抗体またはそのバ

リアント、誘導体、アナログもしくは断片である。本明細書で使用される場合、ＣＤＲの文脈における用語「実質的に」は、非ヒト抗体ＣＤＲのアミノ酸配列に対し少なくとも８０％、好ましくは少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％または少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を有するＣＤＲをいう。ヒト化抗体は、少なくとも１つの、代表的には２つの、可変ドメイン（Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、ＦａｂＣ、Ｆｖ）の実質的に全てを含み、ここで、ＣＤＲ領域の全てまたは実質的に全ては、非ヒト免疫グロブリン（すなわち、ドナー抗体）のＣＤＲ領域に対応し、フレームワーク領域の全てまたは実質的に全ては、ヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のフレームワーク領域である。好ましくは、ヒト化抗体はまた、免疫グロブリン定常領域（Ｆｃ）、代表的にはヒト免疫グロブリンの定常領域（Ｆｃ）の少なくとも一部を含む。いくつかの実施形態において、ヒト化抗体は、軽鎖および重鎖の少なくとも可変ドメインの両方を含む。抗体はまた、重鎖のＣＨ１、ヒンジ、ＣＨ２、ＣＨ３およびＣＨ４領域を含み得る。いくつかの実施形態において、ヒト化抗体は、ヒト化軽鎖のみを含有する。いくつかの実施形態において、ヒト化抗体は、ヒト化重鎖のみを含有する。詳細な実施形態において、ヒト化抗体は、軽鎖のヒト化可変ドメインおよび／またはヒト化重鎖のみを含有する。

【００６１】

本明細書で使用される場合、用語「中和」は、結合タンパク質が抗原に特異的に結合する際に、抗原の生物学的活性と反作用することをいう。１つの態様において、中和結合タンパク質は、サイトカインに結合し、その生物学的活性を、少なくとも約２０％、４０％、６０％、８０％、８５％またはそれ以上低下させる。

【００６２】

用語「エピトープ」は、免疫グロブリンまたはＴ細胞レセプターに特異的に結合可能である任意のポリペプチド決定基を含む。特定の実施形態において、エピトープ決定基としては、アミノ酸、糖側鎖、ホスホリル、またはスルホニルなどの分子の化学的に活性な表面分類を含み、特定の実施形態において、特定の三次元構造特徴および／または特定の電荷特徴を有し得る。エピトープは、抗体によって結合される抗原の領域である。特定の実施形態において、抗体は、その標的抗原をタンパク質および／または高分子の複合混合物中に認識した際に特異的に結合すると言われる。抗体は、抗体が交差競合する（あるものが、他のものの結合またはその効果の調節を妨げる。）場合、「同じエピトープに結合する」と言われる。加えて、エピトープの構造的定義（重複、類似、同一）は、情報価値があるが、機能的定義は、しばしば、これらが構造的（結合）および機能的（調節、競合）パラメータを包含するので、より妥当である。

【００６３】

用語「表面プラスモン共鳴」は、本明細書で使用される場合、例えば、ＢＩＡｃｏｒｅ（登録商標）システム（ＢＩＡｃｏｒｅ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ ＡＢ、ａ ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ ｃｏｍｐａｎｙ、Ｕｐｐｓａｌａ、Ｓｗｅｄｅｎ ａｎｄ Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ、Ｎ．Ｊ．）を用いるバイオセンサーマトリクス内のタンパク質濃度における変化の検出により、実時間生物特異的相互作用の分析を可能にする光学現象をいう。さらなる説明については、Ｊｏｎｓｓｏｎ Ｕら（１９９３）Ａｎｎ．Ｂｉｏｌ．Ｃｌｉｎ．５１：１９－２６；Ｊｏｎｓｓｏｎ Ｕ．ら（１９９１）Ｂｉｏｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ １１：６２０－６２７；Ｊｏｈｎｓｓｏｎ，Ｂ．ら（１９９５）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｒｅｃｏｇｎｉｔ．８：１２５－１３１；およびＪｏｈｎｎｓｏｎ Ｂ．ら（１９９１）Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．１９８：２６８－２７７を参照されたい。

【００６４】

用語「Ｋｏｎ」は、本明細書で使用される場合、当該分野で公知のように、例えば、抗体／抗原複合体を形成する、結合タンパク質（例えば、抗体）の抗原に対する結合についてのオンレート定数を意図する。「Ｋｏｎ」はまた、用語「結合速度定数」または「ｋａ」としても知られ、本明細書で相互交換可能に使用される。この値は、抗体の標的抗原に対する結合速度または抗体と抗原との間の複合体形成の速度を示す。

【００６５】
用語「Ｋｏｆｆ」は、本明細書で使用される場合、当該分野で公知のように、例えば、抗体／抗原複合体からの結合タンパク質（例えば、抗体）の解離についてのオフレート定数、または「解離速度定数」を意図する。この値は、抗体の標的抗原からの解離速度またはＡｂ－Ａｇ複合体の抗体と抗原とに遊離させる経時的な分離を示す。
【００６６】
用語「ＫＤ」は、本明細書で使用される場合、「平衡解離定数」をいうこと、および平衡における力価測定において得られた値、または結合速度定数（ｋｏｎ）によって解離速度定数（ｋｏｆｆ）を除算することにより得られた値をいうことを企図する。結合速度定数、解離速度定数および平衡解離定数は、抗原に対する抗体の結合親和性を表すために使用される。結合速度定数および解離速度定数を決定するための方法は、当該分野で周知である。蛍光ベースの技術を用いることは、平衡において生理学的緩衝液中で試料を試験するための、高い感度および能力を提供する。他の実験的アプローチおよびＢＩＡｃｏｒｅ（登録商標）（生物分子相互作用分析）アッセイなどの装置が、使用され得る（例えば、ＢＩＡｃｏｒｅ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ ＡＢ、ａ ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ ｃｏｍｐａｎｙ、Ｕｐｐｓａｌａ、Ｓｗｅｄｅｎから入手可能な装置）。さらに、Ｓａｐｉｄｙｎｅ Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ（Ｂｏｉｓｅ、Ｉｄ．）から入手可能であるＫｉｎＥｘＡ（登録商標）（速度論除外アッセイ：Ｋｉｎｅｔｉｃ Ｅｘｃｌｕｓｉｏｎ Ａｓｓａｙ）アッセイもまた、使用され得る。
【００６７】
「標識」および「検出可能標識」は、抗体または分析物などの特異的結合パートナーに結合する部分を、例えば、抗体および分析物などの特異的結合対のメンバー間の反応を検出可能にすることを意味し、特異的結合パートナー、例えば、抗体または分析物が、標識されると「検出可能に標識された」といわれる。したがって、用語「標識結合タンパク質」は、本明細書で使用される場合、結合タンパク質の同定を提供する組み込まれた標識を有するタンパク質をいう。１つの態様において、標識は、視覚的にまたは装置手段によって、検出可能であるシグナルを生成し得る検出可能マーカーであり、例えば、放射性標識アミノ酸の組み込みまたは印をつけたアビジン（例えば、蛍光マーカーを含有するストレプトアビジンまたは光学的もしくは比色定量方法によって検出可能である酵素活性）によって検出可能であるビオチン化部分へのポリペプチドの結合である。ポリペプチドについての標識の例としては、放射性同位体または放射性核種（例えば、３Ｈ、１４Ｃ、３５Ｓ、９０Ｙ、９９Ｔｃ、１１１Ｉｎ、１２５Ｉ、１３１Ｉ、１７７Ｌｕ、１６６Ｈｏまたは１５３Ｓｍ）；色素原、蛍光標識（例えば、ＦＩＴＣ、ローダミン、ランタニド、リン）、酵素標識（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ）；化学発光マーカー；ビオチン化基；二次レポーターによって認識される所定のポリペプチドエピトープ（例えば、ロイシンジッパー対配列、二次抗体についての結合部位、金属結合ドメイン、エピトープタグ）；およびガドリニウムキレートなどの磁性薬剤が挙げられるが、これらに限定されない。イムノアッセイのために一般的に使用される標識の代表的な例としては、光を発する部分、例えばアクリジニウム化合物および蛍光を発する部分、例えばフルオレセインが挙げられる。他の標識は、本明細書に記載されている。この点において、この部分自体は、検出可能でなくてもよいが、なお別の部分による反応の際に検出可能になってもよい。「検出可能標識」の使用は、後者の検出可能標識を含むことを意図する。
【００６８】
用語「コンジュゲート」は、治療剤または細胞毒性剤などの二次化学部分に化学的に連結した、抗体などの結合タンパク質をいう。用語「薬剤」は、化学化合物、化学化合物の混合物、生物学的高分子、または生物学的物質から作製された抽出物をいうために、本明細書で使用される。１つの態様において、治療剤または細胞毒性剤としては、百日咳毒素、タキソール、サイトカラシンＢ、グラミシジンＤ、臭化エチジウム、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テノポシド、ビンクリスチン、ビンブラスチン、コルヒチン、ド

キソルビシン、ダウノルビシン、ジヒドロキシアントラシンジオン、ミトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンＤ、１－デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロールおよびピューロマイシンならびにこれらのアナログもしくはホモログが挙げられるが、これらに限定されない。イムノアッセイの文脈で使用される場合、コンジュゲート抗体は、検出抗体として使用される検出可能標識抗体である。

【００６９】

用語「単離されたポリヌクレオチド」および「単離されたヌクレオチド分子」は、本明細書で相互交換可能に使用され、（例えば、ゲノム、ｃＤＮＡもしくは合成起源、またはこれらのいくつかの組み合わせの）ポリヌクレオチドを意味し、これは、「単離されたポリヌクレオチド」または「単離されたヌクレオチド分子」が天然で見出されるポリヌクレオチドの全てもしくは一部を伴わない、または大型配列の一部として天然で存在しない。「単離されたポリヌクレオチド」または「単離されたヌクレオチド分子」は、天然で連結していないポリヌクレオチドに作動可能に連結され得る。

【００７０】

用語「調整する（ｒｅｇｕｌａｔｅ）」および「調節する（ｍｏｄｕｌａｔｅ）」は、本明細書で相互交換可能に使用され、目的の分子の活性（例えば、サイトカインの生物学的活性）における変化または改変をいう。調節は、目的の分子の特定の活性の大きさまたは機能を増大してもよく、または低減してもよい。分子の例示的な活性および機能としては、結合特徴、酵素活性、細胞レセプター活性化およびシグナル伝達が挙げられるが、これらに限定されない。同様に、用語「調節因子」は、本明細書で使用される場合、目的の分子の活性または機能（例えば、サイトカインの生物学的活性）を変化または改変させることができる化合物である。例えば、調節因子は、調節因子の非存在下で観察される活性または機能の大きさと比較して、分子の特定の活性または機能の大きさの増大または低減を引き起こし得る。特定の実施形態において、調節因子は、インヒビターであり、これは、分子の少なくとも１つの活性または機能の大きさを低減する。例示的なインヒビターとしては、タンパク質、ペプチド、抗体、ペプチボディ、炭水化物または有機低分子が挙げられるが、これらに限定されない。ペプチボディは、ＷＯ０１／８３５２５において記載されている。

【００７１】

「患者」および「対象」は、本明細書で相互交換可能に使用され、霊長類（例えば、ヒト、サルおよびチンパンジー）、非霊長類（例えば、雌ウシ、ブタ、ラクダ、ラマ、ウマ、ヤギ、ウサギ、ヒツジ、ハムスター、モルモット、ネコ、イヌ、ラット、マウス、クジラ）を含む哺乳動物、鳥類（例えば、アヒルまたはガチョウ）ならびにサメなどの動物をいう。好ましくは、患者または対象はヒトであり、例えば、疾患、障害もしくは状態について処置されるまたは評価されているヒト、疾患、障害もしくは状態についてのリスクを有するヒト、疾患、障害もしくは状態を有するヒト、および／または、疾患、障害もしくは状態について処置されているヒトである。

【００７２】

用語「試料」は、本明細書で使用される場合、最も広い意味で使用される。「生物学的試料」としては、本明細書で使用される場合、生物または以前生物であったもの由来の、任意の量の物質が挙げられるが、これらに限定されない。このような生物としては、ヒト、マウス、ラット、サル、イヌ、ウサギおよび他の動物が挙げられるが、これらに限定されない。このような物質としては、血液、（例えば全血）、血漿、血清、尿、羊水、滑液、内皮細胞、白血球、単球、他の細胞、器官、組織、骨髄、リンパ節および脾臓が挙げられるが、これらに限定されない。

【００７３】

「構成要素（Ｃｏｍｐｏｎｅｎｔ）」、「構成要素（ｃｏｍｐｏｎｅｎｔｓ）」および「少なくとも１つの構成要素」は、一般に、捕捉抗体、検出もしくはコンジュゲート抗体、対照、キャリブレーター、一連のキャリブレーター、感度パネル、容器、緩衝液、希釈

剤、塩、酵素、酵素の補因子、検出試薬、前処理試薬／溶液、基質（例えば、溶液として）、停止溶液などをいい、これらは、本明細書に記載の方法および当該分野で公知の他の方法に従って、患者の尿、血清または血漿試料などの試験試料のアッセイのためのキット中に含められ得る。したがって、本開示の文脈において、「少なくとも１つの構成要素」、「構成要素（ｃｏｍｐｏｎｅｎｔ）」および「構成要素（ｃｏｍｐｏｎｅｎｔｓ）」は、ポリペプチドまたは上述の様な他の分析物、例えばポリペプチドなどの分析物を含む組成物を含み得、これは、抗分析物（例えば、抗ポリペプチド）抗体への結合などによって固体支持体上に場合によって固定化される。いくつかの構成要素は、溶液中であってもよく、またはアッセイにおける使用のための再構成のために凍結乾燥されてもよい。

【００７４】

「対照」は、分析物ではないことがわかっている組成物（「陰性対照」）または分析物を含有することがわかっている組成物（「陽性対照」）をいう。陽性対照は、既知の濃度の分析物を含み得る。「対照」、「陽性対照」および「キャリブレーター」は、本明細書で相互交換可能に使用され、既知の濃度の分析物を含む組成物をいう。「陽性対照」は、アッセイ性能特徴を確立するために使用され得、試薬（例えば、分析物）の強度の有用な指標である。

【００７５】

「所定のカットオフ」および「所定のレベル」は、一般に、評価するために使用されるアッセイカットオフ値をいい、これは、アッセイ結果を所定のカットオフ／レベルに対して比較することにより、診断／予後診断／治療効力結果を評価するために使用され、ここで、所定のカットオフ／レベルは、種々の臨床パラメータ（例えば、疾患の重症度、進行／非進行／改善など）と事前に結びつけられているまたは関連付けられている。本開示は、例示的所定のレベルを提供し得るが、カットオフ値は、イムノアッセイの性質（例えば、使用する抗体など）に応じて変動し得ることは、周知である。さらに、本明細書の開示を他のイムノアッセイに適合させて、本開示に基づくこれらの他のイムノアッセイのためのイムノアッセイ特異的カットオフ値を得ることは、充分に当業者の技術範囲内である。所定のカットオフ／レベルの正確な値は、アッセイ間で変動し得るが、相関性（が存在する場合）は、一般的に適用可能であるはずである。

【００７６】

本明細書に記載の診断アッセイにおいて使用される「所定の試薬」、例えば、溶解試薬、沈殿試薬および／または可溶化試薬は、試験試料中に存在する任意の細胞を溶解させるか、および／または任意の分析物を可溶化させる。前処理は、本明細書でさらに記載されるように、全ての試料のために必要ではない。他の中でも、分析物（例えば、目的のポリペプチド）の可溶化は、試料中に存在する内在性結合タンパク質のいずれかに起因する分析物の放出を伴い得る。前処理試薬は、均一であってもよく（分離工程を必要としない。）、または不均一であってもよい（分離工程を必要とする。）。不均一な前処理試薬の使用により、アッセイの次の工程に進める前に、任意の沈殿した分析物結合タンパク質の、試験試料からの除去が存在する。

【００７７】

本明細書に記載のイムノアッセイおよびキットの文脈において、「品質管理試薬」としては、キャリブレーター、対照および感度パネルが挙げられる。「キャリブレーター」または「標準」は、代表的に、抗体または分析物などの分析物の濃度の補間のためのキャリブレーション（標準）曲線を確立するために、（例えば１以上、例えば多数）使用される。あるいは、所定の陽性／陰性カットオフに近い１つのキャリブレーターが、使用されてもよい。複数のキャリブレーター（すなわち、１を超えるキャリブレーターまたは変動量のキャリブレーター）は、「感度パネル」を含むように、組み合わせて使用されてもよい。

【００７８】

「リスク」は、特定の事象が現在存在している、または将来のいくつかの時点で生じる可能性または蓋然性をいう。「リスク層別化」は、特定の疾患、障害または状態を発症す

ることの低、中程度、高および最高リスクに臨床医が患者の分類をすることを可能にする、一連の既知の臨床リスク因子をいう。

【００７９】

「特異的」および「特異性」は、特異的結合対（例えば、抗原（またはその断片）および抗体（またはその抗原反応性断片））のメンバー間の相互作用の文脈において、相互作用の選択された反応性をいう。語句「特異的に結合する」または同様の語句は、抗体（またはその抗原反応性断片）が分析物（またはその断片）に特異的に結合し、他の物質には特異的に結合しない能力をいう。

【００８０】

「特異的結合パートナー」は、特異的結合対のメンバーである。特異的結合対は、化学的または物理的手段により互いに特異的に結合する、２つの異なる分子を含む。したがって、一般的イムノアッセイの抗原と抗体との特異的結合対に加え、他の特異的結合対として、ビオチンおよびアビジン（またはストレプトアビジン）、炭水化物およびレクチン、相補的ヌクレオチド配列、エフェクターおよびレセプター分子、補因子および酵素、酵素インヒビターおよび酵素などが挙げられ得る。さらに、特異的結合対としては、元の特異的結合メンバーの類似体であるメンバー、例えば、分析物アナログを含み得る。免疫反応特異的結合メンバーとしては、単離されたまたは組換えによって産生されたかを問わず、抗原、抗原断片および抗体が挙げられ、この抗体は、モノクローナル抗体およびポリクローナル抗体、ならびにその複合体、断片およびバリアント（バリアントの断片を含む）を含む。

【００８１】

モノクローナル抗体

図１Ａおよび１Ｂは、ＨＣＶコア抗原に特異的であることが決定されている、より詳細には、ＨＣＶコア抗原の脂質結合ドメインに特異的であることが決定されている、種々の抗体の配列を示す。これらのモノクローナル抗体は、ＨＣＶコア抗原の脂質結合ドメインに対し特異的に免疫反応性であることが見出された。より具体的には、本発明の抗体は、以下のアミノ酸配列によって形成される少なくとも１つのエピトープに特異的に結合することが見出される：ＭＧＹＩＰＬＶＧＡＰＬＧＧＡＡＲＡＬＡＨＧＶＲＶＬＥＤＧＶＮＹＡＴＧＮＬＰＧ。特に、モノクローナル抗体は、少なくとも、ＨＣＶコア抗原のアミノ酸１４１－１６１、１３４－１５４および１５１－１７１によって形成されるエピトープと免疫反応性である。これらのモノクローナル抗体の開示を考慮すると、本発明は、このような試験試料中のＨＣＶコア抗原の存在を決定することにより、試験試料中のＨＣＶの存在の迅速で効率的な検出を容易にする、特異的イムノアッセイにおけるその使用を企図する。

【００８２】

本明細書に記載のモノクローナル抗体（図１Ａおよび１Ｂを参照されたい。）の重鎖および軽鎖のＣＤＲを含むモノクローナル抗体およびその任意の誘導体（例えば、断片もしくはバリアント）をこのような誘導体がＨＣＶコアタンパク質脂質結合ドメインに特異的に結合する特性を保持する限り含む、抗ＨＣＶコア結合タンパク質は、哺乳動物におけるＣ型肝炎ウイルス感染を診断するまたは予後診断するためのイムノアッセイにおいて、使用され得る。本開示を通じて使用されるように、「哺乳動物」は、ヒトおよび非ヒト霊長類、ならびに他の動物を含む。イムノアッセイおよび関連方法における標的分析物は、ＨＣＶコアタンパク質の脂質結合ドメインであり、したがって、標的分析物は、例えばＨＣＶ感染後の試料中に存在するＨＣＶコアタンパク質であることが理解される。さらに、イムノアッセイは、少なくとも１つの分析物がＨＣＶコアタンパク質であり、第２もしくは追加の標的分析物が別のコアタンパク質分析物（例えば、ＨＣＶコアタンパク質のＤＮＡ結合ドメイン）であるまたはＨＣＶコアタンパク質ではない分析物であり得る場合、２以上の標的分析物を検出し得ることが、理解されるべきである。

【００８３】

抗ＨＣＶコアモノクローナル抗体の重鎖および軽鎖可変ドメインをコードするヌクレオ

チド（ＤＮＡ）配列および推定タンパク質配列を、アミノ酸１３４－１７１からのＨＣＶコア遺伝子型１コンセンサス配列および破傷風トキソイド（ＴＴ）ペプチド配列からなる合成ペプチドによって免疫化したマウスによって得た。いくつかの実施形態において、アミノ酸１３４－１７１配列を、ＢＳＡにコンジュゲートした。しかし、他の実施形態において、合成ペプチドを、当該分野で公知の方法によって、マウスにおいてより強力な免疫反応を提供するためにしばしば使用されるＴＴ配列にもコンジュゲートした。この方法は、本明細書以下および例えば以下において、詳細に記載される：Ｇｏｄｉｎｇ Ｊ．Ｗ．１９８３．Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ、Ｐｌａｄｅｒｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．、ＮＹ、Ｎ．Ｙ．、５６頁 ９７頁。簡潔にいうと、ヒト－ヒトハイブリドーマを産生するために、ヒトリンパ球ドナーが選択される。ＨＣＶに感染したとわかっているドナーは（感染が、例えば血液中の抗ウイルス抗体の存在によってまたはウイルス培養によって示されている場合）、好適なリンパ球ドナーとして貢献し得る。リンパ球は、末梢血試料から単離され得る、またはドナーが脾臓除去を受けた場合には脾臓細胞が使用され得る。エスプタイン－バーウイルス（ＥＢＶ）が、ヒトリンパ球を固定化するために使用され、またはヒト融合パートナーが、ヒト－ヒトハイブリドーマを産生するために使用され得る。ペプチドによる初回インビトロ免疫化もまた、ヒトモノクローナル抗体の産生において使用され得る。不死化細胞によって分泌される抗体がスクリーニングされ、所望の特異性の抗体を分泌するクローンを決定する。モノクローナル抗ＨＣＶコア抗体について、抗体は、ＨＣＶコアタンパク質に結合しなければならず、より詳細には、それぞれ、ＨＣＶコアタンパク質の脂質結合ドメインに結合しなければならない。所望の特異性の抗体を産生する細胞が、選択される。モノクローナル抗体を得るための当該分野で公知の他の方法が、使用され得る。以下の実施例は、いかにして抗ＨＣＶコアモノクローナル抗体が得られ、および細胞培養物中で成長したハイブリドーマ細胞からのｍＲＮＡの単離後に性質決定されるかを記載する。本発明の抗ＨＣＶコアモノクローナル抗体の重鎖および軽鎖可変領域の推定アミノ酸配列は、それぞれ図１Ａおよび図１Ｂに挙げられる。

【００８４】

重鎖および軽鎖ドメインの推定アミノ酸配列に、配列番号を割り当て、これをコードする対応するｃＤＮＡ配列を、付表ＡにおけるＳｅｑｕｅｎｃｅ Ｔａｂｌｅに示す。

【００８５】

Ｓｅｑｕｅｎｃｅ Ｔａｂｌｅに示すｃＤＮＡ配列は、本開示のｃＤＮＡの例示的な実施形態を表す。バリエーションが、ここで示されるｃＤＮＡ配列において企図される。このようなバリエーションとしては、Ｓｅｑｕｅｎｃｅ Ｔａｂｌｅで示される対応するタンパク質のアナログの産生を指向可能である核酸配列を生じるものが挙げられる。遺伝コードの縮重に起因して、対応するタンパク質またはそのアナログの産生を指向可能であり続けるＤＮＡ配列をもたらす多くのヌクレオチドの置換が行われ得ることが、理解される。本明細書に記載の配列のいずれかと機能的に等価であるこのようなバリアントＤＮＡ配列の全ては、本開示に含まれる。

【００８６】

本明細書に記載の任意の結合タンパク質（図１Ａおよび１Ｂにおいて示される本発明のモノクローナル抗体によって例示される。）のバリアントは、アミノ酸の付加（例えば挿入）、欠失または保存的置換によりアミノ酸配列において所定のタンパク質（例えば、抗ＨＣＶコアモノクローナル抗体）とは異なるが、所定のタンパク質の生物学的活性を保持するタンパク質（またはポリペプチド）を意味する。アミノ酸の保存的置換、すなわち、類似の特性（例えば、親水性および電荷領域の程度および分布）を有する異なるアミノ酸によるアミノ酸の置き換えは、当該分野で、代表的にわずかな変化を含むと認識される。これらのわずかな変化は、当該分野で理解されるように、アミノ酸の疎水性インデックスを考慮することによって、部分的に同定され得る（例えば、Ｋｙｔｅら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１５７：１０５－１３２（１９８２）を参照されたい。）。アミノ酸の疎水性インデックスは、その疎水性および電荷の考慮に基づく。類似の疎水性インデックスのアミ

ノ酸が置換され、なおタンパク質機能を保持することが、当該分野で公知である。１つの態様において、±２の疎水性インデックスを有するアミノ酸が、置換される。アミノ酸の親水性もまた、生物学的機能を保持するタンパク質を生じる置換を明らかにするために使用され得る。ペプチドの文脈において、アミノ酸の親水性の考慮は、このペプチドの最も高い局所平均親水性の計算を可能にし、抗原性および免疫原性と十分に相関すると報告されている有用な手段である（例えば、米国特許第４，５５４，１０１号を参照されたい。これは、参照により本明細書に組み込む。）。類似の親水性値を有するアミノ酸の置換は、当該分野で理解されるように、生物学的活性、例えば免疫原性を保持するペプチドを生じ得る。１つの態様において、置換は、互いに±２以内の親水性値を有するアミノ酸によって行われる。アミノ酸の疎水性インデックスと親水性値との両方が、このアミノ酸の特定の側鎖によって影響される。この観察と一致して、生物学的機能と適合性であるアミノ酸置換は、疎水性、親水性、電荷、大きさおよび他の特性によって明らかになるように、アミノ酸、特にこれらのアミノ酸の側鎖の相対的類似性に依存すると理解される。「バリアント」はまた、タンパク分解、リン酸化または他の翻訳後修飾によって異なった処理をされているが、なおその生物学的活性または抗原反応性、例えば、ＩＬ－１８に対する結合能力を保持するポリペプチドまたはその断片を記載するためにも使用され得る。文脈によって否定されない限り、本明細書で「バリアント」の使用は、バリアントの断片を含むことが企図される。

【００８７】

本発明の抗体またはこれらの抗体の抗原結合断片（例えば、本発明の抗体の重鎖および軽鎖ＣＤＲを含む断片）はまた、遺伝子操作によっても産生され得る。例えば、重鎖および軽鎖遺伝子の両方のイー・コリにおける発現のための技術は、ＰＣＴ特許出願：公開番号ＷＯ９０１４４３、ＷＯ９０１４４３およびＷＯ９０１４４２４、およびＨｕｓｅら、１９８９　Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４６：１２７５　１２８１の主題である。本開示はまた、本書中で記載されている核酸分子を含む単離された組換えベクター、およびこのような組換えベクターを含む宿主細胞をも含む。ベクターは、連結されている別の核酸を輸送可能な構築物であり得る、核酸分子である。ベクターは、好ましいまたは必要な任意の操作エレメントを含んでもよい。好ましいベクターは、制限部位が記載されており、核酸配列の転写のために必要な操作エレメントを含有するものである。このような操作エレメントは、例えば、少なくとも１つの適切なプロモーター、少なくとも１つのオペレーター、少なくとも１つのリーダー配列、少なくとも１つの終止コドン、および核酸配列の適切な転写およびその後の翻訳のために必要であるかまたは好ましい任意の他のＤＮＡ配列を含む。このようなベクターは、少なくとも１つの選択可能マーカーと共に宿主生物によって認識される少なくとも１つの複製起点、および核酸配列の転写を開始し得る少なくとも１つのプロモーター配列を含む。ベクターは、さらなるＤＮＡセグメントがライゲーションされ得るプラスミドであってもよい。ベクターは、さらなるＤＮＡセグメントがウイルスゲノム内にライゲーションされ得るウイルスベクターであってもよい。特定のベクターは、これらが導入された宿主細胞において自己複製可能である（例えば、細菌複製起源を有する細菌ベクターおよびエピソーム哺乳動物ベクター）。他のベクター（例えば、非エピソーム哺乳動物ベクター）は、宿主細胞への導入の際に宿主細胞のゲノム内に組み込まれ得、それによって、宿主ゲノムと共に複製される。さらに、特定のベクターは、これらが作動可能に連結された遺伝子の発現を対象とすることができる。このようなベクターは、本明細書で「組換え発現ベクター」（または単に、「発現ベクター」）と呼ばれる。一般に、組換えＤＮＡ技術において有用な発現ベクターは、しばしば、プラスミドの形態である。本明細書において、「プラスミド」および「ベクター」は、プラスミドが最も一般的に使用されるベクターの形態であるので、相互交換可能に使用され得る。しかし、本開示は、同等な機能を果たす他の形態の発現ベクター、例えばウイルスベクター（例えば、複製不全レトロウイルス、アデノウイルスおよびアデノ関連ウイルス）を含むことを意図する。

【００８８】

作動可能に連結した配列は、その意図する様式においてそれらが機能することを可能に

する関係性である。コード配列に作動可能に連結した制御配列は、制御配列と適合性である条件下でコード配列の発現が達成される様式で、ライゲーションされる。作動可能に連結した配列は、目的の遺伝子を制御するために、目的の遺伝子と連続する発現制御配列と、トランスでまたは離れて作動する発現制御配列との両方を含む。発現制御配列は、それらがライゲーションされているコード配列の発現およびプロセシングを果たすために必要なポリヌクレオチド配列である。発現制御配列は、適切な転写開始配列、終止配列、プロモーター配列およびエンハンサー配列；スプライシングシグナルおよびポリアデニル化シグナルなどの効率的なＲＮＡプロセシングシグナル；細胞質ｍＲＮＡを安定化させる配列；翻訳効率を向上させる配列（すなわち、Ｋｏｚａｋコンセンサス配列）；タンパク質安定性を増強する配列；ならびに、所望される場合、タンパク質分泌を増大する配列を含む。このような制御配列の性質は、宿主生物に依存して異なり、原核生物においては、このような制御配列は、一般に、プロモーター、リボソーム結合部位、および転写終止配列を含み、真核生物においては、このような制御配列は、プロモーターおよび転写終止配列を含む。制御配列は、存在が発現およびプロセシングに必須である構成要素を含み、存在が有益であるさらなる構成要素、例えば、リーダー配列および融合パートナー配列を含んでもよい。

【００８９】

宿主細胞は、この細胞に組換えによって本発明の抗体を産生させるために、外来性ＤＮＡを宿主細胞内に導入するベクターによって形質転換され得る。形質転換は、当該分野で周知の種々の方法を用いて、天然条件下または人工条件下で起こり得る。形質転換は、外来性核酸配列を原核生物宿主細胞または真核生物宿主細胞の中に挿入するための、任意の公知の方法に依存し得る。この方法は、形質転換される宿主細胞に基づいて選択され、ウイルス感染、エレクトロポレーション、リポフェクション、および微粒子銃が挙げられ得るが、これらに限定されない。形質転換細胞は、挿入されたＤＮＡが自己複製可能プラスミドとしてまたは宿主染色体の一部としてのいずれかで複製可能である安定的形質転換細胞、および限られた時間の間挿入されたＤＮＡまたはＲＮＡを一時的に発現する細胞を含む。

【００９０】

好適な宿主生物としては、例えば、ＨｅＬａ、ＭＲＣ－５またはＣＶ－１などの真核細胞系が挙げられるが、これらに限定されない。宿主細胞などの宿主生物は、当該分野で周知である、ベクターの増幅およびタンパク質の発現のために適切な条件下で培養される。発現された組換えタンパク質は、やはり当該分野で周知である多くの方法のいずれかによって、検出され得る。

【００９１】

本発明のＨＣＶ検出態様は、この抗体が、単に、ＨＣＶコア抗原を特異的に認識するモノクローナル抗体であることを必要とするだけであるが、いくつかの実施形態において、本発明の抗体のヒト化バージョンを産生することが望ましい場合がある。「ヒト化」抗体およびその産生は、当業者に周知である。「ヒト化」抗体の概説は、Ｍｏｒｒｉｓｏｎ Ｓ．、１９８５ Ｓｃｉｅｎｃｅ ２２９：１２０２およびＯｉら、１９８６ ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ４：２１４によって提供される。あるいは、好適な「ヒト化」抗体は、ＣＤＲまたはＣＥＡ置換によって産生される（Ｊｏｎｅｓら、１９８６ Ｎａｔｕｒｅ ３２１：５５２；Ｖｅｒｈｏｅｙａｎら、１９８８ Ｓｃｉｅｎｃｅ ２３９：１５３４；Ｂｉｅｄｌｅｒら １９８８ Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４１：４０５３、これらの開示全体は、本明細書で参考によって組み込まれる）。

【００９２】

他の実施形態において、本発明のモノクローナル抗体は、操作され誘導体化された結合タンパク質の産生のための有用な開始物質として寄与し得、本明細書に記載の１つ以上の抗ＨＣＶモノクローナル抗体を含む二重可変ドメイン免疫グロブリン（ＤＶＤ－Ｉｇ）結合タンパク質が挙げられる。例えば、ＨＣＶコアタンパク質に対し独特の結合親和性を有するＤＶＤ－Ｉｇが、例えば、米国特許第７，６１２，１８１号に記載されているように

産生され得、この開示は、参照により本明細書に組み込む。ＤＶＤ－Ｉｇ結合タンパク質は、１つ以上の標的に結合可能である。好ましくは、結合タンパク質は、ＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－－（Ｘ２）ｎを含むポリペプチド鎖を含み、ここで、ＶＤ１は、第１の可変ドメインであり、ＶＤ２は、第２の可変ドメインであり、Ｃは、定常ドメインであり、Ｘ１は、アミノ酸またはポリペプチドを表し、Ｘ２は、Ｆｃ領域を表し、およびｎは、０または１である。結合タンパク質は、種々の技術を用いて産生され得る。

【００９３】

例示的な技術において、ＤＶＤ－Ｉｇは、４つの機能的抗原結合部位を形成する４つのポリペプチド鎖と共に形成され得る。したがって、例えば、ＤＶＤ－Ｉｇは、ＨＣＶコアタンパク質の結合を可能にする。結合タンパク質は、ＨＣＶコアタンパク質の生物学的機能を調節可能であるか、または、ＨＣＶコアタンパク質を中和可能である。例示的なこのような結合タンパク質は、本発明の抗体の１つと少なくとも９０％同一なアミノ酸配列を含む少なくとも１つの重鎖可変ドメインと、この軽鎖可変ドメインの配列と少なくとも９０％同一なアミノ酸配列を含む少なくとも対応する軽鎖可変ドメインとを有する。

【００９４】

ＤＶＤ結合タンパク質の可変ドメインは、目的の抗原に結合可能であるポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体を含む、親抗体から得られ得る。本明細書で記載されているＨＣＶコアタンパク質に特異的に結合するモノクローナル抗体は、好適な親抗体である。一般に、ＤＶＤ結合タンパク質のために使用される抗体は、天然に存在してもよく、または組換え技術によって生成されてもよい。

【００９５】

モノクローナル抗体は、ハイブリドーマ、組換えおよびファージディスプレイ技術またはこれらの組み合わせの使用を含む、当該分野で公知の広範な種々の技術を用いて調製され得る。例えば、モノクローナル抗体は、抗ＨＣＶコアタンパク質モノクローナル抗体を調製するために本明細書に記載されたもの、ならびに、当該分野および例えば以下の教示において公知のものを含む、ハイブリドーマ技術を用いて産生され得る。Ｈａｒｌｏｗら、Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ、第2版 １９８８）；Ｈａｍｍｅｒｌｉｎｇら、ｉｎ：Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｔ－Ｃｅｌｌ Ｈｙｂｒｉｄｏｍａｓ ５６３－６８１（Ｅｌｓｅｖｉｅｒ，Ｎ．Ｙ．、１９８１）（前記参考文献は、その全体を参照により本明細書に組み込む）。用語「モノクローナル抗体」は、本明細書で使用される場合、ハイブリドーマ技術を通して産生される抗体に限定されない。用語「モノクローナル抗体」は、任意の真核、原核またはファージクローンを含む１つのクローンに由来する抗体をいい、それが産生された方法ではない。ハイブリドーマは、以下の実施例１で議論されるように、強力なハイブリドーマ増殖、高い抗体産生および所望の抗体特徴を含む所望の特徴について、選択され、クローニングされ、さらにスクリーニングされる。ハイブリドーマは、インビボで同系動物内で、免疫系を欠く動物、例えばヌードマウス内で、またはインビトロで細胞培養において、培養されて拡大される。ハイブリドーマの選択、クローニングおよび拡大方法は、当業者に周知である。好ましい実施形態において、ハイブリドーマは、マウスハイブリドーマである。別の好ましい実施形態において、ハイブリドーマは、ラット、ヒツジ、ブタ、ヤギ、ウシまたはウマなどの、非ヒト非マウス種において産生される。別の実施形態において、ハイブリドーマは、ヒト非分泌性骨髄腫が特定の抗原に結合可能な抗体を発現するヒト細胞と融合された、ヒトハイブリドーマである。

【００９６】

組換えモノクローナル抗体はまた、以下で記載される、当該分野で選択されたリンパ球抗体方法（ＳＬＡＭ）と呼ばれる手順を用いて、１つの単離されたリンパ球からも生成される：米国特許第５，６２７，０５２号、ＰＣＴ公開ＷＯ９２／０２５５１およびＢａｂｃｏｃｋ，Ｊ．Ｓ．ら（１９９６）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９３：７８４３－７８４８。この方法において、目的の抗体を分泌する１つの細胞、例えば

、免疫化動物に由来するリンパ球を同定し、ｃＤＮＡの重鎖および軽鎖可変領域を逆転写酵素ＰＣＲによって細胞から救出し、次いで、これらの可変領域を、適切な免疫グロブリン定常領域（例えば、ヒト定常領域）の中で、哺乳動物宿主細胞、例えばＣＯＳまたはＣＨＯ細胞において、発現させ得る。増幅した免疫グロブリン配列によってトランスフェクトした宿主細胞は、インビボ選択したリンパ球に由来し、次いで、例えば、目的の抗原に対する抗体を発現する細胞を単離するためのトランスフェクトされた細胞のパニングにより、インビトロでさらなる分析および選択を受け得る。増幅した免疫グロブリン配列は、さらに、例えば、ＰＣＴ公開ＷＯ９７／２９１３１およびＰＣＴ公開ＷＯ００／５６７７２で記載されているようなインビトロ親和性成熟法によって、インビトロで操作され得る。

【００９７】

モノクローナル抗体はまた、いくつかの、または全ての、ヒト免疫グロブリン遺伝子座を含む、非ヒト動物を目的の抗原により免疫化することによっても、産生される。好ましい実施形態において、非ヒト動物は、ＸＥＮＯＭＯＵＳＥ（登録商標）トランスジェニックマウスであり、これは、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の大きな断片を含み、マウス抗体産生を欠損した、操作されたマウス系統である。例えば、Ｇｒｅｅｎら Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ ７：１３－２１（１９９４）ならびに米国特許第５，９１６，７７１号、第５，９３９，５９８号、第５，９８５，６１５号、第５，９９８，２０９号、第６，０７５，１８１号、第６，０９１，００１号、第６，１１４，５９８号および第６，１３０，３６４号を参照されたい。また、ＷＯ９１／１０７４１（１９９１年７月２５日公開）、ＷＯ９４／０２６０２（１９９４年２月３日公開）、ＷＯ９６／３４０９６およびＷＯ９６／３３７３５（両者とも１９９６年１０月３１日公開）、ＷＯ９８／１６６５４（１９９８年４月２３日公開）、ＷＯ９８／２４８９３（１９９８年６月１１日公開）、ＷＯ９８／５０４３３（１９９８年１１月１２日公開）、ＷＯ９９／４５０３１（１９９９年９月１０日公開）、ＷＯ９９／５３０４９（１９９９年１０月２１日公開）、ＷＯ００ ０９５６０（２０００年２月２４日公開）ならびにＷＯ ００／０３７５０４（２０００年６月２９日公開）もまた、参照されたい。ＸＥＮＯＭＯＵＳＥ．ＲＴＭ．トランスジェニックマウスは、完全ヒト抗体の成体様ヒトレパートリーを産生し、抗原特異的ヒトＭａｂを生成する。ＸＥＮＯＭＯＵＳＥ（登録商標）トランスジェニックマウスは、ヒト重鎖遺伝子座およびｘ軽鎖遺伝子座のメガベースサイズの生殖系列構造ＹＡＣ断片の導入を通して、ヒト抗体レパートリーのおよそ８０％を含有する。Ｍｅｎｄｅｚら、Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ １５：１４６－１５６（１９９７）、Ｇｒｅｅｎ ａｎｄ Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｓ Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１８８：４８３－４９５（１９９８）を参照されたい、これらの開示は、参照により本明細書に組み込む。

【００９８】

親抗体を作製するために、インビトロ方法もまた使用され得、ここで、抗体ライブラリーが、所望の結合特異性を有する抗体を同定するために、スクリーニングされる。組換え抗体ライブラリーのこのようなスクリーニングのための方法は、当該分野で周知であり、例えば、：Ｌａｄｎｅｒら 米国特許第５，２２３，４０９号；Ｋａｎｇら ＰＣＴ公開番号ＷＯ９２／１８６１９；Ｄｏｗｅｒら ＰＣＴ公開番号ＷＯ９１／１７２７１；Ｗｉｎｔｅｒら ＰＣＴ公開番号ＷＯ９２／２０７９１；Ｍａｒｋｌａｎｄら ＰＣＴ公開番号ＷＯ９２／１５６７９；Ｂｒｅｉｔｌｉｎｇら ＰＣＴ公開番号ＷＯ９３／０１２８８；ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙら ＰＣＴ公開番号ＷＯ９２／０１０４７；Ｇａｒｒａｒｄら ＰＣＴ公開番号ＷＯ９２／０９６９０；Ｆｕｃｈｓら（１９９１）Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ９：１３７０－１３７２；Ｈａｙら（１９９２）Ｈｕｍ Ａｎｔｉｂｏｄ Ｈｙｂｒｉｄｏｍａｓ ３：８１－８５；Ｈｕｓｅら（１９８９）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４６：１２７５－１２８１；ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙら、Ｎａｔｕｒｅ（１９９０）３４８：５５２－５５４；Ｇｒｉｆｆｉｔｈｓら（１９９３）ＥＭＢＯ Ｊ．１２：７２５－７３４；Ｈａｗｋｉｎｓら（１９９２）Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ ２２６：８８９－８９６；Ｃｌａｃｋｓｏｎら（１９９１）Ｎａｔｕｒｅ ３５２：６２４－６２８；Ｇｒａｍら（１９

９２）ＰＮＡＳ ８９：３５７６－３５８０；Ｇａｒｒａｄら（１９９１）Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ９：１３７３－１３７７；Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍら（１９９１）Ｎｕｃ Ａｃｉｄ Ｒｅｓ １９：４１３３－４１３７；およびＢａｒｂａｓら（１９９１）ＰＮＡＳ ８８：７９７８－７９８２、米国特許出願公開第２００３０１８６３７４号、ならびにＰＣＴ公開番号ＷＯ９７／２９１３１。これらの各々の内容は、参照により本明細書に組み込む。

【００９９】

親抗体はまた、当該分野で公知の種々のファージディスプレイ方法を用いて生成されてもよい。ファージディスプレイ方法において、機能的抗体ドメインが、これらをコードするポリヌクレオチド配列を保有するファージ粒子の表面上に呈示される。特に、このようなファージは、レパートリーまたはコンビナトリアル抗体ライブラリー（例えば、ヒトまたはマウス）から発現される抗原結合ドメインを提示するために、利用され得る。目的の抗原に結合する抗原結合ドメインを発現するファージは、抗原によって、例えば標識抗原または固体表面もしくはビーズに結合もしくは捕捉された抗原を用いて、選択され得るかまたは同定され得る。これらの方法において使用されるファージは、代表的には、Ｆａｂ、Ｆｖまたはジスルフィド安定化Ｆｖ抗体ドメインを有するファージから発現され、ファージ遺伝子ＩＩＩまたは遺伝子ＶＩＩＩタンパク質のいずれかと組換えによって融合された、ｆｄおよびＭ１３結合ドメインを含む繊維状ファージである。ファージディスプレイ方法の例は、本明細書に記載の抗体を作製するために使用され得るものであり、以下に開示されるものを含む：Ｂｒｉｎｋｍａｎら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ １８２：４１－５０（１９９５）；Ａｍｅｓら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ １８４：１７７－１８６（１９９５）；Ｋｅｔｔｌｅｂｏｒｏｕｇｈら Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２４：９５２－９５８（１９９４）；Ｐｅｒｓｉｃら、Ｇｅｎｅ １８７ ９－１８（１９９７）；Ｂｕｒｔｏｎら、Ａｄｖａｎｃｅｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ５７：１９１－２８０（１９９４）；ＰＣＴ出願番号ＰＣＴ／ＧＢ９１／０１１３４；ＰＣＴ公開ＷＯ９０／０２８０９；ＷＯ９１／１０７３７；ＷＯ９２／０１０４７；ＷＯ９２／１８６１９；ＷＯ９３／１１２３６；ＷＯ９５／１５９８２；ＷＯ９５／２０４０１；ならびに米国特許第５，６９８，４２６号；第５，２２３，４０９号；第５，４０３，４８４号；第５，５８０，７１７号；第５，４２７，９０８号；第５，７５０，７５３号；第５，８２１，０４７号；第５，５７１，６９８号；第５，４２７，９０８号；第５，５１６，６３７号；第５，７８０，２２５号；第５，６５８，７２７号；第５，７３３，７４３号および第５，９６９，１０８号であり、これらのそれぞれは、その全体を参照により本明細書に組み込む。

【０１００】

上記参考文献において記載されているように、ファージ選択の後、ファージ由来の抗体コード領域は単離され得、ヒト抗体または任意の他の所望の抗原結合断片を含む抗体全体を生成するために使用されて、哺乳動物細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵母および細菌を含む任意の所望の宿主中で、例えば、以下で詳細に記載されるように、発現される。例えば、Ｆａｂ、Ｆａｂ’およびＦ（ａｂ’）２断片を組換えによって産生する技術は、以下で記載されているような当該分野で公知の方法を用いて使用されてもよい：ＰＣＴ公開ＷＯ９２／２２３２４；Ｍｕｌｌｉｎａｘら、ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ １２（６）：８６４－８６９（１９９２）；およびＳａｗａｉら、ＡＪＲＩ ３４：２６－３４（１９９５）；およびＢｅｔｔｅｒら、Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４０：１０４１－１０４３（１９８８）（これらの参考文献は、その全体を参照に組み込む。）。単鎖Ｆｖを産生するために使用され得る例示的な技術としては、以下に記載されているものが挙げられる：米国特許第４，９４６，７７８号および第５，２５８，４９８号；Ｈｕｓｔｏｎら、Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ ２０３：４６－８８（１９９１）；Ｓｈｕら、ＰＮＡＳ ９０：７９９５－７９９９（１９９３）；およびＳｋｅｒｒａら Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４０：１０３８－１０４０（１９８８）。

【０１０１】

組換え抗体ライブラリーのファージディスプレイによるスクリーニングの代わりに、大型のコンビナトリアルライブラリーをスクリーニングするための当該分野で公知の他の方法論が、親抗体を同定するために適用されてもよい。代替の発現系の１つの型は、以下で記載されているＲＮＡタンパク質融合体として発現される組換え抗体ライブラリーにおけるものである：ＰＣＴ公開番号ＷＯ９８／３１７００（ＳｚｏｓｔａｋおよびＲｏｂｅｒｔｓ）ならびにＲｏｂｅｒｔｓ Ｒ．Ｗ．およびＳｚｏｓｔａｋ Ｊ．Ｗ．（１９９７）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９４：１２２９７－１２３０２。この系において、共有結合融合が、ペプチジルアクセプター抗生物質であるピューロマイシンをその３’末端に保有する合成ｍＲＮＡのインビトロ翻訳によって、ｍＲＮＡとこれをコードするペプチドまたはタンパク質との間に作られる。したがって、特異的ｍＲＮＡは、コードするペプチドまたはタンパク質（例えば抗体もしくはその部分）の特性（例えば二重特異性抗原に対する抗体もしくはその部分の結合）に基づき、ｍＲＮＡの複合混合物（例えば、コンビナトリアルライブラリー）から富化され得る。このようなライブラリーのスクリーニングから回収された抗体またはその部分をコードする核酸配列は、上述の様な組換え手段によって（例えば、哺乳動物宿主細胞において）発現され得、さらに、元の選択された配列内に突然変異が導入されているｍＲＮＡペプチド融合の追加のスクリーニング、または組換え抗体のインビトロでの親和性成熟のための他の方法により、上述のように、さらなる親和性成熟に供され得る。

【０１０２】

別のアプローチにおいて、親抗体はまた、当該分野で公知の酵母ディスプレイ方法を用いて産生されてもよい。酵母ディスプレイ方法において、抗体ドメインを酵母細胞壁に繋ぎ、酵母の表面上にそれらを提示するために、遺伝的方法が使用される。詳細には、このような酵母は、レパートリーまたはコンビナトリアル抗体ライブラリー（例えば、ヒトまたはマウス）から発現される抗原結合ドメインを提示するために利用され得る。酵母ディスプレイ方法の例は、親抗体を作製するために使用され得るものであり、参照により本明細書に組み込むＷｉｔｔｒｕｐらの米国特許第６，６９９，６５８号で開示されるものを含む。

【０１０３】

本明細書に記載のモノクローナル抗体は、ＣＤＲグラフト親抗体およびヒト化親抗体を生成するために、さらに改変されてもよい。ＣＤＲグラフト親抗体は、ヒト抗体由来の重鎖および軽鎖可変領域配列を含み、ここで、ＶＨおよび／またはＶＬの１つ以上のＣＤＲ領域が、目的の抗原に結合可能であるマウス抗体のＣＤＲ配列と置き換えられる。任意のヒト抗体由来のフレームワーク配列は、ＣＤＲグラフのためのテンプレートとして寄与し得る。しかし、このようなフレームワーク上の直鎖置き換えは、しばしば、抗原に対する結合親和性の何らかの欠失をもたらす。より相同なヒト抗体は、元のマウス抗体に対し、ヒトフレームワークを有するマウスＣＤＲの組み合わせが、親和性を低減し得るＣＤＲの歪みを導入する可能性が低い。したがって、ＣＤＲではなく、マウス可変フレームワークを置き換えるために選択されたヒト可変フレームワークが、マウス抗体可変領域フレームワークに対し少なくとも６５％の配列同一性を有することが好ましい。ＣＤＲを除くヒトおよびマウス可変領域が、少なくとも７０％の配列同一性を有することがより好ましい。ＣＤＲを除くヒトおよびマウス可変領域が、少なくとも７５％の配列同一性を有することがなおより好ましい。ＣＤＲを除くヒトおよびマウス可変領域が、少なくとも８０％の配列同一性を有することが最も好ましい。このような抗体を産生するための方法は、当該分野で公知である（ＥＰ２３９，４００；ＰＣＴ公開ＷＯ９１／０９９６７；米国特許第５，２２５，５３９号；第５，５３０，１０１号；および第５，５８５，０８９号を参照されたい。）、ベニヤリングまたはリサーフェシング（ＥＰ５９２，１０６；ＥＰ５１９，５９６；Ｐａｄｌａｎ、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ２８（４／５）：４８９－４９８（１９９１）；Ｓｔｕｄｎｉｃｋａら、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ ７（６）：８０５－８１４（１９９４）；Ｒｏｇｕｓｋａら、ＰＮＡＳ ９１：９６９－９７３（１９９４））、およびチェーンシャフリング（米国特許第５，５６５

，３５２号）。

【０１０４】

ヒト化抗体は、非ヒト種由来の１つ以上の相補性決定領域（ＣＤＲ）およびヒト免疫グロブリン分子由来のフレームワーク領域を有する、所望の抗原に結合する非ヒト種抗体由来の抗体分子である。公知のヒトＩｇ配列は、例えば、以下に開示される：ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／ｅｎｔｒｅｚ－／ｑｕｅｒｙ．ｆｃｇｉ；ｗｗｗ．ａｔｃｃ．ｏｒｇ／ｐｈａｇｅ／ｈｄｂ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｓｃｉｑｕｅｓｔ．ｃｏｍ／；ｗｗｗ．ａｂｃａｍ．ｃｏｍ／；ｗｗｗ．ａｎｔｉｂｏｄｙｒｅｓｏｕｒｃｅ．ｃｏｍ／ｏｎｌｉｎｅｃｏｍｐ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｐｕｂｌｉｃ．ｉａｓｔａｔｅ．ｅｄｕ／．ａｂｏｕｔ．ｐｅｄｒｏ／ｒｅｓｅａｒｃｈ＿ｔｏｏｌｓ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｍｇｅｎ．ｕｎｉ－ｈｅｉｄｅｌｂｅｒｇ．ｄｅ／ＳＤ／ＩＴ／ＩＴ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｗｈｆｒｅｅｍａｎ．ｃｏｍ／ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ／ＣＨ－０５／ｋｕｂｙ０５．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｌｉｂｒａｒｙ．ｔｈｉｎｋｑｕｅｓｔ．ｏｒｇ／１２４２９／Ｉｍｍｕｎｅ／Ａｎｔｉｂｏｄｙ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｈｈｍｉ．ｏｒｇ／ｇｒａｎｔｓ／ｌｅｃｔｕｒｅｓ／１９９６／ｖｌａｂ／；ｗｗｗ．ｐａｔｈ．ｃａｍ．ａｃ．ｕｋ／．ａｂｏｕｔ．ｍｒｃ７／ｍ－ｉｋｅｉｍａｇｅｓ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ａｎｔｉｂｏｄｙｒｅｓｏｕｒｃｅ．ｃｏｍ／；ｍｃｂ．ｈａｒｖａｒｄ．ｅｄｕ／ＢｉｏＬｉｎｋｓ／Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ．ｈｔｍｌ．ｗｗｗ．ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙｌｉｎｋ．ｃｏｍ／；ｐａｔｈｂｏｘ．ｗｕｓｔｌ．ｅｄｕ／．ａｂｏｕｔ．ｈｃｅｎｔｅｒ／ｉｎｄｅｘ．－ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｂｉｏｔｅｃｈ．ｕｆｌ．ｅｄｕ／．ａｂｏｕｔ．ｈｃｌ／；ｗｗｗ．ｐｅｂｉｏ．ｃｏｍ／ｐａ／３４０９１３／３４０９１３．ｈｔｍｌ－；ｗｗｗ．ｎａｌ．ｕｓｄａ．ｇｏｖ／ａｗｉｃ／ｐｕｂｓ／ａｎｔｉｂｏｄｙ／；ｗｗｗ．ｍ．ｅｈｉｍｅ－ｕ．ａｃｊｐ／．ａｂｏｕｔ．ｙａｓｕｈｉｔｏ－／Ｅｌｉｓａ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｂｉｏｄｅｓｉｇｎ．ｃｏｍ／ｔａｂｌｅ．ａｓｐ；ｗｗｗ．ｉｃｎｅｔ．ｕｋ／ａｘｐ／ｆａｃｓ／ｄａｖｉｅｓ／ｌｉｎ－ｋｓ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｂｉｏｔｅｃｈ．ｕｆｌ．ｅｄｕ／．ａｂｏｕｔ．ｆｃｃｌ／ｐｒｏｔｏｃｏｌ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｉｓａｃ－ｎｅｔ．ｏｒｇ／ｓｉｔｅｓ＿ｇｅｏ．ｈｔｍｌ；ａｘｉｍｔｌ．ｉｍｔ．ｕｎｉ－ｍａｒｂｕｒｇ．ｄｅ／．ａｂｏｕｔ．ｒｅｋ／ＡＥＰ－Ｓｔａｒｔ．ｈｔｍｌ；ｂａｓｅｒｖ．ｕｃｉ．ｋｕｎ．ｎｌ／．ａｂｏｕｔｊｒａａｔｓ／ｌｉｎｋｓｌ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｒｅｃａｂ．ｕｎｉ－ｈｄ．ｄｅ／ｉｍｍｕｎｏ．ｂｍｅ．ｎｗｕ．ｅｄｕ／；ｗｗｗ．ｍｒｃ－ｃｐｅ．ｃａｍ．ａｃ．ｕｋ／ｉｍｔ－ｄｏｃ／ｐｕ－ｂｌｉｃ／ＩＮＴＲＯ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｉｂｔ．ｕｎａｍ．ｍｘ／ｖｉｒＶ＿－ｍｉｃｅ．ｈｔｍｌ；ｉｍｇｔ．ｃｎｕｓｃ．ｆｒ：８１０４／；ｗｗｗ．ｂｉｏｃｈｅｍ．ｕｃｌ．ａｃ．ｕｋ／．ａｂｏｕｔ．ｍａｒｔｉｎ／ａｂｓ／ｉｎｄｅｘ．ｈｔｍｌ；ａｎｔｉｂｏｄｙ．ｂａｔｈ．ａｃ．ｕｋ／；ａｂｇｅｎ．ｃｖｍ．ｔａｍｕ．ｅｄｕ／ｌａｂ／ｗｗａｂｇｅｎ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｕｎｉｚｈ．ｃｈ／．ａｂｏｕｔ．ｈｏｎｅｇｇｅｒ／ＡＨＯｓｅｍｉｎａｒ／Ｓｌｉｄｅ０１．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｃｒｙｓｔ．ｂｂｋ．ａｃ．ｕｋ／．ａｂｏｕｔ．ｕｂｃｇ０７ｓ／；ｗｗｗ．ｎｉｍｒ．ｍｒｃ．ａｃ．ｕｋ／ＣＣ／ｃｃａｅｗｇ／ｃｃａｅｗｇ．ｈｔｍ；ｗｗｗ．ｐａｔｈ．ｃａｍ．ａｃ．ｕｋ／．ａｂｏｕｔ．ｍｒｃ７／ｈｕｍａｎｉｓａｔｉｏｎ／ＴＡＨＨＰ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｉｂｔ．ｕｎａｍ．ｍｘ／ｖｉｒ／ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ／ｓｔａｔａｉｍ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｂｉｏｓｃｉ．ｍｉｓｓｏｕｒｉ．ｅｄｕ／ｓｍｉｔｈｇｐ／ｉｎｄｅｘ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｃｒｙｓｔ．ｂｉｏｃ．ｃａｍ．ａｃ．ｕｋ／．ａｂｏ－ｕｔ．ｆｍｏｌｉｎａ／Ｗｅｂｐａｇｅｓ／Ｐｅｐｔ／ｓｐｏｔｔｅｃｈ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗｊｅｒｉｎｉ．ｄｅ／ｆｒ ｒｏｄｕｃｔｓ．ｈｔｍ；ｗｗｗ．ｐａｔｅｎｔｓ．ｉｂｍ．ｃｏｎ／ｉｂｍ．ｈｔｍｌ．Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．、Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐｔ．Ｈｅａｌｔｈ（１９８３）、これらの全体を参照により本明細書に組み込む。このような導入された配列は、免疫原性を低減するため、または、結合親和性、結合速度、解離速度、アビディティ、特異性、半減期もしくは当該分野で公知の他の好適な特徴を、低下させるか、増強させるかもし

くは改変するために、使用され得る。

【０１０５】

ヒトフレームワーク領域におけるフレームワーク残基は、ＣＤＲドナー抗体から対応する残基を置換して、抗原結合を変え、好ましくは改善し得る。これらのフレームワーク置換は、当該分野で周知の方法によって、例えば、抗原結合のために重要なフレームワーク残基を同定するためのＣＤＲとフレームワーク残基との相互作用のモデリング、および特定の位置における異常なフレームワーク残基を同定するための配列比較により、同定される。（例えば、Ｑｕｅｅｎら、米国特許第５，５８５，０８９号；Ｒｉｅｃｈｍａｎｎら、Ｎａｔｕｒｅ ３３２：３２３（１９８８）を参照されたい。これらは、その全体を参照により本明細書に組み込む。）三次元免疫グロブリンモデルは、一般的に利用可能であり、当業者に周知である。選択された候補免疫グロブリン配列の予想三次元立体構造を説明し図示することができるコンピュータープログラムが、利用可能である。これらのディスプレイの調査は、候補免疫グロブリン配列の機能における残基の可能性のある役割の分析、すなわち、その抗原に結合する免疫グロブリンの候補の能力に影響を及ぼす残基の分析を可能にする。この方法において、ＦＲ残基は、コンセンサス配列および重要配列から選択されて、組み合わされ、所望の抗体特徴、例えば標的抗原に対する親和性の向上が、達成される。一般的に、ＣＤＲ残基は、直接的におよび最も実質的に、抗原結合に影響及ぼすことに関与する。抗体は、以下に記載されているものなどであるが、これらに限定されない、当該分野で公知の種々の技術を用いてヒト化され得る：Ｊｏｎｅｓら、Ｎａｔｕｒｅ ３２１：５２２（１９８６）；Ｖｅｒｈｏｅｙｅｎら、Ｓｃｉｅｎｃｅ ２３９：１５３４（１９８８））、Ｓｉｍｓら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５１：２２９６（１９９３）；ＣｈｏｔｈｉａおよびＬｅｓｋ、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１（１９８７）、Ｃａｒｔｅｒら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．８９：４２８５（１９９２）；Ｐｒｅｓｔａら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５１：２６２３（１９９３）、Ｐａｄｌａｎ、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ２８（４／５）：４８９－４９８（１９９１）；Ｓｔｕｄｎｉｃｋａら、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ ７（６）：８０５－８１４（１９９４）；Ｒｏｇｕｓｋａら、ＰＮＡＳ ９１：９６９－９７３（１９９４）；ＰＣＴ公開ＷＯ９１／０９９６７、ＰＣＴ／：ＵＳ９８／１６２８０、ＵＳ９６／１８９７８、ＵＳ９１／０９６３０、ＵＳ９１／０５９３９、ＵＳ９４／０１２３４、ＧＢ８９／０１３３４、ＧＢ９１／０１１３４、ＧＢ９２／０１７５５；ＷＯ９０／１４４４３、ＷＯ９０／１４４２４、ＷＯ９０／１４４３０、ＥＰ２２９２４６、ＥＰ５９２，１０６；ＥＰ５１９，５９６、ＥＰ２３９，４００、米国特許第５，５６５，３３２号、第５，７２３，３２３号、第５，９７６，８６２号、第５，８２４，５１４号、第５，８１７，４８３号、第５，８１４，４７６号、第５，７６３，１９２号、第５，７２３，３２３号、第５，７６６，８８６号、第５，７１４，３５２号、第６，２０４，０２３号、第６，１８０，３７０号、第５，６９３，７６２号、第５，５３０，１０１号、第５，５８５，０８９号、第５，２２５，５３９号；第４，８１６，５６７号、このそれぞれを、その中に挙げられた参考文献を含めて、参照により本明細書に組み込む。

【０１０６】

当該分野で周知であるように、親モノクローナル抗体は、ＨＣＶタンパク質を含む、またはＨＣＶタンパク質に加えて、特定の標的に結合可能である種々のモノクローナル抗体から選択されてもよい。

【０１０７】

親モノクローナル抗体はまた、使用のため、臨床試験において、または臨床使用のための開発において認可された種々の治療抗体から、特に、ＨＣＶ感染の症状の処置において、またはＨＣＶ感染と共存する特に肝細胞癌腫を含む癌などの状態または疾患の処置において適用可能であり得る治療抗体からも、選択され得る。

【０１０８】

本発明を通して述べられるように、本発明の抗体を標識することが、望ましい場合があ

る。標識抗体（または本発明の抗体の１つに由来する結合タンパク質）は、別の機能的分子（例えば、別のペプチドまたはタンパク質）を誘導体化するか、またはこれに連結する抗体を含む。例えば、別の抗体（例えば、二特異性抗体またはダイアボディ）、検出可能薬剤、細胞毒性剤、医薬品、および／または別の分子とタンパク質の結合を媒介し得るタンパク質またはペプチド（例えば、ストレプトアビジンコア領域またはポリヒスチジンタグ）などの１つ以上の他の分子実体と（化学的カップリング、遺伝子融合、非共有結合またはそれ以外により）機能的に連結することにより、モノクローナル抗体は、誘導体化され得る。

【０１０９】

モノクローナル抗体が誘導体化され得る有用な検出可能な薬剤は、蛍光化合物を含む。例示的な蛍光検出可能薬剤としては、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、５－ジメチルアミン－１－ナフタレンスルホニルクロリド、フィコエリトリンなどが挙げられる。抗体はまた、検出可能酵素、例えばアルカリホスファターゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ、グルコースオキシダーゼなどによって誘導体化され得る。検出可能酵素によって誘導体化される場合、検出は、酵素を使用して検出可能反応産物を産生するさらなる試薬を添加することによって達成される。例えば、検出可能薬剤である西洋ワサビペルオキシダーゼが存在する場合、過酸化水素およびジアミノベンジジンの添加は、検出可能である着色反応産物を生じる。本発明のモノクローナル抗体はまた、ビオチンによって誘導体化され得、アビジンまたはストレプトアビジン結合の間接的測定、またはその逆を通して検出され得る。

【０１１０】

本発明の組成物は、試験試料中のＨＣＶコア抗原の存在を決定するための診断適用における実証された使用を有するので、本発明の組成物はまた、哺乳動物に対するインビボ投与のための診断または治療目的を果たし得ることが、企図される。したがって、いくつかの実施形態において、本発明は、本書中で開示される１つ以上の抗ＨＣＶコア結合タンパク質を活性成分として含む医薬組成物および診断組成物を提供する。医薬組成物または診断組成物は、本明細書に記載の任意のモノクローナル抗体、またはその任意の組み合わせ、および医薬として許容できる担体、希釈剤および／または賦形剤を含み得る。一般的に、医薬組成物および診断組成物は、活性成分を、担体、希釈剤および／または賦形剤と組み合わせることによって調製される。

【０１１１】

本明細書に記載の結合タンパク質を含む組成物は、障害の診断、検出またはモニタリングにおける使用であるが、これらに限定されない使用のためのものであるが、障害または１つ以上のその症状の予防、処置、管理または緩和における使用、および／または研究における使用をも見出す。詳細な実施形態において、組成物は、本発明の１つ以上のモノクローナル抗体または本発明の１つ以上のモノクローナル抗体に由来する結合タンパク質を含む。別の実施形態において、組成物は、本明細書に記載の１つ以上のモノクローナル抗体またはそれに由来する結合タンパク質、および本明細書に記載のモノクローナル抗体またはそれに由来する結合タンパク質以外の１つ以上の診断、予後診断または治療薬剤を含む。

【０１１２】

イムノアッセイ

本開示に従うイムノアッセイは、当該分野で一般に認識されている技術を含み、これらとしては、例えば、ラジオイムノアッセイ、ウエスタンブロットアッセイ、免疫蛍光アッセイ、酵素イムノアッセイ、化学発光アッセイ、免疫組織学アッセイ、免疫沈降などが挙げられる。ＥＬＩＳＡについて当該分野で公知である標準的技術は、周知であり、例えば、Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｄｉａｇｎｏｓｉｓ、第２版、ＲｏｓｅおよびＢｉｇａｚｚｉ編、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ、１９８０およびＣａｍｐｂｅｌｌら、Ｍｅｔｈｏｄｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、Ｗ．Ａ．Ｂｅｎｊａｍｉｎ，Ｉｎｃ．、１９６４に記載されている。これらの両方を参照により本明細書に組み込む。

イムノアッセイは、当該分野に記載されているように、直接的、間接的、競合的または非競合的なイムノアッセイであり得る（Ｏｅｌｌｅｒｉｃｈ、Ｍ．１９８４．Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｃｈｅｍ．Ｃｌｉｎ．ＢｉｏＣｈｅｍ ２２：８９５ ９０４）。このような検出アッセイのために適切な生物学的試料としては、血液、血漿、血清、肝臓、唾液、リンパ球または他の単核細胞が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１１３】

好ましい実施形態において、本明細書に記載の抗体は、ＨＣＶの検出のために特異的なイムノアッセイにおいて使用される。例としては、サンドイッチイムノアッセイ、放射性同位体検出（ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ））および酵素検出（酵素イムノアッセイ（ＥＩＡ）または酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）（例えば、Ｑｕａｎｔｉｋｉｎｅ ＥＬＩＳＡアッセイ、Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ、Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ、Ｍｉｎｎ．））競合阻害イムノアッセイ（例えば、順方向および逆方向）、蛍光偏光イムノアッセイ（ＦＰＩＡ）、酵素増幅イムノアッセイ技術（ＥＭＩＴ）、生物発光共鳴エネルギー遷移（ＢＲＥＴ）および均一化学発光アッセイなどが挙げられるが、これらに限定されない。ＳＥＬＤＩベースのイムノアッセイにおいて、ＨＣＶコア（またはその断片）などの目的の分析物に特異的に結合する捕捉試薬は、事前活性化タンパク質チップアレイなどの質量分析プローブの表面に結合される。次いで、分析物（またはその断片）は、バイオチップ上に特異的に捕捉され、捕捉分析物（またはその断片）は、質量分析によって検出される。あるいは、分析物（またはその断片）は、捕捉試薬から溶出され得、従来的ＭＡＬＤＩ（マトリクス支援レーザー脱離／イオン化）またはＳＥＬＤＩによって、検出され得る。化学発光微粒子イムノアッセイ、特に、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）自動化分析機（Ａｂｂｏｔｔ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ａｂｂｏｔｔ Ｐａｒｋ、Ｉｌｌ．）を使用するアッセイが、好ましいイムノアッセイの一例である。

【０１１４】

試料中のヒトＣ型肝炎ウイルスの存在または量を決定するためのイムノアッセイは、例えば、試料中に存在し得る任意のヒトＣ型肝炎ウイルスに結合タンパク質が結合するために充分な時間にわたり、ＨＣＶコアタンパク質結合タンパク質を試料と合わせること、および試料中に存在するヒトＣ型肝炎の存在または量を、ヒトＣ型肝炎コアタンパク質に対する結合タンパク質の特異的結合に基づいて決定することを含む。本開示はまた、試料中のヒトＨＣＶの存在または非存在を検出するためのイムノアッセイデバイスをも包含し、ここで、デバイスは、固体支持体上に固定化された、本明細書に記載の抗体のいずれかを含む。抗ＨＣＶコア抗体およびその任意のアナログは、キットの形態で、単独で、または二次抗体などの他の試薬と組み合わせて、イムノアッセイにおける使用のために調製され得る。

【０１１５】

尿、血液、血清および血漿、ならびに他の体液を収集し、操作し、そして処理するための当該分野で周知の方法は、例えば、本発明の抗ＨＣＶコア抗体が免疫診断試薬としておよび／または分析物イムノアッセイキットにおいて使用される場合に、本開示の実践において使用される。試験試料は、ＨＣＶコア抗原に加えて、例えば、抗体、抗原、ハプテン、ホルモン、薬物、酵素、レセプター、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、オリゴヌクレオチドおよび／またはポリヌクレオチドを含む、さらなる部分を含み得る。例えば、試料は、対象から得られる全血試料であってもよい。試験試料、特に全血が、本明細書に記載のイムノアッセイの前、例えば、前処理試薬によって処置されることが、必要であるか、または所望される場合がある。前処理が必要ない場合（例えば、ほとんどの尿試料）においてさえ、前処理が、場合によって（例えば、市販のプラットホームにおけるレジメンの一部として）実施されてもよい。

【０１１６】

前処理試薬は、本開示のイムノアッセイおよびキットによる使用のために適切な、任意の試薬であってもよい。前処理は、場合によって、以下を含む：（ａ）１種以上の溶媒（例えば、メタノールおよびエチレングリコール）ならびに、場合によって、塩、（ｂ）１

種以上の溶媒および塩、ならびに、場合によって、洗剤、（ｃ）洗剤、または（ｄ）洗剤および塩。前処理試薬は、当該分野で公知であり、このような前処理は、以前に記載されているように、例えば、文献に記載されているように（例えば、Ｙａｔｓｃｏｆｆら、Ａｂｂｏｔｔ ＴＤｘ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ａｓｓａｙ Ｅｖａｌｕａｔｅｄ ｆｏｒ Ｍｅａｓｕｒｉｎｇ Ｃｙｃｌｏｓｐｏｒｉｎｅ ｉｎ Ｗｈｏｌｅ Ｂｌｏｏｄ、Ｃｌｉｎ．Ｃｈｅｍ．３６：１９６９－１９７３（１９９０）、およびＷａｌｌｅｍａｃｑら、Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ ｏｆ ｔｈｅ Ｎｅｗ ＡｘＳＹＭ Ｃｙｃｌｏｓｐｏｒｉｎｅ Ａｓｓａｙ Ｃｏｍｐａｒｉｓｏｎ ｗｉｔｈ ＴＤｘ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ｗｈｏｌｅ Ｂｌｏｏｄ ａｎｄ ＥＭＩＴ Ｃｙｃｌｏｓｐｏｒｉｎｅ Ａｓｓａｙｓ、Ｃｌｉｎ．Ｃｈｅｍ．４５：４３２－４３５（１９９９））、Ａｂｂｏｔｔ ＴＤｘ、ＡｘＳＹＭ（登録商標）およびＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）分析機（Ａｂｂｏｔｔ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ａｂｂｏｔｔ Ｐａｒｋ，Ｉｌｌ．）におけるアッセイのために使用されるように、ならびに／または市販のアッセイとして、使用され得る。さらに、前処理は、以下において記載されるように実施され得る：米国特許第５，１３５，８７５号、欧州特許公開第０４７１２９３号、米国仮特許出願第６０／８７８，０１７号（２００６年１２月２９日出願）および米国特許出願公開第２００８／００２０４０１号（前処理に関するその教示について、その全体を参照により組み込む。）。

【０１１７】

前処理試薬の使用により、アッセイは、試験試料中の事前形成された／既存の免疫複合体またはウイルス粒子の破壊によって、より感度が高くなる。このような前処理試験試料において、試料中の抗ＨＣＶコア抗体は、抗原から分離されて、次いで、試料中に残存する抗原は、本発明のモノクローナル抗体を用いてＨＣＶコア抗原の存在について試験される。したがって、試験試料中のＨＣＶコア抗原は、抗体捕捉工程に供されて、試験試料中に存在する任意のＨＣＶ抗原を捕捉する。

【０１１８】

いくつかの他の実施形態において、前処理の使用は、このような分離工程を必要としない。試験試料および前処理試薬の混合物全体が、標的抗原（この場合、ＨＣＶコア抗原、または特に、ＨＣＶコア抗原脂質結合ドメイン）に対して特異的な抗体と接触させられる。このようなアッセイのために使用される前処理試薬は、典型的には、ＨＣＶ抗原を捕捉するために使用される第１抗体による捕捉の前または捕捉の間に、前処理試験試料混合物中に希釈される。このような希釈にもかかわらず、特定の量の前処理試薬が、捕捉の間に、試験試料混合物中になお存在し得る。捕捉試薬は、本発明の抗体であってもよく、あるいは、別の抗ＨＣＶコア抗原抗体であってもよく、または、実際に、ＨＣＶの非コアタンパク質抗原を対象とする抗体（例えば、エンベロープタンパク質、Ｅ１もしくはＥ２、またはＨＣＶの他の部分に対する抗体）であってもよい。

【０１１９】

１つのアッセイ形式において、試験試料が対象から得られた後、第１の混合物が調製される。混合物は、所定の抗原の存在について（例えば、今回の場合、ＨＣＶコア抗原の存在について）評価される試験試料および第１の特異的結合パートナー（代表的には、ＨＣＶエピトープを認識する抗体）を含有し、ここで、この第１の特異的結合パートナーおよび試験試料中に含有される任意のＨＣＶ抗原は、第１抗体－抗原複合体を形成する。試験試料および第１の特異的結合パートナーを添加して混合物が形成される順番は、重要ではない。第１の特異的結合パートナーは、固相上に固定化され得るが、代替の実施形態において、第１の特異的結合パートナーは、溶液相に存在し得る。（第１の特異的結合パートナー、および場合によって、第２の特異的結合パートナーについての）イムノアッセイにおいて使用される固相は、当該分野で公知の任意の固相であってもよく、例えば、磁性粒子、ビーズ、試験管、マイクロタイタープレート、キュベット、膜、足場分子、フィルム、ろ紙、ディスクおよびチップであってもよいが、これらに限定されない。

【０１２０】

記載されている方法は、固相が微粒子を含む自動化システムおよび半自動化システムに含まれる微粒子技術を利用するシステムへの適応を受けやすい。このようなシステムは、係属米国特許出願４２５，６５１号および４２５，６４３号に記載されるものを含み、これらは、それぞれ公開ＥＰＯ出願ＥＰ　０　４２５　６３３およびＥＰ　０　４２４　６３４に対応し、これらを参照により本明細書に組み込む。

【０１２１】

第１の特異的結合パートナー－分析物複合体を含有する混合物が形成された後、任意の未結合分析物が、当該分野で公知の任意の技術を用いて複合体から除去される。例えば、未結合分析物は、洗浄によって除去され得る。しかし、第１の特異的結合パートナーは、第１の特異的結合パートナーによる試験試料中に存在する分析物の最大結合を最適化するために、試験試料中に存在する任意の分析物よりも多く存在することが、望ましい。

【０１２２】

未結合分析物の除去後、第２の特異的結合パートナーが混合物に添加されて、第１の特異的結合パートナー－分析物－第２の特異的結合パートナー複合体を形成する。第２の特異的結合パートナーは、第１の特異的結合パートナーによって結合された分析物上のエピトープとは異なる分析物上のエピトープに結合する、抗分析物抗体であることが好ましい。単なる例として、アッセイがＨＣＶコア抗原の検出のためのものであることを想定すると、ＨＣＶコア抗原のＤＮＡ結合ドメインに特異的である第１の「捕捉」抗体が使用され（あるいは、第１抗体は、本明細書に記載の抗体のような、ＨＣＶコア抗原脂質結合ドメインに特異的である抗ＨＣＶコア抗体である）、一旦この第１の捕捉抗体が試料由来のＨＣＶコアタンパク質を捕捉すると、ＨＣＶコア抗原の脂質結合ドメインを結合する第２の抗コア抗原抗体（第１抗体がＤＮＡ結合ドメインに結合した場合、あるいは、第１抗体がＨＣＶコア抗原脂質結合ドメインに特異的な第１抗体である場合、第２抗体は、ＨＣＶコア抗原のＤＮＡ結合ドメインに特異的であり得る。）。好ましくは、このような実施形態において、［捕捉抗体－抗原－第２抗体］複合体の検出を容易にするために、第２の特異的結合パートナーは、上述のような検出可能標識によって標識されるかまたはこれを含有する。

【０１２３】

当該分野で公知である任意の好適な検出可能標識が、使用され得る。例えば、検出可能標識は、放射性標識（例えば、^{3}Ｈ、^{125}Ｉ、^{35}Ｓ、^{14}Ｃ、^{32}Ｐおよび^{33}Ｐ）、酵素標識（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリペルオキシダーゼ、グルコース６－ホスフェートデヒドロゲナーゼなど）、化学発光標識（例えば、アクリジニウムエステル、チオエステルまたはスルホンアミド；ルミノール、イソルミノール、フェナントリジニウムエステルなど）、蛍光標識（例えば、フルオレセイン（例えば、５－フルオレセイン、６－カルボキシフルオレセイン、３’６－カルボキシフルオレセイン、５（６）－カルボキシフルオレセイン、６－ヘキサクロロ－フルオレセイン、６－テトラクロロフルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネートなど））、ローダミン、フィコビリタンパク質、Ｒ－フィコエリトリン、量子ドット（例えば、硫化亜鉛－キャッピングされたセレン化カドミウム）、温度測定標識、またはイムノ－ポリメラーゼ連鎖反応標識であってもよい。標識の導入、標識手順および標識の検出は、以下において見出される：ＰｏｌａｋおよびＶａｎ　Ｎｏｏｒｄｅｎ、Ｉｎｔｒｏｄｕｃｔｉｏｎ　ｔｏ　Ｉｍｍｕｎｏｃｙｔｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ、第２巻補完、Ｓｐｒｉｎｇｅｒ　Ｖｅｒｌａｇ、Ｎ．Ｙ．（１９９７）、およびＨａｕｇｌａｎｄ、Ｈａｎｄｂｏｏｋ　ｏｆ　Ｆｌｕｏｒｅｓｃｅｎｔ　Ｐｒｏｂｅｓ　ａｎｄ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ（１９９６）（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｐｒｏｂｅｓ，Ｉｎｃ．、Ｅｕｇｅｎｅ、Ｏｒｅｇ．によって出版された、ハンドブックとカタログとを合わせたものである）。蛍光標識は、ＦＰＩＡにおいて使用され得る（例えば、米国特許第５，５９３，８９６号、第５，５７３，９０４号、第５，４９６，９２５号、第５，３５９，０９３号および第５，３５２，８０３号を参照されたい。これらは、その全体を参照により本明細書に組み込む。）。アクリジニウム化合物は、均一化学発光アッセイにおいて検出可能標識として使用され得る（例えば、Ａｄ

amczykら、Bioorg. Med. Chem. Lett. 16：1324－1328（2006）；Adamczykら、Bioorg. Med. Chem. Lett. 4：2313－2317（2004）；Adamczykら、Biorg. Med. Chem. Lett. 14：3917－3921（2004）；およびAdamczykら、Org. Lett. 5：3779－3782（2003）を参照されたい。）。

【0124】

好ましいアクリジニウム化合物は、アクリジニウム－9－カルボキサミドである。アクリジニウム9－カルボキサミドを調製するための方法は、以下に記載される：Mattingly J. Biolumin. Chemilumin. 6：107－114（1991）；Adamczykら、J. Org. Chem. 63：5636－5639（1998）；Adamczykら、Tetrahedron 55：10899－10914（1999）；Adamczykら、Org. Lett. 1：779－781（1999）；Adamczykら、Bioconjugate Chem. 11：714－724（2000）；Mattinglyら、In Luminescence Biotechnology：Instruments and Applications；Dyke K. V. 編、CRC Press：Boca Raton、77－105頁（2002）；Adamczykら、Org. Lett. 5：3779－3782（2003）；および米国特許第5，468，646号、第5，543，524号および第5，783，699号（これらの各々は、これに関するその教示について、その全体を参照により本明細書に組み込む。）。

【0125】

別の好ましいアクリジニウム化合物は、アクリジニウム－9－カルボキシレートアリールエステルである。式IIのアクリジニウム－9－カルボキシレートアリールエステルの例は、10－メチル－9－（フェノキシカルボニル）アクリジニウムフルオロスルホネート（Cayman Chemical、Ann Arbor、Michから入手可能である）である。アクリジニウム9－カルボキシレートアリールエステルを調製するための方法は、以下に記載される：McCapraら、Photochem. Photobiol. 4：1111－21（1965）；Razaviら、Luminescence 15：245－249（2000）；Razaviら、Luminescence 15：239－244（2000）；および米国特許第5，241，070号（これらの各々は、これに関するその教示について、その全体を参照により本明細書に組み込む。）。このようなアクリジニウム－9－カルボキシレートアリールエステルは、少なくとも1つのオキシダーゼによる分析物の酸化において産生される過酸化水素についての、シグナルの強度および／またはシグナルの迅速さに関する効率的な化学発光指示薬である。アクリジニウム－9－カルボキシレートアリールエステルについての化学発光放出の経過は、迅速に、すなわち、1秒未満で完了し、他方で、アクリジニウム－9－カルボキサミド化学発光放出は、2秒を超える。しかし、アクリジニウム－9－カルボキシレートアリールエステルは、タンパク質の存在下で化学発光特性を失う。したがって、その使用は、シグナル発生および検出の間、タンパク質の非存在を必要とする。試料中のタンパク質の分離または除去のための方法は、当業者に周知であり、限外ろ過、抽出、沈殿、透析、クロマトグラフィー、および／または消化が挙げられるが、これらに限定されない（例えば、Wells、High Throughput Bioanalytical Sample Preparation. Methods and Automation Strategies、Elsevier（2003）を参照されたい。）。試験試料から除去されまたは分離された量は、約40％、約45％、約50％、約55％、約60％、約65％、約70％、約75％、約80％、約85％、約90％、または約95％であってもよい。アクリジニウム－9－カルボキシレートアリールエステルおよびその使用に関するさらなる詳細は、以下に示される：米国特許出願第11／697，835号（2007年4月9日に出願、2008年10月9日公開）、米国特許出願公開第2008／0248493号。アクリジニウム－9－カルボキシレートアリールエステルは、脱気した無水N，N－ジ

メチルホルムアミド（ＤＭＦ）またはコール酸ナトリウム水溶液などの任意の好適な溶媒において溶解され得る。

【０１２６】

化学発光アッセイは、Ａｄａｍｃｚｙｋら、Ａｎａｌ．Ｃｈｉｍ．Ａｃｔａ　５７９（１）：６１－６７（２００６）に記載された方法に従って実施され得る。任意の好適なアッセイ形式が使用される場合、マイクロプレートケミルミノメーター（Ｍｉｔｈｒａｓ　ＬＢ－９４０、Ｂｅｒｔｈｏｌｄ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ　Ｕ．Ｓ．Ａ．、ＬＬＣ、Ｏａｋ　Ｒｉｄｇｅ、Ｔｅｎｎ．）は、低容量の多数の試料のアッセイを迅速に可能にする。ケミルミノメーターは、９６ウェル黒色ポリスチレンマイクロプレート（Ｃｏｓｔａｒ　＃３７９２）を用いて、多数の試薬注入器を備えられてもよい。各試料は、別個のウェルに加えられて、その後、使用したアッセイの型により決定される他の試薬の同時の／順次の添加が行われてもよい。アクリジニウムアリールエステルを使用する中性または塩基性溶液における、疑似塩基の形成が、例えば酸性化によって避けられることが望ましい。次いで、化学発光反応は、ウェルごとに記録される。この点において、化学発光反応を記録する時間は、部分的に、試薬の添加の間の遅延と使用した特定のアクリジニウムとに依存する。

【０１２７】

試験試料および特異的結合パートナーを添加して、化学発光アッセイのための混合物が形成される順番は、重要ではない。第１の特異的結合パートナーが、アクリジニウム化合物などの化学発光薬剤によって検出可能に標識される場合、検出可能に標識された第１の特異的結合パートナー－分析物複合体が、形成される。あるいは、第２の特異的結合パートナーが使用され、第２の特異的結合パートナーがアクリジニウム化合物などの化学発光薬剤によって検出可能に標識される場合、検出可能に標識された第１の特異的結合パートナー－分析物－第２の特異的結合パートナー複合体が、形成される。任意の未結合特異的結合パートナーが、標識されていようと未標識であろうと、混合物から、当該分野で公知の任意の技術、例えば洗浄を用いて、除去され得る。

【０１２８】

過酸化水素は、上述のアクリジニウム化合物の添加の前に、添加と同時に、または添加の後に、混合物においてインサイチュで生成されてもよく、または混合物に提供されてもよく、もしくは供給されてもよい（例えば、過酸化水素の供給源は、過酸化水素を含有することが知られている１種以上の緩衝液または他の溶液である）。過酸化水素は、当業者に明らかである多くの手段においてインサイチュで生成されてもよい。

【０１２９】

少なくとも１つの塩基性溶液の試料への添加と同時にまたは添加の後に、分析物の存在の指標である検出可能シグナル、すなわち化学発光シグナルが発生される。塩基性溶液は、少なくとも１種の塩基を含有し、１０以上のｐＨ、好ましくは１２以上のｐＨを有する。塩基性溶液の例としては、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム、水酸化アンモニウム、水酸化マグネシウム、炭酸ナトリウム、重炭酸ナトリウム、水酸化カルシウム、炭酸カルシウムおよび重炭酸カルシウムが挙げられるが、これらに限定されない。試料に加えられた塩基性溶液の量は、塩基性溶液の濃度に依存する。使用した塩基性溶液の濃度に基づき、当業者は、試料に加える塩基性溶液の量を、容易に決定できる。

【０１３０】

発生された化学発光シグナルは、当業者に公知の慣用的技術を用いて検出可能である。発生されたシグナルの強度に基づき、試料中の分析物の量が、定量され得る。具体的には、試料中の分析物の量は、発生したシグナルの強度に比例する。存在する分析物の量は、分析物についての標準曲線に対し発生された光の量を比較することによって、または参照標準との比較によって、定量され得る。標準曲線は、既知の濃度の分析物の連続希釈液または溶液を用い、質量分析、重量法、および当該分野で公知の他の技術によって、作成され得る。上の記載は、化学発光薬剤としてアクリジニウム化合物の使用を強調しているが、当業者は、他の化学発光薬剤の使用についての記載を容易に採用することができる。

【０１３１】
分析物イムノアッセイは、一般に、当該分野で公知の任意の形式、例えば、サンドイッチ形式を用いて行われ得るが、これらに限定されない。具体的に、１つのイムノアッセイ形式において、少なくとも２つの抗体が、試料中のヒト分析物またはその断片などの分析物の捕捉および定量のために使用される。より具体的には、好ましくは、少なくとも２つの抗体が、分析物（またはその断片）上の異なるエピトープに結合し、免疫複合体を形成する。これは、「サンドイッチ」と呼ばれる。一般に、イムノアッセイにおいて、１つ以上の抗体が、試験試料中の分析物（またはその断片）を捕捉するために使用され（これらの抗体は、頻繁に、「捕捉」抗体と呼ばれる。）、１つ以上の抗体が、検出可能な（すなわち、定量可能な）標識をサンドイッチに結合させるために使用され得る（これらの抗体は、頻繁に、「検出抗体」、「コンジュゲート」と呼ばれる）。したがって、サンドイッチイムノアッセイ形式に関して、本発明の抗ＨＣＶコア抗体が、捕捉抗体、検出抗体または両方として使用され得る。例えば、分析物上の第１のエピトープ（例えば、ＨＣＶコア抗原の脂質結合ドメイン）を結合し得るドメインを有する１つの抗ＨＣＶコア抗体が、捕捉抗体として使用され得、および／または第２のエピトープを結合し得るドメイン（例えば、ＨＣＶコア抗原のＤＮＡ結合ドメイン）を有する別の抗ＨＣＶコア抗体が、検出抗体として使用され得、逆もまた然りである。あるいは、ＨＣＶコア抗原上のエピトープに結合し得る第１のドメインを有する１つの抗体および異なるＨＣＶ抗原上のエピトープに結合する第２の抗体が、２以上の分析物を検出し、場合によって定量するための捕捉抗体および／または検出抗体として使用され得る。

【０１３２】
概して、（例えば、含有することを疑われる）分析物について試験される試料は、少なくとも１つの捕捉抗体および少なくとも１つの検出抗体（第２の検出抗体または第３の検出抗体またはなお続く数の抗体であってもよく、例えば、捕捉および／または検出抗体は、複数の抗体を含む。）と同時にまたは順次に任意の順番で接触させられてもよい。例えば、試験試料は、まず、少なくとも１つの捕捉抗体と、次いで、（順次）少なくとも１つの検出抗体と接触させられてもよい。あるいは、試験試料は、まず、少なくとも１つの検出抗体と、次いで、（順次）少なくとも１つの捕捉抗体と接触させられてもよい。なお別の代替法において、試験試料は、捕捉抗体および検出抗体に、同時に接触させられてもよい。

【０１３３】
サンドイッチアッセイ形式において、分析物（またはその断片）を含有すると疑われる試料が、第１抗体／分析物複合体の形成を可能にする条件下で、まず少なくとも１つの捕捉抗体と接触させられる。２以上の捕捉抗体が使用される場合、２以上の捕捉抗体を含む第１の捕捉抗体／分析物複合体が形成される。サンドイッチアッセイにおいて、抗体、すなわち、好ましくは、少なくとも１つの捕捉抗体が、試験試料中で予測される分析物（またはその断片）の最大量のモル過剰量で使用される。例えば、緩衝液（例えば、微粒子コーティング緩衝液）１ｍＬ当たり約５μｇから約１ｍｇの抗体が、使用され得る。

【０１３４】
１つの抗体による結合しか必要とされないので小さい分析物を測定するためにしばしば使用される競合阻害イムノアッセイは、連続的で古典的な形式を含む。連続的競合阻害イムノアッセイにおいて、目的の分析物に対する捕捉抗体は、マイクロタイタープレートのウェルまたは他の固体支持体上にコーティングされる。目的の分析物を含有する試料がウェルに添加される場合、目的の分析物は、捕捉抗体に結合する。洗浄後、既知の量の標識（例えば、ビオチンまたは西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ））分析物が、このウェルに添加される。酵素標識についての基質は、シグナルを発生するために必要である。ＨＲＰについて好適な基質の例は、３，３’，５，５’－テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）である。洗浄後、標識分析物によって発生されたシグナルが測定され、これは、試料中の分析物の量に反比例する。古典的競合阻害イムノアッセイにおいて、目的の分析物に対する抗体は、固体支持体（例えば、マイクロタイタープレートのウェル）上にコーティン

グされる。しかし、連続的競合阻害イムノアッセイとは異なり、試料および標識分析物は、ウェルに同時に添加される。試料中の任意の分析物は、捕捉抗体への結合について、標識分析物と競合する。洗浄後、標識分析物によって発生されたシグナルが測定され、これは、試料中の分析物の量に反比例する。

【０１３５】

場合によって、試験試料を少なくとも１つの捕捉抗体（例えば、第１の捕捉抗体）と接触させる前に、少なくとも１つの捕捉抗体が、固体支持体に結合され得、これは、第１の抗体／分析物（またはその断片）複合体の試験試料からの分離を容易にする。捕捉抗体が結合する基質は、任意の好適な固体支持体または固相であってもよく、これは、捕捉抗体－分析物複合体の試料からの分離を容易にする。

【０１３６】

固相または支持体の例は、当業者に周知であり、マイクロタイタープレートなどのプレートのウェル、試験管、多孔性ゲル（例えば、シリカゲル、アガロース、デキストラン、またはゼラチン）、ポリマーフィルム（例えば、ポリアクリルアミド）、ビーズ（例えば、ポリスチレンビーズまたは磁性ビーズ）、フィルター／膜のストリップ（例えば、ニトロセルロースまたはナイロン）、微粒子（例えば、ラテックス粒子、着磁性微粒子（例えば、酸化鉄コアまたは酸化クロムコアおよびホモポリマーまたはヘテロポリマーコーティングおよび径約１－１０ミクロンを有する微粒子）が挙げられる。基質は、抗原に結合するための好適な表面親和性、および検出抗体による接近を可能にする十分な多孔性を有する、好適な多孔性物質を含み得る。微小多孔性物質が一般に好ましいが、水和状態のゼラチン様物質が、使用され得る。このような多孔性基質は、約０．０１から約０．５ｍｍ、好ましくは約０．１ｍｍの厚みを有するシートの形態であることが好ましい。孔径は僅かに変動し得るが、好ましくは、孔径は、約０．０２５から約１５ミクロン、より好ましくは約０．１５から約１５ミクロンである。このような基質の表面は、抗体の基質に対する共有結合を起こす化学的プロセスによって活性化され得る。一般に疎水力を介した、抗原または抗体の基質に対する吸着により、不可逆的結合が生じる；あるいは、化学的カップリング剤または他の手段が、このような結合が分析物に結合する抗体の能力に干渉しない限り、抗体を基質に共有結合するために使用され得る。あるいは、抗体は、ストレプトアビジン（例えば、ＤＹＮＡＬ（登録商標）Ｍａｇｎｅｔｉｃ　Ｂｅａｄｓ、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｃａｒｌｓｂａｄ、Ｃａｌｉｆ．）またはビオチン（例えば、Ｐｏｗｅｒ－Ｂｉｎｄ（商標）－ＳＡ－ＭＰストレプトアビジンコーティングされた微粒子（Ｓｅｒａｄｙｎ、Ｉｎｄｉａｎａｐｏｌｉｓ、Ｉｎｄ．）を用いる）または抗種－特異的モノクローナル抗体によってあらかじめコーティングされている微粒子と結合し得る。必要な場合、基質は、誘導体化されて、抗体上の種々の官能基に対し反応性にされてもよい。このような誘導体は、特定のカップリング剤の使用を必要とする。カップリング剤の例としては、無水マレイン酸、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド、および１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）カルボジイミドが挙げられるが、これらに限定されない。所望される場合、それぞれが分析物に対して特異的である１つ以上の捕捉試薬、例えば抗体（またはその断片）が、異なる物理的な位置またはアドレス可能な位置（例えば、バイオチップ構造においてなど）において固相に結合され得る（例えば、米国特許第６，２２５，０４７号；国際特許出願公開ＷＯ９９／５１７７３；米国特許第６，３２９，２０９号；国際特許出願公開ＷＯ００／５６９３４、および米国特許第５，２４２，８２８号を参照されたい）。捕捉試薬が固体支持体として質量分析プローブに結合される場合、プローブに結合した分析物の量が、レーザー脱離イオン化質量分析によって検出され得る。あるいは、１つのカラムが、１つ以上の捕捉試薬によって誘導体化された異なるビーズによって充てんされ、それにより、１つの場所において分析物を捕捉することができる（抗体－誘導体化ビーズベースの技術、例えば、ＬｕｍｉｎｅｘのｘＭＡＰ技術（Ａｕｓｔｉｎ，Ｔｅｘ．）を参照されたい。）。

【０１３７】

試験試料が分析物（またはその断片）についてアッセイされた後、試験試料は、少なく

とも１つの捕捉抗体（例えば、第１の捕捉抗体）と接触させられ、混合物はインキュベートされて、第１抗体（または複数の抗体）－分析物（またはその断片）複合体の形成を可能にする。インキュベーションは、約４．５から約１０．０のｐＨにて、約２℃から約４５℃の温度にて、少なくとも約一（１）分間から約十八（１８）時間、好ましくは約１から約２４分間、最も好ましくは約４から約１８分間にわたって実施され得る。本明細書に記載のイムノアッセイは、１工程で実施されても（試験試料、少なくとも１つの捕捉抗体および少なくとも１つの検出抗体が、全て順次または同時に反応容器に加えられることを意味する。）、または１より多い工程、例えば２工程、３工程などで実施されてもよい。

【０１３８】

（第１または複数の）捕捉抗体／分析物複合体の形成後、複合体は、少なくとも１つの検出抗体と、（第１または複数の）捕捉抗体／分析物／第２の検出抗体複合体の形成を可能にする条件下で接触させる。明確さのために「第２」抗体（例えば、第２の検出抗体）と上記したが、実際には、複数の抗体が捕捉および／または検出のために使用され、少なくとも１つの検出抗体は、イムノアッセイにおいて使用される第２、第３、第４などの抗体であり得る。捕捉抗体／分析物複合体は、２以上の検出抗体と接触させられる場合、次いで、（第１または複数の）捕捉抗体／分析物（またはその断片）／（複数の）検出抗体複合体が、形成される。捕捉抗体（例えば、第１の捕捉抗体）と同様に、少なくとも１つの（例えば、第２および任意のその後の）検出抗体が、捕捉抗体／分析物（またはその断片）複合体と接触させられ、上述と同様の条件下での一定時間のインキュベーションが、（第１または複数の）捕捉抗体／分析物／（第２または複数の）検出抗体複合体の形成のために必要である。好ましくは、少なくとも１つの検出抗体は、検出可能標識を含有する。検出可能標識は、（第１または複数の）捕捉抗体／分析物／（第２または複数の）検出抗体複合体の形成前に、形成と同時に、または形成後に、少なくとも１つの検出抗体（例えば、第２の検出抗体）に結合され得る。当該分野で公知の任意の検出可能標識が、使用され得る（上の議論を参照されたい。）。

【０１３９】

検出可能標識は、直接的に、またはカップリング剤を介してのいずれかで、抗体に結合され得る。使用され得るカップリング剤の例は、ＥＤＡＣ（１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド、ヒドロクロリド）であり、これは、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、Ｍｏ．から市販されている。使用され得る他のカップリング剤が当該分野で公知である。検出可能標識を抗体に結合する方法が、当該分野で公知である。さらに、多くの検出可能標識が、購入可能であるかまたは合成され得、これは、以下の様な検出可能標識の抗体へのカップリングを容易にする末端基を既に含有する：例えば、ＣＰＳＰ－アクリジニウムエステル（すなわち、９－［Ｎ－トシル－Ｎ－（３－カルボキシプロピル）］－１０－（３－スルホプロピル）アクリジニウムカルボキサミド）またはＳＰ　ＳＰ－アクリジニウムエステル（すなわち、Ｎ１０－（３－スルホプロピル）－Ｎ－（３－スルホプロピル）－アクリジニウム－９－カルボキサミド）。

【０１４０】

（第１または複数の）捕捉抗体／分析物／（第２または複数の）検出抗体複合体は、標識の定量の前に、残りの試験試料から分離されていてもよいが、そうである必要はない。例えば、少なくとも１つの捕捉抗体（例えば、第１の捕捉抗体）が、ウェルまたはビーズなどの固体支持体に結合する場合、流体（または試験試料）を固体支持体との接触から除去することによって、分離が達成され得る。あるいは、少なくとも第１の捕捉抗体が固相支持体に結合する場合、これは、分析物含有試料および少なくとも１つの第２の検出抗体に同時に接触して、第１の（複数）抗体／分析物／第２の（複数）抗体複合体を形成し、その後、流体（試験試料）を固相支持体との接触から取り除いてもよい。少なくとも１つの第１の捕捉抗体が固相支持体に結合しない場合、（第１または複数の）捕捉抗体／分析物／（第２または複数の）検出抗体複合体は、標識の量の定量のために、試験試料から取り除かれる必要はない。

【０１４１】

標識捕捉抗体／分析物／検出抗体複合体（例えば、第１の捕捉抗体／分析物／第２の検出抗体複合体）の形成後、複合体中の標識の量が、当該分野で公知の技術を用いて定量される。例えば、酵素標識が使用される場合、標識複合体は、標識についての基質と反応し、発色などの定量可能な反応を得る。標識が放射性標識である場合、標識は、シンチレーションカウンターなどの適切な手段を用いて定量される。標識が蛍光標識である場合、標識は、１つの色の光（「励起波長」として知られる。）によって標識を刺激し、刺激に対する反応において標識によって発される別の色（「発光波長」として知られる。）を検出することによって定量される。標識が化学発光標識である場合、標識は、視覚的にまたはルミノメーター、Ｘ線フィルム、高速度写真フィルム、ＣＣＤカメラなどを用いて、発された光を検出することによって定量される。一旦、複合体における標識の量が定量されると、試験試料中の分析物またはその断片の濃度は、既知の濃度の分析物またはその断片の連続希釈を用いて作成した標準曲線の使用によるなどの適切な手段によって決定される。分析物またはその断片の連続希釈を用いる以外に、標準曲線は、質量分析または当該分野で公知の他の技術によって重量測定的に作成され得る。

【０１４２】

ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）分析機を使用する化学発光微粒子アッセイにおいて、コンジュゲート希釈物ｐＨは、約６．０＋／－０．２であるべきであり、微粒子コーティング緩衝液は、およそ室温にて（すなわち、約１７から約２７℃）に維持されているべきであり、微粒子コーティング緩衝液ｐＨは、約６．５＋／－０．２であるべきであり、微粒子希釈液ｐＨは、約７．８＋／－０．２であるべきである。固体は、好ましくは、約０．２％未満、例えば、約０．１５％未満、約０．１４％未満、約０．１３％未満、約０．１２％未満、または約０．１１％未満、例えば約０．１０％未満である。

【０１４３】

ＦＰＩＡは、競合結合イムノアッセイ原理に基づく。蛍光標識された化合物は、直線偏光によって励起された際、その回転速度に反比例する偏光度を有する蛍光を発する。蛍光標識されたトレーサー－抗体複合体が直線偏光によって励起される場合、発される光は、光が吸収される時間と光が発される時間との間でフルオロフォアが回転することを拘束されるので、非常に偏光したままである。「遊離の」トレーサー化合物（すなわち、抗体に結合しない化合物。）が直線偏光によって励起される場合、その回転は、競合結合イムノアッセイにおいて産生される対応するトレーサー－抗体コンジュゲートよりもずっと速い。特別な操作および廃棄を必要とする放射性物質が存在しないので、ＦＰＩＡは、ＲＩＡよりも有益である。加えて、ＦＰＩＡは、容易で迅速に行われ得る均一なアッセイである。

【０１４４】

上の観点から、試験試料中のＨＣＶコア（またはその断片）の存在、量または濃度を決定する方法が、提供される。この方法は、試験試料をＨＣＶコア抗原（またはその断片）について、以下のアッセイによってアッセイすることを含む：（ｉ）以下：（ｉ’）少なくとも１つの抗体、分析物に結合可能な抗体の断片、分析物に結合可能な抗体のバリアント、分析物に結合可能な抗体のバリアントの断片、またはＨＣＶコア抗原に結合可能なＤＶＤ－Ｉｇ（またはその断片、バリアント、もしくはバリアントの断片）および（ｉｉ’）少なくとの１つの検出可能標識を使用し、（ｉｉ）試験試料中のＨＣＶコア抗原（またはその断片）の存在、量または濃度の直接または間接的な指標として検出可能標識によって発生されたシグナル、と、対照またはキャリブレーター中のＨＣＶコア抗原（またはその断片）の存在、量または濃度存在の直接または間接的な指標として検出可能標識によって発生されたシグナルを比較することを含む、アッセイ。キャリブレーターは、場合によって、一連のキャリブレーターの一部であり、ここで、キャリブレーターのそれぞれは、分析物の濃度によって、他のキャリブレーターと異なる。

【０１４５】

この方法は、（ｉ）試験試料を、本発明の抗体、ＨＣＶコア抗原に結合し得るそのような抗体の断片、ＨＣＶコア抗原に結合し得る抗体のバリアント、ＨＣＶコア抗原に結合し

得る抗体のバリアントの断片、またはＨＣＶコア抗原に結合し得るＤＶＤ－Ｉｇ（またはその断片、バリアントもしくはバリアントの断片）からなる群から選択される、ＨＣＶコア（またはその断片）についての少なくとも１つの第１の特異的結合パートナーと接触させて、第１の特異的結合パートナー／ＨＣＶコア抗原（またはその断片）複合体を形成すること、（ｉｉ）第１特異的結合パートナー／ＨＣＶコア抗原（またはその断片）複合体を、検出可能に標識された抗ＨＣＶコア抗体、ＨＣＶコア抗原に結合し得る抗ＨＣＶコア抗体の検出可能に標識された断片、ＨＣＶコア抗原に結合し得る抗ＨＣＶコア抗体の検出可能に標識されたバリアント、ＨＣＶコア抗原に結合し得る抗ＨＣＶコア抗体のバリアントの検出可能に標識された断片および検出可能に標識されたＤＶＤ－Ｉｇ（またはその断片、バリアントもしくはバリアントの断片）からなる群より選択される、ＨＣＶコア抗原についての少なくとも１つの第２の特異的結合パートナーと接触させて、第１の特異的結合パートナー／ＨＣＶコア抗原（またはその断片）／第２の特異的結合パートナー複合体を形成すること、ならびに（ｉｉｉ）（ｉｉ）において形成された第１の特異的結合パートナー／ＨＣＶコア抗原（またはその断片）／第２の特異的結合パートナー複合体における検出可能標識によって産生されたシグナルを検出または測定することにより、試験試料中のＨＣＶコア抗原の存在、量または濃度を決定することを含む。

【０１４６】

あるいは、この方法は、抗体、ＨＣＶコアに結合可能な抗体の断片、ＨＣＶコアに結合可能な抗体のバリアント、ＨＣＶコアに結合可能な抗体のバリアントの断片、ＤＶＤ－Ｉｇ（またはその断片、バリアントもしくはバリアントの断片）からなる群より選択される、ＨＣＶコア（またはその断片）についての少なくとも１つの第１の特異的結合パートナーと、試験試料を接触させること、および同時にまたは順次、どちらかの順番で、上記少なくとも１つの第１の特異的結合パートナーへの結合についてＨＣＶコア（またはその断片）と競合可能であり、検出可能に標識されたＨＣＶコア、第１の特異的結合パートナーに結合可能なＨＣＶコアの検出可能に標識された断片、第１の特異的結合パートナーに結合可能なＨＣＶコアの検出可能に標識されたバリアント、および第１の特異的結合パートナーに結合可能なＨＣＶコアのバリアントの検出可能に標識された断片からなる群から選択される少なくとも１つの第２の特異的結合パートナーと、この試験試料を接触させること、を含み得る。試験試料中に存在する任意のＨＣＶコア（またはその断片）および少なくとも１つの第２の特異的結合パートナーは、互いに競合して、第１特異的結合パートナー／ＨＣＶコア（またはその断片）複合体および第１特異的結合パートナー／第２の特異的結合パートナー複合体を、それぞれ形成する。この方法は、（ｉｉ）において形成された第１の特異的結合パートナー／第２の特異的結合パートナー複合体における検出可能標識によって発生されたシグナルを検出するまたは測定することによって試験試料中のＨＣＶコアの存在、量または濃度を決定することをさらに含み、ここで第１の特異的結合パートナー／第２の特異的結合パートナー複合体における検出可能標識によって発生されたシグナルは、試験試料中のＨＣＶコアの量または濃度に反比例する。

【０１４７】

上記の方法は、試験試料が得られた患者を診断する、予後診断する、または患者の治療／予防処置の有効性を評価することをさらに含む。方法が、試験試料が得られた患者の治療／予防処置の有効性を評価することをさらに含む場合、方法は、有効性を改善する必要があれば患者の治療／予防処置を改変することを場合によってさらに含む。この方法は、自動化システムまたは半自動化システムにおける使用のために適合されていてもよい。

【０１４８】

アッセイの方法（またはそのキット）に関して、市販の抗ＨＣＶコア抗体、または文献に記載されるように抗ＨＣＶコアの産生のための方法を使用することが、可能であり得る。種々の抗体の販売者としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：Ｓａｎｔａ Ｃｒｕｚ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ Ｉｎｃ．（Ｓａｎｔａ Ｃｒｕｚ，Ｃａｌｉｆ．）、ＧｅｎＷａｙ Ｂｉｏｔｅｃｈ，Ｉｎｃ．（Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，Ｃａｌｉｆ．）およびＲ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ（ＲＤＳ；Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ，Ｍｉｎｎ．）。

【０１４９】
一般に、例えば、疾患または疾患のリスクを検出するために、ＨＣＶコアまたはその断片についての試験試料を評価する際に得られた結果を評価するベンチマークとして、所定のレベルが、使用され得る。一般に、このような比較を行う際、充分な回数、およびＨＣＶコアの存在、量または濃度と、疾患、障害もしくは状態の特定の段階もしくはエンドポイント、または特定の臨床的指標との結びつきまたは関連性が得られ得るような適切な条件下で特定のアッセイを行うことにより、所定のレベルが得られる。代表的には、所定のレベルは、参照対象（または対象の集団）のアッセイによって得られる。測定されたＨＣＶコアは、その断片、その分解産物、および／または酵素的開裂産物を含み得る。
【０１５０】
特に、ＨＣＶ疾患進行および／または処置をモニタリングするために使用される所定のレベルに関して、分析物またはその断片の量または濃度は、「変わらない」、「好ましい」（または「好ましく変わった」）または「好ましくない」（または「好ましくなく変わった」）であり得る。「上昇した」または「増加した」は、代表的なまたは正常レベルもしくは範囲（例えば、所定のレベル）よりも高いか、または別の参照レベルもしくは範囲（例えば、初期試料またはベースライン試料）よりも高い、試験試料における量または濃度をいう。「低下した」または「減少した」は、代表的なまたは正常レベルもしくは範囲（例えば、所定のレベル）よりも低いか、または別の参照レベルもしくは範囲（例えば、初期試料またはベースライン試料）よりも低い、試験試料における量または濃度をいう。「変えた」は、代表的なまたは正常レベルもしくは範囲（例えば、所定のレベル）に対して、または別の参照レベルもしくは範囲（例えば、初期試料またはベースライン試料）に対して、変えた（増加したかまたは減少した）試料における量または濃度をいう。
【０１５１】
ＨＣＶコア抗原についての代表的なまたは正常なレベルまたは範囲は、標準的技法に従って規定される。いくつかの場合におけるＨＣＶコアのレベルが非常に低いので、いわゆる変えられたレベルまたは変化は、代表的なまたは正常なレベルもしくは範囲または参照レベルもしくは範囲と比較して、実験的誤差または試料変化によって説明できない何らかの正味の変化が存在する場合に、起こったと考えられ得る。したがって、特定の試料において測定されたレベルが、いわゆる正常対象由来の類似の試料において決定されたレベルまたはレベルの範囲と比較される。この文脈において、「正常な対象」は、検出可能な疾患を有さない個体であり、例えば、「正常」（時には「対照」と呼ばれる）患者または集団は、それぞれ検出可能な疾患を示さない者である。さらに、ＨＣＶコアは、ヒト集団の多数において高レベルで慣用的に見出されてはいないので、「正常対象」は、実質的に検出可能に増加したかもしくは上昇したＨＣＶコアの量または濃度を有さない個体であると考えられ得、「正常」（時には「対照」と呼ばれる）患者または集団は、実質的に検出可能に増加したもしくは上昇したＨＣＶコアの量もしくは濃度を示さない者である。「明らかに正常な対象」は、未だＨＣＶコアが評価されたことがない、または現在評価されている者である。ＨＣＶコアが通常は検出不能である（例えば、正常レベルがゼロであるか、または正常集団の約２５から約７５％の範囲内である）が、試験試料において検出される場合、ならびにＨＣＶコアが正常レベルよりも高いレベルで試験試料中に存在する場合、ＨＣＶコアのレベルは、「上昇した」と言われる。したがって、特に、本開示は、特定の疾患、障害または状態を有するか、または有するリスクのある対象についてのスクリーニングの方法を提供する。このアッセイの方法はまた、他のマーカーのアッセイなどを含んでもよい。
【０１５２】
したがって、本明細書に記載の方法はまた、ＨＣＶ疾患、障害または状態を有するかまたはこれを発症するリスクを有する対象であるか否かを決定するために、使用され得る。具体的には、このような方法は、
（ａ）対象由来の試験試料中のＨＣＶコア（またはその断片）の濃度または量を（例えば、本明細書に記載の方法または当該分野で公知の方法を用いて）決定する工程；および

（ｂ）工程（ａ）において決定したＨＣＶコア（またはその断片）の濃度または量を所定のレベルと比較する工程であって、工程（ａ）において決定したＨＣＶコアの濃度または量が、所定のレベルに対して好ましい場合、対象は、所定の疾患、障害または状態を有さないか、またはそのリスクがないと決定する工程を含み得る。しかし、工程（ａ）において決定したＨＣＶコアの濃度または量が、所定のレベルに対して好ましくない場合、対象は、所定の疾患、障害または状態を有するか、またはそのリスクがあると決定する。

【０１５３】

さらに、本明細書で、対象における疾患の進行をモニタリングする方法が、提供される。最適には、この方法は、

（ａ）対象由来の試験試料中の、ＨＣＶコアの濃度または量を決定する工程；

（ｂ）この対象由来の後期試験試料中の、ＨＣＶコアの濃度または量を決定する工程；

（ｃ）工程（ｂ）において決定されたＨＣＶコアの濃度または量を、工程（ａ）において決定されたＨＣＶコアの濃度または量と比較する工程であって、工程（ｂ）において決定されたＨＣＶコアの濃度または量が、工程（ａ）において決定されたＨＣＶコアの濃度または量と比較した場合に変化していなかまたは好ましくない場合、対象における疾患は、継続しているか、進行しているか、または悪化していると決定する工程を含む。比較によって、工程（ｂ）において決定されたＨＣＶコアの濃度または量が、工程（ａ）において決定されたＨＣＶコアの濃度または量と比較した場合に好ましい場合、対象における疾患は、継続していないか、退行しているか、または改善していると決定する。

【０１５４】

場合によっては、この方法は、工程（ｂ）において決定されたＨＣＶコアの濃度または量を、例えば、所定のレベルと比較する工程をさらに含む。さらに、この方法は、この比較が工程（ｂ）において決定されたＨＣＶコアの濃度または量が、例えば、所定のレベルと比較して好ましくなく変えられることを示す場合、所定の期間にわたり、１種以上の医薬組成物によって対象を処置する工程を場合によって含む。

【０１５５】

なお他の実施形態において、ＨＣＶコア抗原の存在またはレベルをモニタリングするための本明細書に記載の任意のアッセイは、やはりＨＣＶ感染を決定する他のアッセイと、有益に組合され得る。例えば、本発明のＨＣＶコア決定方法のいずれかは、別のＨＣＶ抗原またはコアタンパク質以外の抗原を指向するＨＣＶ抗体のレベルを決定することをさらに含み得、これらとしては、ＨＣＶコア、Ｅ１、Ｅ２、ＮＳ２、ＮＳ３、ＮＳ４ａ、ＮＳ４ｂおよびＮＳ５が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１５６】

なおさらに、この方法は、１種以上の医薬組成物による処置を受け入れている対象における処置をモニタリングするために使用されてもよい。具体的には、このような方法は、対象が１種以上の医薬組成物を投与される前の、対象由来の第１の試験試料を提供することを含む。次に、対象由来の第１の試験試料中のＨＣＶコアの濃度または量を（例えば、本明細書に記載の方法または当該分野で公知のように用いて）決定する。ＨＣＶコアの濃度または量を決定した後、場合によりＨＣＶコアの濃度または量を、所定のレベルと比較する。第１の試験試料において決定したＨＣＶコアの濃度または量が所定のレベルより低い場合、対象を、１種以上の医薬組成物によって処置しない。しかし、第１の試験試料において決定したＨＣＶコアの濃度または量が所定のレベルより高い場合、対象を、１種以上の医薬組成物によって所定の期間にわたって処置する。対象が１種以上の医薬組成物によって処置される期間は、当業者によって決定され得る（例えば、この期間は、約七（７）日間から約二年間、好ましくは約十四（１４）日間から約一（１）年間であってもよい）。

【０１５７】

１種以上の医薬組成物による処置の経過の間、第２のおよびその後の試験試料が、対象から得られる。試験試料の数および前記試験試料が対象から得られる時間は、重要ではない。例えば、第２の試験試料は、対象が１種以上の医薬組成物を最初に投与されてから七

（７）日後に得られ得、第３の試験試料は、対象が１種以上の医薬組成物を最初に投与されてから二（２）週間後に得られ得、第４の試験試料は、対象が１種以上の医薬組成物を最初に投与されてから三（３）週間後に得られ得、第５の試験試料は、対象が１種以上の医薬組成物を最初に投与されてから四（４）週間後に得られ得る、などである。

【０１５８】

第２のおよびその後の各試験試料が対象から得られた後、ＨＣＶコアの濃度または量が、第２のおよびその後の試験試料において、（例えば、本明細書に記載のかまたは当該分野で公知である方法を用いて）決定される。次いで、第２のおよびその後の試験試料のそれぞれにおいて決定されたＨＣＶコアの濃度または量は、第１の試験試料において決定されたＨＣＶコアの濃度または量と比較される（例えば、試験試料を、元々、場合によって、所定のレベルと比較した）。工程（ｃ）において決定されたＨＣＶコアの濃度または量が、工程（ａ）において決定されたＨＣＶコアの濃度または量と比較した場合に好ましい場合、対象における疾患は、継続していない、退行している、または改善していることが決定され、この対象は、工程（ｂ）の１種以上の医薬組成物を投与され続けるべきである。しかし、工程（ｃ）において決定されたＨＣＶコアの濃度または量が、工程（ａ）において決定されたＨＣＶコアの濃度または量と比較した場合に変化していなかまたは好ましくない場合、対象における疾患は、継続している、進行している、または悪化していることが決定され、対象は、工程（ｂ）において対象に投与された１種以上の医薬組成物のより高い濃度によって処置されるべきであり、または工程（ｂ）において対象に投与された１種以上の医薬組成物とは異なる１種以上の医薬組成物によって処置されるべきである。具体的には、対象は、前記対象のＨＣＶコアレベルを減少させるかまたは低下させるために対象が以前受けていた１種以上の医薬組成物とは異なる１種以上の医薬組成物によって処置され得る。

【０１５９】

一般に、繰り返し試験がなされ得るアッセイ（例えば、疾患進行および／または処置に対する反応をモニタリングすること）のために、第２のまたはその後の試験試料が、第１の試験試料が対象から得られてから所定の時点において得られる。具体的には、対象由来の第２の試験試料は、第１の試験試料が対象から得られてから、数分後、数時間後、数日後、数週間後または数年後に得られ得る。例えば、対象由来の第２の試験試料は、第１の試験試料が対象から得られてから、約１分後、約５分後、約１０分後、約１５分後、約３０分後、約４５分後、約６０分後、約２時間後、約３時間後、約４時間後、約５時間後、約６時間後、約７時間後、約８時間後、約９時間後、約１０時間後、約１１時間後、約１２時間後、約１３時間後、約１４時間後、約１５時間後、約１６時間後、約１７時間後、約１８時間後、約１９時間後、約２０時間後、約２１時間後、約２２時間後、約２３時間後、約２４時間後、約２日後、約３日後、約４日後、約５日後、約６日後、約７日後、約２週間後、約３週間後、約４週間後、約５週間後、約６週間後、約７週間後、約８週間後、約９週間後、約１０週間後、約１１週間後、約１２週間後、約１３週間後、約１４週間後、約１５週間後、約１６週間後、約１７週間後、約１８週間後、約１９週間後、約２０週間後、約２１週間後、約２２週間後、約２３週間後、約２４週間後、約２５週間後、約２６週間後、約２７週間後、約２８週間後、約２９週間後、約３０週間後、約３１週間後、約３２週間後、約３３週間後、約３４週間後、約３５週間後、約３６週間後、約３７週間後、約３８週間後、約３９週間後、約４０週間後、約４１週間後、約４２週間後、約４３週間後、約４４週間後、約４５週間後、約４６週間後、約４７週間後、約４８週間後、約４９週間後、約５０週間後、約５１週間後、約５２週間後、約１．５年後、約２年後、約２．５年後、約３．０年後、約３．５年後、約４．０年後、約４．５年後、約５．０年後、約５．５年後、約６．０年後、約６．５年後、約７．０年後、約７．５年後、約８．０年後、約８．５年後、約９．０年後、約９．５年後または約１０．０年後に得られ得る。

【０１６０】

疾患進行をモニタリングするために使用される場合、上記のアッセイは、急性状態に罹

患する対象において疾患の進行をモニタリングするために使用され得る。急性状態は、救命救急状態としても知られる、急性の生命にかかわる疾患、または、例えば、心臓血管系もしくは排泄系を含む、他の重要な医学的状態をいう。代表的には、救急救命状態は、病院ベースの施設（救急処置室、集中治療室、外傷センターまたは他の救急救命施設を含むが、これらに限定されない。）において急性医療的介入を必要とする状態、または医療補助員もしくは他の野外ベースの医療関係者による投与を必要とする状態をいう。救急救命状態のために、一般的に、繰り返しモニタリングは、より短い時間枠内で、数分、数時間または数日間のうちでなされ（例えば、約１分間、約５分間、約１０分間、約１５分間、約３０分間、約４５分間、約６０分間、約２時間、約３時間、約４時間、約５時間、約６時間、約７時間、約８時間、約９時間、約１０時間、約１１時間、約１２時間、約１３時間、約１４時間、約１５時間、約１６時間、約１７時間、約１８時間、約１９時間、約２０時間、約２１時間、約２２時間、約２３時間、約２４時間、約２日間、約３日間、約４日間、約５日間、約６日間または約７日間）、同様に、最初のアッセイは、一般に、より短い時間枠内で、例えば、疾患または状態の発症の約数分間、数時間または数日間で、なされる。

【０１６１】

このアッセイはまた、慢性または非急性状態を罹患する患者において、疾患の進行をモニタリングするためにも、使用され得る。非救急救命状態または非急性状態は、急性の生命にかかわる疾患、または、例えば、心臓血管系および／もしくは排泄系を含む、他の重要な医学的状態以外の状態をいう。代表的には、非急性状態としては、より長い期間または慢性の存続の状態を含む。非急性状態について、一般に、例えば、数時間、数日間、数週間、数か月または数年間の、より長い期間枠でモニタリングが繰り返され（例えば、約１時間、約２時間、約３時間、約４時間、約５時間、約６時間、約７時間、約８時間、約９時間、約１０時間、約１１時間、約１２時間、約１３時間、約１４時間、約１５時間、約１６時間、約１７時間、約１８時間、約１９時間、約２０時間、約２１時間、約２２時間、約２３時間、約２４時間、約２日間、約３日間、約４日間、約５日間、約６日間、約７日間、約２週間、約３週間、約４週間、約５週間、約６週間、約７週間、約８週間、約９週間、約１０週間、約１１週間、約１２週間、約１３週間、約１４週間、約１５週間、約１６週間、約１７週間、約１８週間、約１９週間、約２０週間、約２１週間、約２２週間、約２３週間、約２４週間、約２５週間、約２６週間、約２７週間、約２８週間、約２９週間、約３０週間、約３１週間、約３２週間、約３３週間、約３４週間、約３５週間、約３６週間、約３７週間、約３８週間、約３９週間、約４０週間、約４１週間、約４２週間、約４３週間、約４４週間、約４５週間、約４６週間、約４７週間、約４８週間、約４９週間、約５０週間、約５１週間、約５２週間、約１．５年間、約２年間、約２．５年間、約３．０年間、約３．５年間、約４．０年間、約４．５年間、約５．０年間、約５．５．年間、約６．０年間、約６．５年間、約７．０年間、約７．５年間、約８．０年間、約８．５年間、約９．０年間、約９．５年間または約１０．０年間）、最初のアッセイも、同様に、より長い時間枠、例えば、疾患または状態の発症の約数時間、数日間、数か月または数年間以内でなされる。

【０１６２】

さらに、上記のアッセイは、対象から得られた第１の試験試料を用いて実施され得、ここで、第１の試験試料は、尿、血清または血漿などの１つの供給源から得られる。場合によって、上記のアッセイは、対象から得られた第２の試験試料を用いて繰り返され得、ここで、第２の試験試料は、別の供給源から得られる。例えば、第１の試験試料が尿から得られる場合、第２の試験試料は、血清または血漿から得られ得る。第１の試験試料および第２の試験試料を用いるアッセイから得られた結果は、比較され得る。比較は、対象における疾患または状態の状況を評価するために、使用され得る。

【０１６３】

その上、本開示はまた、所定の疾患、障害または状態にかかりやすいかまたは罹患している対象が処理から利益を得るか否かを決定する方法にも関する。特に、本開示は、ＨＣ

Ｖコア比較診断方法および製品に関する。したがって、本明細書に記載の「対象において疾患の処置をモニタリングする」方法は、最適には、治療のための候補を選択するまたは同定することをも包含し得る。

【０１６４】

したがって、特定の実施形態において、本開示はまた、所定の疾患、障害または状態を有するか、またはそのリスクがある対象が、治療の候補であるか否かを決定する方法を、提供する。一般に、対象は、本明細書に記載のように、所定の疾患、障害もしくは状態の何らかの症状を経験している者であるか、または、所定の疾患、障害もしくは状態を有するか、またはそのリスクがあると実際診断されている者であるか、および／または、ＨＣＶコアもしくはその断片の好ましくない濃度もしくは量を示す者である。

【０１６５】

この方法は、場合によって、本明細書に記載されているアッセイを含み、このアッセイにおいて、ＨＣＶコアは、１種以上の医薬組成物を用いた（例えば、特にＨＣＶコアを伴う作用機作に関する医薬品を用いた）免疫抑制療法を用いたもしくは免疫吸収療法による、対象の処置の前および後に評価され、またはＨＣＶコアは、そのような処置の後に評価され、ＨＣＶコアの濃度もしくは量が、所定のレベルと比較される。処置の後に観測されたＨＣＶコアの量の不都合な濃度は、対象がさらなる処置または継続処置を受けることにより利益を受けないことを確認するものであり、一方で処置の後に観測されたＨＣＶコアの好都合な濃度または量は、対象がさらなる処置または継続処置を受けることにより利益を受けることを確認するものである。この確認は、臨床研究の管理および向上した患者のケアの提供を援助する。

【０１６６】

このアッセイ方法はまた、所定の疾患、障害または状態を改善する化合物を同定するために使用することができる。例えば、ＨＣＶコアを発現している細胞を候補化合物と接触させることができる。本明細書に記載のアッセイ方法を用いて、化合物と接触された細胞におけるＨＣＶコアの発現レベルを対照細胞における発現レベルと比較することができる。

【０１６７】

なお別の検出方法において、免疫組織化学分析による固定組織切片および固定細胞中のＨＣＶ抗原の検出に、本明細書に記載の結合タンパク質のそれぞれを用いることができる。

【０１６８】

加えて、これらの結合タンパク質は、ＣＮＢｒ活性化セファロースに類似したマトリクスと結合され、細胞培養物または血液および肝臓などの生体組織由来の特異的ＨＣＶタンパク質の親和性精製のために使用され得る。

【０１６９】

本明細書に記載のモノクローナル抗体はまた、治療的使用または他の類似した応用のためのキメラ抗体の生成のために使用することができる。加えて、本明細書全体を通して論じられるように、これらの抗体は、ＤＶＤ－Ｉｇ分子の産生に使用することもできる。

【０１７０】

モノクローナル抗体またはそれらの断片は、ＨＣＶコア抗原を検出するために個別に提供することができる。本明細書において提供されたモノクローナル抗体（およびそれらの断片）の組み合わせはまた、本明細書に記載の少なくとも１種の抗ＨＣＶコア抗体と、他のＨＣＶ領域に対する抗体であって、それぞれ異なる結合特異性を有する抗体との混合物すなわち「カクテル」中の成分として一緒に使用できることが企図されている。したがって、このカクテルは、ＨＣＶコアタンパク質を指向する本明細書に記載のモノクローナル抗体およびＨＣＶゲノムの他の抗原決定基に対する他のモノクローナル抗体を含み得る。これらの企図されているカクテルに有用な他のモノクローナル抗体の例には、ＨＣＶ　Ｃ－１００、ＨＣＶ　３３Ｃ、ＨＣＶコア、ＨＣＶ　ＮＳ５および／またはＨＣＶの推定上のＥＮＶに対するモノクローナル抗体が含まれ、これらのモノクローナル抗体は、例えば

、「ＭＯＮＯＣＬＯＮＡＬ ＡＮＴＩＢＯＤＩＥＳ ＴＯ ＨＥＰＡＴＩＴＩＳ Ｃ ＶＩＲＵＳ ＡＮＤ ＭＥＴＨＯＤ ＦＯＲ ＵＳＩＮＧ ＳＡＭＥ」という名称の米国特許出願第０７／６１０，１７５号、ＭＯＮＯＣＬＯＮＡＬ ＡＮＴＩＢＯＤＩＥＳ ＴＯ ＨＣＶ ３３Ｃ ＰＲＯＴＥＩＮＳ ＡＮＤ ＭＥＴＨＯＤＳ ＦＯＲ ＵＳＩＮＧ ＳＡＭＥ」という名称の米国特許出願第０７／６１０，１７５号、「ＭＯＮＯＣＬＯＮＡＬ ＡＮＴＩＢＯＤＩＥＳ ＴＯ ＰＵＴＡＴＩＶＥ ＨＣＶ ＥＮＶＥＬＯＰＥ ＲＥＧＩＯＮ ＡＮＤ ＭＥＴＨＯＤＳ ＦＯＲ ＵＳＩＮＧ ＳＡＭＥ」という名称の米国特許出願第０７／６４８，４７５号、「ＭＯＮＯＣＬＯＮＡＬ ＡＮＴＩＢＯＤＩＥＳ ＴＯ ＨＣＶ ＣＯＲＥ ＰＲＯＴＥＩＮＳ ＡＮＤ ＭＥＴＨＯＤＳ ＦＯＲ ＵＳＩＮＧ ＳＡＭＥ」という名称の米国特許出願第０７／６４８，４７３号、「ＭＯＮＯＣＬＯＮＡＬ ＡＮＴＩＢＯＤＩＥＳ ＴＯ ＨＣＶ ＮＳ５ ＰＲＯＴＥＩＮ ＡＮＤ ＭＥＴＨＯＤＳ ＦＯＲ ＵＳＩＮＧ ＳＡＭＥ」という名称の同時出願された特許出願である米国特許出願第０７／７４８，５６３号に開示されており、これらの全てが共通の所有権を享受しており、参照により本明細書に組み込む。本明細書に記載のモノクローナル抗体のこのカクテルは、ＨＣＶコアに対するモノクローナル抗体の代わりに、本明細書に記載のアッセイ形式に使用されることで、ＨＣＶコアおよび他のＨＣＶ抗原を検出できる。

【０１７１】

アッセイ形式に使用することができるポリクローナル抗体またはその断片は、ＨＣＶコアまたはＨＣＶ Ｃ－１００タンパク質、ＨＣＶ ３３Ｃタンパク質、ＨＣＶ ＥＮＶ、ＨＣＶ Ｅ２／ＮＳ１もしくはＨＣＶ ＮＳ５タンパク質のような、アッセイに使用される他のＨＣＶタンパク質に特異的に結合すべきである。好ましく使用されるポリクローナル抗体は、哺乳動物起源のものであり、ヒト、ヤギ、ウサギまたはヒツジ抗ＨＣＶポリクローナル抗体を使用することができる。最も好ましくは、ポリクローナル抗体は、ウサギポリクローナル抗ＨＣＶ抗体である。アッセイに使用されるポリクローナル抗体は、単独でまたはポリクローナル抗体のカクテルとしてのいずれかで使用することができる。アッセイ形式に使用されるカクテルは、異なるＨＣＶ特異性を有するモノクローナル抗体またはポリクローナル抗体のいずれかからなるので、これらは、ＨＣＶ感染の診断、評価および予後診断、ならびにＨＣＶタンパク質の区別および特異性を研究するために有用である。

【０１７２】

本明細書のどこか他に述べたように、本明細書に記載の方法によって試験することができる試験試料には、全血、血清、血漿、脳脊髄液、尿などのヒトおよび動物の体液、細胞培養上清などの生物学的流体、固定組織標本ならびに固定細胞標本が含まれる。

【０１７３】

指示試薬は、ＨＣＶコアに対する特異的結合メンバーにコンジュゲートされた（取り付けられた）外的手段によって検出可能な測定可能シグナルを発生することが可能であるシグナル発生化合物（標識）を含む。本明細書で使用される「特異的結合メンバー」は、特異的結合対のメンバーを意味する。すなわち分子の一方が化学的または物理的手段により第２の分子に特異的に結合する２つの異なる分子である。ＨＣＶコアに対する特異的結合対の抗体メンバーであることに加えて、指示試薬は、ビオチンまたは抗ビオチン、アビジンまたはビオチン、炭水化物またはレクチン、相補的ヌクレオチド配列、エフェクターまたはレセプター分子、酵素補因子および酵素、酵素阻害剤または酵素などのいずれかのハプテン－抗ハプテン系を含む任意の特異的結合対のメンバーでもあり得る。免疫反応性特異的結合メンバーは、サンドイッチアッセイと同様にＨＣＶコア、競合アッセイと同様に捕捉試薬または間接アッセイと同様に補助的特異的結合メンバーのいずれかに結合することが可能である、抗体、抗原または抗体／抗原複合体であり得る。

【０１７４】

企図されている様々なシグナル発生化合物（標識）には、色素原、酵素などの触媒、フルオレセインおよびローダミンなどの発光化合物、アクリジニウム、フェナントリジニウ

ムおよびジオキセタン化合物などの化学発光化合物、放射性元素ならびに直接視覚標識が含まれる。酵素の例には、アルカリホスファターゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ、β－ガラクトシダーゼなどが含まれる。特定の標識の選択は重要ではないが、標識は、それ自体でまたは１種以上の追加的な物質と一緒にシグナルを生じる能力がある。

【０１７５】

イムノアッセイのための走査型プローブ顕微鏡法（ＳＰＭ）の使用も、本明細書に記載のモノクローナル抗体が容易に適応可能な技術である。走査型プローブ顕微鏡法において、特に原子間力顕微鏡法において、捕捉相が、例えば、本明細書に記載のモノクローナル抗体の少なくとも１種が、固相に接着され、固相表面に存在し得る抗原／抗体複合体を検出するために走査型プローブ顕微鏡が利用される。走査型トンネル顕微鏡法の使用は、通常、抗原／抗体複合体を検出するために多くのイムノアッセイ系において利用されなければならない標識の必要性を排除する。そのような系は、係属中の米国特許出願第６６２，１４７号に記載されており、この出願は、共通の所有権を享受しており、参照により本明細書に組み込む。

【０１７６】

特異的結合反応をモニタリングするためのＳＰＭの使用は、多くの方法で起こり得る。一実施形態において、特異的結合パートナーの１つのメンバー（本明細書に記載のモノクローナル抗体であるＨＣＶコア特異的物質）が、走査に適した表面に取り付けられる。ＨＣＶコア特異的物質の結合は、当業者に公知の方法による、プラスチックの固相または金属表面を含む試験片への吸着によることができる。または、誘導体化プラスチック、金属、シリコンまたはガラスの固相を含む試験片への特異的結合パートナー（ＨＣＶコア特異的物質）の共有結合を利用することができる。共有結合法は、当業者に公知であり、これには、特異的結合パートナーを試験片に非可逆的に連結させる多様な手段が含まれる。試験片がシリコンまたはガラスならば、特異的結合パートナーを結合する前に表面を活性化しなければならない。トリエトキシアミノプロピルシラン（Ｓｉｇｍａ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｃｏ．、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、Ｍｏ．から入手可能）、トリエトキシビニルシラン（Ａｌｄｒｉｃｈ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｃｏ．、Ｍｉｌｗａｕｋｅｅ、Ｗｉｓ．）、および（３－メルカプト－プロピル）トリメトキシシラン（Ｓｉｇｍａ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｃｏ．、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、Ｍｏ．）などの活性化シラン化合物を使用して、それぞれアミノ、ビニル、およびチオールなどの反応基を導入することができる。このような活性化表面を使用して、結合パートナーを直接連結することができ（アミノもしくはチオールの場合）、または活性化表面をさらにグルタルアルデヒド、ビス（スクシンイミジル）スベレート、ＳＰＰＤ９スクシンイミジル３－［２－ピリジルジチオ］プロピオネート）、ＳＭＣＣ（スクシンイミジル－４－［Ｎ－マレイミドメチル］シクロヘキサン－１－カルボキシレート）、ＳＩＡＢ（スクシンイミジル［４－ヨードアセチル］アミノベンゾエート）およびＳＭＰＢ（スクシンイミジル４－［１－マレイミドフェニル］ブチレート）などのリンカーと反応させて、表面から結合パートナーを分離することができる。ビニル基は、酸化して共有結合のための手段を提供することができる。ビニル基は、特異的結合パートナーのための複数の結合点を提供できるポリアクリル酸などの様々なポリマーの重合のためのアンカーとして使用することもできる。アミノ表面は、様々な分子量の酸化デキストランと反応して、異なるサイズおよび能力の親水性リンカーを提供することができる。酸化可能なデキストランの例には、デキストランＴ－４０（分子量４０，０００ダルトン）、デキストランＴ－１１０（分子量１１０，０００ダルトン）、デキストランＴ－５００（分子量５００，０００ダルトン）、デキストランＴ－２Ｍ（分子量２，０００，０００ダルトン）（これらの全てはＰｈａｒｍａｃｉａ、Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ、Ｎ．Ｊ．から入手可能である。）またはＦｉｃｏｌｌ（分子量７０，０００ダルトン、Ｓｉｇｍａ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｃｏ．、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、Ｍｏ．から入手可能）が含まれる。同様に、多価電解質の相互作用を使用して、１９８８年１月２９日に出願された係属中の米国特許出願第１５０，２７８号および１９８９年７月７日に出願された同第３７５，０２９号によって記載されている技術および化学反応を使用することによって試験片表面上に特異的

結合パートナーを固定化することができ、これらの出願のそれぞれは、共通の所有権を享受しており、これらのそれぞれは、参照により本明細書に組み込む。好ましい結合方法は、共有結合的手段による。特異的結合メンバーの結合後に、表面は、非特異的結合を最小化するために、血清、タンパク質または他のブロッキング剤などの材料でさらに処理することができる。表面は、製造現場または使用場所のいずれかで走査して、アッセイ目的へのその適性を実証することもできる。走査プロセスが試験片の特異的結合性質を変化させるとは予想されない。

【０１７７】

本開示は、固相の使用を好むことを表しているが、本明細書に記載のモノクローナル抗体は非固相アッセイ系において利用できると企図されている。これらのアッセイ系は、当業者に公知であり、本開示の範囲内であると見なされる。

【０１７８】

アッセイに用いられる試薬は、バイアルまたはボトルなどの１つ以上の容器を有するキットであって、各容器が、アッセイに用いられるモノクローナル抗体またはモノクローナル抗体のカクテル、検出試薬および洗浄試薬などの別々の試薬を含有するキットの形態で提供することができることが企図されている。

【０１７９】

抗体は、免疫応答を強化する手段としても使用することができる。抗体は、抗体の他の治療的投与のために使用される量に類似の量で投与することができる。例えば、通常の免疫グロブリンは、細胞へのウイルス侵入を妨害するために、狂犬病、麻疹およびＢ型肝炎などの他のウイルス性疾患の早期潜伏期の途中に０．０２　０．１ｍｌ／ｌｂ体重で投与される。ゆえに、ＨＣＶコアタンパク質と反応性の抗体は、免疫応答および／または抗ウイルス薬の有効性を高めるために、単独でまたは別の抗ウイルス剤と一緒にＨＣＶ感染宿主に受動的に投与することができる。

【０１８０】

動物において抗ＨＣＶウイルス抗体を誘導する手段として使用される場合、抗体を注射する方式は、ワクチン接種目的のための方式と同じであり、すなわち、アジュバント存在下または不在下で生理学的に適切な希釈剤中に入れて有効濃度で筋肉内、腹腔内、皮下などに行われる。１回以上のブースター注射が望ましい場合がある。

キット

試験試料中のＨＣＶコアタンパク質（またはその断片）の存在、量または濃度について試験試料をアッセイするためのキットも、本明細書において企図されている。そのようなキットは、ＨＣＶコアタンパク質（またはその断片）について試験試料をアッセイするための少なくとも１つの成分およびＨＣＶコア（またはその断片）について試験試料をアッセイするための説明書を含む。ＨＣＶコア（またはその断片）について試験試料をアッセイするための少なくとも１つの成分には、場合によって固相上に固定化されているまたは固定化されることが可能な、抗ＨＣＶコアタンパク質モノクローナル抗体または抗ＨＣＶコアタンパク質ＤＶＤ－Ｉｇ（またはそれらの断片、バリアントもしくはバリアントの断片）を含む組成物が含まれ得る。

【０１８１】

キットは、イムノアッセイ、例えば化学発光微粒子イムノアッセイによってＨＣＶコアタンパク質について試験試料をアッセイするための少なくとも１つの成分およびイムノアッセイ、例えば化学発光微粒子イムノアッセイによってＨＣＶコアについて試験試料をアッセイするための説明書を含む可能性がある。例えば、キットは、抗ＨＣＶコアモノクローナル／ポリクローナル抗体（またはＨＣＶコアに結合できるその断片、ＨＣＶコアに結合できるそのバリアントもしくはＨＣＶコアに結合できるバリアントの断片）または抗ＨＣＶコアＤＶＤ－Ｉｇ（またはその断片、バリアントもしくはバリアントの断片）などの、ＨＣＶコアに対する少なくとも１つの特異的結合パートナーを含むことができ、これらの特異的結合パートナーのいずれも、検出可能に標識することができる。代替的または追加的に、キットは、検出可能に標識されたＨＣＶコア（または抗ＨＣＶコアモノクローナ

ル／ポリクローナル抗体もしくは抗ＨＣＶコアＤＶＤ－Ｉｇ（またはその断片、バリアントもしくはバリアントの断片）に結合できるその断片）を含む可能性があり、このＨＣＶコアは、いずれも固体支持体上に固定化することができる、抗ＨＣＶコアモノクローナル／ポリクローナル抗体（またはＨＣＶコアに結合できるその断片、ＨＣＶコアに結合できるそのバリアントもしくはＨＣＶコアに結合できるバリアントの断片）または抗ＨＣＶコアＤＶＤ－Ｉｇ（またはその断片、バリアントもしくはバリアントの断片）との結合を試験試料中の任意のＨＣＶコアと競合することができる。キットは、キャリブレーターまたは対照、例えば単離または精製されたＨＣＶコアを含み得る。キットは、アッセイを行うための少なくとも１つの容器（例えば、第１の特異的結合パートナーで例えばコーティング済みでありうるチューブ、マイクロタイタープレートまたはストリップ）および／またはいずれの１つも濃縮溶液として提供できるアッセイ緩衝液もしくは洗浄緩衝液などの緩衝液、検出可能な標識（例えば酵素標識）用の基質溶液もしくは停止溶液を含み得る。好ましくは、キットは、アッセイを行うために必要な全ての成分、すなわち試薬、標準物質、緩衝液、希釈剤などを含む。説明書は、紙形式またはディスク、ＣＤ、ＤＶＤなどのコンピューター可読形式であり得る。

【０１８２】

抗ＨＣＶコア抗体もしくは抗ＨＣＶコアＤＶＤ－Ｉｇなどの任意の抗体またはトレーサーは、フルオロフォア、放射性部分、酵素、ビオチン／アビジン標識、発色団、化学発光標識などの、本明細書に記載の検出可能な標識を組み込んでいる場合があり、または、キットは、検出可能な標識を実施するための試薬を含み得る。抗体、キャリブレーターおよび／または対照は、別々の容器中に提供でき、または適切なアッセイ形式中に、例えばマイクロタイタープレート中に予備分注できる。

【０１８３】

場合によって、キットは、品質管理成分（例えば、感度パネル、キャリブレーターおよび陽性対照）を含む。品質管理試薬の調製は、当技術分野において周知であり、多様な免疫診断製品の添付文書に記載されている。感度パネルのメンバーは、場合によってアッセイ性能の特徴を立証するために使用され、さらに場合によって、イムノアッセイキット試薬の完全性およびアッセイの標準化の有用な指標である。

【０１８４】

キットは、場合によって診断アッセイを行うためまたは品質管理評価を容易にするために必要な他の試薬、例えば緩衝液、塩、酵素、酵素補因子、酵素基質、検出試薬なども含み得る。試験試料の単離および／または処理のための緩衝液および溶液などの他の成分（例えば前処理試薬）も、キットに含まれる可能性がある。キットは、追加的に、１つ以上の他の対照を含み得る。キットの成分の１つ以上は、凍結乾燥されている可能性があり、その場合、キットは、凍結乾燥された成分の再構成に適した試薬をさらに含み得る。

【０１８５】

場合によって、キットの様々な成分は、必要に応じて適切な容器中に、例えばマイクロタイタープレート中に提供される。キットは、さらに、試料を保持または保管するための容器（例えば尿試料用の容器またはカートリッジ）を含み得る。適切な場合には、キットは、場合によって反応器、混合器および試薬または試験試料の調製を容易にする他の構成要素も含み得る。キットは、また、試験試料の入手を援助するための１つ以上の器具、例えばシリンジ、ピペット、鉗子、計量スプーンなどを含み得る。

【０１８６】

検出可能な標識が少なくとも１種のアクリジニウム化合物であるならば、キットは、少なくとも１種のアクリジニウム－９－カルボキサミド、少なくとも１種のアクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルまたはそれらの任意の組み合わせを含み得る。検出可能な標識が少なくとも１種のアクリジニウム化合物である場合、キットは、緩衝液、溶液および／または少なくとも１種の塩基性溶液などの過酸化水素源も含み得る。所望により、キットは、磁気粒子、ビーズ、試験管、マイクロタイタープレート、キュベット、メンブラン、足場分子、フィルム、ろ紙、ディスクまたはチップなどの固相を含有する

ことができる。

【０１８７】

キット（またはその構成要素）、さらには本明細書に記載のイムノアッセイなどのアッセイによって試験試料中のＨＣＶコアの存在、量または濃度を決定する方法は、例えば米国特許第５，０８９，４２４号および同第５，００６，３０９号に記載のおよび例えばＡｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ（Ａｂｂｏｔｔ　Ｐａｒｋ、Ｉｌｌ．）によってＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）として市販の、多様な自動化および半自動化システム（固相が微粒子を含むシステムを含む。）において使用するために適応させることができる。

【０１８８】

非自動化システム（例えばＥＬＩＳＡ）に比べた自動化システムまたは半自動化システムの差異のいくつかには、第１の特異的結合パートナー（例えば、抗ＨＣＶコアモノクローナル／ポリクローナル抗体（またはその断片、そのバリアントもしくはそのバリアントの断片）または抗ＨＣＶコアＤＶＤ－Ｉｇ（またはその断片、そのバリアントもしくはそのバリアントの断片）が結合した基質（いずれにせよ、サンドイッチの形成およびＨＣＶコアの反応性が影響され得る。）ならびに捕捉、検出工程および／または場合による任意の洗浄工程の長さおよびタイミングが含まれる。ＥＬＩＳＡなどの非自動化形式が試料および捕捉試薬との比較的長いインキュベーション時間（例えば約２時間）を必要とし得る一方で、自動化または半自動化形式（例えばＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）、Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）は、比較的短いインキュベーション時間を有し得る（例えば、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）について約１８分）。同様に、ＥＬＩＳＡなどの非自動化方式がコンジュゲート試薬などの検出抗体を比較的長いインキュベーション時間（例えば約２時間）インキュベートし得る一方で、自動化または半自動化方式（例えばＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標））は、比較的短いインキュベーション時間（例えば、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）について約４分）を有し得る。

【０１８９】

Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓから入手可能な他のプラットホームには、ＡｘＳＹＭ（登録商標）、ＩＭｘ（登録商標）（例えばその全体を参照により本明細書に組み込む米国特許第５，２９４，４０４号参照）、ＰＲＩＳＭ（登録商標）、ＥＩＡ（ビーズ）およびＱｕａｎｔｕｍ（商標）ＩＩ、ならびに他のプラットホームが含まれるが、これらに限定されない。さらに、アッセイ、キットおよびキットの構成要素は、他の方式、例えば電気化学アッセイシステムまたは他の携帯型もしくはポイントオブケアアッセイシステムに使用することができる。本開示は、例えば、サンドイッチイムノアッセイ式イムノセンサーを行う市販のＡｂｂｏｔｔ　Ｐｏｉｎｔ　ｏｆ　Ｃａｒｅ（ｉ－ＳＴＡＴ（登録商標）、Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）電気化学イムノアッセイシステムに応用可能であり、これらの製造方法および１回使用型試験装置における操作方法は、例えば、米国特許第５，０６３，０８１号、米国特許出願公開第２００３／０１７０８８１号、米国特許出願公開第２００４／００１８５７７、米国特許出願公開第２００５／００５４０７８号および米国特許出願公開第２００６／０１６０１６４号に記載されており、これらは、これらに関する教示のためにこれらの全体を参照により組み込む。

【０１９０】

特に、Ｉ－ＳＴＡＴ（登録商標）システムにＨＣＶコアアッセイを適応させることに関して、以下の構成が好ましい。金電流測定作用電極および銀－塩化銀基準電極の対を備える微細加工されたシリコンチップが製造される。作用電極の１つに対して、抗ＨＣＶコアモノクローナル／ポリクローナル抗体（またはその断片、そのバリアントもしくはそのバリアントの断片）または抗ＨＣＶコアＤＶＤ－Ｉｇ（またはその断片、そのバリアントもしくはそのバリアントの断片）が固定化されたポリスチレンビーズ（直径０．２ｍｍ）が、電極を覆うパターン化されたポリビニルアルコールのポリマーコーティングに接着される。このチップは、イムノアッセイに適した流体工学形式を備えるＩ－ＳＴＡＴ（登録商標）カートリッジに組み立てられる。カートリッジの試料保持チャンバーの壁の一部に、

抗ＨＣＶコアモノクローナル／ポリクローナル抗体（またはＨＣＶコアと結合できるその断片、そのバリアントもしくはそのバリアントの断片）または抗ＨＣＶコアＤＶＤ－Ｉｇ（またはＨＣＶコアと結合できるその断片、そのバリアントもしくはそのバリアントの断片）などの、ＨＣＶコアに対する特異的結合パートナーの層があり、これらの結合パートナーのいずれも検出可能に標識されている可能性がある。カートリッジの流体パウチ内は、ｐ－アミノフェノールホスフェートを含む水性試薬である。

【０１９１】

操作において、ＨＣＶコアを含有することが疑われる試料が試験カートリッジの保持チャンバーに加えられ、カートリッジがＩ－ＳＴＡＴ（登録商標）読み取り器に挿入される。ＨＣＶコアに対する特異的結合パートナーが試料中に溶解された後に、カートリッジ内のポンプ素子が、チップを収容する導管内に試料を強制的に入れる。この際に、これが振動してサンドイッチの形成を促進する。アッセイの最後から２番目の工程において、流体はパウチから強制的に出され、導管内に入れられて、試料がチップから廃棄物チャンバー内に洗い落とされる。アッセイの最終工程において、アルカリホスファターゼ標識がｐ－アミノフェノールホスフェートと反応してリン酸基を切断し、遊離したｐ－アミノフェノールを作用電極で電気化学的に酸化させる。読み取り器は、測定された電流に基づき、組み込みアルゴリズムおよび工場で決定された検量線により、試料中のＨＣＶコアの量を計算することができる。

【０１９２】

さらに、本明細書に記載の方法およびキットがイムノアッセイを実施するための他の試薬および方法を必然的に包含することは言うまでもない。例えば、当技術分野において公知の種々の緩衝液ならびに／または例えば洗浄のために、コンジュゲート用希釈剤として、微粒子用希釈剤としておよび／もしくはキャリブレーターの希釈剤として使用されるように容易に調製または最適化することができるものなどの様々な緩衝液が包含される。例示的なコンジュゲートの希釈剤はＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）コンジュゲート用希釈剤であり、これは、特定のキット（Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ａｂｂｏｔｔ　Ｐａｒｋ、Ｉｌｌ．）に使用され、２－（Ｎ－モルホリノ）エタンスルホン酸（ＭＥＳ）、塩、タンパク質ブロッカー、抗菌剤および洗剤を含有する。例示的なキャリブレーター希釈剤はＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）ヒトキャリブレーター希釈剤であり、これは、特定のキット（Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ａｂｂｏｔｔ　Ｐａｒｋ、Ｉｌｌ．）に使用され、ＭＥＳを含有する緩衝液、他の塩、タンパク質ブロッカーおよび抗菌剤を含む。さらに、２００８年１２月３１日に出願された米国特許出願第６１／１４２，０４８に記載されたように、改善されたシグナル発生は、例えばシグナル抗体に連結した核酸配列を信号増幅因子として使用するＩ－Ｓｔａｔカートリッジ形式において得ることができる。

【０１９３】

本明細書に記載の本発明の方法の他の適切な改変および適応は明白であり、本発明または本明細書に開示されている実施形態の範囲から逸脱することなく適切な均等物を使用して行われ得ることが、当業者に容易に分かる。本発明を詳細に説明してきたが、以下の実施例の参照により同様のことがより明確に理解される。これらの実施例は、単に例示のために含まれるのであって、本発明の限定を意図していない。

【実施例】

【０１９４】

［実施例１］

動物免疫化

雌性ＣＡＦ１／ＪおよびＲＢＦ／ＤｎＪマウス（両方ともＪａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ、Ｂａｒ　Ｈａｒｂｏｒ、Ｍａｉｎｅから入手）を、ＢＳＡに共有結合したアミノ酸（すべてのナンバリングはＨＣＶ－１に従う）１３４－１７１に対応するＨＣＶコアペプチド（ＡＬＲＺ－８免疫原）５０μｇで０、４および１０週に免疫化した。

【０１９５】

ＨＣＶコアペプチド－ＢＳＡはＡｎａＳｐｅｃ，Ｉｎｃ．（Ｆｒｅｍｏｎｔ、ＣＡ）にて調製された。この免疫原ペプチドは、完全または不完全Ａｄｊｕｌｉｔｅフロイントアジュバント（Ｐａｃｉｆｉｃ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、Ｒａｍｏｎａ、ＣＡ）で乳化した。完全フロイントアジュバントは一次免疫化に使用し、不完全フロイントアジュバントは二次および三次免疫化に使用した。ＨＣＶペプチド－ＢＳＡを滅菌生理食塩水（０．９％塩化ナトリウム）で適切な濃度に希釈し、等量のアジュバントを添加し、次いで、濃厚な安定エマルジョンが形成されるまで、３方ストップコックを介して２つのシリンジ間を行き来させて混合することによって各接種材料を調製した。三次免疫化の１０－１４日後に血清試料を採取した。Ｂ細胞回収の４日前および３日前に、ＲＢＦ／ＤｎＪマウス３０６番および３１５番に、滅菌生理食塩水で希釈した５０μｇペプチド－ＢＳＡを投与した。この接種材料を脾臓近傍の体腔内に送達した。

【０１９６】

ＡＬＲＺ－８免疫原

Ａｃ－ＭＧＹＩＰＬＶＧＡＰＬＧＧＡＡＲＡＬＡＨＧＶＲＶＬＥＤＧＶＮＹＡＴＧＮＬＰＧＣ－ＢＳＡ

【０１９７】

［実施例２］

抗原免疫反応性についてのマウス血清のスクリーニング

最終免疫化後７－１０日目に採取したマウス血清試料の、各３つの合成（Ａｎａｓｐｅｃ，Ｉｎｃ．）カルボキシ末端ビオチン化ＨＣＶコアペプチドに対する反応性を、９６ウェルマイクロタイター酵素イムノアッセイ（ＥＩＡ）において最初に試験した。スクリーニングに使用したペプチドは、実施例１に記述した免疫原配列に由来し、次の名称および配列を有していた：ペプチド１（すべてのナンバリングはＨＣＶ－１に従う）、アミノ酸１３４－１５１：ＭＧＹＩＰＬＶＧＡＰＬＧＧＡＡＲＡＬＡＨＧ；ペプチド２、アミノ酸１４１－１６１：ＧＡＰＬＧＧＡＡＲＡＬＡＨＧＶＲＶＬＥＤＧ，ペプチド３、アミノ酸１５１－１７１、ＬＡＨＧＶＲＶＬＥＤＧＶＮＹＡＴＧＮＬＰＧ。アッセイプレート（ＮＵＮＣ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ，Ｎａｐｅｒｖｉｌｌｅ，ＩＬ）を、リン酸緩衝食塩水（ＰＢＳ）で２μｇ／ｍＬに希釈したヒツジ抗マウスＩｇＧ　Ｆｃ特異抗体（Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ，Ｗｅｓｔ　Ｇｒｏｖｅ，ＰＡ）１００μＬ／ウェルでコートした。プレートを、３７℃で約２時間、その後約２１℃で約２時間インキュベートした。その後、捕捉抗体を除去し、ブロッキング溶液（３％ｗ／ｖ［重量／体積］ウシ血清アルブミン（ＢＳＡ）およびＰＢＳで希釈した０．５％ｖ／ｖ［体積／体積］ポリソルベート－２０）を２００μＬ／ウェルで加えた。プレートを約３０分間インキュベートし、次に蒸留水で洗浄した。次に、マウス血清の連続希釈（ブロック溶液中）または陽性対照を、アッセイプレートに添加し（１００μＬ／ウェル）、２時間から２０時間の間インキュベートし、次に、蒸留水で洗浄した。次に、正常な血清溶液（ＮＳＳ；２％ｖ／ｖ正常マウス血清を含むブロック溶液）を１００μＬ／ウェルで添加して追加ブロッキングした。この溶液は、アッセイウェル内の非特異的結合を防止するのに役立つ。プレートを約３０分間インキュベートし、次に蒸留水で洗浄した。続いて、各ペプチドの２２４ｎＭ溶液１００μＬ／ウェルをアッセイウェルに添加して、短時間インキュベートし、その後、プレートを蒸留水で洗浄した（血清試料は３つの全ペプチドの混合物ではなく個々のペプチドに対する反応を試験した。）。次に、ブロッキング溶液で２００ｎｇ／ｍＬに希釈した西洋ワサビペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン（Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ）１００μＬ／ウェルを添加し、約３０分間インキュベートし、その後プレートを洗浄した；ｏ－フェニレンジアミン基質（ＯＰＤ）を色素原として使用して信号を生成させ、反応を１Ｎ硫酸を使用して止めた。信号を４９２ｎｍの波長で読んだ。

【０１９８】

［実施例３］

相対的親和性に関するマウス血清のスクリーニング

相対的親和性試験を各血清試料、すなわち、前のアッセイで強い信号が確認されていたペプチドの組み合わせに対して完了した。個々のコアペプチドに対する各血清試料の相対的親和性を決定するため、試料を、ビオチン標識したペプチド各々の限界濃度に対する反応性に関して試験した。アッセイ形式は上述のものと同一であったが、マウス血清の試験試料の連続希釈を調製する代わりに、各試料をブロッキング溶液で単一の希釈で調製した。さらに、個々のペプチドをブロッキング溶液中５００ｎＭ溶液から、ブロッキング溶液中１０ｌｏｇ２希釈で、濃度を変えて試験した。結合曲線を、各血清試料の相対的親和性を決定するために作成し使用した。これらの結果に基づいて、ＲＢＦ／ＤｎＪマウス３０６番および３１５番をＢ細胞融合に選択した。

【０１９９】

［実施例４］

マウス脾細胞融合

融合当日、マウスを安楽死させ、それらの脾細胞を回収し、Ｐｅｎ　Ｓｔｒｅｐ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ）を添加したＩｓｃｏｖｅｓ　Ｍｏｄｉｆｉｅｄ　Ｄｕｌｂｅｃｃｏｓ　Ｍｅｄｉｕｍ（ＩＭＤＭ）に置いた。ＫｏｈｌｅｒとＭｉｌｓｔｅｉｎ（Ｎａｔｕｒｅ　１９７５年；２５６：４９５－７頁）の記述通りに細胞融合した。各マウスの脾臓をそれぞれＩＭＤＭを含むペトリ皿に置いた。脾細胞をＩＭＤＭを含む注射器およびセルスクレーパーを使用して、各脾臓から灌流して分離した。マウス３０６番および３１５番からの脾細胞をすべて単離し、５０ｍｌ遠心管にプールし、その後、血球計を使用してトリパンブルー色素排除法で計数し生存率を決定した。計約８．０×10^8個の細胞が８９％の生存度で、これらの脾臓から回収された。約７．６×10^6細胞／ｍｌが顕微鏡下での外観に基づいてＢ細胞であると推測された。この細胞懸濁液約５ｍＬを第１の融合実験（融合２０８Ａ）に使用し、残りの細胞を、磁気細胞分離装置（ＭＡＣＳ）およびＰａｎ　Ｂ細胞分離キット（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃｈ）を使用して処理し、Ｂ細胞に関して細胞集団を濃縮し、他の細胞タイプを除去した。約６．７×10^8の全細胞を、Ｐａｎ　Ｂ細胞ビオチン標識抗体カクテルと一緒にインキュベートし、続いてメーカーの指示に従って抗ビオチンマイクロビーズと一緒にインキュベートした。細胞懸濁液／マイクロビーズ混合物を遠心分離により洗浄し、磁場内のＭｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃｈ　ＬＳカラムに移した。Ｂ細胞をカラムに流し、他の細胞タイプをカラム内で保持した。２％のＦＢＳを含むＰＢＳでカラムを３回洗浄し、Ｂ細胞をすべて洗い出した。Ｂ細胞懸濁液を遠心分離機にかけ、ペレットをＩＭＤＭにおいて再懸濁し、次に血球計を使用して計数した。約１．４×10^8個のＢ細胞を濃縮工程から回収した。この懸濁液から得た約７．０×10^7個のＢ細胞を第２の融合実験（融合２０８Ｂ）に使用し、残りのＢ細胞は、後で使用するために凍結保存した。

【０２００】

脾臓由来の非濃縮脾細胞（融合２０８Ａ用、約３．８×10^7個のＢ細胞）と濃縮Ｂ細胞プール（融合２０８Ｂ用、約７．０×10^7個のＢ細胞）を別々のチューブで遠心分離により洗浄し、細胞ペレットをＩＭＤＭで再懸濁した。これらの脾細胞を同数のＮＳ／０骨髄腫細胞と混合し、遠心分離してペレット化した。この融合は、ＨＳＦＭ中５０％ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）（Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ－分子量１３００－１６００）に脾細胞およびＮＳ／０細胞を接触させて実施した。ＰＥＧ溶液１ｍＬを３０秒間かけて各細胞ペレットに添加し、その後もう１分間インキュベートした。ＰＥＧと細胞ペレットを、ＩＭＤＭ３０ｍＬを３０秒間かけて徐々に添加して希釈した。その後、融合細胞を遠心分離により懸濁液から除去し、上清をデカントした。各融合（２０８Ａおよび２０８Ｂ）で得た細胞ペレットを、約１０％ＦＢＳ（Ｈｙｃｌｏｎｅ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）、ＨＡＴ（ヒポキサンチン、アミノプテリン、チミジン）（Ｓｉｇｍａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）、ＨＴサプリメント（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ）、ＢＭ　Ｃｏｎｄｉｍｅｄ　Ｈ１（Ｒｏｃｈｅ　Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｓｃｉｅｎｃｅ）、コレステロールおよびＬ－グルタミン（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ）を補充したＩＭＤＭ約２５０ｍＬで再懸濁

してハイブリドーマを選択した。融合細胞をＨＡＴ培地を含むＴ１６２培養フラスコに播種し、５％CO_2、３７℃で約４８時間、大量培養した。ＨＡＴ選択の４８時間後、大量培養物を遠心分離機にかけ、ペレットを半固体組織培養培地に再懸濁した。半固体組織培養培地は２×ＩＭＤＭ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）とＣｌｏｎｅ Ｍａｔｒｉｘ（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｄｅｖｉｃｅｓ）の５０％混合物に、１０％ＦＢＳ、ＨＴサプリメント、Ｐｅｎｎ／Ｓｔｒｅｐ、Ｌ－グルタミンおよび抗マウスＩｇＧ－ＦＩＴＣ Ｃｌｏｎｅ Ｄｅｔｅｃｔ（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｄｅｖｉｃｅｓ）を補充して構成した。半固体培養プレートは７－１０日間インキュベートして、ＣｌｏｎｅｐｉｘＦＬ（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｄｅｖｉｃｅｓ）でコロニー選抜した。増殖を開始した単一細胞は、増殖中に移動して他の細胞と混合できないため、半固体培地において増殖したコロニーはクローンと考えられたが、目的の細胞株はすべて後日サブクローン化して、クローン性を実証される。免疫沈降反応が、コロニーで生成された抗体と蛍光を発するヤギ抗マウスＩｇＧ Ｆｃ－ＦＩＴＣの間で生じた。観察された蛍光信号が明るいほど、より多くの抗体が生成されていることになる。コロニーをＣｌｏｎｅｐｉｘＦＬで蛍光分析し、蛍光信号が最も強いコロニーを選択し、１０％ＦＢＳ、ＨＴサプリメント、コレステロール、Ｌ－グルタミンおよびＰｅｎ Ｓｔｒｅｐを添加したＩＭＤＭを含む９６ウェル組織培養プレートに自動的に移行させた。９６ウェル組織培養プレートは抗体産生に関する上清のスクリーニングに先立って、３７℃で３から７日間増殖させた。

【０２０１】

［実施例５］

ペプチドを使用したハイブリドーマスクリーニングおよび選抜

細胞上清試料をＥＩＡで抗ＨＣＶ抗体に関して分析した。ヒツジ抗マウスＩｇＧ Ｆｃ（Ｊａｃｋｓｏｎ Ｉｍｍｕｎｏｒｅｓｅａｒｃｈ）を１μｇ／ｍＬで９６ウェルマイクロタイターＥＩＡプレート上にコートした。捕捉試薬を固相上にコートした後、残存溶液を除去し、プレートをＰＢＳ中３％ＢＳＡでブロックした。ウェルを蒸留水で洗浄し、ブロックしたプレートに細胞上清を添加し、少なくとも１時間、室温でインキュベートした。抗マウスＩｇＧ Ｆｃは、上清に存在した抗ＨＣＶマウス抗体を捕捉した。インキュベート後、プレートを蒸留水を使用して洗浄した。ＢＳＡブロック溶液中３％正常マウス血清を全ウェルに添加して、３０分間室温でインキュベートして、プレート上にコートした非結合ヒツジ抗マウスＩｇＧ Ｆｃ捕捉部位をブロックした。ウェルを蒸留水で洗浄し、実施例２に記述したビオチン化ＨＣＶペプチドの混合物（つまり、ＨＣＶ－１のアミノ酸１３４－１５４、１４１－１６１および１５１－１７１に対応）、をそれぞれ１００ｎｇ／ｍＬで添加し、室温で３０分間インキュベートした。インキュベート後、ビオチン化抗原を蒸留水を使用してプレートから洗浄し、約２００ｎｇ／ｍＬに希釈したストレプトアビジン－ＨＲＰＯ（Ｊａｃｋｓｏｎ Ｉｍｍｕｎｏｒｅｓｅａｒｃｈ）をプレートに添加し、３０分間インキュベートした。プレートを蒸留水で洗浄し、ｏ－フェニレンジアミン基質を色素原として使用して信号を生成させた。プレートを４９２ｎｍで読み、結果を分析した。ＥＩＡ信号がバックグラウンドより少なくとも３倍高い場合、ウェルを陽性であるとみなした。陽性のウェルを２４ウェルプレート上、１０％ＦＢＳ、ＨＴサプリメント、コレステロールおよびＬ－グルタミンを添加したＩＭＤＭ中に展開した。

【０２０２】

５－１４日間増殖させた後、２４ウェル培養物を上述したのと同じ方法でＥＩＡで評価したが、今回は、上清試料を個々のビオチン化ＨＣＶコアペプチドとＢＳＡに対して滴定して、ペプチドまたはブロッキングタンパク質に非特異的に結合し得るクローンを識別した。スクリーニングペプチドの少なくとも１つに対して、０．０８ＯＤ単位の平均的なＢＳＡバックグラウンド値より少なくとも５倍高い信号を生成する２４ウェル培養物は陽性であると考えられ、次の評価のために選択した。値を表１に掲載する。

【０２０３】

【表１】

表1

ｸﾛｰﾝ#	HCV bt-134-154 に対する反応性	HCV bt-141-161 に対する反応性	HCV bt-151-171 に対する反応性	BSA (Pep)
HCV 208A-1006	0.15	3.56	0.07	0.08
HCV 208A-1007	0.07	3.53	0.08	0.07
HCV 208A-1015	0.07	0.42	0.11	0.08
HCV 208A-1022	0.08	1.63	0.08	0.09
HCV 208A-1032	0.12	3.73	0.09	0.08
HCV 208A-1064	0.10	3.50	0.12	0.07
HCV 208A-1081	0.06	3.52	0.06	0.05
HCV 208A-110	0.07	2.88	0.11	0.06
HCV 208A-122	0.06	2.65	0.09	0.06
HCV 208A-126	0.20	2.08	0.10	0.10
HCV 208A-133	0.10	3.68	0.13	0.06
HCV 208A-134	2.06	0.08	0.06	0.07
HCV 208A-147	0.67	0.07	0.06	0.20
HCV 208A-152	0.08	3.55	0.09	0.07
HCV 208A-158	0.10	2.70	0.09	0.07
HCV 208A-159	0.15	3.77	0.19	0.08
HCV 208A-160	0.11	3.28	0.09	0.09
HCV 208A-194	0.07	0.20	0.06	0.07
HCV 208A-207	1.24	0.17	0.08	0.07
HCV 208A-208	0.09	3.22	0.29	0.10
HCV 208A-210	0.06	1.15	0.05	0.06
HCV 208A-222	0.06	2.70	0.08	0.07
HCV 208A-227	0.08	0.24	0.43	0.07
HCV 208A-230	0.08	0.42	0.07	0.07
HCV 208A-264	0.05	0.07	0.37	0.09
HCV 208A-286	0.11	2.62	0.11	0.06
HCV 208A-293	0.08	2.42	0.11	0.07
HCV 208A-312	0.22	3.70	0.06	0.06
HCV 208A-334	0.05	3.07	0.05	0.05
HCV 208A-352	1.08	0.07	0.06	0.07
HCV 208A-367	0.08	1.79	0.10	0.08

ｸﾛｰﾝ#	HCV bt-134-154 に対する反応性	HCV bt-141-161 に対する反応性	HCV bt-151-171 に対する反応性	BSA (Pep)
HCV 208A-381	0.07	3.69	0.12	0.08
HCV 208A-382	0.10	0.07	0.43	0.08
HCV 208A-393	0.06	1.04	0.06	0.05
HCV 208A-422	0.05	0.84	0.10	0.07
HCV 208A-427	0.20	3.82	0.11	0.11
HCV 208A-442	0.08	3.04	0.06	0.06
HCV 208A-460	0.09	2.69	0.10	0.07
HCV 208A-470	0.08	0.10	0.08	0.08
HCV 208A-489	0.06	3.11	0.07	0.06
HCV 208A-493	0.09	3.60	0.07	0.07
HCV 208A-557	0.05	2.41	0.06	0.05
HCV 208A-558	0.12	0.95	0.14	0.10
HCV 208A-562	0.21	3.71	0.12	0.09
HCV 208A-575	0.07	1.55	0.13	0.12
HCV 208A-576	0.08	3.05	0.09	0.06
HCV 208A-584	0.89	0.10	0.06	0.08
HCV 208A-603	0.07	1.35	0.09	0.07
HCV 208A-604	0.05	2.27	0.06	0.05
HCV 208A-605	0.22	3.71	0.16	0.11
HCV 208A-638	0.07	2.96	0.09	0.06
HCV 208A-641	0.10	0.93	0.11	0.09
HCV 208A-658	0.06	1.10	0.08	0.20
HCV 208A-692	3.67	0.38	0.07	0.06
HCV 208A-695	0.08	3.82	0.11	0.07
HCV 208A-719	0.07	3.60	0.09	0.06
HCV 208A-736	3.24	0.12	0.06	0.07
HCV 208A-741	1.20	3.37	0.06	0.07
HCV 208A-744	0.12	3.88	0.10	0.08
HCV 208A-759	0.16	3.95	0.14	0.08
HCV 208A-768	0.11	3.28	0.09	0.09
HCV 208A-774	0.14	3.53	0.12	0.07
HCV 208A-793	0.07	2.96	0.10	0.07
HCV 208A-807	0.79	0.07	0.06	0.06
HCV 208A-826	3.28	0.11	0.11	0.10
HCV 208A-828	0.07	3.35	0.10	0.07
HCV 208A-830	0.07	2.88	0.08	0.06
HCV 208A-850	0.07	3.49	0.10	0.06
HCV 208A-863	0.07	4.00	0.08	0.06
HCV 208A-874	0.05	0.73	0.06	0.05
HCV 208A-877	0.06	1.21	0.05	0.06
HCV 208A-879	0.09	0.17	0.79	0.19
HCV 208A-920	0.17	4.00	0.08	0.08
HCV 208A-926	0.06	3.32	0.07	0.09
HCV 208A-938	0.09	3.49	0.09	0.10
HCV 208A-939	3.33	0.17	0.05	0.05
HCV 208A-967	0.52	0.73	0.18	0.07
HCV 208A-982	0.08	3.40	0.06	0.07
HCV 208A-983	3.03	0.40	0.05	0.05
HCV 208B-1024	0.08	0.75	0.15	0.10
HCV 208B-1029	0.07	0.51	0.10	0.06
HCV 208B-1043	0.16	0.12	3.88	0.07
HCV 208B-1070	0.07	3.50	0.05	0.05
HCV 208B-1072	0.09	2.28	0.09	0.12
HCV 208B-109	0.08	3.46	0.11	0.07

ｸﾛｰﾝ#	HCV bt-134-154 に対する反応性	HCV bt-141-161 に対する反応性	HCV bt-151-171 に対する反応性	BSA (Pep)
HCV 208B-1094	0.12	3.28	0.13	0.10
HCV 208B-1096	0.34	0.13	3.56	0.08
HCV 208B-131	0.13	0.18	3.89	0.10
HCV 208B-141	1.66	0.09	0.06	0.06
HCV 208B-174	0.08	1.26	0.07	0.08
HCV 208B-178	0.10	0.07	1.69	0.07
HCV 208B-181	0.12	2.44	0.07	0.06
HCV 208B-183	0.31	0.14	0.09	0.11
HCV 208B-189	0.55	0.15	3.95	0.09
HCV 208B-207	0.19	0.09	0.50	0.07
HCV 208B-214	0.16	0.07	0.60	0.06
HCV 208B-230	0.41	0.12	0.08	0.08
HCV 208B-251	0.11	2.35	0.41	0.10
HCV 208B-281	1.48	0.16	0.12	0.07
HCV 208B-309	0.11	2.34	0.09	0.09
HCV 208B-319	0.17	3.43	0.13	0.13
HCV 208B-327	0.07	0.05	0.49	0.05
HCV 208B-348	0.07	0.20	0.07	0.07
HCV 208B-353	0.07	2.47	0.07	0.07
HCV 208B-395	0.54	0.13	3.69	0.11
HCV 208B-408	0.81	0.20	0.16	0.06
HCV 208B-409	0.09	3.21	0.14	0.07
HCV 208B-446	0.06	2.50	0.08	0.06
HCV 208B-457	0.75	0.66	0.24	0.17
HCV 208B-471	1.62	0.11	0.08	0.10
HCV 208B-488	0.08	0.07	0.30	0.08
HCV 208B-515	0.51	0.13	0.06	0.06
HCV 208B-517	0.10	0.41	0.70	0.11
HCV 208B-547	0.12	0.08	2.90	0.08
HCV 208B-556	0.13	3.07	0.18	0.08
HCV 208B-560	0.11	3.90	0.14	0.07
HCV 208B-589	0.27	0.10	2.85	0.12
HCV 208B-591	0.08	3.10	0.07	0.07
HCV 208B-602	0.20	1.87	0.20	0.07
HCV 208B-608	0.19	0.37	0.13	0.07
HCV 208B-612	3.05	3.04	0.15	0.08
HCV 208B-616	0.10	0.71	0.11	0.09
HCV 208B-617	0.45	0.51	0.13	0.10
HCV 208B-646	0.15	3.94	0.18	0.10
HCV 208B-652	0.21	0.55	0.10	0.09
HCV 208B-672	0.08	2.79	0.10	0.08
HCV 208B-739	1.13	0.11	0.07	0.08
HCV 208B-742	0.08	0.44	0.07	0.09
HCV 208B-750	0.10	3.41	0.12	0.09
HCV 208B-762	0.07	0.65	0.05	0.05
HCV 208B-765	0.10	0.64	0.16	0.08
HCV 208B-778	0.11	0.06	0.23	0.06
HCV 208B-780	0.07	1.02	0.17	0.10
HCV 208B-788	0.09	0.49	0.10	0.16
HCV 208B-793	0.09	0.72	0.09	0.13
HCV 208B-796	0.07	3.03	0.07	0.09
HCV 208B-822	0.08	1.35	0.07	0.05
HCV 208B-826	0.53	1.35	0.08	0.07
HCV 208B-853	0.09	0.74	0.12	0.13

ｸﾛｰﾝ#	HCV bt-134-154 に対する反応性	HCV bt-141-161 に対する反応性	HCV bt-151-171 に対する反応性	BSA (Pep)
HCV 208B-860	0.12	0.73	0.12	0.07
HCV 208B-862	0.21	3.28	0.10	0.09
HCV 208B-894	0.07	0.09	0.48	0.07
HCV 208B-909	0.09	3.11	0.11	0.07
HCV 208B-911	0.09	0.09	0.71	0.10
HCV 208B-922	0.93	0.11	0.11	0.09
HCV 208B-952	0.07	0.64	0.07	0.09
HCV 208B-954	0.06	3.43	0.06	0.06
HCV 208B-956	0.10	0.85	0.05	0.05
HCV 208B-960	0.09	3.38	0.11	0.08
HCV 208B-982	0.20	1.10	0.13	0.09

【０２０４】

［実施例６］

組み換えＨＣＶコア１－１６９のクローニングおよび発現

ＨＣＶ－１のアミノ酸１－１６９をコードするヌクレオチド配列をＥ．ｃｏｌｉ発現に最適化したコドンとし、チオレドキシン融合タンパク質をコードする配列を除去し、メチオニン（Ｍ）に置換した改変ｐＥＴ３２ａベクターでクローニングした。さらに、カルボキシ末端のヘキサヒスチジンタグをＨＣＶコアのコドン１６９のすぐ後に含め、固定化金属親和性クロマトグラフィー（ＩＭＡＣ）で精製を促進した。Ｅ．ｃｏｌｉ ＢＬ２１（ＤＥ３）細胞を精製したプラスミドＤＮＡで形質転換し、プラスミドｐＥＴ－ＨＣＶコア１－１６９を含むクローンを識別した。ここから発現したタンパク質を、ＨＣＶコア１－１６９と命名した。

【０２０５】

タンパク質発現は、ｔｅｒｒｉｆｉｃ ｂｒｏｔｈ（ＴＢ）培地においてｐＥＴ－ＨＣＶコア１－１６９－形質転換Ｅ．ｃｏｌｉ ＢＬ２１（ＤＥ３）細胞の培養により実施した。細胞はＯＤ６００ｎｍが１０になるまで発酵槽で増殖させ、その後、１ｍＭのＩＰＴＧで誘発し、ＯＤ６００ｎｍが約２０となるまで約３時間３７℃で増殖させた。細胞を遠心分離により回収し、１５０ｍＭ ＮａＣｌ、１ｍＭ ＤＴＴ、５ｍＭ $MgCl_2$、リゾチームおよびベンゾナーゼを含む２５ｍＭ Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ緩衝液（ｐＨ７．４）で超音波処理により溶解させた。溶解物を遠心分離により精製し、不溶性分画を、１５０ｍＭ ＮａＣｌ、６Ｍ尿素、１．０％ｎ－ドデシル－β－Ｄ－マルトシド、１ｍＭ ＤＴＴおよび５ｍＭ $MgCl_2$ を含む２５ｍＭ Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ緩衝液（ｐＨ７．４）に溶解させた。溶解した溶解物を遠心分離により再び精製し、可溶性分画をＨｉｓＴｒａｐ Ｆａｓｔ Ｆｌｏｗカラム（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）に移した。１５０ｍＭ ＮａＣｌ、１ｍＭ ＤＴＴ、５ｍＭ $MgCl_2$、６Ｍ尿素、０．１％ｎ－ドデシル－β－Ｄ－マルトシドおよび１０ｍＭイミダゾールを含む２５ｍＭ Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ緩衝液（ｐＨ７．４）をカラム容量の２５倍の量使用して、カラムを洗浄した。溶出を、同一の緩衝液およびイミダゾールの直線的濃度勾配法（０－５００ｍＭ）を使用して実施した。目的の所望のタンパク質（ＳＤＳ－ＰＡＧＥにより決定）を含む溶出分画をプールし、１５０ｍＭ ＮａＣｌ、１ｍＭ ＤＴＴ、５ｍＭ $MgCl_2$ を含み、６Ｍ尿素および０．１％ｎ－ドデシル－β－Ｄ－マルトシドを含む、または含まない、２５ｍＭ Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ緩衝液（ｐＨ７．４）で透析した。

【０２０６】

ＨＣＶコア１－１６９ヌクレオチド配列

【０２０７】

【化５】

atgtctaccaacccgaaaccgcagaaaaaaaacaaacgtaacaccaaccgtcgtccgcaggacg
ttaaattcccgggtggtggtcagatcgttggtggtgtttacctgctgccgcgtcgtggtccgcg
tctgggtgttcgtgctacgcgtaaaacctctgaacgttctcagccgcgtgggcgtcgtcagccg
atcccgaaagctcgtcgtccggaaggtcgtacctgggctcagccgggttacccgtggccgctgt
acggtaacgaaggttgcggttgggctggttggctgctgtctccgcgtggatctcgtccgtcttg
gggtccgaccgacccgcgtcgtcgttctcgtaaccttggtaaagttatcgataccctgacctgc
ggtttcgctgacctgatgggttacataccgctggttggagctccgctgggtggtgctgctcgtg
ctctggcgcatggcgtgcgtgttctggaagatggcgtcaactatgccaccggtaatctg

【０２０８】

ＨＣＶコア１－１６９アミノ酸配列

【０２０９】

【化６】

mstnpkpqkknkrntnrrpqdvkfpgggqivggvyllprrgprlgvratrktsersqprgrrqp
ipkarrpegrtwaqpgypwplygnegcgwagwllsprgsrpswgptdprrrsrnlgkvidtltc
gfadlmgyiplvgaplggaaralahgvrvledgvnyatgnl

【０２１０】

［実施例７］

コア抗原を使用したハイブリドーマのスクリーニング

その後、２４ウェル培養物を、マイクロタイタープレート上に直接コートしたＨＣＶコア１－１６９（実施例６において記述）への結合能力に関してＥＩＡで評価した（固相アッセイ）。ＨＣＶコア１－１６９は１μｇ／ｍＬで９６ウェルマイクロタイターＥＩＡプレート上にコートした。捕捉試薬を固相上にコートした後、溶液を除去し、プレートを３％ＢＳＡを含むＰＢＳでブロックした。ウェルを蒸留水で洗浄し、細胞培養上清の５倍系列希釈を添加し、少なくとも１時間室温でインキュベートした。プレートを蒸留水で洗浄し、ＢＳＡブロック溶液で約２００ｎｇ／ｍｌに希釈したＨＲＰ標識ヤギ抗マウスＩｇＧＦＣ抗体をプレートに添加し、室温で３０分間インキュベートした。プレートを蒸留水で洗浄し、ｏ－フェニレンジアミン基質を色素原として使用して信号を生成させた。プレートを４９２ｎｍで読み、結果を分析した。

【０２１１】

コア１－１６９への反応値以上にＢＳＡバックグラウンドに反応性を有する抗体は陰性であるとみなし、平均ＢＳＡバックグラウンド値の計算には使用しなかった。コア１－１６９に対して陽性であると考えられる残りの抗体については、少なくとも０．５０ＯＤ単位または平均的なＢＳＡバックグラウンド信号である０．１０ＯＤ単位より少なくとも５倍高いＥＩＡ信号を有していなくてはならない。表２に値を掲載する。

【０２１２】

【表２】

表2

ｸﾛｰﾝ#	固相HCV ｺｱOD(A492)	BSA OD (A492)
HCV 208A-1006	0.75	0.09
HCV 208A-1007	0.39	0.06
HCV 208A-1015	0.16	0.08
HCV 208A-1022	0.09	0.07
HCV 208A-1032	1.27	0.08
HCV 208A-1064	0.94	0.08
HCV 208A-1081	1.25	0.06
HCV 208A-110	1.60	0.08
HCV 208A-122	1.36	0.06
HCV 208A-126	0.69	0.24
HCV 208A-133	1.73	0.07
HCV 208A-134	0.10	0.07
HCV 208A-147	0.08	0.10
HCV 208A-152	1.31	0.07
HCV 208A-158	1.16	0.06
HCV 208A-159	0.57	0.35
HCV 208A-160	1.65	0.08
HCV 208A-194	0.08	0.07
HCV 208A-207	0.11	0.06
HCV 208A-208	0.77	0.28
HCV 208A-210	0.87	0.06
HCV 208A-222	1.06	0.07
HCV 208A-227	0.06	0.08
HCV 208A-230	0.08	0.06
HCV 208A-264	0.09	0.07
HCV 208A-286	1.20	0.08
HCV 208A-293	1.41	0.07
HCV 208A-312	1.39	0.07
HCV 208A-334	1.28	0.09
HCV 208A-352	0.10	0.08
HCV 208A-367	0.88	0.07
HCV 208A-381	1.43	0.13
HCV 208A-382	0.08	0.07

ｸﾛｰﾝ#	固相HCV ｺｱOD(A492)	BSA OD (A492)
HCV 208A-393	0.24	0.07
HCV 208A-422	1.68	1.10
HCV 208A-427	0.62	0.11
HCV 208A-442	1.61	0.06
HCV 208A-460	1.68	0.07
HCV 208A-470	0.08	0.07
HCV 208A-489	1.37	0.07
HCV 208A-493	1.58	0.06
HCV 208A-557	1.40	0.07
HCV 208A-558	0.40	0.25
HCV 208A-562	1.29	0.07
HCV 208A-575	0.12	0.06
HCV 208A-576	1.13	0.06
HCV 208A-584	0.07	0.06
HCV 208A-603	0.25	0.07
HCV 208A-604	1.27	0.06
HCV 208A-605	0.55	0.06
HCV 208A-638	1.07	0.06
HCV 208A-641	0.20	0.07
HCV 208A-658	0.83	0.07
HCV 208A-692	0.07	0.06
HCV 208A-695	0.61	0.17
HCV 208A-719	1.12	0.06
HCV 208A-736	0.07	0.07
HCV 208A-741	1.20	0.06
HCV 208A-744	1.57	0.07
HCV 208A-759	0.36	0.22
HCV 208A-768	1.12	0.07
HCV 208A-774	1.41	0.06
HCV 208A-793	1.24	0.06
HCV 208A-807	0.14	0.10
HCV 208A-826	0.09	0.06
HCV 208A-828	1.49	0.07
HCV 208A-830	1.16	0.06
HCV 208A-850	1.18	0.06
HCV 208A-863	1.55	0.07
HCV 208A-874	0.45	0.06
HCV 208A-877	0.90	0.07
HCV 208A-879	0.32	0.30
HCV 208A-920	1.14	0.07
HCV 208A-926	1.14	0.09
HCV 208A-938	0.83	0.13
HCV 208A-939	0.07	0.06
HCV 208A-967	1.08	1.30
HCV 208A-982	1.25	0.07
HCV 208A-983	0.12	0.06
HCV 208B-1024	0.60	0.40
HCV 208B-1029	0.07	0.07
HCV 208B-1043	0.86	0.15
HCV 208B-1070	1.24	0.08
HCV 208B-1072	0.89	0.07
HCV 208B-109	0.62	0.15
HCV 208B-1094	0.90	0.17
HCV 208B-1096	0.49	0.15

ｸﾛｰﾝ#	固相HCV ｺｱOD(A492)	BSA OD (A492)
HCV 208B-131	0.74	0.06
HCV 208B-141	0.07	0.08
HCV 208B-174	0.15	0.06
HCV 208B-178	0.89	0.07
HCV 208B-181	0.47	0.07
HCV 208B-183	0.84	0.85
HCV 208B-189	0.49	0.11
HCV 208B-207	0.06	0.08
HCV 208B-214	0.09	0.06
HCV 208B-230	0.08	0.09
HCV 208B-251	0.79	0.08
HCV 208B-281	0.09	0.07
HCV 208B-309	0.77	0.07
HCV 208B-319	0.50	0.11
HCV 208B-327	0.14	0.08
HCV 208B-348	0.90	0.67
HCV 208B-353	0.30	0.06
HCV 208B-395	0.50	0.12
HCV 208B-408	0.09	0.08
HCV 208B-409	0.52	0.13
HCV 208B-446	0.78	0.24
HCV 208B-457	0.13	0.11
HCV 208B-471	0.24	0.12
HCV 208B-488	0.34	0.07
HCV 208B-515	0.06	0.07
HCV 208B-517	0.79	0.07
HCV 208B-547	0.46	0.13
HCV 208B-556	0.74	0.36
HCV 208B-560	1.07	0.07
HCV 208B-589	0.68	0.17
HCV 208B-591	0.72	0.08
HCV 208B-602	0.14	0.06
HCV 208B-608	0.07	0.06
HCV 208B-612	0.18	0.06
HCV 208B-616	0.19	0.15
HCV 208B-617	0.93	1.21
HCV 208B-646	1.24	0.07
HCV 208B-652	0.10	0.07
HCV 208B-672	1.77	0.79
HCV 208B-739	0.19	0.17
HCV 208B-742	0.29	0.08
HCV 208B-750	0.98	0.07
HCV 208B-762	1.62	1.49
HCV 208B-765	0.15	0.12
HCV 208B-778	0.10	0.08
HCV 208B-780	1.05	0.97
HCV 208B-788	0.21	0.21
HCV 208B-793	0.85	0.42
HCV 208B-796	0.49	0.14
HCV 208B-822	0.22	0.06
HCV 208B-826	0.65	0.08
HCV 208B-853	0.10	0.06
HCV 208B-860	0.12	0.08
HCV 208B-862	0.49	0.12

ｸﾛｰﾝ#	固相HCV ｺｱOD(A492)	BSA OD (A492)
HCV 208B-894	0.07	0.07
HCV 208B-909	0.66	0.23
HCV 208B-911	1.18	1.17
HCV 208B-922	0.07	0.08
HCV 208B-952	0.16	0.07
HCV 208B-954	1.10	0.07
HCV 208B-956	0.12	0.07
HCV 208B-960	1.16	0.09
HCV 208B-982	0.46	0.08

【０２１３】

［実施例８］

コア抗原捕捉アッセイによるハイブリドーマスクリーニング

ペプチドベースのＥＩＡ（実施例５）またはＨＣＶコア１－１６９固相イムノアッセイ（実施例７）により２４ウェルステージで陽性と識別された細胞株を凍結保存用に展開し、高濃度使用細胞上清を生成した。融合２０８Ａ細胞株および融合２０８Ｂ細胞株由来の高濃度使用上清は、ドメイン１としても知られるＨＣＶコアの核酸結合ドメイン（例えばアミノ酸１－１２５）内のエピトープに対して指向するモノクローナル抗体（１４－１５３－２２９、米国特許第７，８５８，７５２号）を用いて溶液から捕捉したＨＣＶコア１－１６９を検出する能力に関して試験した。抗ドメイン１モノクローナル抗体は１μｇ／ｍＬで９６ウェルマイクロタイターＥＩＡプレートの固相上にコーティングした。捕捉試薬を固相上にコートした後、除去して、プレートを、２％フィィッシュゼラチン、０．５％Ｔｗｅｅｎ２０および０．１％ｎ－ドデシル－Ｎ，Ｎ－ジメチルアミン－Ｎ－オキシド（Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘ）を含む５×ＰＢＳ緩衝液を使用して、室温で３０分間ブロックした。プレートを蒸留水で洗浄し、フィィッシュゼラチン／洗浄溶液で希釈したコア１－１６９抗原の５０ｎｇ／ｍｌ溶液を全ウェルに添加し、室温で少なくとも３０分間インキュベートした。ウェルを蒸留水で洗浄し、細胞上清をブロックしたプレートに滴定し、室温で少なくとも３０分間室温でインキュベートした。プレートを蒸留水で洗浄し、ＢＳＡブロック溶液で約２００ｎｇ／ｍｌに希釈したＨＲＰ標識ヤギ抗マウスＩｇＧ　ＦＣ抗体をプレートに添加し、室温で３０分間インキュベートした。プレートを蒸留水で洗浄し、ｏ－フェニレンジアミン基質を色素原として使用して信号を生成させた。プレートを４９２ｎｍで読み、結果を分析した。少なくとも０．５００Ｄ単位または平均的なＢＳＡバックグラウンド信号である０．１００Ｄ単位より少なくとも５倍高いＥＩＡ信号を有していた場合、抗体は、コア１－１６９に対して陽性であると考えられた。表３に値を掲載する。

【０２１４】

【表３】

表3

ｸﾛｰﾝ#	捕捉HCV ｺｱOD(A492)	BSA OD (A492)
HCV 208A-1006	0.97	0.10
HCV 208A-1007	1.25	0.13
HCV 208A-1015	0.15	0.14
HCV 208A-1022	0.33	0.22
HCV 208A-1032	1.53	0.08
HCV 208A-1064	1.57	0.09
HCV 208A-1081	1.95	0.09
HCV 208A-110	1.87	0.07
HCV 208A-122	2.10	0.07
HCV 208A-126	1.20	0.07
HCV 208A-133	1.46	0.08
HCV 208A-134	0.13	0.09
HCV 208A-147	0.14	0.08
HCV 208A-152	1.60	0.06
HCV 208A-158	1.84	0.08
HCV 208A-159	1.29	0.08
HCV 208A-160	1.54	0.08
HCV 208A-194	0.14	0.14
HCV 208A-207	0.41	0.09
HCV 208A-208	1.77	0.07
HCV 208A-210	0.87	0.08
HCV 208A-222	2.07	0.08
HCV 208A-227	0.09	0.08
HCV 208A-230	0.07	0.08
HCV 208A-264	0.09	0.08
HCV 208A-286	2.06	0.14
HCV 208A-293	2.31	0.07
HCV 208A-312	2.07	0.08
HCV 208A-334	1.90	0.10
HCV 208A-352	0.53	0.08
HCV 208A-367	1.41	0.08
HCV 208A-381	2.18	0.07
HCV 208A-382	0.11	0.08
HCV 208A-393	0.07	0.09
HCV 208A-422	0.18	0.11
HCV 208A-427	1.84	0.08
HCV 208A-442	0.36	0.14
HCV 208A-460	1.50	0.08
HCV 208A-470	0.09	0.09
HCV 208A-489	1.46	0.07
HCV 208A-493	1.44	0.08
HCV 208A-557	2.39	0.08
HCV 208A-558	0.23	0.18
HCV 208A-562	2.15	0.07

ｸﾛｰﾝ#	捕捉HCV ｺｱOD(A492)	BSA OD (A492)
HCV 208A-575	0.30	0.10
HCV 208A-576	1.44	0.07
HCV 208A-584	1.10	1.20
HCV 208A-603	1.55	0.09
HCV 208A-604	1.75	0.07
HCV 208A-605	2.21	0.08
HCV 208A-638	2.24	0.08
HCV 208A-641	0.11	0.10
HCV 208A-658	0.91	0.08
HCV 208A-692	0.57	0.09
HCV 208A-695	1.77	0.09
HCV 208A-719	1.68	0.08
HCV 208A-736	0.32	0.10
HCV 208A-741	1.90	0.08
HCV 208A-744	1.62	0.10
HCV 208A-759	0.63	0.08
HCV 208A-768	2.29	0.08
HCV 208A-774	1.91	0.09
HCV 208A-793	1.19	0.08
HCV 208A-807	0.09	0.08
HCV 208A-826	0.17	0.08
HCV 208A-828	1.55	0.08
HCV 208A-830	2.09	0.08
HCV 208A-850	1.50	0.09
HCV 208A-863	1.88	0.08
HCV 208A-874	0.18	0.10
HCV 208A-877	1.25	0.08
HCV 208A-879	0.15	0.11
HCV 208A-920	1.82	0.08
HCV 208A-926	1.83	0.08
HCV 208A-938	1.66	0.08
HCV 208A-939	0.31	0.09
HCV 208A-967	0.18	0.15
HCV 208A-982	1.44	0.09
HCV 208A-983	0.64	0.09
HCV 208B-1024	0.31	0.12
HCV 208B-1029	0.14	0.15
HCV 208B-1043	1.21	0.07
HCV 208B-1070	1.25	0.08
HCV 208B-1072	1.45	0.08
HCV 208B-109	1.28	0.10
HCV 208B-1094	1.51	0.08
HCV 208B-1096	1.75	0.07
HCV 208B-131	1.52	0.08
HCV 208B-141	0.17	0.11
HCV 208B-174	0.75	0.09
HCV 208B-178	1.09	0.08
HCV 208B-181	1.65	0.07
HCV 208B-183	0.11	0.10
HCV 208B-189	1.81	0.12
HCV 208B-207	0.07	0.08
HCV 208B-214	0.08	0.08
HCV 208B-230	0.13	0.09
HCV 208B-251	1.39	0.10

ｸﾛｰﾝ#	捕捉HCV ｺｱOD(A492)	BSA OD (A492)
HCV 208B-281	0.11	0.12
HCV 208B-309	1.23	0.08
HCV 208B-319	1.45	0.08
HCV 208B-327	0.11	0.09
HCV 208B-348	0.21	0.23
HCV 208B-353	0.91	0.10
HCV 208B-395	1.95	0.08
HCV 208B-408	0.09	0.10
HCV 208B-409	1.34	0.10
HCV 208B-446	1.08	0.08
HCV 208B-457	0.09	0.07
HCV 208B-471	0.35	0.08
HCV 208B-488	0.10	0.08
HCV 208B-515	0.08	0.08
HCV 208B-517	0.97	0.12
HCV 208B-547	1.62	0.07
HCV 208B-556	1.35	0.18
HCV 208B-560	1.30	0.07
HCV 208B-589	1.29	0.08
HCV 208B-591	1.66	0.08
HCV 208B-602	0.24	0.07
HCV 208B-608	0.09	0.08
HCV 208B-612	1.20	0.08
HCV 208B-616	0.09	0.08
HCV 208B-617	0.07	0.08
HCV 208B-646	1.29	0.08
HCV 208B-652	0.10	0.09
HCV 208B-672	0.99	0.08
HCV 208B-739	0.88	0.09
HCV 208B-742	0.12	0.08
HCV 208B-750	1.53	0.08
HCV 208B-762	0.28	0.21
HCV 208B-765	0.36	0.44
HCV 208B-778	0.08	0.07
HCV 208B-780	0.10	0.08
HCV 208B-788	0.09	0.07
HCV 208B-793	0.17	0.20
HCV 208B-796	1.19	0.09
HCV 208B-822	0.12	0.11
HCV 208B-826	0.72	0.41
HCV 208B-853	0.08	0.09
HCV 208B-860	0.09	0.09
HCV 208B-862	1.07	0.07
HCV 208B-894	0.09	0.09
HCV 208B-909	0.39	0.10
HCV 208B-911	0.14	0.17
HCV 208B-922	0.08	0.08
HCV 208B-952	0.09	0.08
HCV 208B-954	1.53	0.07
HCV 208B-956	0.14	0.12
HCV 208B-960	1.19	0.08
HCV 208B-982	0.99	0.08

【０２１５】

［実施例９］

抗ＨＣＶコア抗体結合速度論の決定

抗ＨＣＶコアペプチド１３４－１７１モノクローナル抗体の親和性／速度論を、Ｂｉａｃｏｒｅ　４０００装置（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ　Ｂｉｏ－Ｓｃｉｅｎｃｅｓ　ＡＢ、Ｕｐｐｓａｌａ、Ｓｗｅｄｅｎ）を使用して決定した。まず、１００ｍＭ　ＨＣｌ、５０ｍＭ　ＮａＯＨおよび０．１％ＳＤＳの重複注入でＣＭ５シリーズＳバイオセンサー

チップ（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）をあらかじめ処理した後、ウサギ抗マウスＩｇＧ捕捉バイオセンサーは、ウサギ抗マウスＩｇＧ抗体（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ、Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ、ＮＪ）を、バイオセンサーチップの４つ全てのフローセルにおけるスポット１、２、４および５上に、Ａｍｉｎｅ　Ｃｏｕｐｌｉｎｇ　Ｋｉｔ（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）で提供されるＥＤＣ／ＮＨＳ／エタノールアミン化学によってアミンカップリングして生成した。精製した抗ＨＣＶコア抗体使用ハイブリドーマ上清およびＨＣＶコアペプチドは、蒸留水で１０倍希釈した１０×ＨＢＳ－ＥＰ＋緩衝液（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ；以下「ランニング緩衝液」）に、０．１％ＢＳＡおよび０．１％ＣＭ－デキストランを添加して、０．２μｍでろ過して構成したろ過緩衝液で希釈した。各ＨＣＶコア抗体上清は１：１でランニング緩衝液で希釈し、０．２μｍで再度ろ過した。５３個のアミノ酸カスタムペプチド（ＡＬＲＺ－９ペプチド、Ａｎａｓｐｅｃ、Ｆｒｅｍｏｎｔ、ＣＡ）を化学的に合成して、ＨＣＶコア残基１３４－１７１およびカルボキシ末端の破傷風トキソイド（ＴＴ）免疫原のＴ細胞エピトープペプチド（Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．（１９８９年）、１９：２２３７－２２４２頁）を、末端のアミノおよびカルボキシ基をそれぞれアセチル化およびアミノ化して含めた。凍結乾燥したＨＣＶコア１３４－１７１－破傷風トキソイド合成ペプチド免疫原は、蒸留水で０．７ｍｇ／ｍＬまたは１ｍｇ／ｍＬの貯蔵濃度に希釈し、さらにランニング緩衝液で、０．４５７から３，０００ｎＭまたは０．４１２から２，７００ｎＭのいずれかの濃度に、どちらも３倍希釈系列を使用して希釈した。抗原溶液はすべて使用に先立って０．２μｍでろ過した。

【０２１６】

ＨＣＶコア１３４－１７１－ＴＴペプチドの手順は以下のとおりであった：ＨＣＶコア抗体１０μＬを、１０μＬ／分で４つすべてのフローセルのスポット１および５に別々に注入した。全スポットが捕捉された抗体を含んだ後、流速を３０μＬ／分に早め、バイオセンサーを２分間この新しい流速で平衡化し；その後、ＨＣＶコアペプチドを３分注入し（９０μＬ）、その後ランニング緩衝液を４分間注入した。バイオセンサーの表面はすべて、１０μＬ／分の流速で１０ｍＭグリシン、ｐＨ１．７（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）３０μＬを１回注入して再生成した。濃度はすべて複製して試験した。結合速度論（結合および解離）は抗原、続くランニング緩衝液注入中にセンサーグラムでモニターした。センサーグラムはダブルリファレンスを取り、１：１結合モデルに合わせ、Ｂｉａｃｏｒｅ　４０００　Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎソフトウェア（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ　Ｂｉｏ－Ｓｃｉｅｎｃｅｓ　ＡＢ）を使用して結合速度および解離速度を、また全体的なK_Dを決定した。速度論および親和性の値を表４に掲載する。値が無い場合は、結合速度論が決定できなかったか、抗体がこのアッセイではＨＣＶコア１３４－１７１－ＴＴペプチドと相互作用しなかったかのどちらかである。

【０２１７】

ＡＬＲＺ－９ペプチド

【０２１８】

【化７】

Ac-

MGYIPLVGAPLGGAARALAHGVRVLEDGVNYATGNLPGQYIKANSKFIGITEL-NH2

【０２１９】

【表４】

表4

	HCVｺｱ134-171-TTﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞとの結合相互作用		
ｸﾛｰﾝ#	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
HCV 208A-1006	1.8E+06	6.2E-04	3.5E-10
HCV 208A-1007	1.8E+06	7.4E-04	4.1E-10
HCV 208A-1022	1.6E+05	2.5E-03	1.6E-08
HCV 208A-1032	1.2E+06	5.5E-04	4.5E-10
HCV 208A-1064	1.6E+06	3.4E-04	2.1E-10
HCV 208A-1081	1.3E+06	5.7E-04	4.5E-10
HCV 208A-110	1.7E+06	5.5E-04	3.3E-10
HCV 208A-122	1.8E+06	2.1E-04	1.2E-10
HCV 208A-133	1.2E+06	5.0E-04	4.1E-10
HCV 208A-134	1.8E+04	3.8E-05	2.1E-09
HCV 208A-152	7.7E+05	4.0E-04	5.2E-10
HCV 208A-158	1.3E+06	4.4E-04	3.3E-10
HCV 208A-159	1.4E+06	6.5E-04	4.5E-10
HCV 208A-160	1.6E+06	6.1E-04	3.8E-10
HCV 208A-207	3.1E+05	<1E-05	<3.2E-11
HCV 208A-208	1.6E+06	5.4E-04	3.4E-10
HCV 208A-222	1.1E+06	3.5E-04	3.1E-10
HCV 208A-286	2.0E+06	2.5E-04	1.2E-10
HCV 208A-293	2.1E+06	2.3E-04	1.1E-10
HCV 208A-312	2.1E+06	2.6E-04	1.3E-10
HCV 208A-334	1.7E+06	5.7E-04	3.4E-10
HCV 208A-352	1.0E+05	5.4E-05	5.2E-10
HCV 208A-367	1.5E+06	5.9E-04	3.9E-10
HCV 208A-381	2.0E+06	2.7E-04	1.3E-10
HCV 208A-427	1.2E+06	5.6E-04	4.5E-10
HCV 208A-460	1.3E+06	5.6E-04	4.4E-10
HCV 208A-489	1.3E+06	6.6E-04	4.9E-10
HCV 208A-493	1.4E+06	5.7E-04	4.1E-10
HCV 208A-557	2.4E+06	2.1E-04	9.1E-11
HCV 208A-562	1.7E+06	6.6E-04	4.0E-10
HCV 208A-576	1.2E+06	5.8E-04	4.9E-10

	HCVｺｱ134-171-TTﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞとの結合相互作用		
ｸﾛｰﾝ#	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
HCV 208A-603	1.5E+06	5.6E-04	3.9E-10
HCV 208A-604	1.3E+06	5.8E-04	4.5E-10
HCV 208A-605	8.7E+05	3.7E-04	4.3E-10
HCV 208A-638	2.7E+06	5.3E-04	2.0E-10
HCV 208A-695	2.0E+06	7.1E-04	3.5E-10
HCV 208A-719	1.9E+06	5.7E-04	3.0E-10
HCV 208A-736	2.2E+04	1.7E-05	7.6E-10
HCV 208A-741	1.7E+06	6.9E-04	4.1E-10
HCV 208A-744	1.3E+06	6.0E-04	4.5E-10
HCV 208A-768	1.1E+06	3.6E-04	3.3E-10
HCV 208A-774	1.3E+06	5.9E-04	4.5E-10
HCV 208A-793	1.8E+06	6.6E-04	3.7E-10
HCV 208A-826	1.8E+04	7.4E-05	4.2E-09
HCV 208A-828	1.4E+06	5.7E-04	4.2E-10
HCV 208A-830	3.4E+06	5.4E-04	1.6E-10
HCV 208A-850	1.6E+06	6.0E-04	3.9E-10
HCV 208A-863	1.3E+06	6.1E-04	4.6E-10
HCV 208A-877	1.1E+06	2.4E-03	2.2E-09
HCV 208A-920	1.5E+06	5.6E-04	3.9E-10
HCV 208A-926	1.7E+06	5.6E-04	3.3E-10
HCV 208A-938	1.6E+06	5.2E-04	3.2E-10
HCV 208A-939	2.5E+04	2.2E-04	9.0E-09
HCV 208A-982	1.3E+06	6.2E-04	4.9E-10
HCV 208A-983	9.7E+04	4.6E-05	4.6E-10
HCV 208B-1024	1.0E+06	1.4E-02	1.5E-08
HCV 208B-1043	1.1E+06	6.0E-04	5.4E-10
HCV 208B-1070	1.6E+06	5.2E-04	3.2E-10
HCV 208B-1072	1.3E+06	5.5E-04	4.2E-10
HCV 208B-109	1.4E+06	5.1E-04	3.7E-10
HCV 208B-1094	1.5E+06	2.5E-04	1.6E-10
HCV 208B-1096	1.3E+06	6.0E-04	4.6E-10
HCV 208B-131	1.3E+06	1.7E-03	1.3E-09
HCV 208B-141	3.1E+04	1.6E-04	5.3E-09
HCV 208B-174	7.6E+05	1.8E-04	2.5E-10
HCV 208B-181	2.0E+06	3.6E-04	1.8E-10
HCV 208B-189	8.8E+05	1.5E-04	1.7E-10
HCV 208B-251	1.1E+06	6.5E-04	5.8E-10
HCV 208B-281	2.2E+03	2.5E-04	9.6E-08
HCV 208B-309	1.2E+06	6.8E-04	5.7E-10
HCV 208B-319	2.2E+06	2.8E-04	1.3E-10
HCV 208B-395	1.3E+06	4.7E-04	3.6E-10
HCV 208B-409	1.9E+06	2.8E-04	1.5E-10
HCV 208B-446	2.1E+06	2.8E-04	1.4E-10
HCV 208B-471	2.2E+05	5.5E-05	2.5E-10
HCV 208B-547	1.6E+06	4.9E-03	3.2E-09
HCV 208B-556	1.5E+06	6.0E-04	4.0E-10
HCV 208B-560	1.1E+06	2.6E-04	2.3E-10
HCV 208B-589	9.6E+05	6.1E-04	6.3E-10
HCV 208B-591	2.2E+06	2.0E-04	9.3E-11
HCV 208B-612	1.8E+05	6.5E-05	3.5E-10
HCV 208B-646	1.8E+06	6.0E-04	3.4E-10
HCV 208B-672	2.2E+06	3.4E-04	1.6E-10

	HCVｺｱ134-171-TTﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞとの結合相互作用		
ｸﾛｰﾝ#	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
HCV 208B-739	2.8E+05	5.5E-05	2.0E-10
HCV 208B-750	2.0E+06	2.6E-04	1.3E-10
HCV 208B-796	1.5E+06	6.8E-04	4.6E-10
HCV 208B-862	1.4E+06	1.0E-04	7.0E-11
HCV 208B-954	1.6E+06	5.5E-04	3.4E-10
HCV 208B-960	1.6E+06	5.6E-04	3.5E-10
HCV 208B-982	2.2E+06	8.0E-04	3.5E-10

【０２２０】
［実施例１０］
核酸結合ドメインｍＡｂのＢＩＡＣｏｒｅ抗体結合対分析
抗ＨＣＶコアペプチド１３４－１７１モノクローナル抗体の、抗ＨＣＶコアＣ１１－３、Ｃ１１－７、Ｃ１１－９およびＣ１１－１４（米国特許第６，７２７，０９２号；Ｍｏｒｏｔａら、Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．Ｍｅｔｈ．、２００９年、１５７：８－１４頁）抗体および組み換えＨＣＶコア１－１６９抗原と抗体結合対を形成する能力を、Ｂｉａｃｏｒｅ４０００装置（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ Ｂｉｏ－Ｓｃｉｅｎｃｅｓ ＡＢ）を使用して決定した。まず、１００ｍＭ ＨＣｌ、５０ｍＭ ＮａＯＨおよび０．１％ＳＤＳの重複注入でＣＭ５シリーズＳバイオセンサーチップ（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）をあらかじめ処理し、ウサギ抗マウスＩｇＧ捕捉バイオセンサーは、ウサギ抗マウスＩｇＧ抗体（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ、Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ、ＮＪ）を、バイオセンサーチップの４つ全てのフローセルにおけるスポット１、２、４および５上に、Ａｍｉｎｅ Ｃｏｕｐｌｉｎｇ Ｋｉｔ（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）で提供されるＥＤＣ／ＮＨＳ／エタノールアミン化学によってアミンカップリングして生成した。
【０２２１】
精製した抗ＨＣＶコア（ペプチドａａ １３４－１７１）抗体使用ハイブリドーマ上清、組み換えＨＣＶコア１－１６９抗原、ブロッキング試薬として使用する、ＨＣＶコアに反応しないアイソタイプＩｇＧ１、ＩｇＧ２ａおよびＩｇＧ２ｂを示す３つの異なる精製マウスモノクローナルＩｇＧおよび抗ＨＣＶコアＣ１１－３、Ｃ１１－７、Ｃ１１－９およびＣ１１－１４ｍＡｂを、蒸留水で５倍希釈した１０×ＰＢＳ緩衝液（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）に、３ｍＭ ＥＤＴＡ、０．１％ＢＳＡ、０．１％ＣＭデキストラン、０．１％ｎ－ドデシル－Ｎ，Ｎ－ジメチルアミン－Ｎ－オキシド、追加で５００ｍＭ ＮａＣｌを添加して、０．２μｍでろ過して構成したろ過ランニング緩衝液（以下「ランニング緩衝液」）で希釈した。各ＨＣＶコア抗体上清を１：１で希釈し、組み換えＨＣＶコア１－１６９抗原は、算出した二量体分子量（３９，４５３Ｄａ）当たり５００ｎＭに希釈し、抗ＨＣＶコアＣ１１－３、Ｃ１１－７、Ｃ１１－９およびＣ１１－１４精製モノクローナル抗体を個々に２０μｇ／ｍＬに希釈し、３つのマウスＩｇＧブロッキング試薬はすべて、各アイソタイプをランニング緩衝液中少なくとも１００μｇ／ｍＬの濃度で有する貯蔵液として希釈した。希釈液はすべて使用に先立って０．２μｍでろ過した。
【０２２２】
ＨＣＶコア抗体－抗原－抗体サンドイッチ手順を以下に示す。ＨＣＶコアＣ１１抗体２０μＬを１０μＬ／分で４つすべてのフローセルのスポット１と５に注入した：つまり、Ｃ１１－３をフローセル１に、Ｃ１１－７をフローセル２に、Ｃ１１－９をフローセル３に、ｃ１１－１４をフローセル４に注入した。流速を３０μＬ／分に早め、バイオセンサー上の残りの利用可能な抗マウスＩｇＧ結合部位を、マウスＩｇＧ１、ＩｇＧ２ａおよびＩｇＧ２ｂのアイソタイプ貯蔵液を全フローセルのスポット１および２に６０μＬを注入し、その後スポット４および５に６０μＬ注入することでブロックした。ＨＣＶコア１－１６９抗原６０μＬを、全フローセルのスポット１に、次に別の６０μＬを全フローセルのスポット５に注入した。ＨＣＶコア抗体の希釈上清の６０μＬを、全フローセルのスポ

ット１および２に注入し、別の希釈上清６０μＬを全フローセルのスポット４および５に注入した。流速を１０μＬ／分に減じて、バイオセンサー表面をすべて、１０ｍＭグリシン、ｐＨ１．７（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）３０μＬを１回注入して再生した。

【０２２３】

Ｂｉａｃｏｒｅ　４０００　Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ　Ｅｐｉｔｏｐｅ　Ｍａｐｐｉｎｇソフトウェアモジュール（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ　Ｂｉｏ－Ｓｃｉｅｎｃｅｓ　ＡＢ）を使用して、各Ｃ１１抗体、抗原およびＨＣＶコア抗体上清の結合反応を、各注入後に決定し、二量体の抗原および抗体（１５０，０００Ｄａ）分子量を用いた、期待反応基準値を計算するのに使用した。期待パーセント結合値は個々の試料対基準値を用いて決定した。期待パーセント結合値が５．０を超えた場合、組み換えＨＣＶコア１－１６９抗原と抗体サンドイッチを形成する能力が陽性であるとみなした。期待パーセント値を表５に掲載する。

【０２２４】

【表５】

表5

二次ｺﾝｼﾞｭｹﾞｰﾄ抗体 抗HCVｺｱ134-171抗体	一次捕捉抗体 抗HCVｺｱ抗体 C11-3	C11-7	C11-9	C11-14
HCV 208A-1006	2.4	3.1	≤ 1.0	2.5
HCV 208A-1007	4.4	6.1	2.7	4.2
HCV 208A-1015	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-1022	≤ 1.0	1.3	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-1032	19.5	26.7	15.7	21.8
HCV 208A-1064	16.3	19.6	10.5	16.3
HCV 208A-1081	19.0	25.9	14.9	20.8
HCV 208A-110	15.7	21.1	9.4	14.8
HCV 208A-122	17.3	19.7	9.6	14.8
HCV 208A-126	1.2	2.0	≤ 1.0	1.3
HCV 208A-133	9.8	13.9	5.8	9.3
HCV 208A-134	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-147	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-152	10.0	12.5	6.9	9.8
HCV 208A-158	14.0	16.5	7.8	12.4
HCV 208A-159	4.6	7.0	3.3	5.5
HCV 208A-160	15.5	20.9	8.7	13.8
HCV 208A-194	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-207	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-208	2.6	3.2	≤ 1.0	2.5
HCV 208A-210	1.2	1.6	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-222	15.6	18.8	10.7	15.0
HCV 208A-227	≤ 1.0	1.1	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-230	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-264	≤ 1.0	1.1	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-286	18.9	22.1	13.0	18.5
HCV 208A-293	17.9	20.9	11.0	16.4
HCV 208A-312	16.3	19.7	11.8	16.4
HCV 208A-334	17.2	20.6	10.3	15.9
HCV 208A-352	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-367	9.7	14.5	6.1	9.3
HCV 208A-381	17.2	20.3	12.3	17.4
HCV 208A-382	≤ 1.0	1.5	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-393	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-422	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-427	15.5	22.1	11.7	16.5
HCV 208A-442	≤ 1.0	1.6	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-460	17.5	24.3	12.9	18.3
HCV 208A-470	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-489	15.9	21.9	11.5	16.6
HCV 208A-493	12.6	17.7	7.8	12.2
HCV 208A-557	17.7	21.4	13.3	17.6
HCV 208A-558	≤ 1.0	1.1	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-562	13.8	17.1	9.5	14.8
HCV 208A-575	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-576	12.6	16.9	9.1	13.3
HCV 208A-584	≤ 1.0	1.6	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-603	6.7	9.1	4.0	6.8
HCV 208A-604	15.4	20.8	9.8	14.8
HCV 208A-605	15.9	19.3	11.9	15.8

二次ｺﾝｼﾞｭｹﾞｰﾄ抗体 抗HCVｺｱ134-171抗体	一次捕捉抗体 抗HCVｺｱ抗体 C11-3	C11-7	C11-9	C11-14
HCV 208A-638	14.1	16.9	9.2	13.3
HCV 208A-641	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-658	1.8	2.5	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-692	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-695	14.2	20.4	9.5	15.0
HCV 208A-719	7.5	10.0	4.9	8.0
HCV 208A-736	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-741	19.4	22.7	14.2	21.2
HCV 208A-744	16.7	22.5	10.5	16.1
HCV 208A-759	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-768	12.7	17.1	8.8	12.6
HCV 208A-774	18.5	24.5	13.4	19.3
HCV 208A-793	3.8	6.2	2.5	3.9
HCV 208A-807	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-826	≤ 1.0	1.3	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-828	14.8	20.7	10.9	16.5
HCV 208A-830	11.9	14.7	7.9	11.7
HCV 208A-850	7.3	9.7	4.4	7.5
HCV 208A-863	18.0	24.9	12.1	18.0
HCV 208A-874	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-877	9.4	12.1	5.9	10.7
HCV 208A-879	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-920	19.3	22.9	13.2	19.1
HCV 208A-926	19.3	26.3	14.7	21.1
HCV 208A-938	14.1	21.0	10.4	15.5
HCV 208A-939	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-967	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208A-982	19.2	26.3	15.0	20.6
HCV 208A-983	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-1024	10.9	14.3	7.1	12.2
HCV 208B-1029	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-1043	17.4	20.7	12.0	17.9
HCV 208B-1070	22.0	28.6	17.7	25.3
HCV 208B-1072	25.0	30.2	19.3	27.4
HCV 208B-109	12.5	16.0	8.6	13.3
HCV 208B-1094	24.4	28.4	19.8	27.8
HCV 208B-1096	15.1	16.9	11.4	16.3
HCV 208B-131	11.4	12.4	6.8	11.6
HCV 208B-141	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-174	1.6	1.5	≤ 1.0	1.6
HCV 208B-178	≤ 1.0	1.7	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-181	7.4	10.0	5.4	8.1
HCV 208B-183	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-189	2.3	2.9	≤ 1.0	2.7
HCV 208B-207	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-214	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-230	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0

	一次捕捉抗体 抗HCVｺｱ抗体			
二次ｺﾝｼﾞｭｹﾞｰﾄ抗体 抗HCVｺｱ134-171抗体	C11-3	C11-7	C11-9	C11-14
HCV 208B-251	16.6	20.1	12.3	18.2
HCV 208B-281	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-309	13.6	17.5	10.2	15.5
HCV 208B-319	6.0	8.5	4.2	6.3
HCV 208B-327	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-348	≤ 1.0	1.5	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-353	1.9	2.6	≤ 1.0	2.4
HCV 208B-395	7.6	9.4	5.2	7.8
HCV 208B-408	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-409	1.8	2.7	≤ 1.0	2.0
HCV 208B-446	10.0	12.2	7.8	10.3
HCV 208B-457	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-471	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-488	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-515	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-517	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-547	7.2	8.3	4.9	8.2
HCV 208B-556	11.5	15.3	8.3	12.7
HCV 208B-560	10.6	15.5	8.3	12.0
HCV 208B-589	9.4	11.7	6.7	9.9
HCV 208B-591	19.1	23.0	15.1	21.7
HCV 208B-602	1.3	1.8	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-608	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-612	3.8	4.4	≤ 1.0	3.1
HCV 208B-616	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-617	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-646	22.0	30.2	17.8	25.6
HCV 208B-652	≤ 1.0	1.3	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-672	2.6	2.8	≤ 1.0	2.7
HCV 208B-739	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-742	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-750	22.8	27.3	17.2	24.1
HCV 208B-762	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-765	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-778	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-780	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-788	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-793	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-796	20.2	27.7	17.3	25.2
HCV 208B-822	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-826	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-853	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-860	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-862	11.2	15.2	8.9	12.6
HCV 208B-894	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-909	1.6	2.5	≤ 1.0	≤ 1.0
HCV 208B-911	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0	≤ 1.0

二次ｺﾝｼﾞｭｹﾞｰﾄ抗体 抗HCVｺｱ134-171抗体	一次捕捉抗体 抗HCVｺｱ抗体 C11-3	C11-7	C11-9	C11-14
HCV 208B-922	≦1.0	≦1.0	≦1.0	≦1.0
HCV 208B-952	≦1.0	≦1.0	≦1.0	≦1.0
HCV 208B-954	23.9	32.7	18.4	26.0
HCV 208B-956	≦1.0	≦1.0	≦1.0	≦1.0
HCV 208B-960	21.0	28.1	15.8	22.9
HCV 208B-982	4.5	5.4	≦1.0	4.9

【０２２５】

［実施例１１］

免疫グロブリンの精製および標識

抗ＨＣＶコアハイブリドーマは、Ｌ－グルタミンおよび１０％Ｕｌｔｒａ　Ｌｏｗ　ＩｇＧ　ＦＢＳ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ）を添加したＨｙｂｒｉｄｏｍａ　Ｓｅｒｕｍ　Ｆｒｅｅ　Ｍｅｄｉｕｍ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ）に展開し、約０．５×１０Ｅ^{5}細胞／ｍＬでローラーボトルへ播種した。培養物を３７℃で、約１回転／分で回転させながら１０－１４日間、または最終培養物が取得されるまでインキュベートした。ローラーボトルの最終上清を回収し、０．４５ミクロンのフィルターで精製した。精製した上清を、同量の１．５Ｍグリシンおよび３Ｍ　ＮａＣｌ緩衝液、ｐＨ８．９で希釈し、その後、ＡＫＴＡ自動精製システム（Ａｍｅｒｓｈａｍ／Ｐｈａｒｍａｃｉａ／ＧＥ）を使用して、あらかじめ平衡化した５ｍｌのプロテインＡカラムに装填した。その後、カラムを約５倍のカラム容量の結合緩衝液で洗浄し、安定したベースラインを得たら、ｍＡｂを０．１Ｍのクエン酸ナトリウム緩衝液、ｐＨ２．８で溶出した。その後、ＩｇＧを脱塩カラムへ移し、ＰＢＳ、ｐＨ７．２－７．４に交換し、その後、ＰＢＳ、ｐＨ７．２－７．４中で、１０，０００分子量のカットオフ透析膜（Ｐｉｅｒｃｅ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ）を使用してさらに透析した。選択した抗体を、２０倍のモル過剰でＳｕｌｆｏ－ＮＨＳ－ＬＣ－Ｂｉｏｔｉｎ（Ｐｉｅｒｃｅ）を使用してビオチン化し、室温で３０分間インキュベートした。非結合ビオチンをＰＢＳ、ｐＨ７．２－７．４で透析して除去した。ビオチン化モノクローナルはすべて、標識が成功しているかどうか確認するためにＥＩＡで試験した。

【０２２６】

［実施例１２］

ＨＣＶコア抗原捕捉アッセイ

精製抗ＨＣＶコア１３４－１７１モノクローナル抗体を、それら自身と２つの他のドメイン１モノクローナル抗体との結合対を形成する能力に関して、ＥＩＡ形式でＨＣＶコア１－１６９組み換え抗原を使用して評価した。抗ＨＣＶドメイン１モノクローナル抗体、Ｃ１１－７およびＣ１１－９、ならびに抗ＨＣＶコア１３４－１７１モノクローナルを、約１０００ｎｇ／ｍｌでマイクロタイタープレート上にコートして、２－８℃で一晩インキュベートした。捕捉試薬を固相上にコートした後、プレートを、２％フィッシュゼラチン、０．５％Ｔｗｅｅｎ２０および０．１％ｎ－ドデシル－Ｎ，Ｎ－ジメチルアミン－Ｎ－オキシドを含む５×ＰＢＳ緩衝液を使用して、ブロックした。ウェルを蒸留水で洗浄し、精製コア１－１６９抗原をブロックしたプレートに、フィッシュゼラチンブロックで５０から０．７８ｎｇ／ｍｌまでの連続希釈で添加し、室温で約３０分間インキュベートした。ウェルを蒸留水で洗浄し、ビオチン標識抗ＨＣＶコアモノクローナルを１００から５０００ｎｇ／ｍｌの範囲の濃度でプレートに添加し、その後、室温で３０分間インキュベートした。プレートを蒸留水で洗浄し、約２００ｎｇ／ｍＬに希釈したストレプトアビジ

ン－ＨＲＰＯをプレートに添加し、３０分間室温でインキュベートした。プレートを蒸留水で洗浄し、ｏ－フェニレンジアミン基質を色素原として使用して信号を生成させ、４９２ｎｍでの吸光度を測定した。

【０２２７】

表６に、コア１－１６９抗原を２５ｎｇ／ｍｌ使用した、各抗体対の組み合わせに対するアッセイ信号（ＯＤ４９２ｎｍ）を要約し、これは、各結合対がサンドイッチを形成できるかどうかを示す。捕捉またはコンジュゲート試薬として、陰性対照（ＮＣ）のモノクローナル抗体により生成された値より少なくとも３×大きいＯＤ４９２値は、コア抗原検出について陽性であるとみなされる。

【０２２８】

【表６】

表6

	208A-110 (aa 141-161)	208A-692 (aa 134-154)	208A-293 (aa 141-161)	208A-557 (aa 141-161)	208A-207-271 (aa 134-154)	208B-741 (aa 134-154 & 141-161)	208B-1096 (aa 151-171)	208B-395-334 (aa 151-171)	208B-612-226 (aa 134-154 & 141-161)	NC捕捉 mAb	C11-7 (aa 115-121)	C11-9 (aa 29-37)
208A-110-Bt	0.18	0.14	0.20	0.17	0.17	0.20	0.21	0.22	0.20	0.15	0.18	0.13
208A-692-Bt	0.54	0.35	0.51	0.53	0.39	0.44	0.38	0.44	0.37	0.40	2.92	2.66
208A-293-Bt	0.52	0.34	0.49	0.52	0.39	0.50	0.41	0.44	0.37	0.37	2.87	2.60
208A-557-Bt	0.44	0.13	0.41	0.32	0.18	0.38	0.35	0.28	0.25	0.18	0.22	0.14
208A-207-271-Bt	0.38	0.42	0.42	0.82	0.36	0.30	0.33	0.37	0.33	0.37	2.47	2.20
208B-741-Bt	0.42	0.32	0.42	0.40	0.33	0.36	0.52	0.34	0.29	0.29	2.36	2.13
208B-1096-Bt	0.19	0.15	0.24	0.17	0.18	0.23	0.26	0.20	0.24	0.17	1.06	0.33
208B-395-334-Bt	0.21	0.15	0.26	0.21	0.20	0.21	0.23	0.23	0.26	0.20	0.89	0.32
208B-612-226-Bt	0.26	0.18	0.28	0.23	0.24	0.23	0.70	0.83	0.23	0.21	1.52	0.64
NC mAb-Bt	0.16	0.15	0.23	0.18	0.17	0.18	0.21	0.22	0.22	0.18	0.17	0.14
C11-7-Bt	1.78	0.18	1.55	0.64	0.22	1.76	0.45	0.46	0.53	0.22	0.23	1.04
C11-9-Bt	2.59	0.58	1.84	1.18	0.44	2.32	0.82	0.95	0.63	0.62	1.91	2.75

【０２２９】

［実施例１３］

抗コア１３４－１７１の可変ドメインの配列

抗ＨＣＶコア１３４－１７１ハイブリドーマのサブセットを、可変重鎖（ＶＨ）と可変軽鎖（ＶＬ）のヌクレオチドおよび推定アミノ酸配列の決定のために選択した。トータルＲＮＡは、メーカーの推奨によってＴｒｉｚｏｌ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）またはＴｒｉ－Ｒｅａｇｅｎｔ（Ｓｉｇｍａ）を使用して、ハイブリドーマ細胞から抽出した。重鎖および軽鎖ｃＤＮＡは、Ｓｕｐｅｒｓｃｒｉｐｔ ＩＩＩ（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）とオリゴｄＴプライマーを使用して、標準的なプロトコルに従って、抽出したトータルＲＮＡから生成した。５’ＲＡＣＥ（ｃＤＮＡ末端の迅速増幅法）プロトコルを使用して、ｄＣアンカープライマー（５’－ＡＡＧＣＡＧＴＧＧＴＡＴＣＡＡＣＧＣＡＧＡＧＴＡＣＣＣＣＣＣＣＣＣＣＣＣＣＣＣＣＣＣＣ－３’）およびマウスの重鎖または軽鎖の定常領域に特異的な一般的なプライマー（Ｎｏｖｏｇｅｎ）を用いて、可変重鎖および軽鎖ｃＤＮＡ配列を増幅した。アンプリコンはメーカーの指示に従って、市販のベクター（ｐＣＲ２．１－ＴＯＰＯクローニングキット、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）へクローニングし、ＴＯＰ１０ Ｅ．ｃｏｌｉへ形質転換した。少なくとも８つのコロニーを、Ｍ１３順方向

および逆方向プライマーを使用する、クローン化可変ドメイン配列のＰＣＲ増幅に選択した。アンプリコンはＥｘｏＳａｐ（Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘ）で処理し、その後、Ｍ１３順方向プライマーおよびＢｉｇＤｙｅ　Ｔｅｒｍｉｎａｔｏｒ　ｖ３．１サイクルシーケンシングキット（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、　Ｆｏｓｔｅｒ　Ｃｉｔｙ、ＣＡ）を使用して配列決定した。配列はＡＢＩ３１３０×ｌ自動シークエンサーを使用して取得し、Ｖｅｃｔｏｒ　ＮＴＩソフトウェア（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を使用してアセンブルおよび分析された。

【０２３０】

推定アミノ酸配列は、ＭＥＧＡ５ソフトウェア・パッケージ（Ｔａｍｕｒａら、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ　ａｎｄ　Ｅｖｏｌｕｔｉｏｎ　２８：２７３１－２７３９頁、２０１１年）に実装されているＣｌｕｓｔａｌＷ（Ｈｉｇｇｉｎｓら、Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．２２：４６７３－４６８０頁、１９９４年）を使用してアラインした。ＭＥＧＡ５ソフトウェアを使用して、アラインメントおよび近隣結合法を使用した系統樹構築から、アラインメントにおける配列のギャップを完全に除去して、関連する重鎖アミノ酸配列のグループ分けまたはクラスターを決定した。樹形、つまり、ここでのクラスターまたはグループについて、１０００個の複製のブートストラップテストを使用して信頼度を検査した。一般的に、所与の内部分枝に対するブートストラップ値が９５％以上である場合、この分枝の樹形は、「正しい」とみなされる（ＮｅｉおよびＫｕｍａｒ、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｅｖｏｌｕｔｉｏｎ　ａｎｄ　Ｐｈｙｌｏｇｅｎｅｔｉｃｓ、２０００年；Ｏｘｆｏｒｄ　Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　Ｐｒｅｓｓ、Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ）。５２個の抗ＨＣＶコア１３４－１７１モノクローナルの重鎖可変ドメイン配列の分析により、ブートストラップ値が＞９５％の４つのメイングループの存在が明らかとなった。これらのグループのうちの以下の３つを含む抗体が、スクリーニングに使用した各ペプチドの１つに結合する特異性を見せた。つまりグループＢのペプチド１（１３４－１５４）、グループＡのペプチド２（１４１－１６１）およびグループＣのペプチド３（１５１－１７１）である。図２は２つの系統樹を示す。

【０２３１】

【表７】

付録A 配列の説明

mAb クローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAb クローン	アミノ酸配列
208A-1064H	1	GAGGTCCAGCTGCAACAG TCTGGACCTGAGTTGGTG AAGCCTGGGGCCTCAGTG AAGATATCTTGCAAGACT TCTGGATACACTTTCACT GAATACGCCATGCACTGG ATGAAGCAGAGCCATGGA AAGAGCCTTGAGTGGATT GGAGGTATCAATCCTACT AATGGTGATACAATCTAC AACCAGAAGTTCAAGGAC AAGGCCAAATTGACTGTA GACAGGTCCTCCAGCACA GCCTACATGGAGCTCCGC AGCCTGACATCTGACGAT TCTGCATTATTTTATTGT GCAAGACGGGAACTGGAC TACTTTGCCTCCTGGGGC CAAGGCACCACTCTCACA GTCTCCTCA	2	208A-1064H	EVQLQQSGPELVKPGASV KISCKTSGYTFTEYAMHW MKQSHGKSLEWIGGINPT NGDTIYNQKFKDKAKLTV DRSSSTAYMELRSLTSDD SALFYCARRELDYFASWG QGTTLTVSS
208B-1094H	3	GAGGTCCAGCTGCAACAG TCTGGACCTGAGCTGGTG AAGCCTGGGGCCTCAGTG AAGATATCCTGCAAGACT TCTGGATACACTTTCACT GAATACGCCATGCACTGG ATGAAGCAGAGCCATGGA AAGAGCCTTGAGTGGATT GGCGGTATCAATCCTACT AATGGTGATACAATCTAC AACCAGAGGTTCAAGGAC AAGGCCAAATTGACTGTA GACAGGTCCTCCAGCACA GCCTACATGGAGCTCCGC AGCCTGACATCTGACGAT TCTGCATTATTTTATTGT GCAAGACGGGAACTGGAC TACTTTGCCTCCTGGGGC CAAGGCACCACTCTCACA GTCTCCTCA	4	208B-1094H	EVQLQQSGPELVKPGASV KISCKTSGYTFTEYAMHW MKQSHGKSLEWIGGINPT NGDTIYNQRFKDKAKLTV DRSSSTAYMELRSLTSDD SALFYCARRELDYFASWG QGTTLTVSS
208A-293H	5	GAGGTCCAGCTGCAACAG TCTGGACCTGAACTGGTG AAGCCTGGGGCCTCAGTG AAGATATCCTGTAAGGCT TCGGGATTCACTTTCACT GAATACGCCATGCACTGG ATGAAACAGAGCCATGGA AAGAGCCTTGAGTGGATT GGAGGTATCAATCCTACT AACGGTGATGCAATCTAC AACCAGAAGTTCAAGGAC AAGGCCAAGTTGACTGTA GACAGGTCCTCCAGCACA	6	208A-293H	EVQLQQSGPELVKPGASV KISCKASGFTFTEYAMHW MKQSHGKSLEWIGGINPT NGDAIYNQKFKDKAKLTV DRSSSTAYMELRSLTSDD SALFYCARRELDYFPSWG QGTTLTVSS

mAb クローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAb クローン	アミノ酸配列
		GCCTACATGGAGCTCCGC AGCCTGACATCTGACGAT TCTGCATTATTTTATTGT GCAAGACGGGAACTGGAC TACTTTCCCTCCTGGGGC CAAGGCACCACTCTCACA GTCTCCTCA			
208A-222H	7	GAGGTCCAGCTGCAACAG TCTGGACCTGAACTGGAA AAGCCTGGGGCTTCAGTG AGGATATCCTGCAAGACT TCTGGATACACATTCACT GAATACGCCATGCACTGG GTGAAGCAGAGCCATGGA AAGAGCCTTGAGTGGATT GGAGGTATTAATCCTAAC AATGGCAATGCTATCTAC AACCAGATATTCAAGGAC AAGGCCACACTGACTGTG GACAGGTCCTCCAGCACA GCCTACATGGGCCTCCGC AGCCTGACATTCGGGGAT TCTGGAGTCTACTTCTGT GTAAGACGACAACTGGAC TACTTTGACTATTGGGGC CAGGGCGCCTCTCTCACA GTCTCCTCA	8	208A-222H	EVQLQQSGPELEKPGASV RISCKTSGYTFTEYAMHW VKQSHGKSLEWIGGINPN NGNAIYNQIFKDKATLTV DRSSSTAYMGLRSLTFGD SGVYFCVRRQLDYFDYWG QGASLTVSS
208A-605H	9	GAGGTCCAGCTGCAACAG TCTGGACCTGAGCTGGAA AAGCCTGGGGCTTCAGTG AAGATATCCTGCAAGACT TCTGGATACACATTCACT GAATACGCCATACACTGG GTGAAGCAGAGCCATGGA ATGAGCCTTGAGTGGATT GGAGGTATTAATCCTAGC AATGGCAATGCTATCTAC AACCAAATATTCAAGGAC AAGGCCACACTGACTGTG GACAGGTCCTCCAGCACA GCCTACATGGGCCTCCGC AGCCTGACATTTGGGGAT TCTGGAGTCTACTTCTGT GTAAGACGACAACTGGAC TTCTTTGACTATTGGGGC CAGGGCGCCTCTCTCACA GTCTCCTCA	10	208A-605H	EVQLQQSGPELEKPGASV KISCKTSGYTFTEYAIHW VKQSHGMSLEWIGGINPS NGNAIYNQIFKDKATLTV DRSSSTAYMGLRSLTFGD SGVYFCVRRQLDFFDYWG QGASLTVSS
208B-560H	11	GAGGTCCAGCTGCAACAG TCTGGACCTGAGCTGGAA AAGCCTGGGGCTTCAGTG AAGATATCCTGCAAGACT TCTGGATACACATTCACT GAATACGCCATGCACTGG GTGAAGCAGAGCCATGGA ATGAGCCTTGAGTGGATT	12	208B-560H	EVQLQQSGPELEKPGASV KISCKTSGYTFTEYAMHW VKQSHGMSLEWIGGINPS NGNAIYNQIFKDKATLTV DRSSSTAYMGLRSLTFGD SGVYFCVRRQLDFFDYWG QGASLTVSS

mAbクローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAbクローン	アミノ酸配列
		GGAGGTATTAATCCTAGC AATGGCAATGCTATCTAC AACCAGATATTCAAGGAC AAGGCCACACTGACTGTG GACAGGTCCTCCAGCACA GCCTACATGGGCCTCCGC AGCCTGACATTTGGGGAT TCTGGAGTCTACTTCTGT GTAAGACGACAACTGGAC TTCTTTGACTATTGGGGC CAGGGCGCCTCTCTCACA GTCTCCTCA			
208A-830H	13	GAGGTCCGGCTGCAGCAG CCTGGACCTGAGGTGGAA AAGCCTGGGGCTTCAGTG AAGATATCCTGCAAGACT TCTGGATACACATTCACT GAATACGCCATCCACTGG GTGAAACAGAGCCATGGA GAGAGCCTTGAGTGGATT GGAGGTATTAATCCTAGC AATGGCGATCCTATCTAT AACCAGATATTCAAGGAC AAGGCCACACTGACTGTG GACAGGTCCTCCAACACA GCCTACATGGGCCTCCGC AGCCTGACAGTTGGGGAT TCTGGAGTCTACTTCTGT GTTAGACGACAACTGGAC TACTTTGACTTTTGGGGC CAGGGCGCCTCTCTCACA GTCTCCTCA	14	208A-830H	EVRLQQPGPEVEKPGASV KISCKTSGYTFTEYAIHW VKQSHGESLEWIGGINPS NGDPIYNQIFKDKATLTV DRSSNTAYMGLRSLTVGD SGVYFCVRRQLDYFDFWG QGASLTVSS
208A-134H	15	CAGGGTCAGATGCAGCAG TCTGGAGCTGAACTGGCG AAGCCTGGGGCTTCAGTG AAGCTGTCCTGCAAGACT TCTGGCTTCACCTTCAGC AGTAGTTATATAAGTTGG TTGAAGCAAAAGCCTGGA CAGAGTCTTGAGTGGATT GCATGGATTTATGCTGGA ACTGGTAATACTAACTAT AATCAGAAGTTCACAGAC AAGGCCCAACTGACTGTA GACACATCCTCCAGTACA GCCTACATGCAACTCAGC AGCCTGACAACTGAGGAC TCTGCCATCTATTACTGT GCGATAAGTGGGACGGGA TTTACTTACTGGGGCCAA GGGACTCTGGTCACTGTC TCTGCAACA	16	208A-134H	QGQMQQSGAELAKPGASV KLSCKTSGFTFSSSYISW LKQKPGQSLEWIAWIYAG TGNTNYNQKFTDKAQLTV DTSSSTAYMQLSSLTTED SAIYYCAISGTGFTYWGQ GTLVTVSA
208A-692H	17	CAGGGTCAGATGCAGCAG TCTGGAGCTGAACTGGTG AAGCCTGGGGCTTCAGTG	18	208A-692H	QGQMQQSGAELAKPGASV KLSCKTSGFTFSSSYISW LKQKPGQSLEWIAWIFAG

mAbクローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAbクローン	アミノ酸配列
		AAGCTGTCCTGCAAGACT TCTGGCTTCACCTTCAGC AGTAGTTATATAAGTTGG TTGAAGCAAAAGCCTGGA CAGAGTCTTGAGTGGATT GCATGGATTTATGCTGGA ACTGGTAATACTAACTAT AATCAGAAGTTCACAGAC AAGGCCCAACTGACTGTA GACACATCCTCCAGTACA GCCTACATGCAACTCAGC AGCCTGACAACTGAGGAC TCTGCCATCTATTACTGT GCGATAAGTGGGACGGGA TTTACTTACTGGGGCCAA GGGACTCTGGTCACTGTC TCTGCAACA			TGNTNYNQKFTDKAQLTV DTSSSTAYMQLSSLTTED SAIYYCAISGTGFTYWGQ GTLVTVSA
208A-557H	19	CAGGGTCAGATGCAGCAG TCTGGAGCTGAGCTGGCG AAGCCTGGGGCTTCAGTG AAACTGTCCTGCAAGACT TCTGGCTTCACCTTCAGC AGTAGTTATATAAGTTGG TTGAAGCAAAAGCCTGGA CAGAGTCTTGAGTGGATT GCATGGATTTTTGCTGGA ACTGGTAATACTAATTAT AATCAGAAGTTCACAGAC AAGGCCCAACTGACTGTA GACACATCCTCCAGTACA GCCTACATGCAACTCAGC AGCCTGACAACTGAGGAC TCTGCCATCTATTACTGT GCGATAAGTGGGACGGGA TTTACTTACTGGGGCCAA GGGACTCTGGTCACTGTC TCTGCA	20	208A-557H	QGQMQQSGAELVKPGASV KLSCKTSGFTFSSSYISW LKQKPGQSLEWIAWIYAG TGNTNYNQKFTDKAQLTV DTSSSTAYMQLSSLTTED SAIYYCAISGTGFTYWGQ GTLVTVSA
208A-352H	21	CAGGGTCAGATGCAGCAG TCTGGAGCTGAGCTGGTG AAGCCTGGGGCTTCAGTG AAGCTGTCCTGCAAGACT TCTGGCTTCACCTTCAGC AGTAGTTTTATAAGTTGG TTGAAGCAAAAGCCTGGA CAGAGTCTTGAGTGGATT GCATGGATTTATGCTGGA ACTGGAAATACTAACTAT AATCAGAAGTTCACAGAC AAGGCCCAACTGACTGTA GACACATCCTCCAGCACA GCCTACATGCAATTCAGC AGCCTGACGACTGAGGAC TCTGCCATCTATTACTGT GCGATAAGTGGGACGGGG TTTACTTACTGGGGCCAA	22	208A-352H	QGQMQQSGAELVKPGASV KLSCKTSGFTFSSSFISW LKQKPGQSLEWIAWIYAG TGNTNYNQKFTDKAQLTV DTSSSTAYMQFSSLTTED SAIYYCAISGTGFTYWGQ GTLVTVSA

mAb クローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAb クローン	アミノ酸配列
		GGGACTCTGGTCACTGTC TCTGCA			
208A-983H	23	CAGGGTCAGATGCAGCAG TCTGGAGCTGAGCTGGTG AAGCCTGGGGCTTCAGTG AAGCTGTCCTGCAAGACT TCTGGCTTCACCTTCAGC AGTAGTTATTTTAGTTGG TTGAAGCAAAAGCCTGGA CAGAGTCTTGAGTGGATT GCATGGATTTATGCTGGA ACTGGTAATACTATCTAT AATCAGAAGTTCACAGAC AAGGCCCAACTGACTGTA GACACAGCCTCCAGCACA GCCTTCATGCAACTCAGC AGCCTGACAATTGAGGAC TCTGCCATCTACTACTGT GCGATAAGTGGGACGGGG TTTACTTACTGGGGCCAA GGGACTCTGGTCACTGTC TCTGCAACA	24	208A-983H	QGQMQQSGAELVKPGASV KLSCKTSGFTFSSSYFSW LKQKPGQSLEWIAWIYAG TGNTIYNQKFTDKAQLTV DTASSTAFMQLSSLTIED SAIYYCAISGTGFTYWGQ GTLVTVSA
208B-281H	25	CAGGGTCAGCTGCAGCAG TCTGGAGCTGAGCTGGTG AAGCCTGGGGCTTCAGTG AAGCTGTCCTGCAAGACT TCTGGCTTCACCTTCAGC AGTAGTTATATAAGTTGG TTGAAGCAAAGGCCTGGA CAGAGTCTTGAGTGGATT GCATGGATTTATGCTGGA ACTGGTGGTACTAACTAT AATCAGAAGTTCACAGAC AAGGCCCAACTGACTGTA GACACATCCTCCAGCACA GCCTACATGCAATTCAGC AGCCTGACAACTGAGGAC TCTGCCATCTATTACTGT GCGATAAGTGGGACGGGG TTTATTTACTGGGGCCAA GGGACTCTGGTCACTGTC TCTGCA	26	208B-281H	QGQLQQSGAELVKPGASV KLSCKTSGFTFSSSYISW LKQRPGQSLEWIAWIYAG TGGTNYNQKFTDKAQLTV DTSSSTAYMQFSSLTTED SAIYYCAISGTGFIYWGQ GTLVTVSA
208B-471H	27	CAGGGTCAGTTGCAGCAG TCTGGACCAGTACTGGTG AAGCCTGGGGCTTCAGAA ATACTATACTGCAAGACT TCTGGCTTCACCTTCAGC AGTACCTATATAAGTTGG TTGAAGCAAAAGCCTGGA CAGAGTCTTGAGTGGATT GCGTGGATTTATGCTGGA ACTGGTGCTACTAATTAT AATCAGAAGTTCACAGGC AAGGCCCAACTGACTGTA	28	208B-471H	QGQLQQSGPVLVKPGASE ILYCKTSGFTFSSTYISW LKQKPGQSLEWIAWIYAG TGATNYNQKFTGKAQLTV DASSNTAYMHFSGLTPED SAIYYCAISGAGVYWGQG TLVTVSA

mAbクローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAbクローン	アミノ酸配列
		GACGCTTCCTCCAACACA GCCTACATGCACTTCAGC GGCCTGACACCTGAGGAC TCTGCCATCTATTACTGT GCAATTTCTGGGGCGGGG GTTTACTGGGGCCAAGGG ACTCTGGTCACTGTCTCT GCA			
208A-207H	29	CAGGGCCAACTGCAGCAG CCTGGGGCTGAGTTTGTG AAGCCTGGGGCTTCACTG AAGCTGTCCTGCAGGGCT TCTGGCTACACCTTCACC AGCTACTGGATACACTGG GTGAAGCAGAGGCCTGGA CAAGGCCTTGAGTGGATT GGAGAAATTGATCCTTCT GACAGTTATATTAACCAG AATCAAAAGTTCAGGGGC AAGGCCACATTGACTGTG GACAAATCCTCCAGCACA GCCTACATGGAACTCAGC GGCCTGACATCTGAAGAC TCTGCGGTCTATTACTGT GCAAGACATTACTACGGT GTTCTTGACTCCTGGGGC CAAGGTACCACTCTCACA GTCTCCTCAACA	30	208A-207H	QGQLQQPGAEFVKPGASL KLSCRASGYTFTSYWIHW VKQRPGQGLEWIGEIDPS DSYINQNQKFRGKATLTV DKSSSTAYMELSGLTSED SAVYYCARHYYGVLDSWG QGTTLTVSS
208A-638H	31	CAGGGCCAACTGCAGCAG CCTGGGGCTGAGTTTGTG AAGCCTGGGGCTTCACTG AAGCTGTCCTGCAGGGCT TCTGGCTACACCTTCACC AGCTACTGGATTCACTGG GTGAAGCAGAGGCCTGGA CAAGGCCTTGAGTGGATC GGAGAAGTTGATCCTTCT GACAGTTATATTAACCAG AATGAAAAGTTCAGGGGC AAGGCCACATTGACTGTG GACAAATCCTCCAGCACA GCCTACATGCAGCTCGGC AGCCTGACATCTGAAGAC TCTGCGGTCTATTACTGT GCAAGACATTACTACGGT GTTCTTGACTCCTGGGGC CAAGGCACCGCTCTCACA GTCTCCTCA	32	208A-638H	QGQLQQPGAEFVKPGASL KLSCRASGYTFTSYWIHW VKQRPGQGLEWIGEVDPS DSYINQNEKFRGKATLTV DKSSSTAYMQLGSLTSED SAVYYCARHYYGVLDSWG QGTALTVSS
208B-515H	33	CAGGTCCAACTGCAGCAG CCTGGGGCTGAACTTGTG AAGCCTGGGGCTTCACTG AAGCTGTCCTGCAGGGCC TCTGGCTACACCTTCACC AGCTACTGGATTCACTGG GTGAAGCAGAGGCCTGGA	34	208B-515H	QVQLQQPGAELVKPGASL KLSCRASGYTFTSYWIHW VKQRPGQGLEWIGEIDPS DSYINYNQKFKGKATLTV DKSSRAAYMQLSSLTSED SAVYYCARHYYGVFDSWG QGTKLTVSS

mAb クローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAb クローン	アミノ酸配列
		CAAGGCCTTGAGTGGATC GGAGAGATTGATCCTTCT GATAGTTATACTAACTAC AATCAAAAGTTCAAGGGC AAGGCCACATTGACTGTA GACAAATCCTCCAGGGCA GCCTACATGCAGCTCAGC AGCCTGACATCTGAGGAC TCTGCGGTCTATTACTGT GCAAGACATTACTACGGT GTCTTTGACTCCTGGGGC CAAGGCACCAAACTCACA GTCTCCTCA			
208A-874H	35	CAGGTCCAACTGCAGCAG CCTGGGGCTGAGCTTGTG AAGCCTGGGGCTTCAGTG AAGCTGTCCTGCAAGGCT TCTGGCTACACCCTCAGT AGCTATTGGATGCACTGG GTGAAGCAGAGGCCTGGA CAAGGCCTTGAGTGGATC GGAGAGATTCATCCTTCT GATAGTTATACTAGCTAC AATCAAAAGTTCAAGGAC AAGGCCACATTGACTGTA GACAAATCCTCCAGCACA GCCTACATGCAGCTCAGC AGCCTGACATCTGAGGAC TCTGCAGTCTATTACTGT GCAAGGGGGGGCTACTAT AGGTACGACGAGTTTGCT TACTGGGGCCAAGGGACT CTGGTCACTGTCTCTGCA	36	208A-874H	QVQLQQPGAELVKPGASV KLSCKASGYTLSSYWMHW VKQRPGQGLEWIGEIHPS DSYTSYNQKFKDKATLTV DKSSSTAYMQLSSLTSED SAVYYCARGGYYRYDEFA YWGQGTLVTVSA
208B-911H	37	CAGGTCCATCTGCAGCAG CCTGGGGCTGAGCTGGTG AGGCCTGGGGTTTCAGTG AAGCTGTCCTGCAAGGCT TCTGGCTACACCTTCACC ACCTACTCGATAAACTGG ATGAAGCAGAGGCCTGGA CAAGGCCTTGAGTGGATC GGAAATATTTATCCTTCT ACCAGTCATACTAACTAC AATCAAAAGTTCAGGGAC AAGGCCACAATGACTGTA GACAAATCCTCCAGCACA GCCTACATGCAGCTCAGC AGCCCGACATCTGAGGAC TCTGCGGTCTATTATTGT ACAATAAATGCCTATTCT ATGGACTACTGGGGTCAA GGAACCTCAGTCACCGTC TCCTCA	38	208B-911H	QVHLQQPGAELVRPGVSV KLSCKASGYTFTTYSINW MKQRPGQGLEWIGNIYPS TSHTNYNQKFRDKATMTV DKSSSTAYMQLSSPTSED SAVYYCTINAYSMDYWGQ GTSVTVSS

mAbクローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAbクローン	アミノ酸配列
208B-1096H	39	CAGGTCCAGCTTCAGCAG TCTGGGGCTGGACTGGCA AAACCTGGGGCCTCAGTG AAGATGTCCTGCAAGGCT TCTGGCTACACCTTTACT GCCAACAAGATGCACTGG GCAAAACAGCGGCCTGGA CAGGGTCTGGAATGGATT GGATACATTGATCCTAGC TCTGGTTATACTGAATAC AATCATAAGATCCAGTAC AAGGCCACTTTGACTGCA GACACATCCTCCAGCACA GCCTACATGCAACTGAGC ACCCTAACATTTGAAGAC TCTGCAGTCTATTACTGT ACAAATTTTGCTTACTGG GGCCAAGGGACTCTGGTC ACTGTCTCAGCAACA	40	208B-1096H	QVQLQQSGAGLAKPGASV KMSCKASGYTFTANKMHW AKQRPGQGLEWIGYIDPS SGYTEYNHKIQYKATLTA DTSSSTAYMQLSTLTFED SAVYYCTNFAYWGQGTLV TVSA
208B-589H	41	CAGGTCCAGCTTCAGCAG TCTGGGGCTGGACTGGCA AAACCTGGGGCCTCAGTG AAGATGTCCTGCAAGGCT TCTGGCTACACCTTTACT GCCAACAAGATGCACTGG GCAAAACAGCGGCCTGGA CAGGGTCTGGAATGGATT GGATACATTGATCCTAGC TCTGGTTATACTGAATAC AATCATAAGATCCAGGAC AAGGCCACATTGACTGCA GACACATCCTCCAGCACA GCCTACATGCAACTGAGC AGCCTAACATTTGAAGAC TCTGCAGTCTATTACTGT ACAAATTTTGCTTACTGG GGCCAAGGGACTCTGGTC ACTGTCTCAGCA	42	208B-589H	QVQLQQSGAGLAKPGASV KMSCKASGYTFTANKMHW AKQRPGQGLEWIGYIDPS SGYTEYNHKIQDKATLTA DTSSSTAYMQLSSLTFED SAVYYCTNFAYWGQGTLV TVSA
208B-395H	43	CAGGTCCAGCTTCAGCAG TCTGGGGCTGGACTGGCA AAACCTGGGGCCTCAGTG AAGATGTCCTGCAAGGCT TCTGGCTATACCTTTACT GCCAACAAGATGCACTGG ACAAAACAGCGGCCTGGA CAGGGTCTGGAATGGATT GGATACATTGATCCTAGC TCTGGTTATACTCAATAC AATCATAAGATCCAGGAC AAGGCCACATTGACTGCA GACACATCCTCCAGCACA GCCTACATGCAACTGAGC AGCCTAACATTTGAAGAC TCTGCAGTCTATTACTGT ACAAATTTTGCTTACTGG	44	208B-395H	QVQLQQSGAGLAKPGASV KMSCKASGYTFTANKMHW TKQRPGQGLEWIGYIDPS SGYTQYNHKIQDKATLTA DTSSSTAYMQLSSLTFED SAVYYCTNFAYWGQGTLV TVSA

mAb クローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAb クローン	アミノ酸配列
		GGCCAAGGGACTCTGGTC ACTGTCTCAGCA			
208B-189H	45	CAGGTCCACCTTCAGCAG TCTGGGGCTGAACTGGCC AAACCTGGGGCCTCAGTG CAGATGTCCTGCAAGGCT TCTGGCTACACCTTTACT GCCAACAAGATGCACTGG GCAAGACAGCGGCCTAGA CAGGGTCTGGAATGGATT GGATACATTGATCCTGCC TCTGGCTATACTGAATAC AATCAGAAGATCAAGGAC AGGGCCACATTGACTGCA GACAAATCCTCCAGCACA GCCTACATGCAACTGAGC AGCCTGACATCTGAGGAC TCTGCAGTCTATTACTGT ACAAATTTTGCTTACTGG GGCCAAGGGACTCTGGTC ACTGTCTCTACAACA	46	208B-189H	QVHLQQSGAELAKPGASV QMSCKASGYTFTANKMHW ARQRPRQGLEWIGYIDPA SGYTEYNQKIKDRATLTA DKSSSTAYMQLSSLTSED SAVYYCTNFAYWGQGTLV TVST
208B-547H	47	CAGGTCCAGCTTCAGCAG TCTGGGGCTGAACTGGCA AAACCTGGGGCCTCAGTG AAGATGTCCTGCAAGGCT TCTGGCTACACCTTTACT AGCAACAAGATGCACTGG GCAAAACAGCGGCCTGGA CAGGGTCTGGAATGGATT GGATACATTGATCCTAGC TCTGGTTATACTGAATAC AATCAGAAGATCAAGGAC AAGGCCACATTGACTGCA GACAAATCCTCCAGCACA GCCTACATGCAACTGAGC AGCCTGACATCTGAGGAC TCTGCAGTCTATTACTGT ACAAATTTTGCTTACTGG GGCCAAGGGACTCTGGTC ACTGTCTCTGCAACA	48	208B-547H	QVQLQQSGAELAKPGASV KMSCKASGYTFTSNKMHW AKQRPGQGLEWIGYIDPS SGYTEYNQKIKDKATLTA DKSSSTAYMQLSSLTSED SAVYYCTNFAYWGQGTLV TVSA
208A-210H	49	CAGGTCCAGTTGCAGCAG TCTGGACCTGAGTTGGTG AAGCCTGGGGCTTCAATG AGGATATCCTGCAAGGCT TCTGGCTACACCTTCACA AGCTACTATGTACACTGG ATAAAGCAGAGGCCTGGA CAGGGACTTGAGTGGATT GGATGTATTTATCCTGGA GATGTTAATACTGACTAT AATGAGAAGTTCAAGGGC AAGGCCACGCTGACTGCA GACAAATCCTCCAGCACA GCCTACATGCAGGTCAGC	50	208A-210H	QVQLQQSGPELVKPGASM RISCKASGYTFTSYYVHW IKQRPGQGLEWIGCIYPG DVNTDYNEKFKGKATLTA DKSSSTAYMQVSTLTSED SAIYFCVLYYYGSFAYWG QGTLVTVSA

mAbクローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAbクローン	アミノ酸配列
		ACCCTGACCTCTGAGGAC TCTGCGATCTATTTCTGT GTCCTTTATTACTACGGT AGTTTTGCTTACTGGGGC CAAGGGACTCTGGTCACT GTCTCTGCA			
208A-422H	51	GATGTACAGCTTCAGGAG TCAGGACCTGGCCTCGTG AATCCTTCTCAGTCTCTG TCTCTCACCTGCTCTGTC ACTGGCTACTCCATCACC AGTGGTTATTACTGGATC TGGATCCAGCAGTCTCCA GGAAACAAACTGGAATGG ATGGGCTACATAAAGTAC GACGGTGGCAATAACTAC AGCCCATCTCTCAAAAAT CGAATCTCCATCGCTCGT GACACATCTAAGAACCAG TGTTTCCTGAAGTTGAAT TCTGTGACTATTGAGGAC ACAGCTACATATTACTGT ACAAGAGGGTCGGACTCC TTTGACTACTGGGGCCAA GGCACCACTCTCACAGTC TCCTCA	52	208A-422H	DVQLQESGPGLVNPSQSL SLTCSVTGYSITSGYYWI WIQQSPGNKLEWMGYIKY DGGNNYSPSLKNRISIAR DTSKNQCFLKLNSVTIED TATYYCTRGSDSFDYWGQ GTTLTVSS
208A-442H	53	GATGTACAGCTTCAGGAG TCAGGACCTGGCCTCGTG AATCCTTCTCAGTCTCTG TCTCTCACCTGCTCTGTC ACTGGCTACTCCATCACC AGTGGTTATTACTGGATC TGGATCCGGCAGTTTCCA GGAAACAAACTGGAATGG ATGGGCTACATAAAGTAC GACGGTGGCAATAACTAC AGCCCATCTCTCAAAAAT CGAATCTCCATCGCTCGT GACACATCTAAGAACCAG TTTTTCCTGAAGTTGAAT TCTGTGACTATTGAGGAC ACAGCTACATATTACTGT ACAAGAGGGTCGGACTCC TTTGACTACTGGGGCCAA GGCACCACTCTCACAGTC TCCTCA	54	208A-442H	DVQLQESGPGLVNPSQSL SLTCSVTGYSITSGYYWI WIRQFPGNKLEWMGYIKY DGGNNYSPSLKNRISIAR DTSKNQFFLKLNSVTIED TATYYCTRGSDSFDYWGQ GTTLTVSS
208B-862H	55	GATGTGCAGCTTCAGGAG TCGGGACCTGGCCTGGTG AAACCTTCTCAGTCTCTG TCCCTCACCTGCACTGTC ACTGGCTACTCAATCACC AGTGATTATGCCTGGAAC TGGATCCGGCAGTTTCCT GGAAACAAACTGGAGTGG ATGGGCTACATAAGCTAC	56	208B-862H	DVQLQESGPGLVKPSQSL SLTCTVTGYSITSDYAWN WIRQFPGNKLEWMGYISY SGITVYSPSLKSRISITR DTSKNQFFLQLNSVTIED SATYYCGGNYWGQGTLVT VSA

mAb クローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAb クローン	アミノ酸配列
		AGTGGTACCACTGTCTAC AGCCCATCTCTCAAAAGT CGAATCTCCATCACTCGG GACACATCCAAAAACCAG TTCTTCCTGCAATTGAAT TCTGTGACTATTGAGGAC TCAGCCACGTATTATTGT GGGGGTAATTACTGGGGC CAAGGGACTCTGGTCACT GTCTCTGCA			
208A-967H	57	CAGGTGCAGCTGGAGGAG TCAGGACCTGGCCTGGTG GCGCCCTCACAGAGCCTG TCCATCACTTGCACTGTC TCTGGATTTTCATTAACC AGCTATGGTGTACACTGG GTTCGCCAGCCTCCAGGA AAGGGTCTGGAGTGGCTG GGAGTAATATGGGCTGTT GGAAGTATAAATTATAAT TCGGCTCTCATGTCCAGA CTGAGCATCAGCAAAGAC AACTCCAAGAGCCAAGTT TTCTTAAAAATGAACAGT CTACGAACTGATGACACA GCCATGTACTACTGTGCC AGAGATCGGACTACGGCT ACCCCCTTCTTTGACTAC TGGGGCCAAGGCACCACT CTCACAGTCTCCTCATCC AAAACA	58	208A-967H	QVQLEESGPGLVAPSQSL SITCTVSGFSLTSYGVHW VRQPPGKGLEWLGVIWAV GSINYNSALMSRLSISKD NSKSQVFLKMNSLRTDDT AMYYCARDRTTATPFFDY WGQGTTLTVSS
208B-517H	59	CAGGTGCAGCTGAAGCAG TCAGGACCTGGCCTAGTG CAGCCCTCACAGAGCCTG TCCATCACCTGCACAGTC TCTGGTTTCTCATTAATT ACCCATGGTGTACACTGG GTTCGCCAGTCTCCAGGA AAGGGTCTGGAGTGGCTG GGAGTGATATGGAGTGGT GGAAGCACAGACTATAAT GCAGCTTTCATATCCAGA CTGAGCATCAGCAAGGAC ACCTCCAAGAGCCAAGTT TTCCTTAAAATGAGCAGT CTGCAAGCTGATGACACA GCCATATACTACTGTGCC AGAAATGGGGGGGCTACG GCCTTTGACTACTGGGGC CAAGGCACCACTCTCACA GTCTCCTCA	60	208B-517H	QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLITHGVHW VRQSPGKGLEWLGVIWSG GSTDYNAAFISRLSISKD TSKSQVFLKMSSLQADDT AIYYCARNGGATAFDYWG QGTTLTVSS
208B-822H	61	CAGGTACAGCTGAAGCAG TCAGGACCTGGCCTAGTG CAGCCCTCACAGAGCCTG TCCATCACCTGCACAGTC	62	208B-822H	QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLITYGVHW VRQSPGKGLEWLGVIWGG GSTGYNAAFVSRLNITKD

mAb クローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAb クローン	アミノ酸配列
		TCTGGTTTCTCATTAATT ACCTATGGTGTACACTGG GTTCGCCAGTCTCCAGGA AAGGGTCTGGAGTGGCTG GGAGTGATATGGGGTGGT GGAAGCACAGGCTATAAT GCAGCTTTCGTATCCAGA CTGAACATCACCAAGGAC AACTCCAAGAGCCAAGTT TTCTTTAAAATGAACAGT CTGCAACCTGATGACACA GCCATATACTACTGTGCC AGAAATGGAGGGGCTACG GTCTTTGACTACTGGGGC CAAGGCACCACTCTCACA GTCTCCTCA			NSKSQVFFKMNSLQPDDT AIYYCARNGGATVFDYWG QGTTLTVSS
208B-1024H	63	GAGGTGCAGCTGGTGGAG TCTGGGGGAGACTTAGTG AAGCCTGGAGGGTCCCTG AAACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTCACTTTCAGT AACTATGGCATGTCTTGG GTTCGCCAGACTCCAGAC AAGAGGCTGGAGTGGGTC GCAACCATTAGTAGTGGT GGTAGTTATAGCTACTAT CCAGACAGTGTAAAGGGG CGGTTCACCATCTCCAGA GACAATGCCAAGAACATC CTGTACCTGCAAATGAGC AGTCTGAAGTCTGAGGAC ACAGCCATGTATTACTGT GCAAGTCTCTACTACGGC TACGGGGACTACTGGGGC CAAGGCACCGCTTTCACA GTCTCCTCA	64	208B-1024H	EVQLVESGGDLVKPGGSL KLSCAASGFTFSNYGMSW VRQTPDKRLEWVATISSG GSYSYYPDSVKGRFTISR DNAKNILYLQMSSLKSED TAMYYCASLYYGYGDYWG QGTAFTVSS
208B-327H	65	GAAGTGCAGCTGGTGGAG TCTGGGGGAGGCTTGGTG AAGCCTGGAGGGTCCCTG AAACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTCACTTTCAGT GACTCTTATATGTATTGG GTTCGCCAGACTCCGGAC CAGAGGCTGGAGTGGGTC GCAACCATTAGTGATGGT GGTAGTTACACCTTCTAT CCAGACAGTGTGAAGGGA CGATTCACCATCTCCAGA GACAATGCCCAGAACAAC CTGTACCTGCAAATGAGC AGTCTGAAGTCTGAGGAC ACAGCCATGTATTACTGT GCATCCCCCCATGCTGGC TACTTCGGCTGGTTTGCT TACTGGGGCCGAGGGACT	66	208B-327H	EVQLVESGGGLVKPGGSL KLSCAASGFTFSDSYMYW VRQTPDQRLEWVATISDG GSYTFYPDSVKGRFTISR DNAQNNLYLQMSSLKSED TAMYYCASPHAGYFGWFA YWGRGTLVTVSA

mAbクローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAbクローン	アミノ酸配列
		CTGGTCACTGTCTCTGCA			
208B-353H	67	GAGGTGCAGCTGGTGGAG TCTGGGGGAGACTTAGTG AAGCCTGGAGGGTCCCTG AAACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTCACTTTCAAT CACTATGGCATGTCTTGG GTTCGCCAGCCTCCAGAC AAGAGACTGGAGTGGGTC GCAACCATTAGTAGTGGT GGTGGTTACACCTACTAT CCAGACAGTGTGAAGGGG CGCTTCACCATCTCCAGA GACAATGCCAAGGACACC CTGTCCCTGCAAATGAGC AGTCTGAGGTCTGGGGAC ACAGCCGTGTATTACTGT GCAAGCCTATACGGTAGC CTGTTTGCTTACTGGGGC CAAGGGACTCTGGTCACT GTCTCTGCA	68	208B-353H	EVQLVESGGDLVKPGGSL KLSCAASGFTFNHYGMSW VRQPPDKRLEWVATISSG GGYTYYPDSVKGRFTISR DNAKDTLSLQMSSLRSGD TAVYYCASLYGSLFAYWG QGTLVTVSA
208B-178H	69	GACGTGAAGCTCGTGGAG TCTGGGGGAGGCTTAGTG AAGCTTGGAGGGTCCCTG AAACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTCACTTTCAGT AGCTATTACATGTCTTGG GTTCGCCAGACTCCAGAG AAGAGGCTGGAGTTGGTC GCAGCCATTAATAGTAAT GGTGGTAGCACCTACTAT CCAGACACTGTGAAGGGC CGATTCACCATCTCCAGA GACAATGCCAAGAACACC CTGTACCTGCAAATGAGC AGTCTGAAGTCTGAGGAC ACAGCCTTGTATTACTGT GCAAGACATGGGGGACTG GGACGTAGGGACTGGTAC TTCGATGTCTGGGGCGCA GGGACCACGGTCACCGTC TCCTCA	70	208B-178H	DVKLVESGGGLVKLGGSL KLSCAASGFTFSSYYMSW VRQTPEKRLELVAAINSN GGSTYYPDTVKGRFTISR DNAKNTLYLQMSSLKSED TALYYCARHGGLGRRDWY FDVWGAGTTVTVSS
208B-672H	71	GAAGTGAAACTGGTGGAG TCTGGGGGAAGTTTAGTG CAGCCTGGAGGGTCCCTG AAACTCTCCTGCGCAGCC TCTGGATTCAATTTCAAT ACCTATGCCATGTCTTGG GTTCGCCAGACTCCAGAG AAGAGGCTGGAGTGGGTC GCATACATTAGTAATGGT GGTGGTAACACCTACTAT GTAGACACTGTAAAGGGC	72	208B-672H	EVKLVESGGSLVQPGGSL KLSCAASGFNFNTYAMSW VRQTPEKRLEWVAYISNG GGNTYYVDTVKGRFTISR DNAKNTLYLRMSSLKSED TAMYYCARHGLYWGYSMD YWGQGTSVTVSS

mAb クローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAb クローン	アミノ酸配列
		CGATTCACCATCTCCAGA GACAATGCCAAGAACACC CTGTACCTGCGAATGAGC AGTCTGAAGTCTGAGGAC ACGGCCATGTATTACTGT GCAAGACATGGGCTCTAC TGGGGCTATTCTATGGAC TACTGGGGTCAAGGAACC TCAGTCACCGTCTCCTCA			
208B-793H	73	GAAGTGAAGCTGGTGGAG TCTGGGGGAGGTTTAGTG CAGCCAGGAGGGTCCCTG AAACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTCACTTTCAGT AGCTATGCCATGTCTTGG GTTCGCCAGACTCCAGAG AGGAGGCTGGAGTGGGTC ACATACATTAGTAATGGT GGTGGTAGCACCTACTAT TCAGACACTGTAAAGGGC CGATTCACCTTCTCCAGA GACAATGCCAAGAACACC CTGTACCTGCAAATGAGC AGTCTGAAGTCTGAGGAC ACGGCCATGTATTACTGT GCAAGACATGGACTGGGA AGGACAGGGTTTGCTTCC TGGGGCCAAGGGACTCTG GTCACTGTCTCTGCA	74	208B-793H	EVKLVESGGGLVQPGGSL KLSCAASGFTFSSYAMSW VRQTPERRLEWVTYISNG GGSTYYSDTVKGRFTFSR DNAKNTLYLQMSSLKSED TAMYYCARHGLGRTGFAS WGQGTLVTVSA
208B-826H	75	GATGTGCAGCTGGTGGAG TCTGGGGGAGGCCTAGTG CAGGCTGGAGGGTCCCGG AAACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTCCCTTTCAGT TCCTTTGGAATGCACTGG GTTCGTCAGGCTCCAGAG AAGGGGCTGGAGTGGGTC GCCTCCATTAGTAGTCGC ACTAGTAAGATCTACTAT GCAGACAACCTGAAGGGC CGATTCACCATCTCCAGA GACAATCCCAAGAACACC CTGTTCCTGCAAATGACC AGTCTTGGATCTGAGGAC ACGGCCATGTATTACTGT GTAAGATCCGTCTTTGGT AATTCTTACTGGTTTTTC GATGTCTGGGGCGCAGGG ACCACGGTCACCGTCTCC TCA	76	208B-826H	DVQLVESGGGLVQAGGSR KLSCAASGFPFSSFGMHW VRQAPEKGLEWVASISSR TSKIYYADNLKGRFTISR DNPKNTLFLQMTSLGSED TAMYYCVRSVFGNSYWFF DVWGAGTTVTVSS
208B-174H	77	GAAGTGAAGCTTGAGGAG TCTGGAGGAGGCTTGGTA CAACCTGGGGGATCCATG AAACTCTCCTGTGTAGCC TCTGGATTTTCTTTCAGT	78	208B-174H	EVKLEESGGGLVQPGGSM KLSCVASGFSFSSYWMSW VRQSPEKGLDWVAEIRLR SDNYATHYAESVKGRFTI SRDDSISRLYLQMNTLRA

mAbクローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAbクローン	アミノ酸配列
		AGCTACTGGATGTCTTGG GTCCGCCAGTCTCCAGAG AAGGGGCTTGACTGGGTT GCTGAAATTAGATTGAGA TCTGATAATTATGCAACC CATTATGCGGAGTCTGTG AAAGGGAGGTTCACCATC TCAAGAGATGATTCCATA AGTCGTCTCTACCTGCAA ATGAACACCTTAAGAGCT GAAGACACTGGAATTTAT TACTGTACATGGATGACG TACTGGGGCCAAGGGACT CTGGTCACTGTCTCTGCA ACA			EDTGIYYCTWMTYWGQGT LVTVSA
208B-408H	79	GAGGTGAAGCTGGTGGAG TCTGGAGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGGGGTTCTCTG AGACTCTCCTGTGCAAGT TCTGGGTTCACCTTCACT GATTACTACATGAGCTGG GTCCGCCAGCCTCCAGGA AAGGCACTTGAGTGGTTG GGTTTTATTAGAAACAAA GCTTATGGTTACACGACC GAGTTCAGTGCATCTGTG AACGGTCGGTTCACCATC TCCAGAGATGATTCCCAA AGCGTCCCCTATCTTCAA ATGAACACCCTGAGAGCT GAGGACAGTGCCACTTAT TACTGTGCGAGAGTCCTC TACTATGATTACGGGGGA TTTGCTTACTGGGGCCAA GGGACTCTGGTCACTGTC TCTACA	80	208B-408H	EVKLVESGGGLVQPGGSL RLSCASSGFTFTDYYMSW VRQPPGKALEWLGFIRNK AYGYTTEFSASVNGRFTI SRDDSQSVPYLQMNTLRA EDSATYYCARVLYYDYGG FAYWGQGTLVTVST
208B-612H	81	GAGGTCCAGCTGCAGCAG TCTGGACCTGAGCTGGTA AAGCCTGGGGCTTCAGTG AAGATGTCCTGTAAGGCT TCCGGATACAGATTCACT AGCTATGTTATGCACTGG GTGAGGCAGAAGCCTGGA CAGGGCCTTGAGTGGATT GGATATATTGATCCTCAC AATGATGATACAAAATAC AGTGAGAAGTTCAGAGGT AAGGCCACACTGACTTCA GACAAGTCCTCCACCACA GCCTACATGGAGCTCAGC AGCCTGACCTCTGAGGAC TCTGCGGTCTATTACTGT GTGAGATATTCTTACGAC AGGGATTACAGTCCTATG GACTACTGGGGTCAAGGA	82	208B-612H	EVQLQQSGPELVKPGASV KMSCKASGYRFTSYVMHW VRQKPGQGLEWIGYIDPH ND-- DTKYSEKFRGKATLTSDK SSTTAYMELSSLTSEDSA VYYCVRYSYDRDYSPMDY WGQGTSVTVSS

mAbクローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAbクローン	アミノ酸配列
		ACCTCAGTCACCGTCTCC TCA			
208A-877H	83	CAGCTGCAACAGTCTGGA CCTGAGCTGGTGAAGCCT GGGGCTTCAGTGAAAATT TCCTGCAAGACTTCTGGA TACACATTCACTGAAAAC GCCATGCACTGGGTGAAG CAGAGCCGTGGAAAGAGC CTTGAGTGGATTGGAGGT GTTAATCCTAACAATGGT GATACTGTCTACACCCAG AAGTTCAAGGGCAAGGCC ACATTGACTGTAGCCAAG TCTTCCAGCACAGCCTAC ATGGAGCTCCGCACCATG ACATGTGAGGAATCTACA GTGTATTACTGTGCAAGC CGGGAACCGGACTTCTTT GACTACTGGGGCCAAGGC TCCTCTGTCACAGTCTCC TCA	84	208A-877H	QLQQSGPELVKPGASVKI SCKTSGYTFTENAMHWVK QSRGKSLEWIGGVNPNNG DTVYTQKFKGKATLTVAK SSSTAYMELRTMTCEEST VYYCASREPDFFDYWGQG SSVTVSS
208B-251H	85	CAGCTGCAACAGTCTGGA CCTGTACTGGTGAAGCCT GGGGCTTCAGTGAAAATT TCCTGCAAGACTTCTGGA TACACATTCACTGAAAAC GCCATGCACTGGGTGAAG CAGAGCCATGGAAAGAGC CTTGAGTGGATTGGAGGT GTTAATCCTAACAATGGT GATACTATCTACAACCAG AAGTTCAAGGGCAAGGCC ACATTGACTGTAGACAAG TCCTCCAGCACAGCCTTC ATGGAGCTCCGCAGCCTG ACATCTGAAGAATCCCCA GTCTATTTCTGTGTAAGA CGGGAACTGGACTTCTTT GACTACTGGGGCCAAGGC ACCTCTGTCACAGTCTCC TCA	86	208B-251H	QLQQSGPVLVKPGASVKI SCKTSGYTFTENAMHWVK QSHGKSLEWIGGVNPNNG DTIYNQKFKGKATLTVDK SSSTAFMELRSLTSEESP VYFCVRRELDFFDYWGQG TSVTVSS
208A-110H 208B- 1070H	87	CAGCTGCAACAGTCTGGC CCTGTCCTGGTGAAGTCT GGGACTTCAGTTAAAATT TCCTGCAAGACTTCTGGA TACACATTCACTGAAAAC GCCATGCACTGGGTGAAA CAGAGCCATGGACAGAGC CTTGAGTGGATTGGAGGT GTTAATCCTAACAATGGT GATACTATCTTCAACCAG AAGTTCAAGGGCAAGGCC	88	208A-110H 208B- 1070H	QLQQSGPVLVKSGTSVKI SCKTSGYTFTENAMHWVK QSHGQSLEWIGGVNPNNG DTIFNQKFKGKATLTVDK SSSTAFMELRSLTSEEST VYYCVRRELDFFDYWGQG TSVTVSS

mAbクローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAbクローン	アミノ酸配列
		ACATTGACTGTAGACAAG TCCTCCAGCACAGCCTTC ATGGAGCTCCGCAGCCTG ACATCTGAAGAATCCACA GTCTATTACTGTGTAAGA CGGGAACTGGACTTCTTT GACTACTGGGGTCAAGGC ACCTCTGTCACAGTCTCC TCA			
208A-334H 208A-920H	89	CAGCTGCAACAGTCTGGC CCTGTCCTGGTGAAGCCT GGGACTTCAGTGAAAATT TCCTGCAAGACTTCTGGA TACACATTCACTGAAAAC GCCATGCACTGGGTGAAA CAGAGCCATGGAAAGAGC CTTGAGTGGATTGGAGGT GTTAATCCTAACAATGGT GATACTATCTTCAACCAG AAGTTCAAGGGCAAGGCC ACATTGACTGTAGACAAG TCCTCCAGCACAGCCTTC ATGGAGCTCCGCAGCCTG ACATCTGAAGAATCCACA GTCTATTACTGTGTAAGA CGGGAACTGGACTTCTTT GACTACTGGGGCCAAGGC ACCTCTGTCACAGTCTCC TCA	90	208A-334H 208A-920H	QLQQSGPVLVKPGTSVKI SCKTSGYTFTENAMHWVK QSHGKSLEWIGGVNPNNG DTIFNQKFKGKATLTVDK SSSTAFMELRSLTSEEST VYYCVRRELDFFDYWGQG TSVTVSS
208A-159H	91	CAGCTGCAACAGTCTGGA CCTGCCCAGGTGAAGCCT GGGGCTTCAGTGATGATT TCCTGCAAGACTTCTGGA TACACATTCACTGAAAAC GCCATGCACTGGGTGAAA CAGAGCCATGGAAAGAGC CTTGAGTGGATTGGAGGT GTTAATCCTAACAATGGT GATACTATTTTCAACCAG AAGTTCAAGGACAAGGCC GCATTGACTGTAGACAAG TCCTCCAGCACAGCCTTC ATGGAGCTCCGCAGCCTG ACATCTGAGGAGTCCACA GTCTATTACTGTGTAAGA CGGGAATTGGACTTCTTT GACTACTGGGGCCAAGGC ACCTCTGTCACAGTCTCC TCA	92	208A-159H	QLQQSGPAQVKPGASVMI SCKTSGYTFTENAMHWVK QSHGKSLEWIGGVNPNNG DTIFNQKFKDKAALTVDK SSSTAFMELRSLTSEEST VYYCVRRELDFFDYWGQG TSVTVSS
208A-126H	93	CAGCTGCAACAGTCTGGA CCTGTCCTGGTGAAGCCT GGGGCTTCAGTGATGATT TCCTGCAAGACTTCTGGA TACACATTCACTGAAAAC GCCATGCACTGGGTGAAA	94	208A-126H	QLQQSGPVLVKPGASVMI SCKTSGYTFTENAMHWVK QSHGKSLEWIGGVNPNNG DTIFNQKFKGKATLTVDK SSNTAFTELRSLPSEEST VYYCVRRGLDFFDYWGQG

mAb クローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAb クローン	アミノ酸配列
		CAGAGCCATGGAAAGAGC CTTGAGTGGATTGGAGGT GTTAATCCTAACAATGGT GATACTATTTTCAACCAG AAGTTCAAGGGCAAGGCC ACATTGACTGTAGACAAG TCCTCCAACACAGCCTTC ACGGAGCTCCGCAGCCTG CCATCTGAAGAATCCACA GTCTATTACTGTGTTAGA CGGGGATTGGACTTCTTT GACTACTGGGGCCAAGGC ACCTCTGTCACAGTCTCC TCA			TSVTVSS
208A-133H	95	CAGCTGCAACAGTCTGGC CCTGTCCTGGTGGGGCCT GGGGCTTCAGTGATGATT TCCTGCAAGACTTCTGGA TACACATTCACTGAAAAC GCCATGCACTGGGTGGAA CAGAGCCATGGAAAGAGC CTTGAGTGGATTGGAGGT GTTAATCCTAACAATGGT GATACTATTTTCAACCAG AAGTTCAAGGGCAAGGCC ACATTGACTGTAGACAAG TCCTCCAGCACAGCCTTC ATGGAGTTCCGCAGCCTG ACATCTGAAGAATCCACA GTCTATTACTGTGTAAGA CGGGAATTGGACTTCTTT GACTACTGGGGCCAAGGC ACCTCTGTCACAGTCTCC TCA	96	208A-133H	QLQQSGPVLVGPGASVMI SCKTSGYTFTENAMHWVE QSHGKSLEWIGGVNPNNG DTIFNQKFKGKATLTVDK SSSTAFMEFRSLTSEEST VYYCVRRELDFFDYWGQG TSVTVSS
208B-556H	97	CAGCTGCAACAGTCTGGA CCTGTCCTGGTGAAGCCT GGGGCTTCAGTGATGATT TCCTGCAAGACTTCTGGA TACACATTCACTGAAAAC GCCATGCACTGGGTGAAA CAGAGCCATGGAAAGAGC CTTGAGTGGATTGGAGGT GTTAATCCTAACAATGGT GATACTATTTTCAACCAG AAGTTCAAGGGCAAGGCC ACATTGACTGTAGACAAG TCCTCCAGCACAGCCTTC ATGGAGTTCCGCAGCCTG ACATCTGAAGAATCCACA GTCTATTACTGTGTAAGA CGGGAATTGGACTTCTTT GACTACTGGGGCCAAGGC ACCTCTGTCACAGTCTCC TCAACA	98	208B-556H	QLQQSGPVLVKPGASVMI SCKTSGYTFTENAMHWVK QSHGKSLEWIGGVNPNNG DTIFNQKFKGKATLTVDK SSSTAFMEFRSLTSEEST VYYCVRRELDFFDYWGQG TSVTVSS

mAb クローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAb クローン	アミノ酸配列
208A-741H	99	CAGCTGCAACAGTCTGGACCTGTCCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGATGATTTCCTGCAAGACTTCTGGATACACATTCACTGAAAACGCCATGCACTGGGTGAAACAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGGTGTTAATCCTAACAATGGTGATACTATTTTCAACCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGACAAGTCCTCCAGCACAGCCTTCATGGAGCTCCGCAGCCTGACATCTGAAGAATCCACAGTCTATTACTGTGTAAGACGGGAATTGGACTTCTTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCTCTGTCACAGTCTCCTCA	100	208A-741H	QLQQSGPVLVKPGASVMISCKTSGYTFTENAMHWVKQSHGKSLEWIGGVNPNNGDTIFNQKFKGKATLTVDKSSSTAFMELRSLTSEESTVYYCVRRELDFFDYWGQGTSVTVSS
208A-1064 CDR H1 208B-1094 CDR H1 208A-293 CDR H1 208A-222 CDR H1 208B-560 CDR H1	101	GAATACGCCATGCAC	102	208A-1064 CDR H1 208B-1094 CDR H1 208A-293 CDR H1 208A-222 CDR H1 208B-560 CDR H1	EYAMH
208A-605 CDR H1 208A-830 CDR H1	103	GAATACGCCATACAC	104	208A-605 CDR H1 208A-830 CDR H1	EYAIH
208A-134 CDR H1 208A-692 CDR H1 208A-557 CDR H1 208B-281 CDR H1	105	AGTAGTTATATAAGT	106	208A-134 CDR H1 208A-692 CDR H1 208A-557 CDR H1 208B-281 CDR H1	SSYIS
208A-352 CDR H1	107	AGTAGTTTTATAAGT	108	208A-352 CDR H1	SSFIS
208A-983 CDR H1	109	AGTAGTTATTTTAGT	110	208A-983 CDR H1	SSYFS
208B-471 CDR H1	111	AGCAGTACCTATATAAGT	112	208B-471 CDR H1	STYIS
208A-207 CDR H1 208A-638 CDR H1 208B-515 CDR H1	113	AGCTACTGGATACAC	114	208A-207 CDR H1 208A-638 CDR H1 208B-515 CDR H1	SYWIH

mAbクローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAbクローン	アミノ酸配列
208A-874 CDR H1	115	AGCTATTGGATGCAC	116	208A-874 CDR H1	SYWMH
208B-911 CDR H1	117	CCTACTCGATAAAC	118	208B-911 CDR H1	TYSIN
208B-1096 CDR H1 208B-589 CDR H1 208B-395 CDR H1 208B-189 CDR H1	119	GCCAACAAGATGCAC	120	208B-1096 CDR H1 208B-589 CDR H1 208B-395 CDR H1 208B-189 CDR H1	ANKMH
208B-547 CDR H1	121	AGCAACAAGATGCAC	122	208B-547 CDR H1	SNKMH
208A-210 CDR H1	123	AGCTACTATGTACAC	124	208A-210 CDR H1	SYYVH
208A-422 CDR H1 208A-442 CDR H1	125	AGTGGTTATTACTGGATC	126	208A-422 CDR H1 208A-442 CDR H1	SGYYWI
208B-862 CDR H1	127	AGTGATTATGCCTGGAAC	128	208B-862 CDR H1	SDYAWN
208A-967 CDR H1	129	AGCTATGGTGTACAC	130	208A-967 CDR H1	SYGVH
208B-517 CDR H1	131	ACCCATGGTGTACAC	132	208B-517 CDR H1	THGVH
208B-822 CDR H1	133	ACCTATGGTGTACAC	134	208B-822 CDR H1	TYGVH
208B-1024 CDR H1	135	AACTATGGCATGTCT	136	208B-1024 CDR H1	NYGMS
208B-327 CDR H1	137	GACTCTTATATGTAT	138	208B-327 CDR H1	DSYMY
208B-353 CDR H1	139	CACTATGGCATGTCT	140	208B-353 CDR H1	HYGMS
208B-178 CDR H1	141	AGCTATTACATGTCT	142	208B-178 CDR H1	SYYMS
208B-672 CDR H1	143	ACCTATGCCATGTCT	144	208B-672 CDR H1	TYAMS
208B-793 CDR H1	145	AGCTATGCCATGTCT	146	208B-793 CDR H1	SYAMS
208B-826 CDR H1	147	TCCTTTGGAATGCAC	148	208B-826 CDR H1	SFGMH
208B-174 CDR H1	149	AGCTACTGGATGTCT	150	208B-174 CDR H1	SYWMS
208B-408 CDR H1	151	GATTACTACATGAGC	152	208B-408 CDR H1	DYYMS
208B-612 CDR H1	153	AGCTATGTTATGCAC	154	208B-612 CDR H1	SYVMH

mAb クローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAb クローン	アミノ酸配列
208A-877 CDR H1 208B-251 CDR H1 208A-110 CDR H1 208B-1070 CDR H1 208A-334 CDR H1 208A-920 CDR H1 208A-159 CDR H1 208A-126 CDR H1 208A-133 CDR H1 208B-556 CDR H1 208A-741 CDR H1	155	GAAAACGCCATGCAC	156	208A-877 CDR H1 208B-251 CDR H1 208A-110 CDR H1 208B-1070 CDR H1 208A-334 CDR H1 208A-920 CDR H1 208A-159 CDR H1 208A-126 CDR H1 208A-133 CDR H1 208B-556 CDR H1 208A-741 CDR H1	ENAMH
208A-1064 CDR H2 208A-293 CDR H2	157	GGTATCAATCCTACTAAT GGTGATACAATCTACAAC CAGAAGTTCAAGGAC	158	208A-1064 CDR H2 208A-293 CDR H2	GINPTNGDTIYNQKFKD
208B-1094 CDR H2	159	GGTATCAATCCTACTAAT GGTGATACAATCTACAAC CAGAGGTTCAAGGAC	160	208B-1094 CDR H2	GINPTNGDTIYNQRFKD
208A-222 CDR H2	161	GGTATTAATCCTAACAAT GGCAATGCTATCTACAAC CAGATATTCAAGGAC	162	208A-222 CDR H2	GINPNNGNAIYNQIFKD
208A-605 CDR H2 208B-560 CDR H2	163	GGTATTAATCCTAGCAAT GGCAATGCTATCTACAAC CAAATATTCAAGGAC	164	208A-605 CDR H2 208B-560 CDR H2	GINPSNGNAIYNQIFKD
208A-830 CDR H2	165	GGTATTAATCCTAGCAAT GGCGATCCTATCTATAAC CAGATATTCAAGGAC	166	208A-830 CDR H2	GINPSNGDPIYNQIFKD
208A-134 CDR H2 208A-557 CDR H2 208A-352 CDR H2	167	TGGATTTATGCTGGAACT GGTAATACTAACTATAAT CAGAAGTTCACAGAC	168	208A-134 CDR H2 208A-557 CDR H2 208A-352 CDR H2	WIYAGTGNTNYNQKFTD
208A-692 CDR H2	169	TGGATTTTTGCTGGAACT GGTAATACTAATTATAAT CAGAAGTTCACAGAC	170	208A-692 CDR H2	WIFAGTGNTNYNQKFTD
208A-983 CDR H2	171	TGGATTTATGCTGGAACT GGTAATACTATCTATAAT CAGAAGTTCACAGAC	172	208A-983 CDR H2	WIYAGTGNTIYNQKFTD
208B-281 CDR H2	173	TGGATTTATGCTGGAACT GGTGGTACTAACTATAAT CAGAAGTTCACAGAC	174	208B-281 CDR H2	WIYAGTGGTNYNQKFTD

mAb クローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAb クローン	アミノ酸配列
208B-471 CDR H2	175	TGGATTTATGCTGGAACT GGTGCTACTAATTATAAT CAGAAGTTCACAGGC	176	208B-471 CDR H2	WIYAGTGATNYNQKFTG
208A-207 CDR H2	177	GAAATTGATCCTTCTGAC AGTTATATTAACCAGAAT CAAAAGTTCAGGGGC	178	208A-207 CDR H2	EIDPSDSYINQNQKFRG
208A-638 CDR H2	179	GAAGTTGATCCTTCTGAC AGTTATATTAACCAGAAT GAAAAGTTCAGGGGC	180	208A-638 CDR H2	EVDPSDSYINQNEKFRG
208B-515 CDR H2	181	GAGATTGATCCTTCTGAT AGTTATACTAACTACAAT CAAAAGTTCAAGGGC	182	208B-515 CDR H2	EIDPSDSYTNYNQKFKG
208A-874 CDR H2	183	GAGATTCATCCTTCTGAT AGTTATACTAGCTACAAT CAAAAGTTCAAGGAC	184	208A-874 CDR H2	EIHPSDSYTSYNQKFKD
208B-911 CDR H2	185	AATATTTATCCTTCTACC AGTCATACTAACTACAAT CAAAAGTTCAGGGAC	186	208B-911 CDR H2	NIYPSTSHTNYNQKFRD
208B-1096 CDR H2	187	TACATTGATCCTAGCTCT GGTTATACTGAATACAAT CATAAGATCCAGTAC	188	208B-1096 CDR H2	YIDPSSGYTEYNHKIQY
208B-589 CDR H2	189	TACATTGATCCTAGCTCT GGTTATACTGAATACAAT CATAAGATCCAGGAC	190	208B-589 CDR H2	YIDPSSGYTEYNHKIQD
208B-395 CDR H2	191	TACATTGATCCTAGCTCT GGTTATACTCAATACAAT CATAAGATCCAGGAC	192	208B-395 CDR H2	YIDPSSGYTQYNHKIQD
208B-189 CDR H2	193	TACATTGATCCTGCCTCT GGCTATACTGAATACAAT CAGAAGATCAAGGAC	194	208B-189 CDR H2	YIDPASGYTEYNQKIKD
208B-547 CDR H2	195	TACATTGATCCTAGCTCT GGTTATACTGAATACAAT CAGAAGATCAAGGAC	196	208B-547 CDR H2	YIDPSSGYTEYNQKIKD
208A-210 CDR H2	197	TGTATTTATCCTGGAGAT GTTAATACTGACTATAAT GAGAAGTTCAAGGGC	198	208A-210 CDR H2	CIYPGDVNTDYNEKFKG
208A-422 CDR H2 208A-442 CDR H2	199	TACATAAAGTACGACGGT GGCAATAACTACAGCCCA TCTCTCAAAAAT	200	208A-422 CDR H2 208A-442 CDR H2	YIKYDGGNNYSPSLKN
208B-862 CDR H2	201	TACATAAGCTACAGTGGT ACCACTGTCTACAGCCCA TCTCTCAAAAGT	202	208B-862 CDR H2	YISYSGTTVYSPSLKS
208A-967 CDR H2	203	GTAATATGGGCTGTTGGA AGTATAAATTATAATTCG GCTCTCATGTCC	204	208A-967 CDR H2	VIWAVGSINYNSALMS
208B-517 CDR H2	205	GTGATATGGAGTGGTGGA AGCACAGACTATAATGCA GCTTTCATATCC	206	208B-517 CDR H2	VIWSGGSTDYNAAFIS
208B-822 CDR H2	207	GTGATATGGGGTGGTGGA AGCACAGGCTATAATGCA GCTTTCGTATCC	208	208B-822 CDR H2	VIWGGGSTGYNAAFVS
208B-1024 CDR H2	209	ACCATTAGTAGTGGTGGT AGTTATAGCTACTATCCA	210	208B-1024 CDR H2	TISSGGSYSYYPDSVKG

mAbクローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAbクローン	アミノ酸配列
		GACAGTGTAAAGGGG			
208B-327 CDR H2	211	ACCATTAGTGATGGTGGT AGTTACACCTTCTATCCA GACAGTGTGAAGGGA	212	208B-327 CDR H2	TISDGGSYTFYPDSVKG
208B-353 CDR H2	213	ACCATTAGTAGTGGTGGT GGTTACACCTACTATCCA GACAGTGTGAAGGGG	214	208B-353 CDR H2	TISSGGGYTYYPDSVKG
208B-178 CDR H2	215	GCCATTAATAGTAATGGT GGTAGCACCTACTATCCA GACACTGTGAAGGGC	216	208B-178 CDR H2	AINSNGGSTYYPDTVKG
208B-672 CDR H2	217	TACATTAGTAATGGTGGT GGTAACACCTACTATGTA GACACTGTAAAGGGC	218	208B-672 CDR H2	YISNGGGNTYYVDTVKG
208B-793 CDR H2	219	TACATTAGTAATGGTGGT GGTAGCACCTACTATTCA GACACTGTAAAGGGC	220	208B-793 CDR H2	YISNGGGSTYYSDTVKG
208B-826 CDR H2	221	TCCATTAGTAGTCGCACT AGTAAGATCTACTATGCA GACAACCTGAAGGGC	222	208B-826 CDR H2	SISSRTSKIYYADNLKG
208B-174 CDR H2	223	GAAATTAGATTGAGATCT GATAATTATGCAACCCAT TATGCGGAGTCTGTGAAA GGG	224	208B-174 CDR H2	EIRLRSDNYATHYAESVK G
208B-408 CDR H2	225	TTTATTAGAAACAAAGCT TATGGTTACACGACCGAG TTCAGTGCATCTGTGAAC GGT	226	208B-408 CDR H2	FIRNKAYGYTTEFSASVN G
208B-612 CDR H2	227	TATATTGATCCTCACAAT GATGATACAAAATACAGT GAGAAGTTCAGAGGT	228	208B-612 CDR H2	YIDPHNDDTKYSEKFRG
208A-877 CDR H2	229	GGTGTTAATCCTAACAAT GGTGATACTGTCTACACC CAGAAGTTCAAGGGC	230	208A-877 CDR H2	GVNPNNGDTVYTQKFKG
208B-251 CDR H2	231	GGTGTTAATCCTAACAAT GGTGATACTATCTACAAC CAGAAGTTCAAGGGC	232	208B-251 CDR H2	GVNPNNGDTIYNQKFKG
208A-110 CDR H2 208B-1070 CDR H2 208A-334 CDR H2 208A-920 CDR H2 208A-126 CDR H2 208A-133 CDR H2 208B-556 CDR H2 208A-741 CDR H2	233	GGTGTTAATCCTAACAAT GGTGATACTATCTTCAAC CAGAAGTTCAAGGGC	234	208A-110 CDR H2 208B-1070 CDR H2 208A-334 CDR H2 208A-920 CDR H2 208A-126 CDR H2 208A-133 CDR H2 208B-556 CDR H2 208A-741 CDR H2	GVNPNNGDTIFNQKFKG
208A-159 CDR H2	235	GGTGTTAATCCTAACAAT GGTGATACTATTTTCAAC	236	208A-159 CDR H2	GVNPNNGDTIFNQKFKD

mAbクローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAbクローン	アミノ酸配列
		CAGAAGTTCAAGGAC			
208A-1064 CDR H3 208B-1094 CDR H3	237	CGGGAACTGGACTACTTT GCCTCC	238	208A-1064 CDR H3 208B-1094 CDR H3	RELDYFAS
208A-293 CDR H3	239	CGGGAACTGGACTACTTT CCCTCC	240	208A-293 CDR H3	RELDYFPS
208A-222 CDR H3	241	CGACAACTGGACTACTTT GACTAT	242	208A-222 CDR H3	RQLDYFDY
208A-605 CDR H3 208B-560 CDR H3	243	CGACAACTGGACTTCTTT GACTAT	244	208A-605 CDR H3 208B-560 CDR H3	RQLDFFDY
208A-830 CDR H3	245	CGACAACTGGACTACTTT GACTTT	246	208A-830 CDR H3	RQLDYFDF
208A-134 CDR H3 208A-692 CDR H3 208A-557 CDR H3 208A-352 CDR H3 208A-983 CDR H3	247	AGTGGGACGGGGTTTACT TAC	248	208A-134 CDR H3 208A-692 CDR H3 208A-557 CDR H3 208A-352 CDR H3 208A-983 CDR H3	SGTGFTY
208B-281 CDR H3	249	AGTGGGACGGGGTTTATT TAC	250	208B-281 CDR H3	SGTGFIY
208B-471 CDR H3	251	TCTGGGGCGGGGGTTTAC	252	208B-471 CDR H3	SGAGVY
208A-207 CDR H3 208A-638 CDR H3	253	CATTACTACGGTGTTCTT GACTCC	254	208A-207 CDR H3 208A-638 CDR H3	HYYGVLDS
208B-515 CDR H3	255	CATTACTACGGTGTCTTT GACTCC	256	208B-515 CDR H3	HYYGVFDS
208A-874 CDR H3	257	GGGGGCTACTATAGGTAC GACGAGTTTGCTTAC	258	208A-874 CDR H3	GGYYRYDEFAY
208B-911 CDR H3	259	AATGCCTATTCTATGGAC TAC	260	208B-911 CDR H3	NAYSMDY
208B-1096 CDR H3 208B-589 CDR H3 208B-395 CDR H3 208B-189 CDR H3 208B-547 CDR H3	261	TTTGCTTAC	262	208B-1096 CDR H3 208B-589 CDR H3 208B-395 CDR H3 208B-189 CDR H3 208B-547 CDR H3	FAY
208A-210 CDR H3	263	TATTACTACGGTAGTTTT GCTTAC	264	208A-210 CDR H3	YYYGSFAY
208A-422 CDR H3 208A-442	265	GGGTCGGACTCCTTTGAC TAC	266	208A-422 CDR H3 208A-442	GSDSFDY

mAb クローン CDR H3	配列番号	核酸配列	配列番号	mAb クローン CDR H3	アミノ酸配列
208B-862 CDR H3	267	AATTAC	268	208B-862 CDR H3	NY
208A-967 CDR H3	269	GATCGGACTACGGCTACC CCCTTCTTTGACTAC	270	208A-967 CDR H3	DRTTATPFFDY
208B-517 CDR H3	271	AATGGGGGGGCTACGGCC TTTGACTAC	272	208B-517 CDR H3	NGGATAFDY
208B-822 CDR H	273	AATGGAGGGGCTACGGTC TTTGACTAC	274	208B-822 CDR H	NGGATVFDY
208B-1024 CDR H3	275	CTCTACTACGGCTACGGG GACTAC	276	208B-1024 CDR H3	LYYGYGDY
208B-327 CDR H3	277	CCCCATGCTGGCTACTTC GGCTGGTTTGCTTAC	278	208B-327 CDR H3	PHAGYFGWFAY
208B-353 CDR H3	279	CTATACGGTAGCCTGTTT GCTTAC	280	208B-353 CDR H3	LYGSLFAY
208B-178 CDR H3	281	CATGGGGGACTGGGACGT AGGGACTGGTACTTCGAT GTC	282	208B-178 CDR H3	HGGLGRRDWYFDV
208B-672 CDR H3	283	CATGGGCTCTACTGGGGC TATTCTATGGACTAC	284	208B-672 CDR H3	HGLYWGYSMDY
208B-793 CDR H3	285	CATGGACTGGGAAGGACA GGGTTTGCTTCC	286	208B-793 CDR H3	HGLGRTGFAS
208B-826 CDR H3	287	TCCGTCTTTGGTAATTCT TAC	288	208B-826 CDR H3	SVFGNSYWFFDV
208B-174 CDR H3	289	ATGACGTAC	290	208B-174 CDR H3	MTY
208B-408 CDR H3	291	GTCCTCTACTATGATTAC GGGGGATTTGCTTAC	292	208B-408 CDR H3	VLYYDYGGFAY
208B-612 CDR H3	293	TATTCTTACGACAGGGAT TACAGTCCTATGGACTAC	294	208B-612 CDR H3	YSYDRDYSPMDY
208A-877 CDR H3	295	CGGGAACCGGACTTCTTT GACTAC	296	208A-877 CDR H3	REPDFFDY
208B-251 CDR H3 208A-110 CDR H3 208B-1070 CDR H3 208A-334 CDR H3 208A-920 CDR H3 208A-159 CDR H3 208A-133 CDR H3 208B-556 CDR H3 208A-741 CDR H3	297	CGGGAATTGGACTTCTTT GACTAC	298	208B-251 CDR H3 208A-110 CDR H3 208B-1070 CDR H3 208A-334 CDR H3 208A-920 CDR H3 208A-159 CDR H3 208A-133 CDR H3 208B-556 CDR H3 208A-741 CDR H3	RELDFFDY
208A-126 CDR H3	299	CGGGGATTGGACTTCTTT GACTAC	300	208A-126 CDR H3	RGLDFFDY

mAb クローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAb クローン	アミノ酸配列
208A-1064L	301	GACATTGTGCTGACACAG TCTCCTGCTTCCTTAATT GTTTCTCTGGGGCAGACG GCCACCATCTCATGCAGG GCCAGCCAAAGTGTCAGT ACATCTAGGTTTAGTTAT CTGCACTGGATCCAACAG AAACCAGGGCAGCCACCC AAACTCCTCATCAAGTAT GCATCCAACCTTGAATCT GGGGTCCCTGTCAGGTTC AGTGGCAGTGGGTCTGGG ACAGACTTCACCCTCAAC ATCCATCCTGTGGAGGAG GAGGATACTGCAACATAT TTCTGTCAGCACAGTTGG GAGTTTCCATTCACGTTC GGCTCGGGGACAAAGTTG AAAATAAAACGGGCTGAT GCTGC	302	208A-1064L	DIVLTQSPASLIVSLGQT ATISCRASQSVSTSRFSY LHWIQQKPGQPPKLLIKY ASNLESGVPVRFSGSGSG TDFTLNIHPVEEEDTATY FCQHSWEFPFTFGSGTKL KIKR
208B-1094L	303	GACATTGTGCTGACACAG TCTCCTGCTTCCTTAATT GTTTCTCTGGGGCAGACG GCCACCATCTCATGCAGG GCCAGCCAAAGTCTCAGT ACATCTAGGTTTAGCTAT GTGCACTGGATCCAACAG AAACCAGGGCAGCCACCC AAACTCCTCATCAAGTAT GCATCCAACCTTGAATCT GGGGTCCCTGTCAGGTTC AGTGGCAGTGGGTCTGGG ACAGACTTCACCCTCAAC ATCCATCCTGTGGAGGAG GAGGATACTGCAACATAT TTCTGTCAGCACAGTTGG GAGTTTCCATTCACGTTC GGCTCGGGGACAAAGTTG AAAATAAAACGGGCTGAT GCTGC	304	208B-1094L	DIVLTQSPASLIVSLGQT ATISCRASQSLSTSRFSY VHWIQQKPGQPPKLLIKY ASNLESGVPVRFSGSGSG TDFTLNIHPVEEEDTATY FCQHSWEFPFTFGSGTKL KIKR
208A-293L	305	GACATTGTGCTGACACAG TCTCCTGCTTCCTTAATT GTATCTCTGGGGCAGAGG GCCACCATCTCATGTAGG GCCAGCCAAAGTGTCAGT ACATCCAGGTTTAGTTAT GTGCACTGGATCCAACAG AAACCAGGGCAGCCACCC AAACTCCTCATCAAGTAT GCATCCAACCTTGAATCT GGGGTCCCTGTCAGGTTC AGTGGCAGTGGGTCTGGG ACAGACTTCATCCTCAAC ATCCATCCTGTGGAGGAG GAGGATACTGCAACATAT	306	208A-293L	DIVLTQSPASLIVSLGQR ATISCRASQSVSTSRFSY VHWIQQKPGQPPKLLIKY ASNLESGVPVRFSGSGSG TDFILNIHPVEEEDTATY FCQHSWEFPFTFGSGTKL EIKR

mAbクローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAbクローン	アミノ酸配列
		TTCTGTCAGCACAGTTGG GAGTTTCCATTCACGTTC GGCTCGGGGACAAAGTTG GAAATAAAACGGGCTGAT GCTGC			
208A-134L	307	GAAGTTTTGATGACCCAA AGTCCACTCTCCCTGCCT GTCAGTCTTGGAGATCAG GCCTCCATCTCTTGCAGA TCTAGTCAGAGCCTTGAA CATACTAATGGAAACACC TATTTAGAGTGGTTCCTG CAGAGACCAGGCCAGCCT CCAAAGCTCCTGATCTAC AAAGTTTCCAGCCGATTT TCTGGGGTCCCAGACAGG TTCAGTGGCAGTGGATCA GGGACAGATTTCACACTC AAGATCAGCAGAGTGGAG GCTGAGGATCTGGGAGTT TATTACTGTTTTCAAGGT TCACATGTTCCATTCACG TTCGGCTCGGGGACAAAG TTGGCAATAAAACGGGCT GATGCTGC	308	208A-134L	EVLMTQSPLSLPVSLGDQ ASISCRSSQSLEHTNGNT YLEWFLQRPGQPPKLLIY KVSSRFSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDLGV YYCFQGSHVPFTFGSGTK LAIKR
208A-692L	309	GAAGTTTTGATGACCCAA AGTCCACTCTCCCTGCCT GTCAGTCTTGGAGATCAG GCCTCCATCTCTTGCAGA TCTAGTCAGAGCCTTGAA CATAGTAATGGAAACACC TATTTAGAGTGGTTCCTG CAGAGACCAGGCCAGCCT CCAAAGCTCCTGATCTAC AAAGTTTCCAGCCGATTT TCTGGGGTCCCAGACAGG TTCAGTGGCAGTGGATCA GGGACAGATTTCACACTC AAGATCAGCAGAGTGGAG GCTGAGGATCTGGGAGTT TATTACTGTTTTCAAGGT TCACATGTTCCATTCACG TTCGGCTCGGGGACAAAG TTGGCAATAAAACGGGCT GATGCTGC	310	208A-692L	EVLMTQSPLSLPVSLGDQ ASISCRSSQSLEHSNGNT YLEWFLQRPGQPPKLLIY KVSSRFSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDLGV YYCFQGSHVPFTFGSGTK LAIKR
208A-352L	311	GATGTTTTGATGGCCCAA ACTCCACTCTCCCTGCCT GTCACCCTTGGAGATCAA GCCTCCATCTCTTGCAGA TCTAGTCAGAGCCTTGTA CATAGTAATGGAAACACC TATTTAGAGTGGTTCCTG CAGAAACCAGGCCAGTCT CCAAAGCTCCTGATCTAC AACGTTTCCAACCGATTT	312	208A-352L	DVLMAQTPLSLPVTLGDQ ASISCRSSQSLVHSNGNT YLEWFLQKPGQSPKLLIY NVSNRFSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDLGV YYCFQGSHVPLTFGSGTK LEIKR

mAb クローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAb クローン	アミノ酸配列
		TCTGGGGTCCCAGACAGG TTCAGTGGCAGTGGATCA GGGACAGATTTCACACTC AAGATCAGCAGAGTGGAG GCTGAGGATCTGGGAGTT TATTACTGCTTTCAAGGT TCACATGTTCCACTCACG TTCGGCTCGGGGACAAAG TTGGAAATAAAACGGGCT GATGCTGC			
208A-983L	313	GATGTTTTGATGACCCAA ACTCCACTCTCCCTGCCT GTCAATCTTGGAGATCAG GCCTCCATCTCTTGCAGA TCTAGTCAGAGCCTTCTA CATAGTAATGGAAACACC TATTTAGAGTGGTTCCTG CAGAAACCAGGCCAGTCT CCAAAGCTCCTGATCTAC AATGTTTCCAACCGATTT TCTGGGGTCCCAGACAGG TTCAGTGGCAGTGGATCA GGGACAGATTTCACACTC AAGATCAGCAGAGTGGAG GCTGAGGATCTGGGAGTT TATTACTGCTTTCAAGGT TCACATGTTCCATTCACG TTCGGCTCGGGGACAAAG TTGGCAATAAAACGGGCT GATGCTGC	314	208A-983L	DVLMTQTPLSLPVNLGDQ ASISCRSSQSLLHSNGNT YLEWFLQKPGQSPKLLIY NVSNRFSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDLGV YYCFQGSHVPFTFGSGTK LAIKR
208B-281L	315	GATGTTTTGATGACCCAA ACTCCACTCTCCCTGCCT GTCAGTCTTGGAGATCAA GCCTCCATCTCTTGCAGA TCTAGTCAGAGCCTTGTA CATAATAATGGAAACACC TATTTAGAATGGTTCCTG CAGAAACCAGGCCAGTCT CCAAAGCTCCTGATCTAC AAAGTTTCCAACCGATTT TCTGGGGTCCCAGACAGG TTCAGTGGCAGTGGATCA GGGACAGATTTCACACTC AAGATCAGCAGAGTGGAG GCTGAGGATCTGGGAGTT TATTACTGCTTTCAAGGT TCACATGTTCCATTCACG TTCGGCTCGGGGACAAAG TTGGAAATAAAACGGGCT GATGCTGC	316	208B-281L	DVLMTQTPLSLPVSLGDQ ASISCRSSQSLVHNNGNT YLEWFLQKPGQSPKLLIY KVSNRFSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDLGV YYCFQGSHVPFTFGSGTK LEIKR
208B-1024L	317	GATGTTTTGATGACCCAA ACTCCACTCTCCCTGCCT GTCAGTCTTGGAGATCAA GCCTCCATCTCTTGCAGA TCTAGTCAGAGCATTGTA	318	208B-1024L	DVLMTQTPLSLPVSLGDQ ASISCRSSQSIVHSNGNT YLEWYLQKLGQSPKLLIY RVSNRFSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDLGV

mAbクローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAbクローン	アミノ酸配列
		CACAGTAATGGAAACACC TATTTAGAGTGGTACCTG CAGAAACTAGGCCAGTCT CCAAAGCTCCTGATCTAC AGAGTTTCCAACCGATTT TCTGGGGTCCCAGACAGG TTCAGTGGCAGTGGATCA GGGACAGATTTCACACTC AAGATCAGCAGAGTGGAG GCTGAGGATCTGGGAGTT TATTACTGCTTTCAAGGT TCACATGTTCCGTGGACG TTCGGTGGAGGCACCAAG CTGGAAATCAAACGGGCT GATGCTGC			YYCFQGSHVPWTFGGGTK LEIKR
208B-471L	319	GATGTTGTGATGACCCAA ACTCCACTCTCCCTGCCT GTCAGTCTTGGAGATCAA GCCTCCATCTCTTGCAGA TCTAGTCAGAGCCTTCTA CATAGTAATGGAAACACC TATTTAGAATGGTACCTG CAGAAACCTGGCCAGTCT CCAAACCTCCTGATCTAC AATGTTTCCAACCGATTT TCTGGGGTCCCAGACAGG TTCAGTGGCAGTGGATCA GGGACAGATTTCGCACTC AAGATCAGCAGAGTGGGG GCTGAGGATCTGGGAGTT TATTACTGCTTTCAAGGT TCACATGTTCCGCTCACG TTCGGTGCTGGGACCAAG CTGGAGCTGAAACGGGCT GATGCTGC	320	208B-471L	DVVMTQTPLSLPVSLGDQ ASISCRSSQSLLHSNGNT YLEWYLQKPGQSPNLLIY NVSNRFSGVPDRFSGSGS GTDFALKISRVGAEDLGV YYCFQGSHVPLTFGAGTK LELKR
208B-862L	321	GATGTTGTGCTGACCCAA ACTCCACTCTCCCTGCCT CTCAGTCTTGGAGATCAG GCCTCCATCTCTTGCAGA TCTAGTCAGACCCTTCTA CACAGTGATGGAGACACC TATTTACATTGGTACCTG CAGAAGCCAGGCCAGTCT CCAAAGCTCCTGATCTAC AAACTTTCCAACCGATTT TCTGGGGTCCCAGACAGG TTCAGTGGCAGTGGATCA GGGACAGATTTCACACTC AAGATCAGCAGAGTGGAG GCTGAGGATCTGGGAGTT TATTTCTGCTCTCAAAGT ACACATGTTCCGTACACG TTCGGAGGGGGGACCAAG CTGGAAATAAAACGGGCT GATGCTGC	322	208B-862L	DVVLTQTPLSLPFSFGNK ASIFCKFSQTLLHRDGNP FLLWYLQKPGQSPKLLIY KLSNRFFGVPKRFRGRGS GTNFPLKISKGEAEDLGV FFCSQSTHVPYTFGGGTK LEIKR

mAb クローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAb クローン	アミノ酸配列
208B-589L 208B- 1096L	323	GATATTGTGATGACCCAG ACTCCACTCACTTTGTCG GTTACCATTGGACAACCA GCTTCCATCTCTTGCAAG TCAAGTCAGAGCCTCTTA TTTACTAATGGAAAAACC TATTTAAATTGGTTTTTA CAGAGGCCAGGCCAGTCT CCAAAACGCCTAATCTAT CTGCTGTCTAAATTGGAC TCTGGAGTCCCTGACAGG TTCAGTGGCAGTGGATCA GGGACAGATTTCACACTG AAAATCAGCAGAGTGGAG GCTGAGGATTTGGGAGTT TATTACTGCTTGCAGAGT ACATATTTTCCTCTCACG TTCGGTGCTGGGACCAAG CTGGAGCTGAAACGGGCT GATGCTGC	324	208B-589L 208B- 1096L	DIVMTQTPLTLSVTIGQP ASISCKSSQSLLFTNGKT YLNWFLQRPGQSPKRLIY LLSKLDSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDLGV YYCLQSTYFPLTFGAGTK LELKR
208B-189L	325	GATGTTGTGATGACCCAG ACTCCACTCACTTTGTCG GTTACCATTGGACAACCA GCTTCCATCTCTTGCAAG TCAAGTCAGAGCCTCTTA TATACTAATGGAAAGACC TATTTGAATTGGTTATTA CAGAGGCCAGGCCAGTCT CCAAAACGCCTAATCTAT CTGGTGTCAAAATTGGAC TCTGGAGTCCCTGACAGG TTCAGTGGCAGTGGATCA GGGACAGATTTCACACTG AAAATCAGCAGAGTGGAG GCTGAGGATTTGGGAGTT TATTACTGCTTGCAGAGT ATACATTTTCCGTACACG TTCGGAGGGGGGACCAAG CTGGACATAAAACGGGCT GATGCTGC	326	208B-189L	DVVMTQTPLTLSVTIGQP ASISCKSSQSLLYTNGKT YLNWLLQRPGQSPKRLIY LVSKLDSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDLGV YYCLQSIHFPYTFGGGTK LDIKR
208B-327L	327	GATATTGTGATGACGCAG GCTGCATTCTCCAATCCA GTCACTCCTGGAACATCA GTTTCCATCTCCTGCAGG TCTAGTAAGAGTCTCCTA CATAGTAATGGCATCACT TATTTGTATTGGTATCTG CAGAAGCCAGGCCAGTCT CCTCAGCTCCTGATTTAT CAGATGTCCAAGATTGCC TCAGGAGTCCCAGACAGG TTCAGGAGCAGTGGGTCA GGAACTGATTTCACACTG AGAATCAGCAGAGTGGAG GCTGCGGATGTGGGTGTT	328	208B-327L	DIVMTQAAFSNPVTPGTS VSISCRSSKSLLHSNGIT YLYWYLQKPGQSPQLLIY QMSKIASGVPDRFRSSGS GTDFTLRISRVEAADVGV YYCAQNLELPWTFGGGTK LEIKR

mAb クローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAb クローン	アミノ酸配列
		TATTACTGTGCTCAAAAT CTAGAACTTCCGTGGACG TTCGGTGGAGGCACCAAG CTGGAAATCAAACGGGCT GATGCTGC			
208A-874L	329	GACATTGTGATGACCCAG TCTCACAAATTCATGTCC ACATCAATAGGAGACAGG GTCAGCATCACCTGCAAG GCCAGTCAGAATGTGAGT CCTGCTGTAGCCTGGTAT CAACAGAAACCAGGACAA TCTCCTAAACTACTGATT TACTCGGCATCCTCCCGA TACACTGGAGTCCCTGAT CGCTTCACTGGCAGTGGA TCTGGGACGGCTTTCACT TTCACCATCAGCAGTGTG CAGGCTGAAGACCTGGCA GTTTATTTCTGTCAGCAA CATTTTAGTACTCCGTGG ACGTTCGGTGGAGGCACC ATGCTGGAAATCAAACGG GCTGATGCTGC	330	208A-874L	DIVMTQSHKFMSTSIGDR VSITCKASQNVSPAVAWY QQKPGQSPKLLIYSASSR YTGVPDRFTGSGSGTAFT FTISSVQAEDLAVYFCQQ HFSIPWTFGGGTMLEIKR
208B-353L	331	GACATTGTGATGACCCAG TCTCAAAAATTCATGTCC ACAACAGTTGGGGACAGG GTCAGAGTCACCTGCAAG GCCAGTCAGAATGTGGGT ACTGCTGTAGCCTGGTAT CAACAGAAACCAGGACAA TCTCCTAAACTACTGATT TACTCAGCATCCAATCGG TACACTGGAGTCCCTGAT CGCTTCACAGGCAGTGGA TCTGGGACAGATTTCACT CTCACCATTACCAATATG CAGTCTGAAGACCTGGCA GATTATTTCTGTCAGCAA TATAGCACCTATCCTCTC ACGTTCGGCTCGGGGGCA AAGTTGGAAATAAAACGG GCTGATGCTGC	332	208B-353L	DIVMTQSQKFMSTTVGDR VRVTCKASQNVGTAVAWY QQKPGQSPKLLIYSASNR YTGVPDRFTGSGSGTDFT LTITNMQSEDLADYFCQQ YSTYPLTFGSGAKLEIKR
208B-793L	333	GACATTGTGATGACCCAG TCTCACAAATTCATGTCC ACATCAGTAGGAGACAGG GTCAGCATCACCTGCAAG GCCAGTCAGGATGTGGGT ACTGCTGTAGCCTGGTAT CAACAGAAACCAGGACAA TCTCCTAAACTACTGATT TACTGGGCATCCACCCGG CACACTGGAGTCCCTGAT CGCTTCACAGGCAGTGGA TCTGGGACAGATTTCACT	334	208B-793L	DIVMTQSHKFMSTSVGDR VSITCKASQDVGTAVAWY QQKPGQSPKLLIYWASTR HTGVPDRFTGSGSGTDFT LTISNVQSEDLADYFCQQ YSNYLTFGAGTKLEVKR

mAbクローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAbクローン	アミノ酸配列
		CTCACCATTAGCAATGTG CAGTCTGAAGACTTGGCA GATTATTTCTGTCAGCAA TATAGCAACTATCTCACG TTCGGTGCTGGGACCAAG CTGGAGGTGAAACGGGCT GATGCTGC			
208B-672L	335	GACATCCAGATGACCCAG TCTCCATCCTCCTTATCT GCCTCTCTGGGCGAAAGA GTCAGTCTCACTTGTCGG GCAAGTCAGGACATTGGT GGTAGCATAAACTGGCTT CAGCAGGAACCAGATGGA ACTATTAAACGCCTGATC TACGCCACATCCAGTTTA GATTCTGGTGTCCCCAAA AGGTTCAGTGGCAGTAGG TCTGGGTCAGATTATTCT CTCACCATCAGCAGCCTT GAGTCTGAAGATTTTGTA GACTATTACTGTCTACAA TATGCTAGTTCTCCTCCG ACGTTCGGTGGAGGCACC AAACTGGAAATCAAACGG GCTGATGCTGC	336	208B-672L	DIQMTQSPSSLSASLGER VSLTCRASQDIGGSINWL QQEPDGTIKRLIYATSSL DSGVPKRFSGSRSGSDYS LTISSLESEDFVDYYCLQ YASSPPTFGGGTKLEIKR
208B-408L	337	GACATCCAGATGACTCAG TCTCCAGCCTCCCTATCT GCATCTGTGGGAGAAACT GTCACCATCACATGTCGA GCAAGTGGGAATATTCAC ACTTATTTAGCATGGTAT CAGCAGAAACAGGGAAAA TCTCCTCAGCTCCTGGTC TACAATGCAAACACCTTG GCAGATGGTGTGCCATCA AGGTTCAGTGGCAGTGGA TCAGGAACACAATTTTCT CTCAAGATCAACAGTCTG CAGCCTGACGATTTTGGG AGTTATTACTGTCAACAT TTTTGGAGTGCTCCGTGG ACGTTCGGTGGAGGCACC CAGCTGGAAATCAAACGG GCTGATGCTGC	338	208B-408L	DIQMTQSPASLSASVGET VTITCRASGNIHTYLAWY QQKQGKSPQLLVYNANTL ADGVPSRFSGSGSGTQFS LKINSLQPDDFGSYYCQH FWSAPWTFGGGTQLEIKR
208A-207L 208B-826L	339	GATATTGTGTTAACTCAG TCTCCAGCCACCCTGTCT GTGACTCCAGGAGATAGA GTCAGTCTTTCCTGCAGG GCCAGTCAAAGAATTTAC AACTACCTACACTGGTAT CAACAAAAATCACATGAG TCTCCAAGGCTTCTCACC AAGTATGCTTCCCAGTCC ATCTCTGGGATCCCCTCC	340	208A-207L 208B-826L	DIVLTQSPATLSVTPGDR VSLSCRASQRIYNYLHWY QQKSHESPRLLTKYASQS ISGIPSRFSGSGSGTDFI LTINSVETEDFGMYFCQQ SNSWPLTFGAGTKLELRR

mAbクローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAbクローン	アミノ酸配列
		AGGTTCAGTGGCAGTGGC TCAGGGACAGATTTCATT CTCACTATCAACAGTGTG GAGACTGAAGATTTTGGA ATGTATTTCTGTCAACAG AGTAACAGCTGGCCTCTC ACGTTCGGTGCTGGGACC AAGCTGGAGCTGAGACGG GCTGATGCTGC			
208B-395L	341	GATATTGTGTTAACTCAG TCTCCAGCCACCCTGTCT GTGACTCCAGGAGATAGA GTCAGTCTTTCCTGCAGG GCCAGTCAAAGAATTTAC AACTACCTACACTGGTAT CAACAAAAATCACATGAG TCTCCAAGGCTTCTCATC AAGTATGCTTCCCAGTCC ATCTCTGGGATCCCCTCC AGGTTCAGTGGCAGTGGC TCAGGGACAGATTTCATT CTCACTATCAACAGTGTG GAGACTGAAGATTTTGGA ATGTATTTCTGTCAACAG AGTAACAGCTGGCCTCTC ACGTTCGGTGCTGGGACC AAGCTGGAGCTGAGACGG GCTGATGCTGC	342	208B-395L	DIVLTQSPATLSVTPGDR VSLSCRASQRIYNYLHWY QQKSHESPRLLIKYASQS ISGIPSRFSGSGSGTDFI LTINSVETEDFGMYFCQQ SNSWPLTFGAGTKLELRR
208B-517L	343	GACATTGTGATGACTCAG TCTCCAGCCACCCTGTCT GTGACTCCAGGAGATAGA GTCTCTCTTTCCTGCAGG GCCAGCCAGAGTATTAGC GACTACTTACACTGGTAT CAACAAAAATCACATGAG TCTCCAAGGCTTCTCATC AAATATGCTTCCCAATCC ATCTCTGGGATCCCCTCC AGGTTCCGTGGCAGTGGA TCAGGGTCACATTTCACT CTCAGTATCAACAGTGTG GAACCTGAAGATGTTGGA GTGTATTACTGTCAAAAT GGTCACAGTTTTCCGTGG ACGTTCGGTGGAGGCACC AAGCTGGAAATCAAACGG GCTGATGCTGC	344	208B-517L	DIVMTQSPATLSVTPGDR VSLSCRASQSISDYLHWY QQKSHESPRLLIKYASQS ISGIPSRFRGSGSGSHFT LSINSVEPEDVGVYYCQN GHSFPWTFGGGTKLEIKR
208B-822L	345	GACATTGTGATGACTCAG TCTCCAGCCACCCTGTCT GTGACTCCAGGAGATAGA GTCTCTCTTTCCTGCAGG GCCAGCCAGACTATTAGC GACTACTTACACTGGTAT CAACAAAAATCGCATGAG TCTCCAAGGCTTCTCATC	346	208B-822L	DIVMTQSPATLSVTPGDR VSLSCRASQTISDYLHWY QQKSHESPRLLIKYASQS ISGIPSRFSGSGSGSHFT LSINSVEPEDVGVYYCQN GHSFPWTFGGGTKLEIKR

mAbクローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAbクローン	アミノ酸配列
		AAATATGCTTCCCAATCC ATCTCTGGGATCCCCTCC AGGTTCAGTGGCAGTGGA TCAGGGTCACATTTCACT CTCAGTATCAACAGTGTG GAACCTGAAGATGTTGGA GTGTATTACTGTCAAAAT GGTCACAGTTTTCCGTGG ACGTTCGGTGGAGGCACC AAGCTGGAAATCAAACGG GCTGATGCTGC			
208A-210L	347	GAGATTGTGCTCACTCAG TCTCCAGCCATCACAGCT GCATCTCTGGGGCAAAAC GTCACCATCACCTGCAGA GCCAGCTCAAGTGTAAGT TACATGCATTGGTACCGG CAGAAGTCCGGCACCTCC CCCCAACTATGGATTTAT GAGATATCCAGACGGGCT TCTGGAGTCCCAGCTCGC TTCCGTGCCAGTGGGTCT GGGACCTCTTATTCTCTC ACAATCAGCAGCATGGAG GCTGAAGATGCTGCCATT TATTACTGCCAGCAGTGG AATTATCCTCTCACGTTC GGTGCTGGGACCAAGCTG GAGGTGAAACGGGCTGAT GCTGC	348	208A-210L	EIVLTQSPAITAASLGQN VTITCRASSSVSYMHWYR QKSGTSPQLWIYEISRRA SGVPARFRASGSGTSYSL TISSMEAEDAAIYYCQQW NYPLTFGAGTKLEVKR
208B-547L	349	GAAGTTGTGCTCACTCAG TCTCCAGCCATCACAGCT GCATCTCTGGGGCAAAAG GTCACCATCACCTGCAGA GCCAGCTCAAGTGTAAGT TACATGCACTGGTACCGG CAGAAGTCAGGCACCTCC CCCCAGCCATGGATTTAT GAAATATCCACACTGGCT TCTGGAGTCCCAACTCGC TTCCGTGCCAGTGGGTCT GGGACCTCTTATTCTCTC ACAATCAGCAGCATGGAG GCTGAAGATGCTGCCATT TATTACTGCCAGCAGTGG AATTATCCTCTCACGTTC GGTGCTGGGACCAAGCTG GAACTGAAACGGGCTGAT GCTGC	350	208B-547L	EVVLTQSPAITAASLGQK VTITCRASSSVSYMHWYR QKSGTSPQPWIYEISTLA SGVPTRFRASGSGTSYSL TISSMEAEDAAIYYCQQW NYPLTFGAGTKLELKR
208A-638L	351	CAAATTGTTCTCACCCAG TCTCCAACAATCATGTCT GCATCTCTAGGGGAACGG GTCACCATGACCTGCACT GCCAGCTCAAGTGTGAGT TCCAGTTACTTGCACTGG	352	208A-638L	QIVLTQSPTIMSASLGER VTMTCTASSSVSSSYLHW FQQKPGSSPKLWIYSTSN LASGVPPRFSGSGSGTSY SLSISSVEAEDVATYYCL QFHRSPWTFGGGAKLEIK

mAbクローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAbクローン	アミノ酸配列
		TTCCAGCAGAAGCCAGGA TCCTCCCCCAAACTCTGG ATTTATAGCACATCCAAC CTGGCTTCTGGAGTCCCA CCTCGCTTCAGTGGCAGT GGGTCTGGGACCTCTTAC TCTCTCTCAATCAGCAGC GTGGAGGCTGAAGATGTT GCCACTTATTACTGCCTC CAGTTTCATCGTTCCCCG TGGACGTTCGGTGGAGGC GCCAAGTTGGAAATCAAA CGGGCTGATGCTGC			R
208B-515L	353	CAAATTGTTTTCACCCAG TATCCAGCAATAATGTCT GCATCTCTAGGGGAACGG GTCACCATGACCTGCACA GCCAGCTCAAGTGTAACT TCCAGTTACTTGCACTGG TTCCAGCAGAAGCCAGGA TCCTCCCCCAAACTCTGG ATTTATAGCACGTCCAAC CCGGGTTCTGGAGTCCCA GCTCGCTTCAGTGGCAGA GGATCTGGGACCTCTTAC TCTCTCTCAATCAGCAGC ATGGAGGCTGAAGATGCT GCCACTTATTACTGCCTC CAGTTTCATCGTTCCCCG TGGACGTTCGGTGGAGGC ACCAAGCTGGAAATCAGA CGGGCTGATGCTGC	354	208B-515L	QIVFTQYPAIMSASLGER VTMTCTASSSVTSSYLHW FQQKPGSSPKLWIYSTSN PGSGVPARFSGRGSGTSY SLSISSMEAEDAATYYCL QFHRSPWTFGGGTKLEIR R
208A-877L	355	CAAATTGTTCTCACCCAG TCTCCAGCAATCATGTCT GTATCTCCAGGGGAGAAG GTCTCCATGACCTGCAGT GCCAGCTCAAGTGTCACT TACATGCACTGGTATCAG CAGAAGTCAGGCACCTCC CCCAAAAGATGGATTTAT GACACATCCGAGCTGGCT TCTGGAGTCCCTGCTCGC TTCAGTGGCAGTGGGTCT GGGACCACTTACTCTCTC ACAATCAGCAGCATGGAG GCTGAAGATGCTGCCACT TATTACTGCCAGCAGTGG AGTAATAAACCGCTCACG TTCGGTGCTGGGACCAAG CTGGAGCTGAAACGGGCT GATGCTGC	356	208A-877L	QIVLTQSPAIMSVSPGEK VSMTCSASSSVTYMHWYQ QKSGTSPKRWIYDTSELA SGVPARFSGSGSGTTYSL TISSMEAEDAATYYCQQW SNKPLTFGAGTKLELKR
208B-174L	357	CAAAATGTTCTCACCCAG TCTCCAGCAATCATGTCT GCATCTCCAGGGGAGAAG GTCACCATGTCCTGCAGT	358	208B-174L	QNVLTQSPAIMSASPGEK VTMSCSASSSVTYMFWYQ LKPESSPRLLIYDTSNLA SGVPVRFSGSGSGTSYSL

mAb クローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAb クローン	アミノ酸配列
		GCCAGCTCAAGTGTCACT TACATGTTCTGGTACCAG CTGAAGCCAGAATCCTCC CCCAGACTCCTGATTTAT GACACATCCAATTTGGCT TCTGGCGTCCCTGTTCGC TTCAGTGGCAGTGGGTCT GGGACCTCTTACTCTCTC ACAATCAGCCGTATGGAG GCTGAAGATGCTGCCACT TATTACTGCCAGGAGTGG AGTAGTTACCCACTCACG TTCGGTGCTGGGACCAAG CTGGACCTGAAACGGGCT GATGCTGC			TISRMEAEDAATYYCQEW SSYPLTFGAGTKLDLKR
208B-612L	359	CAAATTGTTCTCACCCAG TCTCCAACACTCATGTCT GCATCGCCAGGAGAAAAG GTCACCATGACCTGCAGT GCCAGCTCAACTGTGACT TACATTTACTGGTACCAA CAGAAGCCCGGCTCCTCC CCCAGACTCTGGATGTAT GACACATTCAACCTGGTT TCTGGAGTCCCTGCTCGC TTCAGTGGCAGTAGGTCT GGGACCTCTTATTTTCTC ACAATCAGTAGCATGGAG GGTGAAGATGCTGCCACT TATTACTGCCAACAGTAC AGTGATTCCCCGTACACG TTCGGAGGGGGGACCAAG CTGGAGATAAAACGGGCT GATGCTGC	360	208B-612L	QIVLTQSPTLMSASPGEK VTMTCSASSTVTYIYWYQ QKPGSSPRLWMYDTFNLV SGVPARFSGSRSGTSYFL TISSMEGEDAATYYCQQY SDSPYTFGGGTKLEIKR
208B-911L	361	CAAATTGTTCTCACCCAG TCTCCAGAGATCATGTCT GCATCTCCAGGGGAGAAG GTCACCATAACCTGCAGT GCCAGCTCAAGTGTAAGT TTCATGTATTGGTTCCAG CAGAAGCCAGGCACTTCT CCCAAACTCTGGATTTAT ATCACATCCAACCTGGCT TCTGGAGTCCCTACTCGC TTCAGTGGCAGTGGATCT GGGACCTCTTACTCTCTC ACAATCAGCCGAATGGAG GCTGAAGATGCTGCCACT TATTACTGCCAGCAAAGG AGTAGTTTCCCGTACACG TTCGGAGGGGGGACCAAA CTGGAAATGAAACGGGCT GATGCTGC	362	208B-911L	QIVLTQSPEIMSASPGEK VTITCSASSSVSFMYWFQ QKPGTSPKLWIYITSNLA SGVPTRFSGSGSGTSYSL TISRMEAEDAATYYCQQR SSFPYTFGGGTKLEMKR

mAb クローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAb クローン	アミノ酸配列
208A-422L 208A-442L	363	GACATTGTGCTGACCCAA TCTCCAGCTTCTTTGGCT GTGTCTCTAGGGCAGAGG GCCATCATCTCCTGCAAG GCCAGCCAAAGTGTCAGT TTTGCTGGTACTAATTTA ATGCACTGGTACCAACAG AAACCAGGACAGCAACCC AAACTCCTCATCTATCGT GCATCCAACCTAGAAACT GGGGTTCCTACCAGGTTT AGTGGCAGTGGGTCTAGG ACAGACTTCACCCTCAAT ATCCATCCTGTGGAGGAA GATGATGCTGCAACCTAT TACTGTCAGCAAAGTAGG GAATATTACACGTTCGGA GGGGGGACCAAGCTGGAA ATAAAACGGGCTGATGCT GC	364	208A-422L 208A-442L	DIVLTQSPASLAVSLGQR AIISCKASQSVSFAGTNL MHWYQQKPGQQPKLLIYR ASNLETGVPTRFSGSGSR TDFTLNIHPVEEDDAATY YCQQSREYYTFGGGTKLE IKR
208A-967L	365	GACATTGTGCTGACCCAA TCTCCAGCTTCTTTGGCT GGGTCTCTAGGGAAAAGG GCCCCCATCTCCTGCAAA GCCAGCGAAAGTGTCAAT TTTTTTGGTACTAATTTA ATACACTGGTACCAACAA AAACCAGGACAGCCCCCC AAACTCCTCATCTATCAT GCATCCAACCTAAAAACT GGAGTCCCTGCCAGGTTC AGGGGCAGGGGGTCTAAA ACAAACTTCCCCCTCCCC ATTGATCCTGTGGAGGAA AATGATGTTGCAATCTAT TACTGTCTGCAAAATAGG AAAATTCCTCTCACGTTC GGGGTTGGGACCAAGCTG GAGCTGAAACGGGCTGAT GCTGC	366	208A-967L	DIVLTQSPASLAGSLGKR APISCKASESVNFFGINL IHWYQQKPGQPPKLLIYH ASNLKTGVPARFRGRGSK TNFPLPIDPVEENDVAIY YCLQNRKIPLTFGVGTKL ELKR
208B-178L	367	GACATTGTGCTGACCCAA TCTCCAGCTTCTTTGGCT GTGTCTCTAGGGCAGAGG GCCACCATCTCCTGCAGA GCCAGCGAAAGTGTTGAT AATTATGGCATTAGTTTT ATGCACTGGTACCAGCAG AAACCAGGACAGCCACCC AAACTCCTCATCTATCGT GCATCCAACCTAGAATCT GGGATCCCTGCCAGGTTC AGTGGCAGTGGGTCTAGG ACAGACTTCACCCTCACC ATTAATCCTGTGGAGACT GATGATGTTGCAACCTAT	368	208B-178L	DIVLTQSPASLAVSLGQR ATISCRASESVDNYGISF MHWYQQKPGQPPKLLIYR ASNLESGIPARFSGSGSR TDFTLTINPVETDDVATY YCQQSNKDPFTFGSGAKL EIKR

mAbクローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAbクローン	アミノ酸配列
		TACTGTCAGCAAAGTAAT AAGGATCCATTCACGTTC GGCTCGGGGGCAAAGTTG GAAATAAAACGGGCTGAT GCTGC			
208A-222L 208A-605L 208B-560L	369	GACATTGTGGTGACACAG TCTCCTGCTTCCTTAGCT GTATCTCTGGGGCAGAGG GCCACCATCTCATGCAGG GCCAGCCAAAGTGTCAGT ACATCTAGATATAGTTAT CTGCACTGGTACCAACAG AAACCAGGACAACCTCCC AAACTCCTCATCAAGTAT GCATCCAACCTAGAATCT GGGGTCCCTGCCAGGTTC AGTGGCAGTGGGTCTGGG ACAGACTTCACCCTCAAT ATCCATCCTGTGGGGGAG GAGGATACTGCAACATAT TACTGTCAGCACAGTTGG GAGTTTCCATTCACGTTC GGCTCGGGGACAAAGTTG GAAATAAAACGGGCTGAT GCTGC	370	208A-222L 208A-605L 208B-560L	DIVVTQSPASLAVSLGQR ATISCRASQSVSTSRYSY LHWYQQKPGQPPKLLIKY ASNLESGVPARFSGSGSG TDFTLNIHPVGEEDTATY YCQHSWEFPFTFGSGTKL EIKR
208A-830L	371	GACATTGTACTGACACAG TCTCCTGCTTCCTTAGCT GTATCTCTGGGGCAGAGG GCCACCATCTCATGCAGG TCCAGCCAAAGTGTCAGT ACATCTAGATATAGTTAT TTGCACTGGTACCAACAG AAACCAGGACAACCTCCC AAACTCCTCATCAAGTAT GCATCCAACCTAGAATCT GGGGTCCCTGCCAGGTTC AGTGGCAGTGGGTCTGGG ACAGACTTCACCCTCAAC ATCCATCCTGTGGGGGAG GAGGATCCTGCAACATAT TACTGTCAGCACAGTTGG GAGTTTCCATTCACGTTC GGCTCGGGGACAAAGTTG GAAATAAAACGGGCTGAT GCTGC	372	208A-830L	DIVLTQSPASLAVSLGQR ATISCRSSQSVSTSRYSY LHWYQQKPGQPPKLLIKY ASNLESGVPARFSGSGSG TDFTLNIHPVGEEDPATY YCQHSWEFPFTFGSGTKL EIKR
208A-557L	373	GACATTGCCCTGACACAG TCTCCTGCTTCGTTAGCT GTATCTCTGGGGCAGAGG GCCACCATCTCATGCAGG GCCAGCCAAAGTGTCAGT ACATCTAGGTATAGTTAT ATGCACTGGTACCAACAG AAACCAGGACAACCACCC GAACTCCTCATCAAGTAT GCATCCAACCTAGAATCT	374	208A-557L	DIALTQSPASLAVSLGQR ATISCRASQSVSTSRYSY MHWYQQKPGQPPELLIKY ASNLESGVPARFSGSGSG TDFTLNIHPVGEEDTATY YCQHSWDFPFTFGSGTKL EIKR

mAbクローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAbクローン	アミノ酸配列
		GGGGTCCCTGCCAGGTTC AGTGGCAGTGGGTCTGGG ACAGACTTCACCCTCAAC ATCCATCCTGTGGGGGAG GAGGATACTGCAACATAT TACTGTCAGCACAGTTGG GATTTTCCATTCACGTTC GGCTCGGGGACAAAGTTG GAAATAAAACGGGCTGAT GCTGC			
208A-133L 208B-556L	375	GACATTGTGCTGACACAG TCTCCTGCTTCCTTAGCT GTTTCTCTGGGGCAGAGG GCCACCATCTCATGCAGG GCCAGCCAAAGTGTCAGT ACATCTAGGTATAGCTAC ATGCACTGGTACCAACAG AAACCAGGACAGCCACCC AAACTCCTCATCAAGTAT GCATCCAACCTAGAATCT GGGGTCCCTGCCAGGTTC AGTGGCAGTGGGTCTGGG ACAGACTTCACCCTCAAC ATCCATCCTGTGGCGGAG GAGGATACTGCAACATAT TACTGTCAGCACAGTTGG GAGTTTCCATTCACGTTC GGCTCGGGGACAAAGTTG GAAATAAAACGGGCTGAT GCTGC	376	208A-133L 208B-556L	DIVLTQSPASLAVSLGQR ATISCRASQSVSTSRYSY MHWYQQKPGQPPKLLIKY ASNLESGVPARFSGSGSG TDFTLNIHPVAEEDTATY YCQHSWEFPFTFGSGTKL EIKR
208B- 1070L	377	GACATTGTGCTGACACAG TCTCTTGCTTCCTTAGCT GTTTCTCTGGGGCAGAGG GCCACCATCTCATGCAGG GCCAGCCAAAGTGTCAGT ACATCTAGGTATAGTTAT ATGCACTGGTACCAACAG AAACCAGGACAGCCACCC AAACTCCTCATCAAGTAT GCATCCAACCTTGAATGT GGGGTCCGTGCCAGGTTC AGTGGCAGTGGGTGTGGG ACAGACTTCACCCTCAAC ATCCATCCTGTGGAGGAG GAGGATACTGCAGCATAT TACTGTCAGCACAGTTGG GAGTTTCCATTCACGTTC GGCTCGGGGACAAAATTG GAAATAAAACGGGCTGAT GCTGC	378	208B- 1070L	DIVLTQSLASLAVSLGQR ATISCRASQSVSTSRYSY MHWYQQKPGQPPKLLIKY ASNLECGVRARFSGSGCG TDFTLNIHPVEEEDTAAY YCQHSWEFPFTFGSGTKL EIKR
208A-159L	379	GACATTGTACTGACACAG TCTCCTGCTTCCTTAGCT GTTTCTCTGGGGCAGAGG GCCACCATCTCCTGCAGG GCCAGCCAAAGTGTCAGT	380	208A-159L	DIVLTQSPASLAVSLGQR ATISCRASQSVSTSRYSY VHWYQQKPGQPPKLLIKY AANLESGVPARFSGSGSG TDFTLNIHPVAEEDAAAY

mAbクローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAbクローン	アミノ酸配列
		ACATCTAGGTATAGTTAT GTGCACTGGTATCAACAG AAACCAGGACAGCCACCC AAACTCCTCATCAAGTAT GCAGCCAACCTAGAATCT GGGGTCCCTGCCAGGTTC AGTGGCAGTGGGTCTGGG ACAGACTTCACCCTCAAC ATCCATCCTGTGGCGGAG GAGGATGCTGCAGCATAT TACTGTCAGCACAGTTGG GAGTTTCCATTCACGTTC GGCTCGGGGACAAAGTTG GAAATAAAACGGGCTGAT GCTGC			YCQHSWEFPFTFGSGTKL EIKR
208A-741L	381	GACATTGTGCTGACACAG TCTCCTGCTTCCTTAGCT GTTTCTCTGGGGCAGAGG ACCACCATCTCATGCGGG GCCAGCCAAAGTGTCAGT ACATCTAGGTTTAGTTAT ATGCACTGGTACCAACAG AAACCAGGACAGCCACCC AAACTCCTCATCAAGTAT GCATCCAACCTAGAATCT GGGGTCCCTGCCAGGTTC AGTGGCAGTGGGTCTGGG ACAGACTTCACCCTCAAC ATCCATCCTGTGGCGGAG GAGGATACTGCAGCATAT TACTGTCAGCACAGTTGG GAGTTTCCATTCACGTTC GGCTCGGGGACAAAGTTG GAAATAAAACGGGCTGAT GCTGC	382	208A-741L	DIVLTQSPASLAVSLGQR TTISCGASQSVSTSRFSY MHWYQQKPGQPPKLLIKY ASNLESGVPARFSGSGSG TDFTLNIHPVAEEDTAAY YCQHSWEFPFTFGSGTKL EIKR
208A-334L	383	GACATTGTGCTGACACAG TCTCCTGCTTCCTTAGCT GTTTCTCTGGGGCAGAGG GCCACCATCTCATGCAGG GCCAGCCAAAGTGTCAGT ACATCTAGGTATAGTTAT ATGCACTGGTACCAACAG AAACCAGGACAGCCACCC AAACTCCTCATCAAGTAT GCATCCAACCTAGAATCT GGGGTCCCTGCCAGGTTC AGTGGCAGTGGGTCTGGG ACAGACTTCACCCTCAAC ATCCATCCTGTGGCGGAG GAGGATACTGCAGCATAT TACTGTCAGCACAGTTGG GGGTTTCCATTCACGTTC GGCTCGGGGACAAAGTTG GAAATAAAGCGGGCTGAT GCTGC	384	208A-334L	DIVLTQSPASLAVSLGQR ATISCRASQSVSTSRYSY MHWYQQKPGQPPKLLIKY ASNLESGVPARFSGSGSG TDFTLNIHPVAEEDTAAY YCQHSWGFPFTFGSGTKL EIKR

mAb クローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAb クローン	アミノ酸配列
208B-251L	385	GACATTGTGCTGACACAG TCTCCTGCTTCCTTAGCT GTATCTTTGGGAAAAAAG GCCACCATCTCATGCAGG GCCAGCCAAAGTGTCAGT ACATCTAGGTATAGTTAT ATGCACTGGTACCAACAG AAACCAGGACACCCACCC AAACTCCTCATCAAATAT GCATCCAACCTAGAATCT GGGGTCCCTGCCAGGTTC AGTGGCAGTGGGTCTGGG ACAGACTTCACCCTCAAC ATCCATCCTGTGGCGGAG GAGGATACTGCAGCATAT TACTGTCAGCACAGTTGG GAGTTTCCATTCACGTTC GGCTCGGGGACAAAGTTG GAAATAAAACGGGCTGAT GCTGC	386	208B-251L	DIVLTQSPASLAVSLGKK ATISCRASQSVSTSRYSY MHWYQQKPGHPPKLLIKY ASNLESGVPARFSGSGSG TDFTLNIHPVAEEDTAAY YCQHSWEFPFTFGSGTKL EIKR
208A-110L 208A-126 208A-920L	387	GACATTGTGCTGACACAG TCTCCTGCTTCCTTAGCT GTTTCTCTGGGGCAGAGG GCCACCATCTCATGCAGG GCCAGCCAAAGTGTCAGT ACATCTAGGTATAGTTAT ATGCACTGGTACCAACAG AAACCAGGACAGCCACCC AAACTCCTCATCAAGTAT GCATCCAACCTTGAATCT GGGGTCCCTGCCAGGTTC AGTGGCAGTGGGTCTGGG ACAGACTTCACCCTCAAC ATCCATCCTGTGGCGGAG GAGGATACTGCAGCATAT TACTGTCAGCACAGTTGG GAGTTTCCATTCACGTTC GGCTCGGGGACAAAATTG GAAATAAAACGGGCTGAT GCTGC	388	208A-110L 208A-126 208A-920L	DIVLTQSPASLAVSLGQR ATISCRASQSVSTSRYSY MHWYQQKPGQPPKLLIKY ASNLESGVPARFSGSGSG TDFTLNIHPVAEEDTAAY YCQHSWEFPFTFGSGTKL EIKR
208A-692CDRL1	389	AGATCTAGTCAGAGCCTT GAACATAGTAATGGAAAC ACCTATTTAGAG	390	208A-692CDRL1	RSSQSLEHSNGNTYLE
208A-352CDRL1	391	AGATCTAGTCAGAGCCTT GTACATAGTAATGGAAAC ACCTATTTAGAG	392	208A-352CDRL1	RSSQSLVHSNGNTYLE
208A-983CDRL1 208B-471CDRL1	393	AGATCTAGTCAGAGCCTT GTACATAGTAATGGAAAC ACCTATTTAGAG	394	208A-983CDRL1 208B-471CDRL1	RSSQSLLHSNGNTYLE
208B-1024CDRL1	395	AGATCTAGTCAGAGCATT GTACACAGTAATGGAAAC ACCTATTTAGAG	396	208B-1024CDRL1	RSSQSIVHSNGNTYLE
208A-134CDRL1	397	AGATCTAGTCAGAGCCTT GAACATACTAATGGAAAC	398	208A-134CDRL1	RSSQSLEHTNGNTYLE

mAbクローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAbクローン	アミノ酸配列
		ACCTATTTAGAG			
208B-281CDRL1	399	AGATCTAGTCAGAGCCTTGTACATAATAATGGAAACACCTATTTAGAA	400	208B-281CDRL1	RSSQSLVHNNGNTYLE
208B-327CDRL1	401	AGGTCTAGTAAGAGTCTCCTACATAGTAATGGCATCACTTATTTGTAT	402	208B-327CDRL1	RSSKSLLHSNGITYLY
208B-862CDRL1	403	AGATCTAGTCAGACCCTTCTACACAGTGATGGAGACACCTATTTACAT	404	208B-862CDRL1	KFSQTLLHRDGNPFLL
208B-589CDRL1 208B-1096CDRL1	405	AAGTCAAGTCAGAGCCTCTTATTTACTAATGGAAAAACCTATTTAAAT	406	208B-589CDRL1 208B-1096CDRL1	KSSQSLLFTNGKTYLN
208B-189CDRL1	407	AAGTCAAGTCAGAGCCTCTTATATACTAATGGAAAGACCTATTTGAAT	408	208B-189CDRL1	KSSQSLLYTNGKTYLN
208A-874CDRL1	409	AAGGCCAGTCAGAATGTGAGTCCTGCTGTAGCC	410	208A-874CDRL1	KASQNVSPAVA
208B-353CDRL1	411	AAGGCCAGTCAGAATGTGGGTACTGCTGTAGCC	412	208B-353CDRL1	KASQNVGTAVA
208B-793CDRL1	413	AAGGCCAGTCAGGATGTGGGTACTGCTGTAGCC	414	208B-793CDRL1	KASQDVGTAVA
208B-672CDRL1	415	CGGGCAAGTCAGGACATTGGTGGTAGCATAAAC	416	208B-672CDRL1	RASQDIGGSIN
208B-408CDRL1	417	CGAGCAAGTGGGAATATTCACACTTATTTAGCA	418	208B-408CDRL1	RASGNIHTYLA
208A-207CDRL1 208B-826CDRL1 208B-395CDRL1	419	AGGGCCAGTCAAAGAATTTACAACTACCTACAC	420	208A-207CDRL1 208B-826CDRL1 208B-395CDRL1	RASQRIYNYLH
208B-517CDRL1	421	AGGGCCAGCCAGAGTATTAGCGACTACTTACAC	422	208B-517CDRL1	RASQSISDYLH
208B-822CDRL1	423	AGGGCCAGCCAGACTATTAGCGACTACTTACAC	424	208B-822CDRL1	RASQTISDYLH
208A-210CDRL1	425	AGAGCCAGCTCAAGTGTAAGTTACATGCAT	426	208A-210CDRL1	RASSSVSYMH
208B-547CDRL1	427	AGAGCCAGCTCAAGTGTAAGTTACATGCAT	428	208B-547CDRL1	RASSSVSYMH
208A-638CDRL1	429	ACTGCCAGCTCAAGTGTGAGTTCCAGTTACTTGCAC	430	208A-638CDRL1	TASSSVSSSYLH
208B-515CDRL1	431	ACAGCCAGCTCAAGTGTAACTTCCAGTTACTTGCAC	432	208B-515CDRL1	TASSSVTSSYLH
208A-877CDRL1	433	AGTGCCAGCTCAAGTGTCACTTACATGCAC	434	208A-877CDRL1	SASSSVTYMH
208B-174CDRL1	435	AGTGCCAGCTCAAGTGTCACTTACATGTTC	436	208B-174CDRL1	SASSSVTYMF
208B-612CDRL1	437	AGTGCCAGCTCAACTGTGACTTACATTTAC	438	208B-612CDRL1	SASSTVTYIY
208B-	439	AGTGCCAGCTCAAGTGTAAGTTTCATGTAT	440	208B-	SASSSVSFMY

mAb クローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAb クローン	アミノ酸配列
911CDRL1				911CDRL1	
208A-422CDRL1 208A-442CDRL1	441	AAGGCCAGCCAAAGTGTCAGTTTTGCTGGTACTAATTTAATGCAC	442	208A-422CDRL1 208A-442CDRL1	KASQSVSFAGTNLMH
208A-967CDRL1	443	AAAGCCAGCGAAAGTGTCAATTTTTTTGGTACTAATTTAATACAC	444	208A-967CDRL1	KASESVNFFGTNLIH
208B-178CDRL1	445	AGAGCCAGCGAAAGTGTTGATAATTATGGCATTAGTTTTATGCAC	446	208B-178CDRL1	RASESVDNYGISFMH
208A-222CDRL1 208A-605CDRL1 208B-560CDRL1	447	AGGGCCAGCCAAAGTGTCAGTACATCTAGATATAGTTATCTGCAC	448	208A-222CDRL1 208A-605CDRL1 208B-560CDRL1	RASQSVSTSRYSYLH
208A-557CDRL1 208A-133CDRL1 208B-556CDRL1 208B-1070CDRL1 208B-251CDRL1 208A-110CDRL1 208A-126CDRL1 208A-920CDRL1 208A-334CDRL1	449	AGGGCCAGCCAAAGTGTCAGTACATCTAGGTATAGTTATATGCAC	450	208A-557CDRL1 208A-133CDRL1 208B-556CDRL1 208B-1070CDRL1 208B-251CDRL1 208A-110CDRL1 208A-126CDRL1 208A-920CDRL1 208A-334CDRL1	RASQSVSTSRYSYMH
208A-741CDRL1	451	GGGGCCAGCCAAAGTGTCAGTACATCTAGGTTTAGTTATATGCAC	452	208A-741CDRL1	GASQSVSTSRFSYMH
208A-830CDRL1	453	AGGTCCAGCCAAAGTGTCAGTACATCTAGATATAGTTATTTGCAC	454	208A-830CDRL1	RSSQSVSTSRYSYLH
208A-1064CDRL1	455	AGGGCCAGCCAAAGTGTCAGTACATCTAGGTTTAGTTATCTGCAC	456	208A-1064CDRL1	RASQSVSTSRFSYLH
208A-159CDRL1	457	AGGGCCAGCCAAAGTGTCAGTACATCTAGGTATAGTTATGTGCACTGG	458	208A-159CDRL1	RASQSVSTSRYSYVH
208A-293CDRL1	459	AGGGCCAGCCAAAGTGTCAGTACATCCAGGTTTAGTTATGTGCAC	460	208A-293CDRL1	RASQSVSTSRFSYVH
208B-1094CDRL1	461	AGGGCCAGCCAAAGTCTCAGTACATCTAGGTTTAGCTATGTGCAC	462	208B-1094CDRL1	RASQSLSTSRFSYVH

mAbクローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAbクローン	アミノ酸配列
208A-692CDRL2 208A-134CDRL2	463	AAAGTTTCCAGCCGATTTTCT	464	208A-692CDRL2 208A-134CDRL2	KVSSRFS
208B-281CDRL2	465	AAAGTTTCCAACCGATTTTCT	466	208B-281CDRL2	KVSNRFS
208B-862CDRL2	467	AAACTTTCCAACCGATTTTCT	468	208B-862CDRL2	KLSNRFF
208A-352CDRL2 208A-983CDRL2 208B-471CDRL2	469	AATGTTTCCAACCGATTTTCT	470	208A-352CDRL2 208A-983CDRL2 208B-471CDRL2	NVSNRFS
208B-1024CDRL2	471	AGAGTTTCCAACCGATTTTCT	472	208B-1024CDRL2	RVSNRFS
208B-327CDRL2	473	CAGATGTCCAAGATTGCCTCA	474	208B-327CDRL2	QMSKIAS
208B-589CDRL2 208B-1096CDRL2	475	CTGCTGTCTAAATTGGACTCT	476	208B-589CDRL2 208B-1096CDRL2	LLSKLDS
208B-189CDRL2	477	CTGGTGTCAAAATTGGACTCT	478	208B-189CDRL2	LVSKLDS
208A-874CDRL2	479	TCGGCATCCTCCCGATACACT	480	208A-874CDRL2	SASSRYT
208B-353CDRL2	481	TCAGCATCCAATCGGTACACT	482	208B-353CDRL2	SASNRYT
208B-793CDRL2	483	TGGGCATCCACCCGGCACACT	484	208B-793CDRL2	WASTRHT
208B-672CDRL2	485	GCCACATCCAGTTTAGATTCT	486	208B-672CDRL2	ATSSLDS
208B-408CDRL2	487	AATGCAAACACCTTGGCAGAT	488	208B-408CDRL2	NANTLAD
208A-207CDRL2 208B-826CDRL2 208B-395CDRL2 208B-517CDRL2	489	GCTTCCCAGTCCATCTCTGGG	490	208A-207CDRL2 208B-826CDRL2 208B-395CDRL2 208B-517CDRL2	ASQSISG
208B-822CDRL2	491	TATGCTTCCCAATCCATCTCT	492	208B-822CDRL2	YASQSIS
208A-210CDRL2	493	GAGATATCCAGACGGGCTTCT	494	208A-210CDRL2	EISRRAS
208B-547CDRL2	495	GAAATATCCACACTGGCTTCT	496	208B-547CDRL2	EISTLAS
208A-638CDRL2	497	AGCACATCCAACCTGGCTTCT	498	208A-638CDRL2	STSNLAS
208B-	499	AGCACGTCCAACCCGGGTTCT	500	208B-	STSNPGS

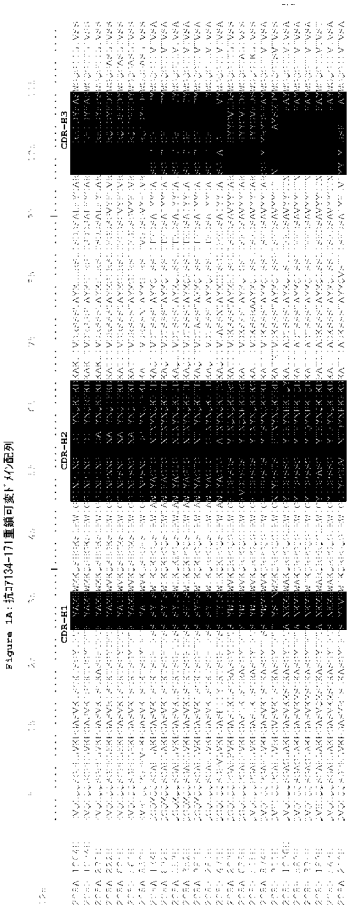
mAbクローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAbクローン	アミノ酸配列
515CDRL2				515CDRL2	
208A-877CDRL2	501	GACACATCCGAGCTGGCTTCT	502	208A-877CDRL2	DTSELAS
208B-174CDRL2	503	GACACATCCAATTTGGCTTCT	504	208B-174CDRL2	DTSNLAS
208B-612CDRL2	505	GACACATTCAACCTGGTTTCT	506	208B-612CDRL2	DTFNLVS
208B-911CDRL2	507	ATCACATCCAACCTGGCTTCT	508	208B-911CDRL2	ITSNLAS
208A-422CDRL2 208A-442CDRL2	509	CGTGCATCCAACCTAGAAACT	510	208A-422CDRL2 208A-442CDRL2	RASNLET
208A-967CDRL2	511	CATGCATCCAACCTAAAAACT	512	208A-967CDRL2	HASNLKT
208B-178CDRL2	513	CGTGCATCCAACCTAGAATCT	514	208B-178CDRL2	RASNLES
208A-222CDRL2 208A-605CDRL2 208B-560CDRL2 208A-557CDRL2 208A-133CDRL2 208B-556CDRL2 208B-251CDRL2 208A-110CDRL2 208A-126CDRL2 208A-920CDRL2 208A-334CDRL2 208A-741CDRL2 208A-830CDRL2 208A-1064CDRL2 208A-159CDRL2 208A-293CDRL2 208B-1094CDRL2	515	TATGCATCCAACCTAGAATCT	516	208A-222CDRL2 208A-605CDRL2 208B-560CDRL2 208A-557CDRL2 208A-133CDRL2 208B-556CDRL2 208B-251CDRL2 208A-110CDRL2 208A-126CDRL2 208A-920CDRL2 208A-334CDRL2 208A-741CDRL2 208A-830CDRL2 208A-1064CDRL2 208A-159CDRL2 208A-293CDRL2 208B-1094CDRL2	YASNLES
208B-	517	TATGCATCCAACCTTGAA	518	208B-	YASNLEC

mAb クローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAb クローン	アミノ酸配列
1070CDRL2		TGT		1070CDRL2	
208A-692CDRL3 208A-983CDRL3 208B-281CDRL3 208A-134CDRL3	519	TTTCAAGGTTCACATGTTCCATTCACG	520	208A-692CDRL3 208A-983CDRL3 208B-281CDRL3 208A-134CDRL3	FQGSHVPFT
208A-352CDRL3 208B-471CDRL3	521	TTTCAAGGTTCACATGTTCCACTCACG	522	208A-352CDRL3 208B-471CDRL3	FQGSHVPLT
208B-1024CDRL3	523	TTTCAAGGTTCACATGTTCCGTGGACG	524	208B-1024CDRL3	FQGSHVPWTF
208B-327CDRL3	525	GCTCAAAATCTAGAACTTCCGTGGACG	526	208B-327CDRL3	AQNLELPWT
208B-862CDRL3	527	TCTCAAAGTACACATGTTCCGTACACG	528	208B-862CDRL3	SQSTHVPYT
208B-589CDRL3 208B-1096CDRL3	529	TTGCAGAGTACATATTTTCCTCTCACG	530	208B-589CDRL3 208B-1096CDRL3	LQSTYFPLT
208B-189CDRL3	531	TTGCAGAGTATACATTTTCCGTACACG	532	208B-189CDRL3	LQSIHFPYT
208B-672CDRL3	533	CTACAATATGCTAGTTCTCCTCCGACG	534	208B-672CDRL3	LQYASSPPT
208A-638CDRL3 208B-515CDRL3	535	CTCCAGTTTCATCGTTCCCCGTGGACG	536	208A-638CDRL3 208B-515CDRL3	LQFHRSPWT
208A-967CDRL3	537	CTGCAAAATAGGAAAATTCCTCTCACG	538	208A-967CDRL3	LQNRKIPLT
208A-874CDRL3	539	CAGCAACATTTTAGTACTCCGTGGACG	540	208A-874CDRL3	QQHFSTPWT
208B-353CDRL3	541	CAGCAATATAGCACCTATCCTCTCACG	542	208B-353CDRL3	QQYSTYPLT
208B-793CDRL3	543	CAGCAATATAGCAACTATCTCACG	544	208B-793CDRL3	QQYSNYLT
208A-207CDRL3 208B-826CDRL3 208B-395CDRL3	545	CAACAGAGTAACAGCTGGCCTCTCACG	546	208A-207CDRL3 208B-826CDRL3 208B-395CDRL3	QQSNSWPLT
208A-210CDRL3 208B-547CDRL3	547	CAGCAGTGGAATTATCCTCTCACG	548	208A-210CDRL3 208B-547CDRL3	QQWNYPLT
208A-877CDRL3	549	CAGCAGTGGAGTAATAAACCGCTCACG	550	208A-877CDRL3	QQWSNKPLT

mAbクローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAbクローン	アミノ酸配列
208B-612CDRL3	551	CAACAGTACAGTGATTCCCCGTACACG	552	208B-612CDRL3	QQYSDSPYT
208B-911CDRL3	553	CAGCAAAGGAGTAGTTTCCCGTACACG	554	208B-911CDRL3	QQRSSFPYT
208A-422CDRL3 208A-442CDRL3	555	CAGCAAAGTAGGGAATATTACACG	556	208A-422CDRL3 208A-442CDRL3	QQSREYYT
208B-178CDRL3	557	CAGCAAAGTAATAAGGATCCATTCACG	558	208B-178CDRL3	QQSNKDPFT
208B-517CDRL3 208B-822CDRL3	559	CAAAATGGTCACAGTTTTCCGTGGACG	560	208B-517CDRL3 208B-822CDRL3	QNGHSFPWT
208B-408CDRL3	561	CAACATTTTTGGAGTGCTCCGTGGACG	562	208B-408CDRL3	QHFWSAPWT
208B-174CDRL3	563	CAGGAGTGGAGTAGTTACCCACTCACG	564	208B-174CDRL3	QEWSSYPLT
208A-222CDRL3 208A-605CDRL3 208B-560CDRL3 208A-133CDRL3 208B-556CDRL3 208B-1070CDRL3 208B-251CDRL3 208A-110CDRL3 208A-126CDRL3 208A-920CDRL3 208A-741CDRL3 208A-830CDRL3 208A-1064CDRL3 208A-159CDRL3 208A-293CDRL3 208B-1094CDRL3	565	CAGCACAGTTGGGAGTTTCCATTCACG	566	208A-222CDRL3 208A-605CDRL3 208B-560CDRL3 208A-133CDRL3 208B-556CDRL3 208B-1070CDRL3 208B-251CDRL3 208A-110CDRL3 208A-126CDRL3 208A-920CDRL3 208A-741CDRL3 208A-830CDRL3 208A-1064CDRL3 208A-159CDRL3 208A-293CDRL3 208B-1094CDRL3	QHSWEFPFT

mAbクローン	配列番号	核酸配列	配列番号	mAbクローン	アミノ酸配列
208A-557CDRL3	567	CAGCACAGTTGGGATTTTCCATTCACG	568	208A-557CDRL3	QHSWDFPFT
208A-334CDRL3	569	CAGCACAGTTGGGATTTTCCATTCACG	570	208A-334CDRL3	QHSWGFPFT
HCVコア1-169アミノ酸配列	571	ATGTCTACCAACCCGAAACCGCAGAAAAAAAAACAAACGTAACACCAACCGTCGTCCGCAGGACGTTAAATTCCCGGGTGGTGGTCAGATCGTTGGTGGTGTTTACCTGCTGCCGCGTCGTGGTCCGCGTCTGGGTGTTCGTGCTACGCGTAAAACCTCTGAACGTTCTCAGCCGCGTGGGCGTCGTCAGCCGATCCCGAAAGCTCGTCGTCCGGAAGGTCGTACCTGGGCTCAGCCGGGTTACCCGTGGCCGCTGTACGGTAACGAAGGTTGCGGTTGGGCTGGTTGGCTGCTGTCTCCGCGTGGATCTCGTCCGTCTTGGGGTCCGACCGACCCGCGTCGTCGTTCTCGTAACCTTGGTAAAGTTATCGATACCCTGACCTGCGGTTTCGCTGACCTGATGGGTTACATACCGCTGGTTGGAGCTCCGCTGGGTGGTGCTGCTCGTGCTCTGGCGCATGGCGTGCGTGTTCTGGAAGATGGCGTCAACTATGCCACCGGTAATCTG	572	HCVコア1-169アミノ酸配列	MSTNPKPQKKNKRNTNRRPQDVKFPGGGQIVGGVYLLPRRGPRLGVRATRKTSERSQPRGRRQPIPKARRPEGRTWAQPGYPWPLYGNEGCGWAGWLLSPRGSRPSWGPTDPRRRSRNLGKVIDTLTCGFADLMGYIPLVGAPLGGAARALAHGVRVLEDGVNYATGNL
			573	HCV134-154ペプチド1	MGYIPLVGAPLGGAARALAHG
			574	HCV141-161ペプチド2	GAPLGGAARALAHGVRVLEDG
			575	HCV151-171ペプチド3	LAHGVRVLEDGVNYATGNLPG
			576	ALRZ-8	MGYIPLVGAPLGGAARALAHGVRVLEDGVNYATGNLPGC
			577	ALRZ-9	MGYIPLVGAPLGGAARALAHGVRVLEDGVNYATGNLPGQYIKANSKFIGITEL

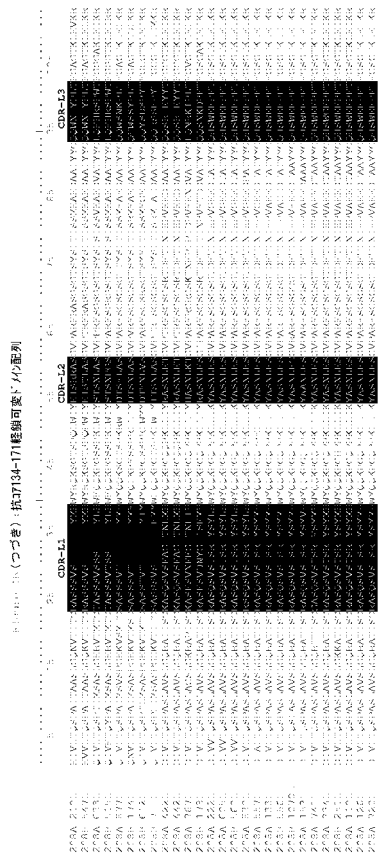
【図１Ａ－１】



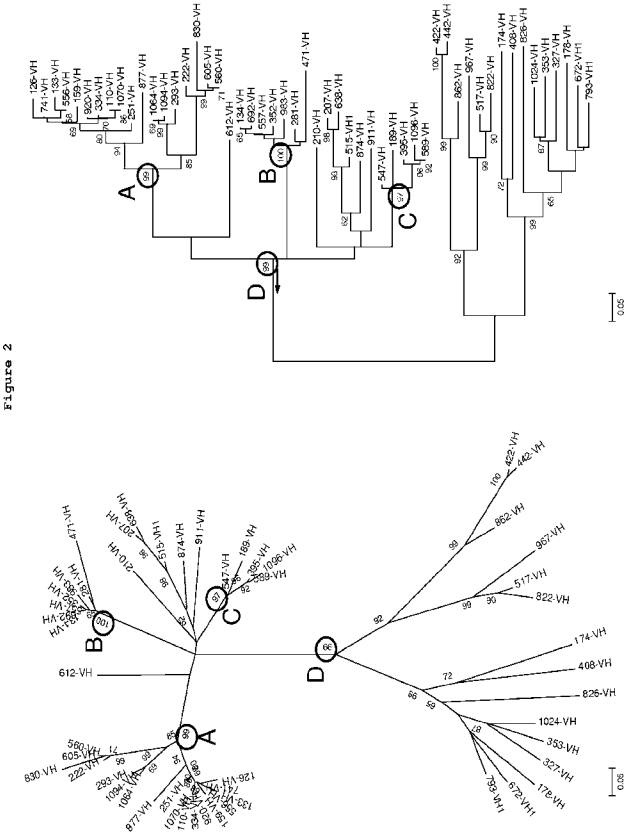
【図１Ａ－２】

【図１Ｂ－１】

【図１Ｂ－２】



【図２】



【配列表】

2016512242000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 13/77499

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - C12P 21/08; C07K 16/00; C12Q 1/70; A61K 39/29 (2014.01)
USPC - 530/388.3; 530/391.1; 435/5; 424/189.1
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) - C12P 21/08; C07K 16/00; C12Q 1/70; A61K 39/29 (2014.01)
USPC - 530/388.3; 530/391.1; 435/5; 424/189.1

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
IPC(8) - C12P 21/08; C07K 16/00; C12Q 1/70; A61K 39/29 (2014.01) - see keyword below
USPC - 530/388.3; 530/391.1; 435/5; 424/189.1 - see keyword below

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
PubWEST(USPT,PGPB,EPAB,JPAB); PatBase; Medline, Google: hepatitis C virus, HCV, core antigen, core protein, lipid, binding domain, antibody, anti-core, anti-HCV, monoclonal, mAB, immunoassay, ELISA, Western, assay, label, fluorescent, solid, compound, amino acid, region, fragment, epitope, mapping, diagnosis, first, second, reagent, kit, instruct

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2002/0037868 A1 (BUDKOWSKA et al.) 28 March 2002 (28.03.2002), para [0002], [0012], [0017]-[0020], [0024], [0026]-[0028], [0060], [0071], [0193], [0205], claim 7, and Fig 3	1, 6-9, and 19
Y	HOPE et al. Sequence motifs required for lipid droplet association and protein stability are unique to the hepatitis C virus core protein. J Gen Virol. 2000, Vol. 81(Pt 8), p. 1913-25. Abstract; pg 1914, Fig 1; pg 1915, col 2, last para and Table 1; pg 1916, col 1 and Fig 2; pg 1917, col 2, top and middle para; pg 1918, col 1, para 1; and pg 1919, Fig 3	1, 6-9, and 19
A	FERNS et al. Characterisation of a panel of monoclonal antibodies raised against recombinant HCV core protein. J Med Virol. 1996, Vol. 50(3), p. 221-9. Abstract	1, 6-9, and 19
A	LAPERCHE et al. Simultaneous Detection of Hepatitis C Virus (HCV) Core Antigen and Anti-HCV Antibodies Improves the Early Detection of HCV Infection. J Clin Microbiol. 2005, Vol. 43(8), p. 3877-83. Entire documentation, especially Abstract	1, 6-9, and 19

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

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
14 March 2014 (14.03.2014)	20 MAY 2014
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: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 13/77499

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing filed or furnished:

   a. (means)
   - ☐ on paper
   - ☐ in electronic form

   b. (time)
   - ☐ in the international application as filed
   - ☐ together with the international application in electronic form
   - ☐ subsequently to this Authority for the purposes of search

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

there was no valid e-sequence listing filed for this application. Specifically, an ISA/225 was mailed on 28 January 2014. The electronic sequence listing filed on 12 February 2014 contained errors and could not be entered into the USPTO?s search system/tool.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 13/77499

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.: 2-5
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:
Claims 2-5 are unsearchable because no valid electronic sequence listing was filed in response to the ISA/225 of 28 January 2014. The electronic sequence listing filed on 12 February 2014 contained errors and could not be entered into the USPTO's search system/tool.

3. ☒ Claims Nos.: 15-16
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:
This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I, claims 1, 6-9, and 19, drawn to a monoclonal antibody that is specifically immunoreactive with the lipid binding domain of HCV core antigen.

Group II, claims 10-14 and 17-18, drawn to an immunoassay for the detection of HCV in a test sample comprising: (I) contacting a test sample suspected of containing HCV with a first antibody directed against HCV core antigen to form a complex between said first antibody and antigen located within said test sample; (II) contacting said complex formed in step (i) with an antibody of Group I.

**********Continued in the extra sheet**********

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.:
1, 6-9, and 19

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.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 13/77499

Box No. IV Text of the abstract (Continuation of item 5 of the first sheet)

Monoclonal antibodies for the detection of Hepatitis C Virus (HCV) antigen are provided. The antibodies specifically immunoreactive with at least one epitope of the lipid binding domain of amino acid residues 134-171 of HCV core antigen. Immunoassay methods of using antibodies, kits and compositions comprising the antibodies for detecting HCV infection are further provided.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 13/77499

Continuation of:
Box No III (unity of invention is lacking)

The inventions listed as Groups I-II do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Groups I-II are related as a product (Group I) and methods of using the product (Groups II).

Common Technical Features
The inventions of Groups I-II share the technical feature of a monoclonal antibody that is specifically immunoreactive with the lipid binding domain of HCV core antigen (claim 1); and an immunoassay reagent comprising a monoclonal antibody of claim 1, wherein said antibody is labeled with a detectable label (claim 6).

However, these shared technical features do not represent a contribution over prior art as being obvious over US 2002/0037868 A1 to BUDKOWSKA et al. (hereinafter 'Budkowska'), in view of an article entitled 'Sequence motifs required for lipid droplet association and protein stability are unique to the hepatitis C virus core protein' by HOPE et al. (hereinafter 'Hope'; J Gen Virol. 2000, Vol. 81(Pt 8), p. 1913-25) as follows:

Regarding claim 1, Budkowska discloses a monoclonal antibody that is specifically immunoreactive with HCV core antigen (para [0026] - 'monoclonal antibody (MAb)VT against HCV core protein'; para [0027] - 'monoclonal antibody (MAb) 39-72 against HCV core protein', wherein 'HCV core protein' is 'HCV core antigen'; Specification: para [0002] - 'monoclonal antibodies to the HCV core protein'). Budkowska further discloses a method for mapping the antibody for binding to epitopes on the HCV core antigen (para [0020] - 'antibody recognizing the amino acid region 24-37 ... 40-53...45-66 of the core protein'; para [0028] - - 'FIG. 3A ... mapping of epitopes recognized by MAb 39-72'; Fig 3A), as well as epitopes of HCV core antigen (para [0029] - 'FIG. 3B ... epitope analysis of HCV core protein'; Fig 3B).

Budkovska does not specifically teach wherein the antibody is specifically immunoreactive with the lipid binding domain of HCV core antigen. Hope discloses a method for analyzing the lipid binding domain of HCV core antigen (Abstract - 'analysis ... hepatitis C virus (HCV) core protein... a unique central domain (domain 2). ... most residues within the unique region are necessary for association of the protein with lipid droplets. A segment within domain 2 (from residues 125 to 144)...for stability', wherein 'central domain (domain 2)' is 'the lipid binding domain of HCV core antigen' because of 'most residues within the unique region are necessary for association of the protein with lipid droplets'; para 1918, col 1,para 1 - 'a central domain (domain 2; residues 119-174)'), by detecting different variants comprising different regions of the lipid binding domain (central domain variants) using a monoclonal antibody (pg 1915, Table 1; pg 1919, Fig 3).

Hope further discloses a peptide sequence of HCV core antigen including the lipid binding domain (domain 2) (pg 1914, Fig 1(a) and (b); para 1918, col 1, para 1 - 'domain 2; residues 119-174'), which comprises a region between amino acid residues 134-171 (Fig 1(a) - amino acid residues 'MGY...LPG'), which is corresponding to the lipid binding domain of HCV core antigen in the application (Specification para [0013]), and a method of using a peptide for generating a monoclonal antibody (pg 1915, col 2, last para to pg 1916, col 1, top para - 'Monoclonal antibody JM122 was raised ... N-terminal 118 amino acid residues of core protein encoded by HCV strain....Antisera R308 was raised ...amino acid residues 5 to 27 of core protein (Fig. 1a)').

Although Hope also does not specifically teach an antibody that is specifically immunoreactive with the lipid binding domain of HCV core antigen, one of ordinary skill in the art at the time the invention was made would have been motivated to do so, by using different fragments of HCV core antigen especially the fragments of the lipid binding domain (domain 2) for generating antibodies that recognize specific regions of HCV core antigen, especially specific regions of the lipid binding domain (domain 2), using commonly used technologies, based on the combination of Hope and Budkowsda, in order to obtain antibodies that are specifically immunoreactive with defined regions of HCV core antigen for facilitating better studying different regions of HCV core antigen with expected success and without undue experimentation; Especially an early study had mapped antibodies to eptopes between amino acid 105-160, which comprise the lipid binding domain of HCV core antigen (Please see: Ferns et al.: Abstract - 'Epitopes recognised by all the monoclonals... the group II epitope between amino acids 105 and 160').

It would have been obvious to one of ordinary skill in the art at the time the invention was made to combine the teachings of Budkowska and Hope, to obtain a monoclonal antibody that is specifically immunoreactive with HCV core antigen, as taught by Budkowska, and further wherein the antibody is specifically immunoreactive with the lipid binding domain of HCV core antigen, based on the combination of Hope and Budkowska as well as generating antibodies using commonly used technologies, in order to obtain antibodies that specifically immunoreactive with HCV core antigen in defined epitopes including the epitopes in the lipid binding domain of HCV core antigen using commonly used technology, for facilitating characterizing HCV core antigen with expected success and without undue experimentation.

The combination of Budkowska and Hope further discloses an immunoassay reagent comprising a monoclonal antibody of claim 1 (Budkowska: para [0060] - 'Immunofluorescence staining ... inoculated with HCV, using the anti-core MAb 1/1'; Hope: pg 1916-1917, Fig 2; pg 1917, col 2, middle para - 'Indirect immunofluorescence and staining of lipids. ...cells were incubated with primary antibody ... for JM122 ...for R308 antisera' pg 1919, Fig 3)
—wherein said antibody is labeled with a detectable label (Budkowska: para [0018] - 'labeled antibody directed against the HCV core protein'; para [0060] - 'Immunofluorescence staining ...using the anti-core MAb 1/1'; para [0071] - 'labeling antibodies and detecting the label ...enzymatically labeling, peroxidase, ... fluorescent markers'; para [0084] - 'peroxidase labeled MAb 39-72'; para [0027] - 'monoclonal antibody (MAb) 39-72 against HCV core protein').

Without a shared special technical feature, the inventions lack unity with one another.

Groups I-II therefore lack unity under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

Note re item 4: Claims 15-16 are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4 (a). These claims are improper multiple dependent claims.

Claims 2-5 are unsearchable because no valid electronic sequence listing was filed in response to the ISA/225 of 28 January 2014. The electronic sequence listing filed on 12 February 2014 contained errors and could not be entered into the USPTO's search system/tool.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード（参考）
Ｃ１２Ｐ　21/08　(2006.01)	Ｃ１２Ｐ　21/08	

(81)指定国　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,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,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,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　アールバーグ，エイプリル
アメリカ合衆国、イリノイ・６００６４、アボット・パーク、アボット・パーク・ロード・１００
(72)発明者　ホークスワース，デイビッド
アメリカ合衆国、イリノイ・６００６４、アボット・パーク、アボット・パーク・ロード・１００
(72)発明者　ティーマン，ブライアン
アメリカ合衆国、イリノイ・６００６４、アボット・パーク、アボット・パーク・ロード・１００
(72)発明者　ミュアーホッフ，エイ・スコット
アメリカ合衆国、イリノイ・６００６４、アボット・パーク、アボット・パーク・ロード・１００
(72)発明者　マローニック，クリストファー
アメリカ合衆国、イリノイ・６００６４、アボット・パーク、アボット・パーク・ロード・１００
(72)発明者　オーティス，キャシー
アメリカ合衆国、イリノイ・６００６４、アボット・パーク、アボット・パーク・ロード・１００

Ｆターム(参考)　4B064 AG27 CA10 CA20 CC24 CE12 DA15
4H045 AA11 BA09 CA40 DA76 EA53 FA74 GA26

专利名称(译)	HCV核心脂质结合域单克隆抗体		
公开(公告)号	JP2016512242A	公开(公告)日	2016-04-25
申请号	JP2016500144	申请日	2013-12-23
[标]申请(专利权)人(译)	雅培公司		
申请(专利权)人(译)	雅培制药		
[标]发明人	ツィーマンロバート アールバーグエイプリル ホークスワースデイビッド ティーマンブライアン ミュアーホッフエイスコット マローニッククリストファー オーティスキャシー		
发明人	ツィーマン,ロバート アールバーグ,エイプリル ホークスワース,デイビッド ティーマン,ブライアン ミュアーホッフ,エイ·スコット マローニック,クリストファー オーティス,キャシー		
IPC分类号	C07K16/10 G01N33/53 G01N33/577 G01N33/576 G01N33/543 C12P21/08		
CPC分类号	C07K16/109 C07K2317/34 C07K2317/92 G01N33/5767 G01N2800/52 C07K2317/56 G01N2333/186 G01N2469/10		
FI分类号	C07K16/10.ZNA G01N33/53.D G01N33/577.B G01N33/576.Z G01N33/543.501.A C12P21/08		
F-TERM分类号	4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/CE12 4B064/DA15 4H045/AA11 4H045/BA09 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA53 4H045/FA74 4H045/GA26		
优先权	61/783529 2013-03-14 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

提供了用于检测丙型肝炎病毒（HCV）抗原的单克隆抗体。 该抗体与HCV核心抗原的氨基酸残基134-171的脂质结合结构域的至少一个表位具有特异性免疫反应。 还提供了使用抗体，试剂盒和包含所述抗体的组合物的免疫测定方法，用于检测HCV感染。

(21) 出願番号　特願2016-500144 (P2016-500144)
(86) (22) 出願日　平成25年12月23日 (2013.12.23)
(85) 翻訳文提出日　平成27年11月13日 (2015.11.13)
(86) 国際出願番号　PCT/US2013/077499
(87) 国際公開番号　WO2014/143343
(87) 国際公開日　平成26年9月18日 (2014.9.18)
(31) 優先権主張番号　61/783,529
(32) 優先日　平成25年3月14日 (2013.3.14)
(33) 優先権主張国　米国 (US)

(71) 出願人　391008788
アボット・ラボラトリーズ
ABBOTT LABORATORIES
アメリカ合衆国　イリノイ州　アボット　パーク　アボット　パーク　ロード　100
(74) 代理人　110001173
特許業務法人川口國際特許事務所
(72) 発明者　ツィーマン，ロバート
アメリカ合衆国、イリノイ・60064、アボット・パーク、アボット・パーク・ロード・100

最終頁に続く