

(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2006-506606

(P2006-506606A)

(43) 公表日 平成18年2月23日(2006.2.23)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 N	4 H O 4 5
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 4 5 S	
CO 7 K 7/06 (2006.01)	CO 7 K 7/06	
CO 7 K 16/18 (2006.01)	CO 7 K 16/18 Z N A	

審査請求 有 予備審査請求 有 (全 13 頁)

(21) 出願番号 特願2004-521236 (P2004-521236)  
 (86) (22) 出願日 平成15年3月20日 (2003. 3. 20)  
 (85) 翻訳文提出日 平成17年1月17日 (2005. 1. 17)  
 (86) 国際出願番号 PCT/KR2003/000544  
 (87) 国際公開番号 W02004/007554  
 (87) 国際公開日 平成16年1月22日 (2004. 1. 22)  
 (31) 優先権主張番号 10-2002-0041771  
 (32) 優先日 平成14年7月16日 (2002. 7. 16)  
 (33) 優先権主張国 韓国 (KR)

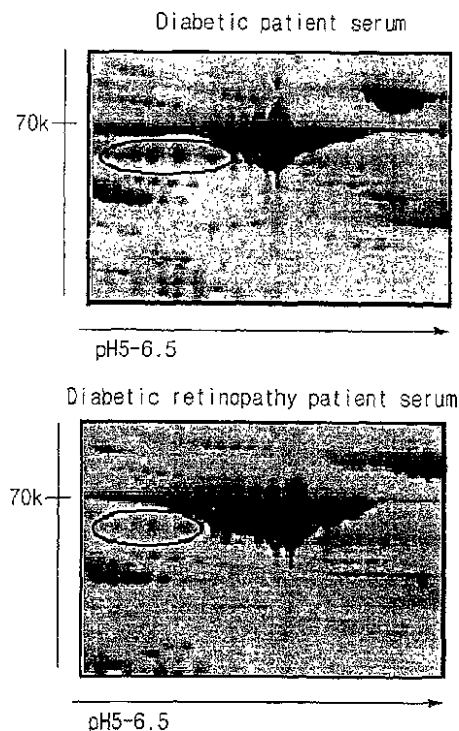
(71) 出願人 505020271  
 アイジーン インコーポレイテッド  
 大韓民国, 120-113 ソウル, ソデ  
 ムン-グ, ヨンヒ-3-ドン, #187-  
 114  
 (71) 出願人 505109299  
 クンイル ファーム, カンパニー リミテ  
 ッド  
 大韓民国, 330-811, チュンチョン  
 ナム-ド, チョナン-シ, ジッサン-ウッ  
 プ, クンソーリ, 297-5  
 (74) 代理人 110000338  
 特許業務法人原謙三国際特許事務所

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 糖尿網膜症診断用蛋白質

(57) 【要約】

本発明は、糖尿網膜症診断剤に関する発明であって、詳しくは糖尿網膜症の診断のできる免疫グロブリンA (Immunoglobulin A) 蛋白質、その蛋白質の抗体を含む診断キット及び診断方法に関する。本発明は、糖尿網膜症診断に用いることができる。



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

糖尿網膜症診断に有効な配列番号 1 に記載された免疫グロブリン A 蛋白質及び類似蛋白質、またはその蛋白質切片。

## 【請求項 2】

上記蛋白質切片は、配列番号 2 に記載されたペプチド配列を含むことを特徴とする請求項 1 に記載の蛋白質切片。

## 【請求項 3】

請求項 1 または請求項 2 に記載の蛋白質に結合する抗体。

## 【請求項 4】

請求項 3 に記載の抗体を含む糖尿網膜症診断用キット。

## 【請求項 5】

上記キットは、抗免疫グロブリン A 抗体を酵素ペロキシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、ビオチンなどで標識された蛋白質をさらに含むことを特徴とする請求項 4 に記載の糖尿網膜症診断用キット。

## 【請求項 6】

a) 請求項 2 の抗体に血液サンプル及びペロキシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、またはビオチンで標識させた免疫グロブリン A 蛋白質を処理する段階と、  
b) 上記の複合体の吸光度を測定して正常より低い吸光度 (ELISA 値) を示す場合に糖尿網膜症であることを診断する方法。

## 【請求項 7】

請求項 1 または請求項 2 の蛋白質をコーディングする配列番号 3 の免疫グロブリン A 遺伝子及びその類似遺伝子。

## 【発明の詳細な説明】

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

## 〔技術分野〕

本発明は、糖尿網膜症診断剤に関する発明であり、詳しくは糖尿網膜の診断のできる免疫グロブリン A (Immunoglobulin A) 蛋白質、その蛋白質の抗体を含む診断キット及び診断方法に関する。

## 【0002】

## 〔背景技術〕

一般に、糖尿病は微細血管系に病変を起こす複雑な代謝性疾患であり、目を含んだ全身組織に広範囲な障害をもたらす、目に影響を及ぼす全身疾患の中で、もっとも重要な疾患である (LEE Tae-hee, CHOI Young-gil. 糖尿病性血管合併症、ソウル：高麗医学 (1993))。その中で糖尿網膜症は、もっとも重症の合併症に属し、生活水準の向上と治療水準の発展により糖尿病患者の寿命と有病期間とが長くなるにつれて重要な問題がなってきた (Klein R. et al, Arch Ophthalmol. 102:520-532 (1984))。糖尿網膜症は、血管障害による網膜の病変が網膜内に限られている非増殖性糖尿網膜症と、網膜から硝子体腔の方へと新生血管組織が浸透されていく増殖性糖尿網膜症とに分ける (Green, In: Spencer WH, ed. Ophthalmic Pathology: an atlas and textbook. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders; 1124-1129 (1996))。糖尿網膜症の診断は眼底で特徴的な構造変化を観察して行われる。糖尿網膜症による視力損傷は増殖性糖尿網膜症での硝子体出血、黄斑の牽引網膜剥離とともに黄斑変成症のためであるが、これに対して手術治療とともにレーザー治療の効用性がよく知られている (Diabetic Retinopathy Study Report Number 14: Int Ophthalmol Clin. 27:239-253 (1987))。このような治療は適切な段階に施すことによって、副作用を最小化しながら視力喪失を予め防止することができる

10

20

30

40

50

。従って、糖尿網膜症の検査と診断上の努力とは、手術治療のすべき段階に既に至ったか否かなどを判断するため、度々検査を通じて行われるべきである。しかし、現在までは診断方法として眼科で行われる眼底撮影による検査のみ可能である。従って、早期診断が難しく、予防及び手術時期を逃す場合が頻繁である。従って、本発明では、血液にて容易に糖尿網膜症診断ができる方法を考案した。現在、このように血液を通じた糖尿網膜症診断法はなく、本発明者らは蛋白質体学を用いて血液内の変化のある蛋白質を探して診断に応用した。この蛋白質は、糖尿のみを患っている患者と糖尿合併症まで患っている患者との間で、明らかな量的変化を見せることによって、免疫学的方法による正確な定量法を用いて発明を完成するに至った。

**【0003】**

10

〔発明の詳細な説明〕

本発明は、上記の問題点を解決し、上記の必要性によって案出されたものであって、本発明の目的は糖尿網膜症診断剤を提供することである。

**【0004】**

本発明のほかの目的は、上記診断剤を含む糖尿網膜症診断用キットを提供することである。

**【0005】**

本発明のさらにほかの目的は、易しく、簡単な糖尿網膜症診断方法を提供することである。

**【0006】**

20

上記の目的を達成するため、本発明は、糖尿網膜症診断に有効な免疫グロブリンA蛋白質とその蛋白質切片を提供する。

**【0007】**

本発明の蛋白質分析を通じて見出した配列は、免疫グロブリンAのヘビーチェーンのコンスタント ( c o n s t a n t ) 部位に該当する。免疫グロブリンA蛋白質は、ヘビーチェーン及びライトチェーンとが存在し、それぞれのチェーンには可変部 ( v a r i a b l e r e g i o n ) があって、様々な配列の可能な部位が存在する。従って、免疫グロブリンA蛋白質と判明される配列を有する蛋白質が可能である。

**【0008】**

従って、本発明の免疫グロブリンA蛋白質は、以下の配列番号1のヘビーチェーンの配列以外にも様々な配列が可能である。

30

**【0009】**

上記IgのHチェーンの配列は、下記の配列番号1に記載されたものと同様である。また本発明で上記免疫グロブリンAの蛋白質切片は、配列番号2のペプチドを含んだ様々な切片が可能である。

**【0010】**

また本発明は、上記の蛋白質に結合する抗体を提供し、上記の抗体はポリクローナル、モノクローナル両方とも望ましいが、モノクローナル抗体のほうがもっと望ましい。

**【0011】**

また本発明は、上記の抗体を含む糖尿網膜症診断用キットを提供する。

40

**【0012】**

本発明のキットは、抗免疫グロブリンA抗体を酵素ペロキシダーゼ、アルカリフォスファターゼ ( a l k a l i n e p h o s p h a t a s e )、ビオチン ( b i o t i n ) などで標識させた蛋白質をさらに含むことを特徴とする糖尿網膜症診断用キットで構成される。

**【0013】**

本発明で診断用キットに用いられる残りの試薬などは、一般的な診断用キットに用いられる成分から容易に選択することができる。

**【0014】**

さらに、本発明は、上記の抗体に硝子体または血液サンプル及びペロキシダーゼ、アル

50

カリフォスファターゼ、ビオチンなどで標識させた抗免疫グロブリンA抗体を処理する段階と、上記の複合体の吸光度を測定して糖尿病のみを患っている患者より低い吸光度（ELISA値）を示す場合に、糖尿網膜症であることを診断する方法を提供する。

【0015】

また本発明は、免疫グロブリンA蛋白質をコーディングする配列番号3の免疫グロブリンA遺伝子と配列番号2のペプチドをコーディングする配列番号4のヌクレオチドを提供する。

【0016】

以下、本発明を詳しく説明する。

【0017】

本発明は、糖尿網膜症患者の眼球内の硝子体にて、免疫グロブリンAが正常硝子体に比べて増加するという事実から、血液内にてこの蛋白質の変化があることを確認した結果、血液内では糖尿病患者らに比べて、糖尿網膜症患者にて免疫グロブリンAが減少したことがわかり、これを用いて免疫学的方法で完成された糖尿網膜症診断剤に関するものである。

【0018】

上記の目的を達成するため、本発明はまず、糖尿網膜症に特に変化のある蛋白質群を蛋白質体学（proteomics）方法で分析した。正常人と糖尿網膜症患者との硝子体の変化を、蛋白質種類と量的な変化とを分析して以下のような新規な現象を見出し、見出された同一の蛋白質の変化を血液内で確認した後、糖尿網膜症診断に適用するための適切な免疫学的方法で診断キットを制作した。： 第一、正常人を対照群にして、糖尿病患者と糖尿網膜症患者の眼球内の硝子体を採取して、2次元ゲル分離及びイメージ分析を通じて定性及び定量的差を示す蛋白質群を確保し、これら蛋白質群の正体を調べるために、MS及びQ-TOF分析器などで同定した。変化が観測されて確認された蛋白質は、免疫グロブリンAと判明されて、糖尿網膜症患者の硝子体内では、正常人の硝子体ではほとんど観察されない免疫グロブリンAの増加が観察された。糖尿網膜症の硝子体内で免疫グロブリンAが増加するという報告は今までない。第二、このような定量的変化を示すこの蛋白質は、血液内での量的変化を示した。糖尿病患者の血液を対照群にした場合、免疫グロブリンAは糖尿網膜症患者の血液内で減少した。このような結果もまた今まで報告されていない。第三、蛋白質の存在数値は、免疫学的方法を通じたキットを制作することによって、使用し易くて、敏感でありながらも正確度の高い方法を採用した。

【0019】

以下、非限定的な実施例を通じて本発明をさらに具体的に説明する。

〔好ましい実施形態〕

（実施例1：蛋白質体学分析のための眼球硝子体サンプル処理）

糖尿網膜症は、糖尿が長期間にわたって持続されて発生される合併症の一つである。この疾患は、不完全な血管構造を持つ新生血管が多く生成されて、眼球内の硝子体に出血を引き起こすことによって網膜に異常を誘発するようになり、程度によって視力低下及び喪失に至る。本発明では、正常対照群と糖尿網膜症患者との硝子体の蛋白質分析を通じて、疾患誘発因子を探索するとともに疾患状態を示す蛋白質に対する情報を得て診断の目的を遂げた。蛋白質分析は最新技法である蛋白質体学方法を用いた。まず蛋白質体学方法に適用するため、眼球硝子体を分析しやすく処理した。硝子体は高分子糖であるhyaluronic acidが過量含有されている。しかし、この糖は、蛋白質分離の際、かなりの悪影響を及ぼすと判明された。従って、これを有効に除去できる方法を考案した（図1参照）。この方法は、4mlの硝子体を16mlの蒸留水で希釈して1、000、000カットオフ（cut off）膜があるチューブに入れて4で8、000rpmの速度で2時間遠心分離し、この過程を3回繰り返して1、000、000以上の高分子糖を分子量の差を利用して篩い分けた。篩い分けられなかった蛋白質は10、000cut-off膜があるチューブに入れて4で4、000rpmの速度で遠心分離して濃縮した後分析に用いた。高分子糖を除去する方法は、低いpHでよく分離されなかった問題を解決

10

20

30

40

50

することによって、非常に有効な分析が出来るようにした。

【0020】

(実施例2：正常人と糖尿網膜症患者との眼球内硝子体内の変化された蛋白質群の調査)

それぞれの硝子体から蛋白質のみを抽出して1mg/mLの硝子体内の蛋白質濃度に濃縮して分析に用いた。過程は、まず、蛋白質を2種類の異なる特性を利用する段階的分離法である2次元的に分離させた。第一の過程は、蛋白質に電氣的刺激を加えて蛋白質要素の持つpHによる蛋白質移動を(IEF、pH3-10)、第二の過程は、蛋白質の持つそれぞれの分子量によってアクリルアミドゲル(8~18%)上で蛋白質の移動を行った。1次元電気移動(pHによる蛋白質移動)は、ゲル当り50mAの電流で12時間移動させた後、2次元電気移動(分子量による蛋白質移動)は、ポリアクリルアミド上でゲル当り50mAで6時間電気移動させた。このように移動された蛋白質をCoomassie Brilliant Blue-250染色薬及びシルバースターニング方法で染色して存在を確認した後、正常人の持っている蛋白質と糖尿網膜症患者の硝子体内蛋白質の違いを、コンピュータでイメージ分析ソフトウェアのPhoretix(Nonlinear dynamics、UK)を用いて分析した。この両群の蛋白質を分析した結果、差を示す蛋白質群が存在した(図2、図3参照)。

【0021】

(実施例3：糖尿のみ患っている患者の血清と糖尿網膜症で異なる量が存在する蛋白質の同定)

量的あるいは質的に差を示す蛋白質を探し出して、MALDI-TOFとQ-TOF分析器とで同定を遂行して蛋白質の種類がわかるようになった(図4参照)。これを通じて糖尿網膜症血液で免疫グロブリンAの量が減少するという事実がわかるようになった。

【0022】

(実施例4：酵素免疫学的分析法による糖尿網膜症診断)

抗免疫グロブリンA抗体を用いてサンドイッチ酵素免疫学的分析法(ELISA)を通じて、糖尿患者の中で糖尿網膜症患者の血清を識別できるかどうか調べるため本研究を行った。病院から入手した10人の正常人、45人の糖尿網膜症のない糖尿患者、86人の糖尿網膜症患者の血清を用いた。まず、EIA96孔プレートに各well当りコーティングバッファー(50mM NaHCO<sub>3</sub>、pH9.0)に10ug/mlの濃度で溶解された抗免疫グロブリンA(Koma、Korea)100ul(各well当り1ugの抗体蛋白質)を常温で1時間反応させてコーティングし、400ulのPBSTで2回それぞれ10分間洗浄した後、1%BSAを含んだPBSで後コーティングさせた。PBSTバッファーで希釈された患者の血清を100ulを入れて1時間反応させた後、PBSで5回洗浄してペロキシダーゼで標識された抗免疫グロブリンA抗体(KOMABIOTECH Inc.、韓国)を希釈して100ulを入れて1時間の間反応させた。反応が終了した後、PBSで3回洗浄した後、1mg/mL OPD(o-フェニレンジアミンジヒドロクロライド)及び0.03% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>が含有された0.1Mシットレートフォスフェイトバッファー(pH4.9)100ulを入れて室温で20~30分間反応させた後、3M硫酸を100ulを入れて反応を停止させ、酵素免疫学的分析リーダー(ELISA reader)を用いて450nmで吸光度を測定した。この吸光度は標準滴定曲線を通じた換算と希釈倍率とを適用して、血液単位体積(ml)当り免疫グロブリンAの量を決定した(図5参照)。ELISA測定結果、正常人の血清内の免疫グロブリンAの測定値分布は、131.2~298.7mg/dL、糖尿のみを患っている患者の血清内の免疫グロブリンAの測定値分布は、226.5~771.9mg/dLであり、糖尿網膜症患者の血清内の免疫グロブリンAの測定値分布は、105.3~557.2mg/dLであった。これを平均値で示すと表1のようである。免疫グロブリンAの測定平均値は、正常人である場合217.6±82.1mg/dL、糖尿のみを患っている患者である場合457.5±151.6mg/dL、糖尿網膜症の中で非増殖性患者である場合244.4±117.1mg/dL、増殖性である場合には278.6±123.6



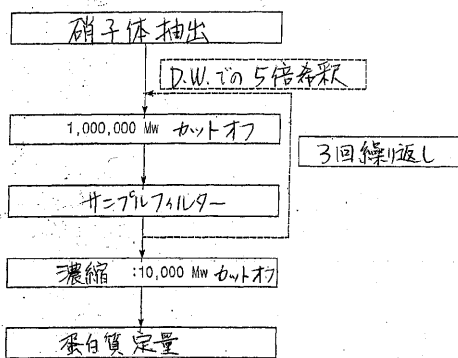
【図2】図2は、眼球硝子体蛋白質を2次元電気泳動の後CBB染色したゲル写真を示したものである。示された領域は、正常人眼球の硝子体には存在しないが、糖尿網膜症眼球の硝子体にはその量が増加されたことが示されている。

【図3】図3は、糖尿網膜症患者の血清蛋白質と糖尿のみを患っている患者の血清とを、2次元電気泳動の後、CBB染色したゲル写真を示したものである。表示した領域は、糖尿のみを患っている患者には過量存在するが、糖尿網膜症患者の血清にはその量が減少した蛋白質を示している。

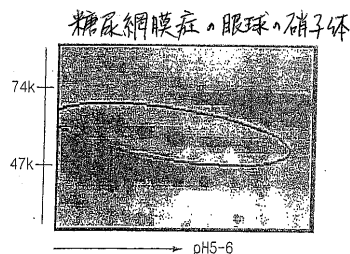
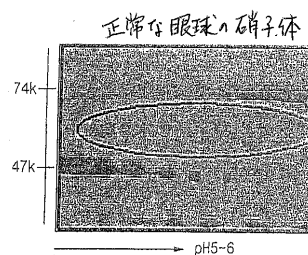
【図4】図4は、MALDI-TOF及びQ-TOF分析器を用いて図2の表示された領域の蛋白質の中で、トリプシン処理されたペプチドらの質量スペクトル(A)とその中の一つのペプチドのアミノ酸の配列を分析した結果(B)である。

【図5】図5は、免疫グロブリンA標準液0、15.6、31.25、62.5、125、250、500ng/ml濃度とELISA反応後の吸光度測定値との標準滴定グラフである。このグラフを用いて未知の免疫グロブリンAの量を計算することができる。

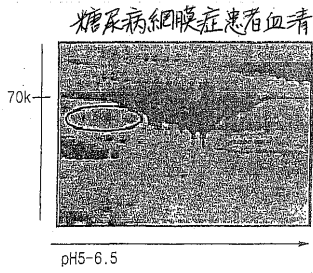
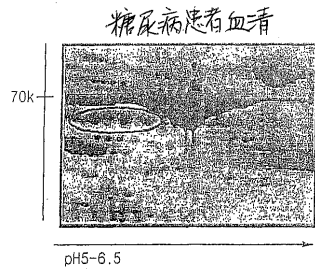
【図1】



【図2】



【 图 3 】



【 图 4 】

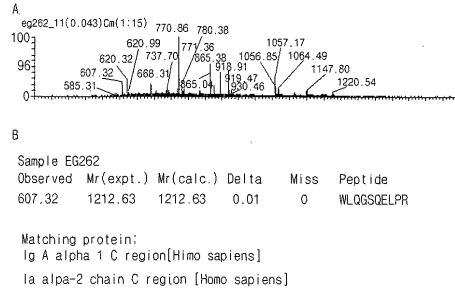
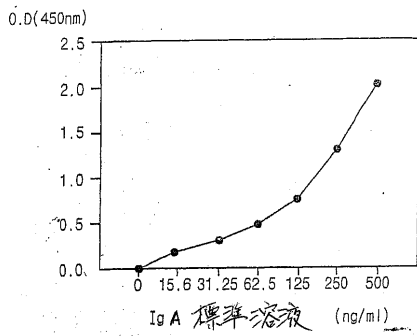


Fig.4

【 图 5 】



## 【配列表】

2006506606000001.app

## 【手続補正書】

【提出日】平成15年9月9日(2003.9.9)

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

糖尿病網膜症の診断のための免疫グロブリンAポリペプチドであって、上記ポリペプチドは、配列番号1に記載されたポリペプチド配列と、配列番号1に記載されたポリペプチド配列のペプチド切片とからなるグループより選択されたポリペプチド。

【請求項2】

上記ペプチド切片は、配列番号2に記載されたペプチド配列を含むことを特徴とする請求項1に記載の蛋白質。

【請求項3】

a) 請求項1又は請求項2のポリペプチドに対する抗体に血液サンプル及びペロキシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、またはビオチンで標識させた免疫グロブリンA蛋白質を処理する段階と、

b) 上記の複合体の吸光度を測定して正常より低い吸光度(ELISA値)を示す場合に糖尿病網膜症であることを診断する段階とを含む糖尿病網膜症診断方法。

【手続補正書】

【提出日】平成16年11月4日(2004.11.4)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

糖尿病の免疫グロブリンAレベルより糖尿病網膜症の免疫グロブリンAレベルが低い免疫グロブリンAポリペプチドを糖尿病患者の中で糖尿病網膜症を診断する際に用いる免疫グロブリンAポリペプチドの用途。

【請求項2】

上記免疫グロブリンAポリペプチドは、配列番号1又は配列番号2に記載されたアミノ酸配列を含むことを特徴とする請求項1に記載の免疫グロブリンAポリペプチドの用途。

【請求項3】

a) 抗免疫グロブリンAでソリッドフェーズをコーティングする段階と、

b) 上記ソリッドフェーズへ試料を加える段階と、

c) 上記抗免疫グロブリンAに特異性を有するように標識された抗体を加えて培養する段階と、

d) 上記標識を測定することで免疫反応を検出して、測定された免疫反応値が所定値より低い場合糖尿病網膜症と診断する段階とを含む糖尿病患者の中で糖尿病網膜症を診断する糖尿病網膜症診断方法。

【請求項4】

上記試料は、血清、血漿、全血、尿、脳脊髄液または滑液からなるグループより選択されたことを特徴とする請求項3に記載の方法。

【請求項5】

上記標識は、ホースラディシュペロキシダーゼ、グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ、アルカリホスファターゼ、ベータガラクトシダーゼ、フルオロイソチオシアネート、ローダミン、フルオレセイン、ルシフェラーゼ、ラジオアイソトープ及び粒子からなるグループより選択された物質であることを特徴とする請求項3に記載の方法。

【請求項6】

上記所定値が400mg/dLであることを特徴とする請求項3に記載の方法。

【手続補正書】

【提出日】平成17年9月22日(2005.9.22)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

免疫グロブリンAポリペプチドまたは該免疫グロブリンAポリペプチド断片の血液中の濃度を決定することにより糖尿病患者の中で糖尿網膜症を診断する、免疫グロブリンAポリペプチドまたは該免疫グロブリンAポリペプチド断片の用途。

【請求項2】

上記免疫グロブリンAポリペプチドは、配列番号1に記載されたアミノ酸配列を含むことを特徴とする請求項1に記載の用途。

【請求項3】

上記免疫グロブリンAポリペプチド断片は、配列番号2に記載されたアミノ酸配列を含むことを特徴とする請求項1に記載の用途。

【請求項4】

a) 抗免疫グロブリンA抗体によってソリッドフェーズをコーティングする段階と、  
b) 該ソリッドフェーズへ血液試料を加える段階と、  
c) 標識された抗免疫グロブリンA抗体を加える段階と、  
d) 上記標識を測定することで免疫反応を検出して、測定された免疫反応値が所定値より低い場合糖尿網膜症と診断する段階と、を含む糖尿病患者の中で糖尿網膜症を診断する糖尿網膜症診断方法。

【請求項5】

上記標識は、ペロキシダーゼ、アルカリホスファターゼ及びビオチンからなる群より選択された物質であることを特徴とする請求項4に記載の糖尿網膜症診断方法。

【請求項6】

上記所定値が、400mg/dLであることを特徴とする請求項4に記載の糖尿網膜症診断方法。

【請求項7】



免疫グロブリンAポリペプチドまたは免疫グロブリンAポリペプチド断片の血液中の濃度を決定することにより、糖尿網膜症を診断するためのキットであって、

該キットは、該免疫グロブリンAポリペプチドまたは該免疫グロブリンAポリペプチド断片に対する抗体を含むことを特徴とするキット。

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/KR03/00544

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
IPC7 C07K 16/18		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
IPC7 C07K 16/18, C07K 16/06, C07K 14/47, C12N 15/12		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
NCBI PubMed database, Esp@cenet database "Immunoglobulin A and diabetic retinopathy"		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Genbank Accession No. P01876 'Ig alpha-I chain C region' 1 February 1991 (01.02.1991)	1, 2
X	Genbank Accession No. AJ294729 'Homo sapiens partial mRNA for immunoglobulin heavy chain constant region alpha 1 (IGHA1 gene)' 9 February 2001 (09.02.2001)	7
Y A	LEE E.Y. et al. 'Immunoglobulin A nephropathy in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus' In: J Korean Med Sci, 1999, Vol.14, pp582-585 See the whole document	3-5 1, 2, 7
Y A	PEEBLES R.S. Jr. et al. 'IgA, IgG and IgM quantification in bronchoalveolar lavage fluids from allergic rhinitics, allergic asthmatics, and normal subjects by monoclonal antibody-based immunoenzymetric assays' In: J Immunol Methods, 1995, Vol.179, pp77-86 See the whole document	3-5 1, 2, 7
A	STOLWIJK T.R. et al. 'Analysis of tear fluid proteins in insulin-dependent diabetes mellitus' In: Acta Ophthalmol, 1994, Vol.72(3), pp357-362 See the abstract	1-5, 7
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents:		"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
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		"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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date		"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
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of citation or other special reason (as specified)		"&" document member of the same patent family
"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		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
28 JUNE 2003 (28.06.2003)	30 JUNE 2003 (30.06.2003)	
Name and mailing address of the ISA/KR	Authorized officer	
 Korean Intellectual Property Office 920 Dunsan-dong, Seo-gu, Daejeon 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140	KWON, Oh Hee Telephone No. 82-42-481-5597	
		

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR03/00544

**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 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.: 6  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claim 6 is directed to the diagnostic method practiced on the human or animal body and is a subject matter which the International Search Authority is not required to search under Article 17(2)(a)(i) and Rule 39.1(iv) PCT.

2.  Claims Nos.:  
because they relate to part of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)**

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

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

**Remark on Protest**

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

---

 フロントページの続き

(81) 指定国 AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72) 発明者 ユー, ウォン イル

大韓民国, キョンギ - ド 463 - 020, ソンナム - シ, ブندان - グ, ソーネ - ドン 36, ヤンジ - マウル, チョング アpartment # 212 - 1005

(72) 発明者 リー, ソン ホ

大韓民国, キョンギ - ド 412 - 745, コヤン - シ, トギャン - グ, ファジョン - ドン, オッピ - マウル # 1403 - 1103

(72) 発明者 パク, クンウー

大韓民国, プサン 608 - 090, ナム - グ, ヨンホ - ドン, シージー メトロシティ 117 - 2201

(72) 発明者 チョ, ヨン ジェ

大韓民国, ソウル 140 - 070, ヨンサン - グ, ドゥワン - ドン, サムソン レミアン アpartment # 106 - 204

(72) 発明者 アン, ブ ヨン

大韓民国, ソウル 120 - 132, ソデムン - グ, ブガジャ 2 - ドン 80 - 135

(72) 発明者 クォン, オウ ウン

大韓民国, キョンギ - ド 411 - 370, コヤン - シ, イルサン - グ, カンサン - マウル, ウーソン アpartment # 1906 - 1302

Fターム(参考) 4H045 AA11 AA30 BA10 BA15 CA42 DA75 EA50 FA72 FA74

专利名称(译)	糖尿网膜症诊断用蛋白质		
公开(公告)号	<a href="#">JP2006506606A</a>	公开(公告)日	2006-02-23
申请号	JP2004521236	申请日	2003-03-20
[标]申请(专利权)人(译)	爱吉恩公司 坤伊尔农场有限公司		
申请(专利权)人(译)	Aijin公司 Kun'iru农场. 有限责任公司		
[标]发明人	ユーウォンイル リーソンホ パククンウー チョヨンジェ アンブヨン クオンオウウン		
发明人	ユー,ウォン イル リー,ソン ホ パク,クンウー チョ,ヨン ジェ アン,ブ ヨン クオン,オウ ウン		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/543 C07K7/06 C07K16/18 G01N33/68		
CPC分类号	G01N33/6854 G01N33/6893 G01N2800/042 G01N2800/164		
FI分类号	G01N33/53.N G01N33/543.545.S C07K7/06 C07K16/18.ZNA		
F-TERM分类号	4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA15 4H045/CA42 4H045/DA75 4H045/EA50 4H045/FA72 4H045/FA74		
优先权	1020020041771 2002-07-16 KR		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

本发明是涉及糖尿病性视网膜病的诊断剂的本发明，免疫球蛋白的细节可诊断糖尿病性视网膜病，诊断试剂盒和诊断方法，包括该蛋白质的抗体的A (免疫球蛋白A) 蛋白。 本发明可用于诊断糖尿病性视网膜病。

