

(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2018-502577

(P2018-502577A)

(43) 公表日 平成30年2月1日 (2018. 2. 1)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 A	4 B 0 2 9
C 0 7 K 16/40 (2006.01)	C 0 7 K 16/40 Z N A	4 B 0 6 4
C 1 2 N 7/01 (2006.01)	C 1 2 N 7/01	4 B 0 6 5
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P 21/08	4 H 0 4 5
C 1 2 M 1/34 (2006.01)	C 1 2 M 1/34 F	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 53 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2017-536325 (P2017-536325)	(71) 出願人	504333972 メディミュン、エルエルシー アメリカ合衆国 20878 メリーランド州、ゲイサーズバーグ、ワン メディミュン ウェイ
(86) (22) 出願日	平成28年1月8日 (2016.1.8)	(74) 代理人	100100158 弁理士 鮫島 睦
(85) 翻訳文提出日	平成29年8月30日 (2017.8.30)	(74) 代理人	100122301 弁理士 富田 憲史
(86) 国際出願番号	PCT/US2016/012603	(74) 代理人	100157956 弁理士 稲井 史生
(87) 国際公開番号	W02016/112261	(74) 代理人	100170520 弁理士 笹倉 真奈美
(87) 国際公開日	平成28年7月14日 (2016.7.14)		
(31) 優先権主張番号	62/101,697		
(32) 優先日	平成27年1月9日 (2015.1.9)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ヒト DPP-4 を検出するためのアッセイ

(57) 【要約】

本発明は、ヒト患者から得られたサンプル中の DPP-4 レベルの検出および測定のためのロバストな、高感度かつ特異的なアッセイを提供する。本発明はさらに、ヒト DPP-4 を認識する新規な抗 DPP-4 モノクローナル抗体、およびこれらの抗体の 1 以上を含むアッセイキットを提供する。

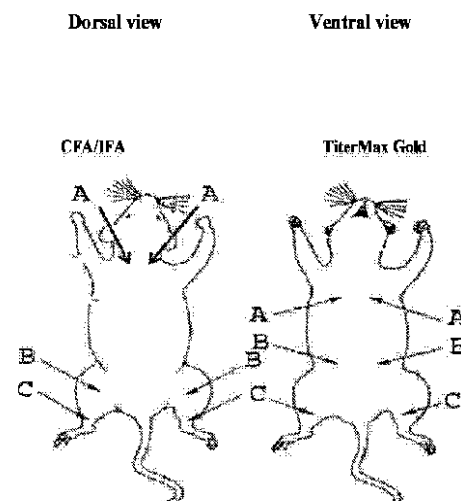


FIG. 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として米国培養細胞系統保存機関 (A T C C) に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7 . 6、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7 . 7、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2 . 1 5、または寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9 . 1 1 の結合を競合的に阻害する、および／またはそれと同じジペプチジルペプチダーゼー 4 (D P P - 4) エピトープに結合する、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体。

10

【請求項 2】

3 つの重鎖の相補性決定領域 (C D R) V H C D R 1、V H C D R 2 および V H C D R 3 を含む重鎖可変ドメイン (V H)、ならびに 3 つの軽鎖の C D R、V L C D R 1、V L C D R 2 および V L C D R 3 を含む軽鎖可変領域 (V L) を含む、ジペプチジルペプチダーゼー 4 (D P P - 4) に結合する、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であって、ここで、該単離された抗体またその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体の C D R が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として米国培養細胞系統保存機関 (A T C C) に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7 . 6、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託された

20

【請求項 3】

寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として米国培養細胞系統保存機関 (A T C C) に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7 . 6、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7 . 7、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2 . 1 5、または寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9 . 1 1 の V H および V L と同一の V H および V L を含む、請求項 2 記載の単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体。

30

【請求項 4】

抗体フラグメントが、F a b フラグメント、F a b ' フラグメント、F (a b ') 2 フラグメント、F v フラグメント、または一本鎖抗体分子である、請求項 1 から 3 のいずれか一項記載の単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体。

40

【請求項 5】

寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として米国培養細胞系統保存機関 (A T C C) に寄託されたハイブリドーマ、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマ、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマ、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマ、およびそれらの組合せからなる群より選択される、ハイブリドーマ。

【請求項 6】

寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として米国培養細胞系統保存機関 (A T C C) に寄託されたハイブリドーマ、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマ、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマ、

50

寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマ、またはそれらの組合せを含む、抗体産生細胞培養物。

【請求項 7】

請求項 5 記載のハイブリドーマまたは請求項 6 記載の抗体産生細胞培養物により産生される、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体。

【請求項 8】

請求項 1 から 4 または 7 のいずれか一項記載の抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体、あるいは請求項 5 記載のハイブリドーマまたは請求項 6 記載の細胞培養物により産生される抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であって、ここで、該抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体が、それらに融合された異種ポリペプチドをさらに含む、抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体。

【請求項 9】

該異種ポリペプチドが、安定化ポリペプチドペプチド、タグ、ラベルまたはそれらの組合せである、請求項 8 記載の抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体。

【請求項 10】

請求項 1 から 4 または 7 のいずれか一項記載の抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体、あるいは請求項 5 記載のハイブリドーマまたは請求項 6 記載の細胞培養物により産生される抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であって、ここで、該抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体が、異種部分に結合している、抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体。

【請求項 11】

該異種部分が、ペプチド、タンパク質、酵素、脂質、異種抗体もしくはそのフラグメント、検出可能なラベル、またはポリエチレングリコール (P E G) の 1 以上を含む、請求項 10 記載の抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体。

【請求項 12】

該異種部分が、ビオチンまたはルテニウムキレートを含む、請求項 11 記載の抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体。

【請求項 13】

請求項 1 から 4 または 7 から 12 のいずれか一項記載の抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体、あるいは請求項 5 記載のハイブリドーマまたは請求項 6 記載の細胞培養物により産生される抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体を含む、組成物。

【請求項 14】

請求項 1 から 4 または 7 から 12 のいずれか一項記載の抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体、あるいは請求項 5 記載のハイブリドーマまたは請求項 6 記載の細胞培養物により産生される抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体、の少なくとも 2 つの組合せを含む、組成物。

【請求項 15】

請求項 1 から 4 または 7 から 12 のいずれか一項記載の抗体またはそのサブユニット、抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体、あるいは請求項 5 記載のハイブリドーマまたは請求項 6 記載の細胞培養物により産生される抗体またはそのサブユニット、抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体、をコードする核酸分子を含む、単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 16】

請求項 1 から 4 または 7 から 12 のいずれか一項記載の抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体、あるいは請求項 5 記載のハイブリドーマまたは請求項 6 記載の細胞培養物により産生される抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは

10

20

30

40

50

は誘導体、をコードする 2 以上の核酸分子を含む、組成物。

【請求項 17】

2 以上の核酸分子が、同じベクター内に位置している、請求項 16 記載の組成物。

【請求項 18】

請求項 15 記載の単離されたポリヌクレオチドまたは請求項 16 または 17 記載の 2 以上の核酸分子を含む、ベクター。

【請求項 19】

2 以上の核酸分子が、少なくとも 2 つの別個のベクター内に位置している、請求項 16 記載の組成物。

【請求項 20】

請求項 19 記載のベクター。

【請求項 21】

請求項 18 記載のベクターまたは請求項 20 記載のベクターを含む、単離された宿主細胞。

【請求項 22】

(a) 請求項 21 記載の宿主細胞を培養し、および (b) 抗体、サブユニット、フラグメントもしくは誘導体を採取することを含む、請求項 1 から 4 または 7 から 12 のいずれか一項記載の抗 DPP-4 抗体、またはそのサブユニット、フラグメント、変異体もしくは誘導体、あるいは請求項 5 記載のハイブリドーマまたは請求項 6 記載の細胞培養物により産生される抗体またはそのサブユニット、フラグメント、変異体もしくは誘導体の作製方法。

【請求項 23】

請求項 1 から 4 または 7 から 12 のいずれか一項記載の抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体、あるいは請求項 5 記載のハイブリドーマまたは請求項 6 記載の細胞培養物により産生される抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体を含む、サンプル中のジペプチジルペプチダーゼ-4 (DPP-4) レベルを測定するためのキット。

【請求項 24】

請求項 1 から 4 または 7 から 12 のいずれか一項記載の抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体、あるいは請求項 5 記載のハイブリドーマまたは請求項 6 記載の細胞培養物により産生される抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体、の少なくとも 2 つを含む、サンプル中のジペプチジルペプチダーゼ-4 (DPP-4) レベルを測定するためのキット。

【請求項 25】

固体支持体および検出試薬をさらに含む、請求項 23 または 24 記載のキット。

【請求項 26】

捕捉抗体またはそのフラグメント、変異体もしくは誘導体、および検出抗体またはそのフラグメント、変異体もしくは誘導体を含む、請求項 23 から 25 のいずれか一項記載のキット。

【請求項 27】

(a) 捕捉抗体が、寄託番号 PTA-121870 として ATCC に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m3B7.6、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体が、寄託番号 PTA-121872 として ATCC に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R11A2.15、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である；

(b) 捕捉抗体が、寄託番号 PTA-121870 として ATCC に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m3B7.6、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体が、寄託番号 PTA-121873 として ATCC に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R11A9.11、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である；

(c) 捕捉抗体が、寄託番号 P T A-1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7. 7、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体が、寄託番号 P T A-1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2. 1 5、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である；

(d) 捕捉抗体が、寄託番号 P T A-1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7. 7、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体が、寄託番号 P T A-1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9. 1 1、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である；

(e) 捕捉抗体が、寄託番号 P T A-1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2. 1 5、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体が、寄託番号 P T A-1 2 1 8 7 0 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7. 6、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である；

(f) 捕捉抗体が、寄託番号 P T A-1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2. 1 5、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体が、寄託番号 P T A-1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7. 7、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である；

(g) 捕捉抗体が、寄託番号 P T A-1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9. 1 1、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体が、寄託番号 P T A-1 2 1 8 7 0 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7. 6、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である；または

(h) 捕捉抗体が、寄託番号 P T A-1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9. 1 1、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体が、寄託番号 P T A-1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7. 7、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である、請求項 2 6 記載のキット。

【請求項 2 8】

検出抗体が検出可能なラベルを含む、請求項 2 3 から 2 7 のいずれか一項記載のキット。

【請求項 2 9】

検出可能なラベルがビオチンであり、検出試薬が、ストレプトアビジン-西洋ワサビペルオキシダーゼ (H R P) 複合体および H R P の発色基質を含む、請求項 2 8 記載のキット。

【請求項 3 0】

検出可能なラベルがルテニウムキレートである、請求項 2 9 記載のキット。

【請求項 3 1】

少なくとも 2 つの抗 D P P-4 抗体またはその抗原結合フラグメントを含む、1 以上のサンプル中のジペプチジルペプチダーゼ-4 (D P P-4) レベルを検出する方法であって、ここで、抗 D P P-4 抗体の 1 つが、寄託番号 P T A-1 2 1 8 7 0 として米国培養細胞系統保存機関 (A T C C) に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7. 6、または寄託番号 P T A-1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7. 7 の結合を競合的に阻害する、および／またはそれと同じ D P P-4 エピトープに結合する、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体を含み、および抗 D P P

10

20

30

40

50

ー4抗体の1つが、寄託番号PTA-121872としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R11A2.15、または寄託番号PTA-121873としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R11A9.11の結合を競合的に阻害する、および／またはそれと同じDPP-4エピトープに結合する、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体を含む、検出方法。

【請求項32】

2以上の抗DPP-4抗体のうち1つが、3つの重鎖の相補性決定領域(CDR)、VHCDR1、VHCDR2およびVHCDR3を含む重鎖可変ドメイン(VH)、ならびに3つの軽鎖のCDR、VLCDR1、VLCDR2およびVLCDR3を含む軽鎖可変領域(VL)を含む、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であって、ここで、該単離された抗体またその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体のCDRが、寄託番号PTA-121870としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m3B7.6、または寄託番号PTA-121871としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m5B7.7のCDRと同一であり；2以上の抗DPP-4抗体のうち1つが、3つの重鎖相補性決定領域(CDR)、VHCDR1、VHCDR2およびVHCDR3を含む重鎖可変ドメイン(VH)、ならびに3つの軽鎖CDR、VLCDR1、VLCDR2およびVLCDR3を含む軽鎖可変領域(VL)を含む、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であって、ここで、該単離された抗体またその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体のCDRが、寄託番号PTA-121872としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R11A2.15、または寄託番号PTA-121873としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R11A9.11のCDRと同一である、請求項31記載の方法。

【請求項33】

2以上の抗DPP-4抗体のうち1つが、寄託番号PTA-121870としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m3B7.6、または寄託番号PTA-121871としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m5B7.7のVHおよびVLと同一のVHおよびVLを含む、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり；2以上の抗DPP-4抗体のうち1つが、寄託番号PTA-121872としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R11A2.15、または寄託番号PTA-121873としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R11A9.11のVHおよびVLと同一のVHおよびVLを含む、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である、請求項31または32記載の方法。

【請求項34】

該アッセイが、固体支持体に結合させた第一の抗DPP-4“捕捉”抗体またはその抗原結合フラグメント、ならびに第二の抗DPP-4“検出”抗体またはその抗原結合フラグメントを含む、サンドイッチ免疫アッセイである、請求項31から33のいずれか一項記載の方法。

【請求項35】

(a) 捕捉抗体またはその抗原結合フラグメントを固体支持体に結合させ；
(b) DPP-4が試験サンプルまたは対照サンプル中に存在する場合、DPP-4が捕捉抗体またはその抗原結合フラグメントに結合するのを可能にするのに十分な条件下で、該サンプルを適用し；
(c) 捕捉抗体またはその抗原結合フラグメントに結合しているDPP-4に結合するのを可能にするのに十分な条件下で、検出抗体またはその抗原結合フラグメントを提供し；
および

10

20

30

40

50

(d) D P P - 4 に結合した検出抗体またはその抗原結合フラグメントの量を測定すること

を含む、請求項 3 4 記載の免疫アッセイ。

【請求項 3 6】

検出抗体またはその抗原結合フラグメントが、検出可能なラベルをさらに含む、請求項 3 5 記載の免疫アッセイ。

【請求項 3 7】

検出可能なラベルがビオチンである、請求項 3 6 記載の免疫アッセイ。

【請求項 3 8】

検出可能なラベルがルテニウムキレートである、請求項 3 7 記載の免疫アッセイ。

10

【請求項 3 9】

(a) 捕捉抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7 . 6、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2 . 1 5、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である；

(b) 捕捉抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7 . 6、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9 . 1 1、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である；

20

(c) 捕捉抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7 . 7、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2 . 1 5、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である；

(d) 捕捉抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7 . 7、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9 . 1 1、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である；

30

(e) 捕捉抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2 . 1 5、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7 . 6、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である；

(f) 捕捉抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2 . 1 5、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7 . 7、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である；

40

(g) 捕捉抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9 . 1 1、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7 . 6、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である；または、

(h) 捕捉抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9 . 1 1、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7

50

1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7. 7、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である、請求項 3 4 から 3 8 のいずれか一項記載の免疫アッセイ。

【請求項 4 0】

請求項 3 4 から 3 9 のいずれか一項記載の免疫アッセイ；請求項 2 3 から 3 0 のいずれか一項記載のキット；および／あるいは、請求項 1 から 4 または 7 から 1 2 のいずれか一項記載の抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体、または請求項 5 記載のハイブリドーマまたは請求項 6 記載の細胞培養物により産生される抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体を用いてサンプルをアッセイすることを含む、対象から得られたサンプル中のジペプチジルペプチダーゼー 4 (D P P - 4) の量を測定する方法。

10

【請求項 4 1】

対象から得られたサンプルが、全血、血清、血漿、唾液、尿、痰、気管支肺胞洗浄液、肺上皮細胞、または鼻ポリープ、または皮膚の 1 以上である、請求項 4 0 記載の方法。

【請求項 4 2】

I L - 1 3 媒介性疾患もしくは障害、肺疾患もしくは障害、および慢性炎症性皮膚疾患もしくは障害からなる群より選択される疾患または病状を有する、請求項 4 0 または 4 1 記載の方法。

【請求項 4 3】

疾患または病状が、喘息、アトピー性喘息、コルチコステロイドナীব喘息、慢性喘息、コルチコステロイド抵抗性喘息、コルチコステロイド難治性喘息、喫煙による喘息、コルチコステロイドによって制御されない喘息、特発性肺線維症 (I P F)、慢性閉塞性肺疾患 (C O P D)、潰瘍性大腸炎 (U C)、アトピー性皮膚炎 (A D)、アレルギー性鼻炎、慢性鼻副鼻腔炎、皮膚線維症、アレルギー性接触性皮膚炎、湿疹および乾癬からなる群より選択される、請求項 4 2 記載の方法。

20

【請求項 4 4】

サンプルが、対象から得られ、該サンプル中の D P P - 4 レベルの測定のために提供される、請求項 4 0 から 4 3 のいずれか一項記載の方法。

【請求項 4 5】

免疫アッセイが、固体支持体に結合された第一の抗 D P P - 4 “捕捉”抗体またはその抗原結合フラグメント、および第二の抗 D P P - 4 “検出”抗体またはその抗原結合フラグメントを含む、サンドイッチ免疫アッセイを含む、請求項 4 0 から 4 4 のいずれか一項記載の方法。

30

【請求項 4 6】

免疫アッセイが、

(a) 捕捉抗体またはその抗原結合フラグメントを固体支持体に結合させ；

(b) D P P - 4 が試験サンプルまたは対照サンプル中に存在する場合、D P P - 4 が捕捉抗体またはその抗原結合フラグメントに結合するのを可能にするのに十分な条件下で、該サンプルを適用し；

(c) 捕捉抗体またはその抗原結合フラグメントに結合している D P P - 4 に結合するのを可能にするのに十分な条件下で、検出抗体またはその抗原結合フラグメントを提供し；および

40

(d) D P P - 4 に結合した検出抗体またはその抗原結合フラグメントの量を測定すること

を含む、請求項 4 5 記載の方法。

【請求項 4 7】

検出抗体またはそのフラグメント、変異体もしくは誘導体が、検出可能なラベルをさらに含む、請求項 4 6 記載の方法。

【請求項 4 8】

検出可能なラベルがビオチンである、請求項 4 7 記載の方法。

50

【請求項 49】

検出可能なラベルがルテニウムキレートである、請求項 48 記載の方法。

【請求項 50】

(a) 捕捉抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7 . 6、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2 . 1 5、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である；

(b) 捕捉抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7 . 6、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9 . 1 1、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である；

(c) 捕捉抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7 . 7、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2 . 1 5、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である；

(d) 捕捉抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7 . 7、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9 . 1 1、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である；

(e) 捕捉抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2 . 1 5、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7 . 6、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である；

(f) 捕捉抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2 . 1 5、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7 . 7、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である；

(g) 捕捉抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9 . 1 1、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7 . 6、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である；または

(h) 捕捉抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9 . 1 1、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体が、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7 . 7、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である、
請求項 45 から 49 のいずれか一項記載の方法。

【請求項 51】

対象が喘息患者であり、該患者から採取されたサンプルが血清を含む、請求項 40 から 50 のいずれか一項記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

20

30

40

50

【0001】

電子的に提出された配列表の引用

本願と共に出願された電子的に提出されたA S C I Iテキストファイル（ファイル名 D PP4-100Pl_ sequence_listing.txt; サイズ: 26, 741 バイト; および、作成日: 2014年12月15日）の配列表の内容は、その全体を引用により本願明細書中に包含させる。

【背景技術】

【0002】

背景

ジペプチジルペプチダーゼ I V (D P P-4) (C D 26 または アデノシンデアミナーゼ結合タンパク質としても公知) は、2 位にプロリンまたはアラニンを有するポリペプチドの N 末端からの N 末端ジペプチドの加水分解を触媒するプロリルオリゴペプチダーゼファミリーの I I 型膜貫通セリンプロテアーゼ (酵素番号 (E C 番号) 3. 4. 14. 5 (B R E N D A | I U B M B)) である。G L P-1、G L P-2、胃障害ポリペプチド (G I P)、下垂体アデニレートシクラーゼ活性化ポリペプチド (P A C A P) および神経ペプチド Y を含む多数のケモカインおよびペプチドホルモンが、D P P-4 によって切断され、不活性化される。例えば、Yaron A., Naider F. Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. 28, 31-81 (1993); Mentlein R. Regul Pept. 85(1):9-24 (1999) を参照のこと。その結果、D P P-4 は、ケモカインおよびペプチドホルモンを阻害する能力を有するが、グルコース代謝、食欲および疼痛制御を調節する。

【0003】

調節性プロテアーゼとしてのその役割に加えて、D P P-4 はまた、いくつかの分子に結合し、細胞内シグナル伝達を誘導する。特に、D P P-4 は、アデノシンデアミナーゼ (A D A) を含むいくつかのリガンドに結合することにより、T 細胞共刺激/増殖およびリンパ球-上皮細胞接着を誘導する。例えば、Gines et al., Biochem. J. 361:203-209 (2002) を参照のこと。D P P-4 はまた、T 細胞成熟および遊走、サイトカイン分泌、抗体産生、B 細胞の免疫グロブリンアイソタイプスイッチ、および細胞傷害性 T 細胞の活性化を増強することも報告されている。Ohnuma et. al., Front Biosci. 13:2299-310 (2008)。

【0004】

D P P-4 は、2 番染色体に位置する遺伝子 (2 q 24. 3) によりコードされる、110 k D a の糖タンパク質であり (Abbott et al. Immunogenetics. 40(5):331-8 (1994))、766 アミノ酸からなるホモ二量体として機能する。各単量体は、 α/β ヒドロラーゼドメインおよび 8 枚羽 (blade) の β -プロペラドメインの 2 つのドメインからなる。D P P-4 は、肝臓、肺、腎臓、上皮細胞およびリンパ球を含むいくつかの組織で広く発現されている。Heike et al. Clin Exp Immunol. 74:431-434 (1988); Gorrell et al., Scand J Immunol. 54:249-264 (2001)。T 細胞活性化により、D P P-4 発現は、静止 (resting) T 細胞で上方制御される。重要な触媒ドメインを含む細胞外ドメインのほとんど (残基 39-766) を含む可溶性の活性化型 D P P-4 もまた、観察されている。Ikushima H, et al. Cell Immunol. 215(1):106-110 (2002)。

【0005】

D P P-4 遺伝子ノックアウトマウスは、経口ブドウ糖負荷における改善された耐糖能、インスリンおよび G L P-1 活性の増加; 食餌誘発性肥満に対する耐性; および、高脂肪食後の増加したインスリン感受性、を示す。Marguet et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 97(12):6874-9 (2000); Conarello et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 100(11):6825-30 (2003)。代謝障害および血糖コントロールにおけるその役割に加えて、D P P-4 はまた、免疫機能、細胞遊走、細胞へのウイルスの侵入、癌転移および炎症の制御にも関与している。例えば、Aytac et al., Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord 4(1):11-8 (2004) を参照のこと。

【0006】

ごく最近、D P P-4 発現は、インターロイキン-13 (I L-13) によって高度に誘導されることが報告された。例えば、Zhang et al., Am J Respir Crit Care Med 189: A4875 (2014); Shiobara et al., Am J Respir Crit Care Med 189:A4239 (2014); Brightling et al., Am J Respir Crit Care Med 189:A6670 (2014); 2014年、1月27日出願の米国特許仮出願公開番号61/931, 878; および、2014年5月9日出願の米国特許仮出願公開番号61/990, 932を参照のこと(これらは各々、引用によりその内容全体が全ての目的について本明細書中に包含される)。I L-13は、約12 k D aの未修飾分子量を有する、114アミノ酸のサイトカインである。McKenzie, A. N., et al. J Immunol, 1993. 150:5436-44; Minty, A., et al. Nature, 1993. 362:248-50。I L-13レベルは、喘息、慢性閉塞性肺疾患、特発性肺線維症およびアトピー性皮膚炎を含むが、これに限定されない、多数の疾患または障害における疾患の重症度と関連することが示されている。例えば、喘息の、アレルギー性炎症げっ歯動物モデルにおいて、I L-13の高いレベルが、疾患の重症度と相関することが報告されている(引用によりその内容全体が本明細書中に包含される、2012年3月1日公開の米国特許仮出願公開番号2012-0052060を参照のこと)。

10

【0007】

慢性閉塞性肺疾患(C O P D)には、種々の程度の慢性気管支炎、小気道疾患および肺気腫を有する患者集団が含まれ、現在の喘息の治療にほとんど応答しない進行性の難治性の肺機能低下症により特徴付けられる。Zhengら(J Clin Invest, 2000. 106:1081-93)は、マウス肺におけるI L-13の過剰発現が、ヒトC O P Dの複数の症状を反映して、気腫、上昇した粘液産生および炎症を引き起こすことを実証した。従って、これらの徴候は、I L-13が、特に喘息様の特徴を有する患者において、C O P Dの病因に重要な役割を果たすということである。

20

【0008】

I L-13はまた、炎症性腸疾患の病因においても役割を果たし、特発性肺線維症(I P F)などの線維症状態と関連を有している。例えば、Jovani, M., et al. Curr Drug Targets. 2013.12:1444-52; and Rafii, R., et al. J Thorac Dis. 2013. 1:48-73を参照のこと。

【0009】

アトピー性皮膚炎は、アレルギー性鼻炎および喘息などの他のアトピー性疾患に関連することが多い、一般的な慢性炎症性皮膚疾患である(Bieber, New England Journal of Medicine, 2008, 358: 1483-1494)。I L-13 m R N Aの上方制御が、アトピー性皮膚炎の亜急性および慢性病変において観察されている(Tazawa et al., Arch. Dermatol. Res., 2004, 295:459-464; Purwar et al., J. Invest. Derm., 2006, 126, 1043-1051; Oh et al., J Immunol., 2011, 186:7232-42)。

30

【0010】

高レベルのD P P-4が、喘息、C O P DおよびA D患者において観察されている(例えば、2014年1月27日出願の米国特許仮出願公開番号61/931, 878; および、2014年5月9日出願の米国特許仮出願公開番号61/990, 932、これらの各々は、引用によりその内容全体を本明細書中に包含される)。加えて、喘息患者を対象とした第2 B相臨床試験では、高血清D P P-4レベルは、I L-13媒介性肺疾患または障害(例えば、喘息、I P FまたはC O P D)あるいはI L-13媒介性慢性炎症性皮膚疾患または障害(例えば、アトピー性皮膚炎)を含むI L-13媒介性疾患または障害の予測バイオマーカーとしてD P P-4を同定するI L-13抗体アンタゴニスト(トラロキヌマブ)で処置した患者における改善された応答率を予測した。Brightling et al., Am J Respir Crit Care Med 189:A6670 (2014); および、2014年1月27日出願の米国特許仮出願公開番号61/931, 878; および、2014年5月9日出願の米国特許仮出願公開番号61/990, 932(それぞれ、引用によりその内容を本明細書中に包含させる)を参照のこと。従って、増加したD P P-4レベルは、特定のI L-13媒介性疾患または障害と相関することが知られており、且つD P P-4血清レベルは、抗

40

50

I L-13 治療に対する患者の応答を予測することが知られているが、I L-13 媒介性疾患または障害に罹患している患者を含むが、これに限定されない患者におけるD P P-4 レベルの量を測定する、および／またはその変化を決定するための、特異的な高感度のアッセイが依然として必要とされている。患者において血清D P P-4 レベルを測定するために使用することができる市販の試薬があるが、これらの市販の試薬またはキットは、ロット間の差異に起因するアッセイ変動をもたらすだけでなく、あまり感度がよくない、ポリクローナル抗体に依拠する。従って、患者におけるD P P-4 レベルの量を測定し、および／またはその変化を決定するための、特異的かつ高感度な抗体、試薬および／または免疫アッセイが依然として必要とされている。

【発明の概要】

【0011】

発明の概要

本発明は、例えば、対象におけるD P P-4 レベルを決定するための診断アッセイにおいて使用され得る、抗ジペプチジルペプチダーゼ-4 (D P P-4) 抗体を提供する。本発明の例示的な抗D P P-4 抗体には、(1) 特許手続上の微生物寄託の国際的承認に関するブダペスト条約の規定により、A T C C 寄託番号P T A-1 2 1 8 7 0として米国培養細胞系統保存機関(A T C C) (10801 University Boulevard, Manassas, Va. 20110-2209) に2015年1月8日に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m 3 B 7. 6; (2) 特許手続上の微生物寄託の国際的承認に関するブダペスト条約の規定により、A T C C 寄託番号P T A-1 2 1 8 7 1として米国培養細胞系統保存機関(A T C C) (10801 University Boulevard, Manassas, Va. 20110-2209) に2015年1月8日に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m 5 B 7. 7; (3) 特許手続上の微生物寄託の国際的承認に関するブダペスト条約の規定により、A T C C 寄託番号P T A-1 2 1 8 7 2として米国培養細胞系統保存機関(A T C C) (10801 University Boulevard, Manassas, Va. 20110-2209) に2015年1月8日に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R 1 1 A 2. 1 5; および、(4) 特許手続上の微生物寄託の国際的承認に関するブダペスト条約の規定により、A T C C 寄託番号P T A-1 2 1 8 7 3として米国培養細胞系統保存機関(A T C C) (10801 University Boulevard, Manassas, Va. 20110-2209) に2015年1月8日に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R 1 1 A 9. 1 1が含まれる。

【0012】

特定の面において、本発明は、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体、または2以上のかかる抗体を提供し、ここで、該抗体または複数の抗体は、(1) 寄託番号P T A-1 2 1 8 7 0としてA T C Cに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m 3 B 7. 6、(2) 寄託番号P T A-1 2 1 8 7 1としてA T C Cに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m 5 B 7. 7、(3) 寄託番号P T A-1 2 1 8 7 2としてA T C Cに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R 1 1 A 2. 1 5、または(4) 寄託番号P T A-1 2 1 8 7 3としてA T C Cに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R 1 1 A 9. 1 1、またはそれらの任意の組合せの結合を競合的に阻害する、および／またはそれと同じD P P-4 エピトープに結合する。

【0013】

特定の面において、本発明は、3つの重鎖相補性決定領域(C D R) V H C D R 1、V H C D R 2およびV H C D R 3を有する重鎖可変ドメイン(V H)、ならびに3つの軽鎖C D R V L C D R 1、V L C D R 2およびV L C D R 3を有する軽鎖可変領域(V L)を含む、D P P-4 に結合する、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体を提供し、ここで、該単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体のC D Rは、寄託番号P T A-1 2 1 8 7 0としてA T C Cに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m 3 B 7. 6、寄託番号

P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7 . 7、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2 . 1 5、または寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9 . 1 1 の C D R と同一である。

【 0 0 1 4 】

特定の面において、本発明により提供される抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7 . 6、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7 . 7、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2 . 1 5、または寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9 . 1 1 の V H および V L と同一の V H および V L を含み得る。

【 0 0 1 5 】

特定の面において、本発明は、上記の抗原結合抗体フラグメントを提供する。特定の面において、抗体フラグメントは、F a b フラグメント、F a b ' フラグメント、F (a b ') 2 フラグメント、F v フラグメント、または一本鎖抗体分子であり得る。

【 0 0 1 6 】

本発明はさらに、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として A T C C に寄託されたハイブリドーマ、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマ、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマ、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマ、および／またはそれらの組合せを提供する。特定の面において、本発明は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として A T C C に寄託されたハイブリドーマ、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマ、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマ、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマ、および／またはそれらの組合せを含む、抗体産生細胞培養物を提供する。別の面において、本発明は、本明細書に記載のハイブリドーマまたは本明細書に記載の抗体産生細胞により産生される単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体を提供する。

【 0 0 1 7 】

特定の面において、本発明の抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体、あるいは本発明のハイブリドーマまたは細胞培養物により産生される抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体（例えば、抗体 m 3 B 7 . 6、m 5 B 7 . 7、R 1 1 A 2 . 1 5、または R 1 1 A 9 . 1 1 を含む）はさらに、それと融合した異種ポリペプチドを含む。例えば、特定の面において、異種ポリペプチドは、安定化ポリペプチドペプチド、タグ、ラベル、またはそれらの組合せである。

【 0 0 1 8 】

特定の面において、本発明の抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体、あるいは本発明のハイブリドーマまたは細胞培養物により産生される抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体（例えば、抗体 m 3 B 7 . 6、m 5 B 7 . 7、R 1 1 A 2 . 1 5、または R 1 1 A 9 . 1 1 を含む）は、異種部分に結合される。特定の面において、異種部分は、ペプチド、タンパク質、酵素、脂質、異種抗体もしくはそのフラグメント、検出可能なラベル、またはポリエチレングリコール（P E G）の 1 以上を含む。特定の面において、異種部分は、例えば、ビオチン、またはルテニウムキレートである。

【 0 0 1 9 】

本発明はさらに、本発明の抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導

10

20

30

40

50

体、および／または本発明のハイブリドーマまたは細胞培養物により産生される抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体（例えば、抗体m 3 B 7. 6、m 5 B 7. 7、R 1 1 A 2. 1 5、および／またはR 1 1 A 9. 1 1を含む）を含む組成物を提供する。特定の面において、組成物は、少なくとも2つのそのような抗体の組合せを含む。

【0020】

別の面において、本発明は、本発明の抗体またはそのサブユニット、フラグメント、変異体もしくは誘導体、あるいは本発明のハイブリドーマまたは細胞培養物により産生される抗体、またはそのサブユニット、フラグメント、変異体もしくは誘導体（例えば、抗体m 3 B 7. 6、m 5 B 7. 7、R 1 1 A 2. 1 5、またはR 1 1 A 9. 1 1を含む）をコードする核酸分子を含む、単離されたポリヌクレオチドを提供する。本発明はさらに、提供されるポリヌクレオチドを含むベクターを提供する。

10

【0021】

特定の面において、本発明は、本発明の抗体またはそのフラグメント、変異体もしくは誘導体、あるいは本発明のハイブリドーマまたは細胞培養物により産生される抗体またはそのフラグメント、変異体もしくは誘導体（例えば、抗体m 3 B 7. 6、m 5 B 7. 7、R 1 1 A 2. 1 5、またはR 1 1 A 9. 1 1を含む）をコードする2以上の核酸分子を含む組成物を提供する。特定の面において、該2以上の核酸分子は、同じベクター内に位置する。本発明はさらに、同じベクター内に位置して提供される2以上の核酸分子を含むベクターを提供する。特定の面において、該2以上の核酸分子は、少なくとも2つの別個のベクターに位置する。本発明はさらに、2つの別個のベクターを提供する。

20

【0022】

本発明はさらに、提供されるベクター、または2以上の提供されるベクターを含む、単離された宿主細胞を提供する。本発明はさらに、本発明の抗D P P-4抗体、またはサブユニット、フラグメント、変異体もしくは誘導体、あるいは本発明のハイブリドーマまたは細胞培養物により産生される抗体、またはサブユニット、フラグメント、変異体もしくは誘導体（例えば、抗体m 3 B 7. 6、m 5 B 7. 7、R 1 1 A 2. 1 5、および／またはR 1 1 A 9. 1 1を含む）を作製する方法を提供し、ここで、該方法は、（a）提供された宿主細胞を培養すること、および（b）抗体、サブユニット、フラグメントもしくは誘導体を採取すること、を含む。

30

【0023】

別の面において、本発明は、サンプル中のD P P-4レベルを測定するためのキットを提供し、ここで、該キットは、本発明の抗体またはそのフラグメント、変異体もしくは誘導体、あるいは本発明のハイブリドーマまたは細胞培養物により産生される抗体またはそのフラグメント、変異体もしくは誘導体（例えば、抗体m 3 B 7. 6、m 5 B 7. 7、R 1 1 A 2. 1 5、またはR 1 1 A 9. 1 1を含む）を含む。特定の面において、該キットは、少なくとも2つのそのような抗体、またはそれらのフラグメント、変異体もしくは誘導体を含む。該キットは、固体支持体および／または検出試薬をさらに含み得る。特定の面において、少なくとも2つの抗体のうち1つ、またはそのフラグメント、変異体もしくは誘導体は、捕捉抗体またはそのフラグメント、変異体もしくは誘導体であってよく、少なくとも2つの抗体のうち1つ、またはそのフラグメント、変異体、もしくは誘導体は、検出抗体またはそのフラグメント、変異体もしくは誘導体であり得る。特定の面において、検出抗体は、検出可能なラベルを含んでいてよく、例えば、検出可能なラベルは、ビオチンであってよく、該キットは、ストレプトアビジン-西洋ワサビペルオキシダーゼ（H R P）複合体およびH R Pの発色基質などの検出試薬を含み得るか、または検出可能なラベルは、ルテニウムキレートであり得る。

40

【0024】

特定の面において：

捕捉抗体は、寄託番号P T A-1 2 1 8 7 0としてA T C Cに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m 3 B 7. 6、またはその抗原結合フラグメ

50

ント、変異体もしくは誘導体であってよく、そして検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2 . 1 5 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり得る；

【0025】

捕捉抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7 . 6、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であってよく、そして検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9 . 1 1 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり得る；

10

【0026】

捕捉抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7 . 7、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であってよく、そして検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2 . 1 5 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり得る；

【0027】

捕捉抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7 . 7 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であってよく、そして検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9 . 1 1 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり得る；

20

【0028】

捕捉抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2 . 1 5、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であってよく、そして検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7 . 6、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり得る；

30

【0029】

捕捉抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2 . 1 5 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であってよく、そして検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7 . 7 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり得る；

【0030】

捕捉抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9 . 1 1 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であってよく、そして検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7 . 6、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり得る；および／または、

40

【0031】

捕捉抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9 . 1 1 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であってよく、そして検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2

50

1871としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m5B7.7またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり得る。

【0032】

本発明はさらに、1以上のサンプル中のDPP-4レベルを検出するための免疫アッセイを提供し、ここで、該免疫アッセイは、少なくとも2つの抗DPP-4抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体の使用を含み、該抗DPP-4抗体の1つは、寄託番号PTA-121870としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m3B7.6、または寄託番号PTA-121871としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m5B7.7の結合を競合的に阻害する、および／またはそれと同じDPP-4エピトープに結合する、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり得て、該抗DPP-4抗体の1つは、寄託番号PTA-121872としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R11A2.15または寄託番号PTA-121873としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R11A9.11の結合を競合的に阻害する、および／またはそれと同じDPP-4エピトープに結合する、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体を含む。

【0033】

特定の面において、免疫アッセイは、少なくとも2つの抗DPP-4抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体の使用を含み、ここで、該抗DPP-4抗体の1つは、3つの重鎖CDR VHCDR1、VHCDR2およびVHCDR3を有するVH、ならびに3つの軽鎖CDR VLCDR1、VLCDR2およびVLCDR3を有するVLを含む、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であってよく、ここで、該単離された抗体またはフラグメント、変異体もしくは誘導体のCDRは、寄託番号PTA-121870としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m3B7.6、または寄託番号PTA-121871としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m5B7.7のCDRと同一であり；そして、2以上の抗DPP-4抗体のうち1つは、3つの重鎖CDR VHCDR1、VHCDR2およびVHCDR3を有するVH、ならびに3つの軽鎖CDR VLCDR1、VLCDR2およびVLCDR3を有するVLを含む、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であってよく、ここで、該単離された抗体またはフラグメント、変異体もしくは誘導体のCDRは、寄託番号PTA-121872としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R11A2.15、または寄託番号PTA-121873としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R11A9.11のCDRと同一である。

【0034】

特定の面において、免疫アッセイは、少なくとも2つの抗DPP-4抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体の使用を含み、ここで、2以上の抗DPP-4抗体のうち1つは、寄託番号PTA-121870としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m3B7.6、または寄託番号PTA-121871としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m5B7.7のVHおよびVLと同一のVHおよびVLを含む、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であってよく；そして、2以上の抗DPP-4抗体のうち1つは、寄託番号PTA-121872としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R11A2.15、または寄託番号PTA-121873としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R11A9.11のVHおよびVLと同一のVHおよびVLを含む、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体

であり得る。

【0035】

特定の面において、免疫アッセイは、固体支持体に結合した第一の抗DPP-4“捕捉”抗体またはその抗原結合フラグメント、ならびに第二の抗DPP-4“検出”抗体またはその抗原結合フラグメント（例えば、抗体m3B7.6、m5B7.7、R11A2.15、および／またはR11A9.11を含む）の使用を含む、サンドイッチ免疫アッセイであり得る。例えば、該免疫アッセイは、固体支持体に捕捉抗体またはその抗原結合フラグメントを結合させること；サンプル中にDPP-4が存在する場合、DPP-4が捕捉抗体またはその抗原結合フラグメントに結合するのに十分な条件下で、試験サンプルまたは対照サンプルを適用すること；捕捉抗体またはその抗原結合フラグメントに既に結合したDPP-4への結合を可能にするのに十分な条件下で、検出抗体またはその抗原結合フラグメントを適用すること；および、DPP-4に結合した検出抗体またはその抗原結合フラグメントの量を測定することを含み得る。特定の面において、検出抗体は、検出可能なラベルを含んでいてよく、例えば、検出可能なラベルは、ビオチンであり得て、該キットは、ストレプトアビジン-西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）複合体およびHRPの発色基質などの検出試薬を含み得るか、または検出可能なラベルは、ルテニウムキレートであり得る。

10

【0036】

特定の面において、免疫アッセイは、捕捉抗体および検出抗体の使用を含み得る：

【0037】

ここで、捕捉抗体は、寄託番号PTA-121870としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m3B7.6またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体は、寄託番号PTA-121872としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R11A2.15またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である；

20

【0038】

捕捉抗体は、寄託番号PTA-121870としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m3B7.6またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体は、寄託番号PTA-121873としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R11A9.11またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である；

30

【0039】

捕捉抗体は、寄託番号PTA-121871としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m5B7.7またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体は、寄託番号PTA-121872としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R11A2.15またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である；

【0040】

捕捉抗体は、寄託番号PTA-121871としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m5B7.7またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体は、寄託番号PTA-121873としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R11A9.11またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である；

40

【0041】

捕捉抗体は、寄託番号PTA-121872としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R11A2.15またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体は、寄託番号PTA-121870としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m3B7.6またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である；

【0042】

50

捕捉抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2 . 1 5 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7 . 7 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である；

【 0 0 4 3 】

捕捉抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9 . 1 1 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7 . 6 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である；および／または、

【 0 0 4 4 】

捕捉抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9 . 1 1 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7 . 7 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である。

【 0 0 4 5 】

特定の面において、本発明は、対象から得られたサンプル中の D P P - 4 の量を測定する方法を提供し、該方法は、提供される免疫アッセイまたはキット、および／または提供される抗体またはフラグメント、変異体もしくは誘導体、またはかかる抗体の 2 以上の組合せ（例えば、抗体 m 3 B 7 . 6、m 5 B 7 . 7、R 1 1 A 2 . 1 5、および／または R 1 1 A 9 . 1 1 を含む）を用いてサンプルをアッセイすることを含む。特定の面において、サンプルは、全血、血清、血漿、唾液、尿、痰、気管支肺胞洗浄液、肺上皮細胞、または鼻ポリープ、または皮膚の 1 以上であり得る。特定の面において、対象は、I L - 1 3 媒介性疾患または障害、肺疾患または障害、および慢性炎症性皮膚疾患または障害からなる群より選択される疾患または病状を有する。例えば、該疾患または病状は、喘息、アトピー性喘息、コルチコステロイドナイーブ喘息、慢性喘息、コルチコステロイド抵抗性喘息、コルチコステロイド難治性喘息、喫煙による喘息、コルチコステロイドによって制御されない喘息、特発性肺線維症（I P F）、慢性閉塞性肺疾患（C O P D）、潰瘍性大腸炎（U C）、アトピー性皮膚炎（A D）、アレルギー性鼻炎、慢性鼻副鼻腔炎、皮膚線維症、アレルギー性接触性皮膚炎、湿疹および／または乾癬であり得る。特定の面において、サンプルは、対象から得られ、サンプル中の D P P - 4 レベルの測定のために提出され得る。特定の面において、対象は喘息患者であってよく、該患者から採取されたサンプルは血清であり得る。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 4 6 】

【図 1】図 1：反復性複数部位免疫化技術（Repetitive Immunization at Multiple Sites）（R I M M S）プロトコルのための流入領域リンパ節注入部位。ヒト D P P - 4 に特異的なマウスおよびラットモノクローナル抗体は、R I M M S プロトコルを用いて産生された（Kilpatrick, K., et al., Hybridoma 16:381-389 (2009)）。要すれば、2 匹の W i s t a r ラットを、図 1 に示す流入領域リンパ節注入部位 A、B および C に、3 0、1 5、7、3、3 および 3 μ g の C D 2 6 を用いて、それぞれ 0、2、5、7、9 および 1 3 日目に免疫化した。マウスの免疫化は、同じスケジュールに従ったが、各時点での抗原の量を半分に行った。

【 0 0 4 7 】

【図 2】図 2 A - D：抗 D P P - 4 マウスおよびラット抗体は、直接結合 E L I S A を用いて示されるように、ヒト D P P - 4 に特異的である。ヒト D P P - 4 で免疫化した 2 匹のラット（R 9 4 7 2 および R 9 4 7 3）からの、免疫前（左側）または試験 1 3 日目（

10

20

30

40

50

右側)の血清を用いた、ヒトDPP-4 (r-DPP-4-his) (A)またはヒトgp130-his (B)に対する直接結合ELISA。13日目のラット血清は、ヒトDPP-4に特異的に結合するが、一方で、免疫前血清を用いると特異的結合は見られない。ヒトDPP-4で免疫化した5匹のマウス (ms9447、ms9448、ms9449、ms9450およびms9451)からの、免疫前(左側)または試験13日目(右側)の血清を用いた、ヒトDPP-4 (r-DPP-4-his) (C)またはヒトgp130-his (D)に対する直接結合ELISA。13日目のマウス血清は、ヒトDPP-4に特異的に結合するが、一方で、免疫前血清を用いると特異的結合は見られない。

【0048】

【図3】図3A-B:免疫アッセイにおける、捕捉抗体としてm3B7.6抗体(A)またはm5B7.7(B)を用いる、ヒトDPP-4の検出。Aでは、DPP-4を、PBSまたは1%正常ヒト血清(NHS)に添加し、捕捉抗体としてm3B7.6を用い、そして検出抗体としてR11A2.15、R11A9.11、または対照抗体R222113 (R&D Systems Catalog No. MAB1180)を用いて、サンドイッチELISAアッセイを行った。m3B7.6+R11A2.15またはm3B7.6+R11A9.11は、サンドイッチELISAアッセイにおいてヒトDPP-4を測定する際に最高の感度を提供した。Bでは、DPP-4を、PBSまたは1%正常ヒト血清(NHS)に添加し、捕捉抗体としてm5B7.7を用い、そして検出抗体としてR11A2.15、R11A9.11、または対照抗体R222113 (R&D Systems Catalog No. MAB1180)を用いて、サンドイッチELISAアッセイを行った。m5B7.7+R11A2.15またはm5B7.7+R11A9.11は、サンドイッチELISAアッセイにおいてヒトDPP-4を測定する際に最高の感度を提供した。これらの結果は、図2に記載の結果と合わせて、抗体m3B7.6、m5B7.7、R11A2.15およびR11A9.11が、内因性および組み換えヒトDPP-4の両方を検出することを実証する。加えて、市販の抗体(R222113)は、DPP-4を検出した抗体m3B7.6、m5B7.7、R11A2.15およびR11A9.11と比較して、これらの免疫アッセイでDPP-4を検出することができなかった。

【0049】

【図4】図4A-E:マウスモノクローナル抗体m3B7.6とm5B7.7は、互いに競合し、ラットモノクローナル抗体R11A2.15とR11A9.11は、互いに競合する。A)図4B-Eに示すように、m3B7.6、m5B7.7、R11A2.15およびR11A9.11の相対的結合特異性および競合プロファイルを決断するために用いたOCTETアッセイの概略図。要すれば、試験抗体を最初にビオチン化し、次いで、ストレプトアビジンバイオセンサー上で、200μl中20μg/mlの濃度で5分間、捕捉した。その後、バイオセンサーを200μLのPBS緩衝液で1分間洗浄し、次いで、組み換えヒトDPP-4を10μg/mlで用いて、5分間インキュベートし、200μLのPBS緩衝液で1分間洗浄した。競合抗体を、試験抗体と1:1の比で混合し、それぞれ終濃度20μg/mlで、バイオセンサー上に200μlを5分間ロードした。試験抗体に対するさらなる結合を示す競合抗体は、異なるエピトープを有すると見なされた。そうでなければ、それらは同じエピトープを共有すると考えられた。B)試験抗体としてm3B7.6(a)を用いた、OCTETアッセイの結果である。m5B7.7(b)は、m3B7.6(a)と同じ結合プロファイルを示したが、R11A2.15(c)およびR11A9.11(d)は、m3B7.6(a)とは異なる結合プロファイルを示した。これらの結果に基づき、抗体m3B7.6およびm5B7.7は、同じか、または重複するエピトープを共有する。C)試験抗体としてm5B7.7(b)を用いた、OCTETアッセイの結果。m3B7.6(a)は、m5B7.7(b)と同じ結合プロファイルを示したが、R11A2.15(c)およびR11A9.11(d)は、m5B7.7(b)とは異なる結合プロファイルを示した。これらの結果に基づき、抗体m5B7.7およびm3B7.6は、同じか、または重複するエピトープを共有する。D)試験抗体としてR11A2.15(c)を用いた、OCTETアッセイの結果。R11A9.11(d)

）は、R 1 1 A 2 . 1 5 （c）と同じ結合プロファイルを示したが、m 3 B 7 . 6 （a）およびm 5 B 7 . 7 （b）は、R 1 1 A 2 . 1 5 （c）とは異なる結合プロファイルを示した。これらの結果から、抗体R 1 1 A 2 . 1 5 およびR 1 1 A 9 . 1 1 は、同じか、または重複するエピトープを共有する。E）試験抗体としてR 1 1 A 9 . 1 1 （d）を用いた、O C T E T アッセイの結果。R 1 1 A 2 . 1 5 （c）は、R 1 1 A 9 . 1 1 （d）と同じ結合プロファイルを示したが、m 3 B 7 . 6 （a）およびm 5 B 7 . 7 （b）は、R 1 1 A 9 . 1 1 （d）とは異なる結合プロファイルを示した。これらの結果から、抗体R 1 1 A 9 . 1 1 およびR 1 1 A 2 . 1 5 は、同じか、または重複するエピトープを共有する。

【発明を実施するための形態】

10

【0050】

詳細な説明

本発明は、抗D P P - 4モノクローナル抗体、これらの抗体の1以上を含むアッセイキット、およびヒト患者から得られたサンプル中のD P P - 4レベルの検出および測定のための、これらの抗体の1以上を用いる、ロバストな、高感度かつ特異的な免疫アッセイを提供する。

【0051】

本明細書および添付の特許請求の範囲において、単数形“a”、“an”および“the”は、その内容について別段の明確な指示がない限り、複数の指示対象を含む。用語“a”（または“an”）、ならびに用語“1以上”および“少なくとも1つ”は、本明細書中、互換的に使用され得る。

20

【0052】

さらに、本明細書で用いる“および／または”は、2つの指定された特徴または構成要素のそれぞれの具体的な開示として、他の指定された特徴または構成要素の有無を示すものと解釈されるべきである。従って、本明細書中“Aおよび／またはB”などの語句において使用される用語“および／または”は、“AおよびB”、“AまたはB”、“A”（単独）、ならびに“B”（単独）を包含することを意図する。同様に、“A、B、および／またはC”などの語句において使用される用語“および／または”は、以下の面のそれぞれを包含することを意図する：A、BおよびC；A、BまたはC；AまたはC；AまたはB；BまたはC；AおよびC；AおよびB；BおよびC；A（単独）；B（単独）；ならびに、C（単独）。

30

【0053】

複数の面が、用語“～を含む”を用いて本明細書に記載されている場合、“～からなる”および／または“本質的に～からなる”という用語で記載された類似の面もまた、提供される。

【0054】

本明細書および特許請求の範囲を通じて数値と関連して使用される用語“約”は、当業者に、よく知られている、および許容される精度（accuracy）を示す。一般に、かかる精度は±10%である。

【0055】

40

他にこれと異なる記載がない限り、本明細書で用いる全ての技術用語および科学用語は、本発明が関係する分野の当業者に一般的に理解されるのと同じ意味を有する。例えば、the Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei—Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press; および、the Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Pressは、本明細書で用いる多くの用語の一般的な辞書を当業者に提供する。

【0056】

単位、接頭語および記号は、国際単位系（S I）の許容書式で示される。数値範囲は、範囲を定義する数値を包含する。他に特記しない限り、アミノ酸配列は、アミノ末端から

50

カルボキシ末端方向へ左側から右側へ記載されている。本明細書で提供される見出しは、本明細書の種々の面または複数の面に限定するものではなく、本明細書全体を参照することによって包含され得る。従って、以下に定義される用語は、明細書全体を参照することによって、より完全に定義される。

【0057】

“単離された”物質、組成物、物体および／または複数の物質、組成物または物体の組合せ、あるいはその文法上の変形、例えば、単離された生物学的物質とは、その天然環境にない物質である。特定の精製レベルは必要とされない。例えば、単離された抗体とは、その天然または自然環境で産生されない、または存在しない、抗体である。組換え産生された生物学的物質とは、ハイブリドーマなどの非天然細胞で産生される物質と同様に、本明細書に記載の通り単離されたと見なされる。物質、例えば、生物学的物質はまた、何れか適切な技術によって分離、分画または部分的にもしくは実質的に精製されている場合に、“単離された”と見なされる。特定の面において、単離された物質、例えば、単離された生物学的物質は、“天然に存在しない”物質であり得る。

10

【0058】

本明細書で用いる用語“天然に存在しない”物質、組成物、物体および／または複数の物質、組成物または物体の組合せ、あるいはその文法上の変形は、当業者によって“天然に存在する”として十分に理解されているか、あるいは米国特許商標庁などの行政機関もしくは裁判所などの司法機関によって“天然に存在する”と決定もしくは解釈されている、またはある時点で決定もしくは解釈された、物質、組成物、物体および／または複数の物質、組成物または物体の組合せの形態を明示的に除外するが、単に除外するだけの、条件付きの用語である。例えば、用語“天然に存在しない抗体”は、天然に存在する抗体、例えば、抗原刺激の通常的环境に暴露されたマウスの免疫系に天然に存在し得る抗体、または例えば、米国特許商標庁などの行政機関、または裁判所、例えば連邦裁判所などの司法機関によって、“天然に存在する”と最終的に決定された抗体を、明示的に除外する。

20

【0059】

本明細書において互換的に使用される“ポリヌクレオチド”または“核酸”は、任意の長さのヌクレオチドのポリマーを意味し、DNAおよびRNAを含む。ヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、修飾されたヌクレオチドまたは塩基、および／またはそれらの類縁体、またはDNAもしくはRNAポリメラーゼによってポリマーに組み込まれ得る基質であり得る。ポリヌクレオチドは、メチル化されたヌクレオチドおよびそれらの類縁体などの修飾ヌクレオチドを含み得る。上記の記載は、RNAおよびDNAを含む、本明細書で言及される全てのポリヌクレオチドに適用される。

30

【0060】

本明細書で用いる用語“発現”とは、遺伝子が生化学的物質、例えば、本明細書で提供されるトランスポーター分子を産生することによる過程を意味する。この過程は、遺伝子ノックダウンならびに一過性発現および安定発現の両方を含むが、これに限定されない、細胞内の遺伝子の機能的存在の現出を含む。これには、1以上のmRNAへの遺伝子の転写、および1以上のポリペプチドへのかかるmRNAの翻訳が含まれるが、これに限定されない。最終産物が生化学的物質である場合、発現には、その生化学的および全ての前駆体の生成が含まれる。

40

【0061】

“発現産物”は、核酸、例えば、遺伝子の転写により産生されるメッセンジャーRNA、またはポリペプチドの何れかであり得る。本明細書に記載の発現産物にはさらに、転写後修飾、例えばポリアデニル化を有する核酸、または翻訳後修飾、例えば、メチル化、グリコシル化、脂質の付加、他のタンパク質サブユニットとの会合、タンパク質分解切断などを有するポリペプチドが含まれる。

【0062】

本明細書で用いる用語“ベクター”または“発現ベクター”は、宿主細胞中に目的の発現産物を導入するか、または宿主細胞中に目的の遺伝子産物を発現させるためのビークル

50

として使用されるベクターを意味する。当業者に知られているように、このようなベクターは、プラスミド、ファージ、ウイルスおよびレトロウイルスからなる群より容易に選択され得る。一般的に、ベクターは、選択マーカー、特定の核酸のクローニングを容易にするための適切な制限部位、および真核細胞もしくは原核細胞に侵入するおよび／または複製する能力を含み得る。ベクターの例には、ウイルスベクター、そのままの(naked) DNAもしくはRNA発現ベクター、プラスミド、コスミドまたはファージベクター、カチオン性縮合剤に関連するDNAもしくはRNA発現ベクター、リボソームに封入されたDNAもしくはRNA発現ベクター、およびプロドューサー細胞などの特定の真核細胞が含まれるが、これに限定されない。

【0063】

用語“宿主細胞”は、組換えDNA技術を用いて構築され、少なくとも1つの発現産物をコードするベクターを有する細胞を意味する。組換え宿主からの発現産物の単離方法の記載において、用語“細胞”および“細胞培養物”は、これと異なる記載が明示されない限り、発現産物の供給源を示すために互換的に用いられ、すなわち、該“細胞”からの発現産物の採取とは、スピンドウンした全細胞からの採取、または培地および懸濁した細胞の両方を含む細胞培養物からの採取のいずれかを意味する。

【0064】

用語“ポリペプチド”、“ペプチド”および“タンパク質”は、任意の長さのアミノ酸のポリマーを意味するために、本明細書中、互換的に用いられる。ポリマーは、直鎖状または分枝鎖状であってよく、修飾アミノ酸を含んでいてもよく、非アミノ酸がそれを中断してもよい。該用語はまた、天然に、または介入；例えば、ジスルフィド結合形成、グリコシル化、脂質化、アセチル化、リン酸化、または何れか他の操作もしくは修飾、例えば標識成分との結合など、によって修飾されたアミノ酸ポリマーを包含する。また、この定義内には、例えば、1以上のアミノ酸の類縁体（例えば、非天然アミノ酸などを含む）、ならびに当技術分野で公知の他の修飾を含むポリペプチドも含まれる。本発明のポリペプチドは抗体に基づいているため、特定の態様において、該ポリペプチドは、一本鎖または会合鎖(associated chain)として存在し得ることが理解される。

【0065】

本明細書で用いる用語“DPP-4”は、DPP-4遺伝子(cDNA：配列番号：7)によりコードされるジペプチジルペプチダーゼIVタンパク質(EC3.4.14.5；UniProt：P27487（膜結合形態：配列番号：5；可溶性形態：配列番号：6）を意味する。DPP-4はまた、DPP-IV、アデノシンデアミナーゼ複合体タンパク質2、またはCD26（分化のクラスター26）としても知られている。DPP-4は、アトラクチン、FAP、DPP8およびDPP9に関係する。DPP-4は、高度に保存された多機能性II型膜貫通糖タンパク質であり、それは、循環血中（血漿）、ならびに上皮細胞、内皮細胞およびリンパ系細胞を含む、いくつかの細胞タイプの表面上の両方に存在する。DPP-4は、T細胞共刺激、ケモカイン生物学、II型糖尿病、および腫瘍生物学に参与するセリンプロテアーゼファミリーの一部である（Zhong et al., Atherosclerosis 2013;226:305-314）。DPP-4の内因性基質には、増殖因子、ケモカイン、神経ペプチドおよび血管作用性ペプチドなどの広範なプロリン含有ペプチドが含まれる（Gorrell, M., Clin. Sci. 108, 277-292, 2005; McIntosh, C. H. S., et al. Int. J. Biochem. Cell Biol. 38, 860-872, 2006）。喘息のような炎症性呼吸器疾患におけるDPP-4の役割は、Giovannini-Chami（Giovannini-Chami et al., European Respiratory Journal. 2012 May;39(5):1197-205）によって提案されており、彼らは、制御されない喘息に関連する、ダニアレルギー性鼻炎を有する小児の鼻上皮において、DPP-4転写産物（および、他のTh2シグナル伝達遺伝子）の上昇を見出した。用語DPP-4にはまた、そのフラグメント、変異体（例えば、当技術分野で知られているK1R、V7I、S437I、T557I、D663E変異体）、および誘導体（例えば、DPP-4タンパク質のグリコシル化もしくは非グリコシル化タンパク質形態、または他の化学的に修飾されたタンパク質形態）が含まれる。

10

20

30

40

50

【0066】

例えば、“DPP-4レベル”または“DPP-4の量”における、用語“レベル”または“量”は、生物学的サンプルにおけるDPP-4の存在または発現（タンパク質発現）を検出するための分析方法を用いて得られ、および生物学的サンプル中のDPP-4の、それに関する、またはそれに対応する、存在、不存在、絶対量もしくは濃度、相対量もしくは濃度、力価、発現レベル、測定されたレベルの比などを示す、測定値を意味する。“値”または“レベル”の精度は、DPP-4を検出するために用いられる特定の分析方法（例えば、本明細書で提供される免疫アッセイ）の特定の設計および要素によって変わる。例えば、米国特許出願公開第2010/00221752号を参照のこと。

【0067】

DPP-4に関して本明細書中で使用される場合、用語“上昇したDPP-4”、“高DPP-4”、“上昇したDPP-4レベル”または“高DPP-4レベル”は、正常レベルまたは範囲よりも高い、生物学的サンプル（例えば、血清）におけるレベルを意味する。DPP-4の正常レベルまたは範囲は、標準的手法に従って定義される。従って、特定の生物学的サンプルにおいて測定されたレベルは、類似の正常サンプルにおいて決定されたレベルまたはレベル範囲と比較され得る。DPP-4のレベルは、試験サンプル中に正常サンプルよりも高いレベルまたは範囲で存在する場合に上昇すると言われている。

【0068】

本明細書で用いる用語“抗体”（またはフラグメント、変異体もしくは誘導体）とは、B細胞によって産生される一般的な抗体との関連で、抗原に結合可能な抗体の少なくとも最小の部分、例えば、少なくとも重鎖（VH）の可変ドメインおよび軽鎖（VL）の可変ドメインを意味する。脊椎動物系における基本的な抗体構造は、比較的よく理解されている。例えば、Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988)を参照のこと。他に特記されない限り、抗体“フラグメント”、“変異体”または“誘導体”とは、抗原結合“フラグメント”、“変異体”または“誘導体”を意味する。

【0069】

本明細書に記載される抗体に言及するとき、用語“フラグメント”、“変異体”、“誘導体”および“類縁体”には、対照抗体の少なくともいくつかの活性、例えば、抗原結合活性を保持するが、構造的には異なっている抗体が含まれ得る。抗体のフラグメントには、例えば、例えば、Fab、Fab'およびF(ab')₂、Fd、Fv、一本鎖Fv（scFv）、一本鎖抗体、ジスルフィド結合Fv（sdFv）、フラグメントが含まれる。変異体には、上記のフラグメント、およびまた例えば、アミノ酸置換、欠失または挿入により、可変ドメインにおいて変更されたアミノ酸配列を有する抗体が含まれる。変異体は、自発的に発生することも、または意図的に構築することもできる。意図的に構築された変異体は、当技術分野で公知の突然変異誘発技術を用いて作製することができる。変異体抗体は、保存的または非保存的アミノ酸置換、欠失または付加を含み得る。変異は、例えば、対照抗体と同じエピトープに結合するか、または対照抗体を競合的に阻害するなど、抗体が対照抗体の機能を維持するという規制によってのみ制限される。誘導体は、天然抗体には見いだされない追加の特徴を示すように改変された抗体である。例には、抗体の抗原結合ドメインを含む融合タンパク質、または複合体化抗体が含まれる。“誘導体”抗体にはまた、側鎖官能基の反応により化学的に誘導体化された1以上のアミノ酸が含まれ得る。“誘導体”としては、20個の標準アミノ酸の1以上の標準または合成アミノ酸誘導体を含む抗体もまた含まれ得る。例えば、4-ヒドロキシプロリンは、プロリンと置換され得て；5-ヒドロキシリジンは、リシンと置換され得て；3-メチルヒスチジンは、ヒスチジンと置換され得て；ホモセリンは、セリンと置換され得て；および、オルニチンは、リシンと置換され得る。

【0070】

軽鎖および重鎖の両方は、構造的および機能的相同性の領域に分けられる。用語“定常”および“可変”は、機能的に使用される。これに関して、軽鎖（VL）および重鎖（V

10

20

30

40

50

H) 部分の両方の可変ドメインが、抗原認識および特異性を決定することが理解され得る。逆に、軽鎖 (C L) および重鎖 (C H 1、C H 2 または C H 3) の定常ドメインは、分泌、経胎盤移動、F c 受容体結合、補体結合などの重要な生物学的特性をもたらす。

【0071】

上記の通り、可変領域は、結合分子が抗原上のエピトープを選択的に認識し、特異的に結合するのを可能にする。すなわち、抗体の V L ドメインおよび V H ドメイン、または相補性決定領域 (C D R) のサブセットは、結合して、3次元抗原結合部位を規定する可変領域を形成する。この四次結合分子構造は、Y の各アームの末端に存在する抗原結合部位を形成する。より具体的には、抗原結合部位は、V H 鎖および V L 鎖のそれぞれ上の 3 つの C D R によって規定される。

10

【0072】

抗体において、各抗原結合ドメイン中に存在する 6 つの“相補性決定領域”または“C D R”は、抗体が水性環境下でその 3次元配置をとるように、抗原結合ドメインを形成するように特異的に配置されたアミノ酸の短い非連続の配列である。フレームワーク領域と呼ばれる抗原結合ドメイン中のアミノ酸の残りの部分は、分子間変動が少ない。フレームワーク領域は、大部分が β シート構造を採り、C D R は、結合して、場合によっては β シート構造の一部を形成するループを形成する。従って、フレームワーク領域は、鎖間、非共有結合相互作用によって C D R を正しい配向に位置付ける足場を形成するように作用する。位置決めされた C D R によって形成される抗原結合ドメインは、免疫反応性抗原上のエピトープに相補的な表面を規定する。この相補的な表面は、その同族エピトープに対する抗体の非共有結合を促進する。C D R およびフレームワーク領域のそれぞれを含むアミノ酸は、それらが正確に定義されているため、当業者により任意の所定の重鎖または軽鎖可変領域について容易に同定され得る (“Sequences of Proteins of Immunological Interest” Kabat, E., et al., U.S. Department of Health and Human Services, (1983); および, Chothia and Lesk, J. Mol. Biol., 196:901-917 (1987) を参照のこと、それらの内容全体は、引用により本明細書中に包含される)。

20

【0073】

当技術分野で使用および／または許容される用語の 2 以上の定義がある場合、本明細書で用いる該用語の定義は、明示的に反対の記載がない限り、そのような意味の全てを含むことを意図する。特定の例は、重鎖および軽鎖ポリペプチドの両方の可変領域内に見出される非連続の抗原結合部位を記載するための用語“相補性決定領域 (“C D R”) ”の使用である。この特定の領域は、Kabat らの、U.S. Dept. of Health and Human Services, “Sequences of Proteins of Immunological Interest” (1983) および Chothia らの、J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987) (それらは引用により本明細書中に包含される) に記載されており、その定義は、互いに比較したとき、アミノ酸残基の重複またはサブセットを含む。それにもかかわらず、抗体またはその変異体の C D R を意味するためのいずれかの定義の適用は、本明細書で定義され、使用される用語の範囲内にあることを意図する。

30

【0074】

抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体には、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体もしくはキメラ抗体、一本鎖抗体、エピトープ結合フラグメント、例えば、F a b、F a b' および F (a b')₂、F d、F v、一本鎖 F v (s c F v)、一本鎖抗体、ジスルフィド結合 F v (s d F v)、V L もしくは V H ドメインのいずれかを含むフラグメント、F a b 発現ライブラリーによって産生されたフラグメントが含まれるが、これらに限定されない。S c F v 分子は当技術分野で公知であり、例えば米国特許第 5, 892, 019 号に記載されている。本明細書に包含される免疫グロブリンまたは抗体分子は、免疫グロブリン分子の全てのタイプ (例えば、I g G、I g E、I g M、I g D、I g A、および I g Y)、クラス (例えば、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A 1 および I g A 2) またはサブクラスであり得る。

40

【0075】

50

“特異的に結合する”とは、一般的に、抗体またはフラグメント、変異体もしくは誘導体が、その抗原結合ドメインを介してエピトープに結合すること、およびその結合が、抗原結合ドメインとエピトープの間の相補性を必要とすることを意味する。この定義に従って、抗体は、無作為の、無関係なエピトープに結合するよりも容易に、その抗原結合ドメインを介してエピトープへ結合するとき、該エピトープに“特異的に結合する”と言われる。

【0076】

抗体またはフラグメント、変異体もしくは誘導体は、対照抗体またはその抗原結合フラグメントのエピトープへの結合をある程度阻害する程度まで、そのエピトープに優先的に結合する場合、該所定のエピトープに対して対照抗体またはその抗原結合フラグメントの結合を競合的に阻害すると言われる。競合的阻害は、当技術分野で公知の任意の方法、例えば競合ELISAアッセイによって決定することができる。結合分子は、少なくとも90%、少なくとも80%、少なくとも70%、少なくとも60%、または少なくとも50%まで、所定のエピトープへの対照抗体またはその抗原結合フラグメントの結合を競合的に阻害すると言える。

【0077】

本明細書に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体は、抗原のエピトープ（複数可）または部分（複数可）、例えば、それらが認識するか、または特異的に結合する標的多糖類に関して、記載または特定され得る。例えば、本明細書に記載の抗体の抗原結合ドメインと特異的に相互作用するヒトDPP-4の部分は、“エピトープ”である。

【0078】

本明細書で用いる用語“IL-13媒介性疾患または障害”は、（単独で、または他のメディエーターと共同して）引き起こされるか、障害を有する対象においてIL-13の異常なレベルによって悪化する、それと関連する、またはそれにより長引く、疾患を意味する。IL-13媒介性疾患または障害の限定を意図しない例には、喘息、特発性肺線維症（IPF）、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、潰瘍性大腸炎（UC）、アトピー性皮膚炎（AD）、アレルギー性鼻炎、または慢性鼻副鼻腔炎が挙げられる。

【0079】

本明細書で用いる用語“肺疾患または障害”は、少なくとも部分的に肺または呼吸器系に影響を与える病状を意味する。限定を意図しない例には、喘息、アトピー性喘息、コルチコステロイドナীব喘息、慢性喘息、コルチコステロイド抵抗性喘息、コルチコステロイド難治性喘息、喫煙による喘息、コルチコステロイドによって制御されない喘息、IPF、COPD、アレルギー性鼻炎、または慢性鼻副鼻腔炎が含まれる。特定の面において、肺疾患または障害は、IL-13媒介性である。

【0080】

本明細書で用いる用語“慢性炎症性皮膚疾患または障害”は、少なくとも部分的に皮膚に影響を与える病状を意味する。限定を意図しない例としては、アトピー性皮膚炎、皮膚線維症、アレルギー性接触性皮膚炎、湿疹または乾癬が含まれる。特定の面において、慢性炎症性皮膚疾患または障害は、IL-13媒介性である。

【0081】

用語“喘息”は、可逆性気流閉塞および／または気管支過敏症として存在する疾患を意味し、いくつかの例においては、根底に炎症が関与している。喘息の例としては、アレルギー性喘息、アトピー性喘息、コルチコステロイドナীব喘息、慢性喘息、コルチコステロイド抵抗性喘息、コルチコステロイド難治性喘息、喫煙による喘息、コルチコステロイドによって制御されない喘息および他の喘息が挙げられ、例えばExpert Panel Report 3: Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma, National Asthma Education and Prevention Program (2007) (“NAEPP Guidelines”)に記載されている。

【0082】

本明細書で用いる用語“COPD”は、慢性閉塞性肺疾患を意味する。用語“COPD

”には、気腫および慢性閉塞性気管支炎の2つの主な症状が含まれる。

【0083】

用語“特発性肺線維症”(IPF)は、肺の進行性瘢痕または線維症を特徴とする疾患を意味する。これは、肺胞が徐々に線維化組織によって置き換わる間質性肺疾患の特定のタイプである。IPFでは、進行性の瘢痕化により、通常は薄く柔軟な組織が肥厚して堅くなり、肺が拡張し難くなり、酸素が容易に血流に入るのを妨げる。例えば、Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2000. 161:646-664を参照のこと。

【0084】

用語“潰瘍性大腸炎”(UC)は、特徴的な潰瘍または白斑を含む結腸直腸に影響を及ぼす消化器(GI)管の炎症性障害を意味する。UCは間欠性疾患であり、症状が悪化している期間および比較的症候がない期間がある。活動性疾患の症状には、長期間(数週間)持続する血液混じりの下痢、体重減少、慢GI管からの慢性的な血液の喪失、貧血、腹痛、および軽度の不快感から痛みを伴う腸の動きまたは痛みを伴う腸の動きを伴う腹部痙攣が含まれる。例えば、Danese, et al. N Engl J Med. 2011 365(18):1713-25を参照のこと。

【0085】

本明細書で用いる用語“アトピー性皮膚炎”は、アレルギー性鼻炎および喘息などの他のアトピー性疾患に関連することが多い慢性炎症性皮膚障害、再発性皮膚障害、非伝染性皮膚障害および掻痒性皮膚障害を意味する(Bieber, New England Journal of Medicine, 2008, 358: 1483-1494)。用語“アトピー性皮膚炎”は、“神経皮膚炎”、“アトピー性湿疹”または“内因性湿疹”と同等である。本明細書の記載に従い、それらが生じる場所、出現する場所、またはそれらを引き起こすストレス要因から、その名称を得る、アトピー性皮膚炎の特定の形態はまた、用語“アトピー性皮膚炎”にも包含される。これらには、屈面性湿疹、マルラスカトゥム湿疹(eczema mulluscatum)、いぼ状湿疹、ワクチニア性湿疹、ジスコイデス湿疹(eczema dyskoides)、異汗性湿疹、微生物性湿疹、貨幣状湿疹、脂漏性湿疹および湿疹の他の型；口周囲皮膚炎(perioral dermatitis and periorbital dermatitis)が含まれるが、これに限定されない。本明細書で用いる用語アトピー性皮膚炎にはまた、例えば黄色ブドウ球菌感染症などの頻繁に起こる細菌二次感染、伝染性膿痂疹およびそれに関連する疾患などの膿皮症、ならびに濾胞性狼瘡またはウイルス性二次感染が挙げられる。IL-13は、疾患の病因に関与し、重要なインビボ誘導因子である。例えば、Oh et al., J. Immunol. 186:7232-42 (2011); Tazawa et al., Arch. Dermatol. Res. 295:459-464 (2004); Metwally et al. Egypt J. Immunol. 11:171-7 (2004)を参照のこと。

【0086】

本明細書で用いる用語“対象”または“患者”は、全ての対象、特にヒトまたは非ヒト動物を含む、哺乳動物対象を意味する。用語“非ヒト動物”には、全ての脊椎動物、例えば、非ヒト霊長動物、ヒツジ、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、クマ、ニワトリ、両生類、爬虫類などの、ヒトまたは非ヒト哺乳動物が含まれる。

【0087】

本明細書のいくつかの面において、対象は、ナイーブ(naive)な対象である。ナイーブな対象は、治療を施されていない、例えば治療剤を投与されていない対象である。いくつかの面において、ナイーブな対象は、IL-13媒介性疾患または障害、例えば、喘息、IFP、COPD、ADまたはUCを有すると診断される前に、治療剤で処置されていない。別の面において、対象は、IL-13媒介性疾患または障害を有すると診断される前に、治療を受けた、および／または1以上の用量の治療剤(例えば、IL-13媒介性疾患もしくは障害、肺疾患もしくは障害、慢性炎症性皮膚疾患もしくは障害または炎症性腸疾患もしくは障害と関連する炎症応答を調節することができる治療剤)を受容していた。

【0088】

本明細書で用いる用語“IL-13アンタゴニスト”は、インビトロまたはインビボでのIL-13の発現、活性もしくは半減期、またはIL-13媒介性疾患または障害を有

する対象における I L - 1 3 により引き起こされる、または悪化される症状、病状または後遺症に影響し得る任意の薬剤を意味する。I L - 1 3 アンタゴニストは、直接的または間接的に、I L - 1 3 活性を阻害、低減もしくは中和し、I L - 1 3 発現を阻害もしくは低減し、I L - 1 3 半減期を低下させるか、または I L - 1 3 による症状の悪化を防ぐことができる、以下に定義の“治療剤”であり得る。特定の面において、I L - 1 3 アンタゴニストは、抗 I L - 1 3 モノクローナル抗体、例えば、トラロキヌマブ（配列番号 3 および 4）、または 2012 年 3 月 1 日に公開され、引用によりその全体を本明細書に包含させる米国特許仮出願公開番号 2012-0052060 に記載の他の抗 I L - 1 3 モノクローナル抗体である。他の面において、I L - 1 3 アンタゴニストには、(a) 抗ヒト I L - 1 3 抗体、例えば、レプリキズマブ（配列番号 1 および 2）（M I L R 1 4 4 4 A / R G 3 6 3 7、R o c h e / G e n e n t e c h）、A B T - 3 0 8（A b b o t t）、G S K 6 7 9 5 8 6（G l a x o S m i t h K l i n e）または Q A X 5 7 6（N o v a r t i s）；(b) 抗ヒト I L - 1 3 R α 1 抗体、例えば、M e r c k M K 6 1 0 5；(c) I L - 1 3 - 毒素複合体、例えば I L - 1 3 - P E 3 8 Q Q R（N e o P h a r m、I n c.）；(d) I L - 4 ムテイン A e r o v a n t（商標）（A e r o v a n c e、I n c.）；(e) 抗 I L - 4 R α 抗体、例えばデュピルマブ / R E G N 6 6 8（R e g e n e r o n）；(f) I L - 4 R α に対する二本鎖オリゴヌクレオチド、例えば A I R 6 4 5（I s i s）；または、(g) I L - 4 / I L - 1 3 二重特異性抗体、例えば G S K 2 4 3 4 7 3 5（Glaxo SmithKline）が含まれるが、これらに限定されない。

10

【0089】

20

本明細書で用いる用語“治療剤”は、所望の、通常は有益な効果を生じるために対象に投与される治療的に活性な物質を意味する。用語治療剤には、例えば、抗体またはその活性フラグメント、ペプチド、脂質、タンパク質薬物、タンパク質コンジュゲート薬物、酵素、オリゴヌクレオチド、リボザイム、遺伝物質、プリオン、ウイルス、細菌、および真核細胞を含むが、これらに限定されない、小分子薬物および生物製剤と一般に呼ばれる古典的低分子治療剤が挙げられる。治療剤は、対象に投与されたとき、所望の治療的活性物質に代謝されるプロドラッグであってもよい。ある面において、治療剤は予防剤である。加えて、治療剤は、薬学的に処方され得る。治療剤はまた、光または超音波エネルギーのような他の形態のエネルギーによって、または全身的に投与され得る他の循環分子によって活性化される放射性同位体または薬剤であり得る。

30

【0090】

本明細書で用いる用語“サンプル”には、対象から得られた、全血、血清、筋肉、唾液などの、生物学的液体または組織が含まれる。サンプルには、全血、血清、筋肉、唾液、尿、滑液、骨髄、脳脊髄液、鼻分泌物、喀痰、羊水、気管支肺胞洗浄液、肺組織、末梢血単核細胞、全白血球細胞、リンパ節細胞、脾臓細胞、扁桃腺細胞、または皮膚などの、生物学的液体または組織が含まれ得る。いくつかの特定の面において、そのサンプルは、血液またはその一部、筋肉、皮膚、またはそれらの組合せである。サンプルは、当技術分野で公知の手段によって得られ得る。

【0091】

本明細書に記載の方法およびシステムを適用するために、患者由来のサンプルはいつでも得ることができる。場合によっては、治療が開始された後または治療が終了した後に、連続したサンプルを患者から得ることができる。サンプルは、例えば、医療提供者(healthcare provider)（例えば、医師）または医療給付提供者(healthcare benefits provider)によって要求され得て、同じか、または異なる医療提供者（例えば、看護師、病院）または臨床検査室(clinical laboratory)によって入手および／または処理され得て、および処理後に、結果をさらに別の医療提供者、医療給付提供者または患者に送付され得る。同様に、1 以上のスコアの測定／決定、スコア間の比較、スコアの評価および処置の決定を、1 または複数の医療提供者、医療給付提供者、および／または臨床検査室によって行うことができる。

40

【0092】

50

本明細書で用いる用語“医療提供者”は、生存対象、例えばヒト患者に直接的に関わり、処置を行う個人または施設を意味する。医療提供者の限定を意図しない例には、医師、看護師、技術師、セラピスト、薬剤師、カウンセラー、代替医療従事者(alternative medicine practitioner)、医療施設、医院、病院、救急救命室、クリニック、緊急医療センター、代替医療クリニック／施設、ならびにその他の、一般医療、専門医療、外科、および／またはその他のタイプの処置、評価、維持、治療、投薬および／またはアドバイス(助言)を含むが、これらに限定されない、全般的および／または専門的な治療、評価、維持、治療、投薬および／または患者の健康状態の全部または一部に関するアドバイスを提供する組織が含まれる。

【0093】

本明細書で用いる用語“臨床検査室”は、生存対象、例えばヒト由来の材料の検査または処理のための施設を意味する。処理の限定を意図しない例としては、生存対象、例えばヒトの、例えば疾患または障害の診断、予防、または治療のための情報、または生存対象、例えばヒトの健康の評価についての情報を提供することを目的とした、ヒト身体由来の材料の生物学的、生化学的、血清学的、化学的、免疫学的、血液学的、生物物理学的、細胞学的、病理学的、遺伝学的または他の検査が含まれる。これらの検査はまた、サンプルの採取または入手方法、調製、決定、測定、またはその他に、生存対象、例えばヒト対象の体内、または生存対象、例えばヒト対象の身体から得られたサンプル中の、種々の物質の存在または不存在を記述する方法を含む。

【0094】

本明細書で用いる用語“医療給付提供者”としては、患者に1以上の医療給付(health care benefit)、給付制度(benefit plan)、健康保険、および／または医療費勘定プログラムの利用について、全体的または部分的に提供する、提示する、勧誘する、支払う、あるいはその他関連事項を行う、個別の団体、組織、または集団を含む。

【0095】

ある面において、医療提供者は、DPP-4を測定するために本明細書に記載の免疫アッセイまたはキットのいずれかを投与または使用するために、別の医療提供者を管理または指示し得る。医療提供者は、サンプルを入手する、サンプルを処理する、サンプルを提出する、サンプルを受け取る、サンプルを移す、サンプルを分析もしくは測定する、サンプルを定量化する、サンプルの分析／測定／定量の後に得られた結果を提供する、サンプルの分析／測定／定量の後に得られた結果を受け取る、1以上のサンプルの分析／測定／定量の後に得られた結果を比較／スコア化する、1以上のサンプルからの比較／スコアを提供する、1以上のサンプルからの比較／スコアを得る、治療剤を投与する(例えば、IL-13媒介性疾患または障害、例えば喘息、IPF、COPD、ADまたはUCなどを処置する治療剤)、治療を開始する、治療を終了する、治療を継続する、治療の実施を一時的に中断する、投与される治療剤の量を増加する、投与される治療剤の量を減らす、ある量の治療剤の投与を継続する、治療剤の投与頻度を増加する、治療剤の投与頻度を減らす、治療剤に対して同じ投与頻度を維持する、ある治療または治療剤を少なくとも別の治療または治療剤で置き換える、ある治療または治療剤と少なくとも別の治療または追加の治療剤とを組み合わせるといった行為を実施するか、または別の医療提供者もしくは患者に実行するように指示し得る。

【0096】

ある面において、医療給付提供者は、例えば、サンプルの採取、サンプルの処理、サンプルの提出、サンプルの受取、サンプルの移動、サンプルの分析または測定、サンプルの定量、サンプルの分析／測定／定量後に得られた結果の提供、サンプルの分析／測定／定量後に得られた結果の移行、1以上のサンプルの分析／測定／定量後に得られた結果の比較／スコア化、1以上のサンプルからの比較／スコアの移行、治療または治療剤の投与、治療または治療剤の投与の開始、治療または治療剤の投与の中断、治療または治療剤の投与の継続、治療または治療剤の投与の一時的中断、投与される治療剤の量の増加、投与される治療剤の量の減少、ある量の治療剤の投与の継続、治療剤の投与頻度の増加、治療剤

の投与頻度の減少、治療剤に対して同じ投与頻度を維持する、ある治療または治療剤を少なくとも別の治療または治療剤で置き換える、あるいはある治療または治療剤と少なくとも別の治療または追加の治療剤とを組み合わせることを、許可または拒否することができる。

【0097】

さらに、医療給付提供者は、例えば、治療の処方許可または却下し、治療の適用範囲を認可または拒否し、治療費の払戻しを認可または却下し、治療の適格性を決定または否定することなどを行うことができる。

【0098】

ある面において、臨床検査室は、例えば、サンプルを採取または入手する、サンプルを処理する、サンプルを提出する、サンプルを受け取る、サンプルを移す、サンプルを分析または測定する、サンプルを定量する、サンプルを分析／測定／定量後に得られた結果を提供する、サンプルを分析／測定／定量後に得られた結果を受け取る、1以上のサンプルを分析／測定／定量後に得られた結果を比較／スコア化する、1以上のサンプルからの比較／スコアを提供する、1以上のサンプルからの比較／スコアを得る、あるいは他の関連する行動をとることができる。

【0099】

バイオマーカーとしてのDPP-4

上昇したDPP-4レベルが、喘息、COPDおよびAD患者において観察されている（例えば、2014年1月27日出願の米国特許仮出願公開番号61/931,878；および、2014年5月9日出願の米国特許仮出願公開番号61/990,932を参照のこと、それぞれ引用により本明細書中にその全体を包含させる）。加えて、喘息患者の第2B相臨床試験において、高血清DPP-4レベルは、IL-13媒介性肺疾患もしくは障害（例えば、喘息、IPFまたはCOPD）またはIL-13媒介性慢性炎症性皮膚疾患もしくは障害（例えば、アトピー性皮膚炎）を含むIL-13媒介性疾患または障害の予測バイオマーカーとしてのDPP-4を同定するIL-13抗体アンタゴニスト（トラロキヌマブ）で処置した患者における改善された応答率を予測した。Brightling et al., Am J Respir Crit Care Med 189:A6670 (2014)；および2014年1月27日出願の米国特許仮出願公開番号61/931,878；および2014年5月9日出願の米国特許仮出願公開番号61/990,932を参照のこと、それぞれ引用によりその内容全体を本明細書中に包含させる。

【0100】

従って、喘息、IPF、COPD、ADおよびUC、ならびに他の炎症性疾患、肺疾患もしくは障害、または慢性炎症性皮膚疾患もしくは障害を有する患者における上昇したDPP-4レベルは、IL-13活性を中和する療法を含むが、これに限定されない、特定の療法の利益を受けることができる患者を同定するために使用することができる。患者のDPP-4レベルを測定するのに有用な、本明細書に記載の抗DPP-4抗体を使用する抗DPP-4抗体および免疫アッセイおよびキットが提供される。

【0101】

抗DPP-4抗体

本発明は、単離された抗DPP-4抗体およびその抗原結合フラグメントを提供する。特定の面において、本明細書に記載の抗DPP-4抗体および抗原結合フラグメントは、ヒトDPP-4に結合することができる。

【0102】

本発明は、特に、ヒトDPP-4に結合する、2つのマウスモノクローナル抗体および2つのラットモノクローナル抗体を提供する。これらの抗体は、標準的なハイブリドーマ技術によって産生され、これらの抗体を産生するハイブリドーマは、ブダペスト条約の規定により米国培養細胞系統保存機関（ATCC）（Manassas, Va）に2015年1月8日に寄託されている。マウス抗DPP-4抗体は、本明細書中、m3B7.6およびm5B7.7と記載され、およびラット抗DPP-4抗体は、本明細書中、R11A2.15お

よび R 1 1 A 9. 1 1 と記載される。また、これらの抗体の抗原結合フラグメント、変異体、および／または誘導体も提供される。また、同じエピトープに結合するか、または m 3 B 7. 6、m 5 B 7. 7、R 1 1 A 2. 1 5 および R 1 1 A 9. 1 1 の 1 以上を競合的に阻害することができる点で、これらの抗体に関連する抗体も提供される。マウスモノクローナル抗体 m 3 B 7. 6 は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として米国培養細胞系統保存機関 (A T C C) (Manassas, Va) に寄託されたハイブリドーマから産生され、マウスモノクローナル抗体 m 5 B 7. 7 は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生され、ラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2. 1 5 は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生され、そしてラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9. 1 1 は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生される。

10

【0103】

特定の面において、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体が提供され、ここで、該抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として米国培養細胞系統保存機関 (A T C C) に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7. 6、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7. 7、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2. 1 5、および／または寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9. 1 1 と同じ D P P - 4 エピトープに結合する。

20

【0104】

特定の面において、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体が提供され、ここで、該抗体は、D P P - 4、例えばヒト D P P - 4 への、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として米国培養細胞系統保存機関 (A T C C) に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7. 6、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7. 7、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2. 1 5、および／または寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9. 1 1 の結合を競合的に阻害する。例えば、モノクローナル抗体 m 3 B 7. 6 および m 5 B 7. 7 は、ヒト D P P - 4 への結合について互いに競合的に阻害することができ、そしてモノクローナル抗体 R 1 1 A 9. 1 1 および R 1 1 A 2. 1 5 は、ヒト D P P - 4 への結合について互いに競合的に阻害することができる。

30

【0105】

特定の面において、単離された抗 D P P - 4 抗体またはフラグメント、変異体もしくは誘導体が提供され、ここで該抗体は、3つの重鎖相補性決定領域 (C D R) V H C D R 1、V H C D R 2 および V H C D R 3 を有する重鎖可変ドメイン (V H)、ならびに3つの軽鎖 C D R V L C D R 1、V L C D R 2 および V L C D R 3 を有する軽鎖可変領域 (V L) を含み、該単離された抗体またはフラグメント、変異体もしくは誘導体の C D R は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として米国培養細胞系統保存機関 (A T C C) に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7. 6、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7. 7、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2. 1 5、および／または寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9. 1 1 の C D R と同一である。

40

【0106】

特定の面において、単離された抗 D P P - 4 抗体またはフラグメント、変異体もしくは

50

誘導体が提供され、ここで該抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として米国培養細胞系統保存機関 (A T C C) に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7 . 6、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7 . 7、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2 . 1 5、および／または寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9 . 1 1 の V H および V L と同一の V H および V L を含む。

【 0 1 0 7 】

当業者は、1 以上の寄託されたハイブリドーマから 1 以上の抗体を得ることにより、発現された抗体を単離、クローニングおよび配列決定して、過度の実験をすることなく、V H、V L および C D R 領域を決定することができる。

【 0 1 0 8 】

特定の面において、ハイブリドーマが提供され、ここで該ハイブリドーマは、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として米国培養細胞系統保存機関 (A T C C) に寄託されたハイブリドーマ、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマ、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマ、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマ、またはそれらの組合せである。

【 0 1 0 9 】

特定の面において、抗体産生細胞培養物が提供され、ここで該細胞培養物は、本明細書に記載の抗 D P P - 4 抗体またはフラグメント、変異体もしくは誘導体を発現するために使用され得る。特定の面において、細胞培養物は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として米国培養細胞系統保存機関 (A T C C) に寄託されたハイブリドーマ、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマ、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマ、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマ、またはそれらの組合せを含む。

【 0 1 1 0 】

本明細書に記載の抗 D P P - 4 抗体またはそのフラグメント、変異体もしくは誘導体は、さらなるポリペプチド、例えば、分泌を誘導するシグナルペプチドをさらに含み得る。さらに、本明細書に記載の抗 D P P - 4 抗体またはそのフラグメント、変異体もしくは誘導体は、例えば、本明細書に記載の融合ポリペプチド、F a b フラグメント、s c F v、または他の誘導体であり得る。

【 0 1 1 1 】

特定の面において、本発明により提供される抗 D P P - 4 抗体またはフラグメント、変異体もしくは誘導体は、融合タンパク質の一部であってよく、すなわち、該抗体またはその抗原結合フラグメントは、異種ポリペプチドに融合され得る。本明細書で用いる用語“異種ポリペプチド”は、ポリペプチドが、抗 D P P - 4 抗体またはフラグメント、変異体もしくは誘導体とは別の物質に由来することを意味する。限定しない例において、抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体に融合される“異種ポリペプチド”は、同じ種の非免疫グロブリンポリペプチド、または免疫グロブリンもしくは非免疫グロブリン異種ポリペプチドに由来し得る。ある面において、異種ポリペプチドは、例えば、安定化ポリペプチドペプチド、タグ、ラベルまたはそれらの組合せであり得る。

【 0 1 1 2 】

特定の面において、本発明で提供される抗 D P P - 4 抗体またはそのフラグメント、変異体もしくは誘導体は、異種アミノ酸配列、または抗体とは通常結合しない 1 以上の他の部分 (例えば、ペプチド、タンパク質、酵素、脂質、異種抗体またはフラグメント、変異体もしくは誘導体、検出可能なラベル、ポリエチレングリコール (P E G)、または該薬物の 2 以上の組合せ) を含み得る。さらなる面において、本発明で提供される抗 D P P - 4 抗体またはそのフラグメント、変異体もしくは誘導体は、酵素、蛍光標識、化学発光標

10

20

30

40

50

識、生物発光標識、放射性標識、または該検出可能な標識の2以上の組合せからなる群より選択される検出可能なラベルを含み得る。特定の面において、検出可能なラベルはビオチンであり、これは、例えば酵素、例えば西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）に結合したストレプトアビジンと相互作用し得る。特定の面において、検出可能なラベルはルテニウムキレートであり、これは、電流に暴露されると光を放出することができる。他の検出可能な標識は、当業者に周知である。

【0113】

本発明はまた、1以上の上記の抗DPP-4抗体またはそのフラグメントを含む組成物を提供する。特定の面において、組成物は、本明細書の他の箇所に記載される通り、“捕捉”抗体および“検出”抗体を含む。本発明で提供される組成物は、緩衝液、担体および防腐剤を含み得るが、これに限定されない。防腐剤、安定化剤、緩衝液、抗酸化剤および/または他の添加剤には、リン酸、クエン酸および他の有機酸などの緩衝液；アスコルビン酸およびメチオニンなどの抗酸化剤；塩化オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムなどの防腐剤；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム；塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチルまたはベンジルアルコール；アルキルパラベン、例えばメチルまたはプロピルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3'-ペンタノール；および、m-クレゾール；低分子量ポリペプチド；タンパク質、例えば血清アルブミン、ゼラチンまたは免疫グロブリン；親水性ポリマー、例えばポリビニルピロリドン；アミノ酸、例えばグリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニンまたはリシン；グルコース、マンノースまたはデキストリンを含む、単糖類、二糖類、および他の炭水化物；キレート剤、例えばEDTA；糖類、例えばスクロース、マンニトール、トレハロースまたはソルビトール；塩形成対イオン、例えばナトリウム；金属錯体（例えば、Zn-タンパク質複合体）；および/または、非イオン性界面活性剤、例えばTWEEN（商標）、PLURONIC（商標）、またはポリエチレングリコール（PEG）が含まれ得る。本明細書に記載の組成物は、本明細書の他の箇所に記載される通り、単一のバイアルまたは容器中で混合することができるか、または2つ以上のバイアルまたは容器で提供することができるか、もしくはキットの一部として提供することができる。

【0114】

ポリヌクレオチド類

本発明は、本明細書に記載の抗DPP-4抗体またはサブユニット（例えば、重鎖または軽鎖）、フラグメント、変異体もしくは誘導体をコードするポリヌクレオチドを提供する。特定の面において、単離されたポリヌクレオチドまたは2以上のポリヌクレオチドを含むポリヌクレオチド組成物が提供され、これは、本明細書に記載の抗DPP-4抗体またはサブユニット（例えば、重鎖または軽鎖）、フラグメント、変異体もしくは誘導体を、単独でまたは集合的にコードする。

【0115】

特定の面において、本発明は、抗DPP-4抗体またはサブユニット（例えば、重鎖または軽鎖）、フラグメント、変異体もしくは誘導体をコードする核酸を含む単離されたポリヌクレオチドを提供し、ここで、該抗体は、3つの重鎖相補性決定領域（CDR）VH CDR1、VH CDR2およびVH CDR3を有する重鎖可変ドメイン（VH）、ならびに3つの軽鎖CDR VL CDR1、VL CDR2およびVL CDR3を有する軽鎖可変領域（VL）を含み、該単離された抗体またはフラグメント、変異体もしくは誘導体のCDRは、寄託番号PTA-121870として米国培養細胞系統保存機関（ATCC）に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m3B7.6、寄託番号PTA-121871としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m5B7.7、寄託番号PTA-121872としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R11A2.15、および/または寄託番号PTA-121873としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R11A9.11のCDRと同一である。

【0116】

本発明はまた、抗 D P P - 4 抗体またはサブユニット（例えば、重鎖または軽鎖）、フラグメント、変異体もしくは誘導体をコードする核酸を含む単離されたポリヌクレオチドを提供し、ここで、該抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として米国培養細胞系統保存機関（A T C C）に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7 . 6、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7 . 7、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2 . 1 5、および／または寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9 . 1 1 の V H および V L と同一の V H および V L を含む。

10

【0117】

本発明は、本明細書に記載の抗 D P P - 4 抗体またはサブユニット（例えば、重鎖または軽鎖）、フラグメント、変異体もしくは誘導体を単独または集合的にコードする 2 以上のポリペプチドを含む組成物をさらに提供する。

【0118】

特定の面において、本明細書に記載の抗 D P P - 4 抗体またはサブユニット（例えば、重鎖または軽鎖）、フラグメント、変異体もしくは誘導体の提示、スクリーニング、単離、クローニングおよび／または発現を容易にするために、ベクター、または 2 以上のベクターが提供される。特定の面において、ベクターまたは複数のベクターは発現ベクターである。

20

【0119】

特定の面において、ポリヌクレオチド組成物の 2 以上の核酸分子は、同じベクター内に位置し得る。特定の面において、ポリヌクレオチド組成物の 2 以上の核酸分子は、少なくとも 2 つの別個のベクター内に位置し得る。

【0120】

発現ベクターは、本明細書に記載の抗 D P P - 4 抗体またはサブユニット（例えば、重鎖または軽鎖）、フラグメント、変異体もしくは誘導体をコードする、単離されたポリヌクレオチド（複数可）を発現するために使用される。組換え発現ベクターは、哺乳動物、微生物、ウイルスまたは昆虫遺伝子に由来する適切な転写または翻訳調節エレメントに作動可能に結合したトランスポーター分子のポリペプチド鎖をコードする合成または c D N A 由来の D N A フラグメントを有する、複製可能な D N A 構築物である。転写単位は、一般的に、以下に詳細に記載する通り、（1）遺伝子発現において調節的役割を有する遺伝子エレメント、例えば、転写プロモーターまたはエンハンサー、（2）m R N A に転写されてタンパク質に翻訳される構造的またはコード配列、および（3）適当な転写および翻訳開始および終結配列、の組合せを含む。このような調節エレメントは、転写を制御するオペレーター配列を含み得る。通常、複製起点によって与えられる宿主中で複製する能力、および形質転換体の認識を容易にする選択遺伝子を、さらに組み込むことができる。

30

【0121】

特定の面において、単離されたポリヌクレオチドまたは 2 以上の単離されたポリヌクレオチドを含む組成物が、プロモーターと作動可能に結合した核酸分子、または 2 以上のプロモーターと作動可能に結合した 2 以上の核酸分子を含んで提供され、ここで、該プロモーターは同じであっても異なってもよい。

40

【0122】

核酸領域は、それらが互いに機能的に関連しているとき、“作動可能に結合”している。例えば、シグナルペプチドの D N A（分泌リーダー）は、ポリペプチドの分泌に関与する前駆体として発現される場合、該ポリペプチドの D N A と作動可能に結合しているか；プロモーターは、配列の転写を制御する場合、コーディング配列と作動可能に結合しているか；または、リボソーム結合部位は、それが翻訳を可能にするように配置されている場合、コーディング配列と作動可能に結合している。

【0123】

50

発現制御配列および発現ベクターの選択は、宿主の選択によって変わり得る。多種多様な発現宿主／ベクターの組合せを用いることができる。真核生物宿主に有用な発現ベクターには、例えば、SV40、ウシ乳頭腫ウイルス、アデノウイルスおよびサイトメガロウイルス由来の発現制御配列を含むベクターが含まれる。細菌宿主に有用な発現ベクターには、公知の細菌プラスミド、例えばpCR1、pBR322、pMB9およびそれらの誘導体を含む大腸菌由来のプラスミド、より広い宿主範囲のプラスミド、例えばM13および糸状一本鎖DNAファージなどが含まれる。

【0124】

特定の面において、本明細書に記載のポリヌクレオチドを含む単離された宿主細胞が提供さえる。特定の面において、本発明で提供されるポリヌクレオチド組成物の2以上のポリヌクレオチドを含む1以上の単離された宿主細胞が提供される。

10

【0125】

本明細書で提供されるトランスポーター分子の発現に適する宿主細胞には、適当なプロモーターの制御下にある原核細胞、酵母細胞、昆虫細胞または高等真核細胞が含まれる。原核細胞には、グラム陰性菌またはグラム陽性菌、例えば大腸菌または桿菌が含まれる。高等真核細胞には、以下に記載されるような哺乳動物由来の樹立細胞株が含まれる。無細胞翻訳系を用いることもできる。抗体産生を含むタンパク質産生の方法に関するさらなる情報は、例えば、米国特許公開第2008/0187954号、米国特許第6,413,746号および同第6,660,501号、ならびに国際特許公開第WO04009823に見いだされ得て、それらの各々は、引用によりその内容全体が本明細書中に包含される。

20

【0126】

種々の哺乳動物または昆虫細胞培養系を用いて、本明細書で提供される抗DPP-4抗体またはサブユニット（例えば、重鎖または軽鎖）、フラグメント、変異体もしくは誘導体を発現させることもできる。好適な哺乳動物宿主細胞株の例としては、HEK-293およびHEK-293T、Gluzman (Cell 23:175, 1981)に記載のサル腎臓細胞のCOS-7系統、ならびに、例えば、L細胞、C127、3T3、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）、NS0、HeLaおよびBHK細胞株を含む他の細胞株が挙げられる。哺乳動物発現ベクターは、複製起点、発現されるべき遺伝子に作動可能に結合した適切なプロモーターおよびエンハンサー、ならびに他の5'または3'フランキング非転写配列、ならびに5'または3'非翻訳配列、例えばリボソーム結合部位、ポリアデニル化部位、スプライスドナー部位およびスプライスアクセプター部位、ならびに転写終結配列などの非転写エレメントを含み得る。昆虫細胞における異種タンパク質の産生のためのバキュロウイルス系は、Luckow and Summers, BioTechnology 6:47 (1988)に記載されている。

30

【0127】

本明細書で提供される宿主細胞は、本明細書で提供される抗DPP-4抗体またはサブユニット（例えば、重鎖または軽鎖）、フラグメント、変異体もしくは誘導体を作製する方法において利用され得て、ここで、該方法には、(a)宿主細胞を培養すること、および(b)該宿主細胞から発現される抗体、フラグメント、またはサブユニットを単離することが含まれる。

40

【0128】

DPP-4レベルを検出するためのアッセイ

本発明は、ヒトDPP-4上の複数の異なるエピトープを認識する、少なくとも1つ、例えば少なくとも2つの抗DPP-4抗体またはその抗原結合フラグメントを用いる免疫アッセイを用いて、サンプルをアッセイすることを含む、対象から得られたサンプル中のDPP-4レベルを測定する方法を提供する。この方法で使用するための抗体の例としては、本明細書に記載の、寄託番号PTA-121870としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m3B7.6、寄託番号PTA-121871としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクロー

50

ナル抗体m 5 B 7. 7、寄託番号P T A-1 2 1 8 7 2としてA T C Cに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R 1 1 A 2. 1 5、および／または寄託番号P T A-1 2 1 8 7 3としてA T C Cに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R 1 1 A 9. 1 1、ならびに／またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体の1以上が挙げられる。

【0129】

本方法は、対象から得られたサンプル中のD P P-4の検出のための特異的かつ高感度な免疫アッセイの使用を含む。サンプルは、本明細書で提供される少なくとも1つ、例えば少なくとも2つの本明細書に記載の抗D P P-4抗体、例えば寄託番号P T A-1 2 1 8 7 0としてA T C Cに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m 3 B 7. 6、寄託番号P T A-1 2 1 8 7 1としてA T C Cに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m 5 B 7. 7、寄託番号P T A-1 2 1 8 7 2としてA T C Cに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R 1 1 A 2. 1 5、および／または寄託番号P T A-1 2 1 8 7 3としてA T C Cに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R 1 1 A 9. 1 1、ならびに／またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体を使用する免疫アッセイでアッセイされる。

【0130】

例えば、本発明は、ヒトD P P-4上の複数の異なるエピトープを認識する、少なくとも1つ、例えば少なくとも2つの抗D P P-4抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体を用いる免疫アッセイにおいて該サンプルをアッセイすることを含む、対象から得られたサンプル中のD P P-4レベルを測定する方法を提供する。一面において、少なくとも2つの抗D P P-4抗体のうち1つは、寄託番号P T A-1 2 1 8 7 0として米国培養細胞系統保存機関（A T C C）に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m 3 B 7. 6または寄託番号P T A-1 2 1 8 7 1としてA T C Cに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m 5 B 7. 7と同じD P P-4エピトープに結合する、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体を含み、および少なくとも2つの抗D P P-4抗体のうち1つは、寄託番号P T A-1 2 1 8 7 2としてA T C Cに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R 1 1 A 2. 1 5、および／または寄託番号P T A-1 2 1 8 7 3としてA T C Cに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R 1 1 A 9. 1 1と同じD P P-4エピトープに結合する、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体を含む。

【0131】

別の面において、少なくとも2つの抗D P P-4抗体のうち1つは、寄託番号P T A-1 2 1 8 7 0としてA T C Cに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m 3 B 7. 6、および／または寄託番号P T A-1 2 1 8 7 1としてA T C Cに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m 5 B 7. 7のD P P-4への結合を競合的に阻害する、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体を含み；および、少なくとも2つの抗D P P-4抗体のうち1つは、寄託番号P T A-1 2 1 8 7 2としてA T C Cに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R 1 1 A 2. 1 5、および／または寄託番号P T A-1 2 1 8 7 3としてA T C Cに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R 1 1 A 9. 1 1のD P P-4への結合を競合的に阻害する、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体を含む。

【0132】

別の面において、2以上の抗D P P-4抗体のうち1つは、3つの重鎖相補性決定領域（C D R） V H C D R 1、V H C D R 2およびV H C D R 3を有する重鎖可変ドメイン（V H）、ならびに3つの軽鎖C D R V L C D R 1、V L C D R 2およびV L C D R 3を有する軽鎖可変領域（V L）を含む、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント

、変異体もしくは誘導体であって、ここで、該単離された抗体またはフラグメント、変異体もしくは誘導体のCDRは、寄託番号PTA-121870としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m3B7.6、および／または寄託番号PTA-121871としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m5B7.7のCDRと同一であり；および、2以上の抗DPP-4抗体のうち1つは、3つの重鎖相補性決定領域（CDR）VHCDR1、VHCDR2およびVHCDR3を有する重鎖可変ドメイン（VH）、ならびに3つの軽鎖CDR VLCDR1、VLCDR2およびVLCDR3を有する軽鎖可変領域（VL）を含む、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であって、ここで、該単離された抗体またはフラグメント、変異体もしくは誘導体のCDRは、寄託番号PTA-121872としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R11A2.15、および／または寄託番号PTA-121873としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R11A9.11のCDRと同一である。

10

【0133】

別の面において、2以上の抗DPP-4抗体のうち1つは、寄託番号PTA-121870としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m3B7.6、および／または寄託番号PTA-121871としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m5B7.7のVHおよびVLと同一のVHおよびVLを含む、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり；および、2以上の抗DPP-4抗体のうち1つは、寄託番号PTA-121872としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R11A2.15、および／または寄託番号PTA-121873としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R11A9.11のVHおよびVLと同一のVHおよびVLを含む、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である。

20

【0134】

これらの抗体またはそのフラグメントは、1以上の異種ポリペプチド、例えば、安定化ポリペプチドペプチド、タグ、ラベルまたはそれらの組合せに融合され得るか、または異種部分、例えば、ペプチド、タンパク質、酵素、脂質、異種抗体もしくはそのフラグメント、検出可能なラベル、ポリエチレングリコール（PEG）、または任意の2以上の薬物の組合せと結合されていてよい。特定の面において、抗体は、ビオチンまたはルテニウムキレートなどの検出可能なラベルを含む。他の検出可能な標識は、当業者によく知られており、本明細書に包含される。

30

【0135】

特定の面において、免疫アッセイは、サンドイッチ免疫アッセイ、例えば、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）またはサンドイッチ電気化学発光（ECL）アッセイを含み、ここで、第一の抗DPP-4“捕捉”抗体またはその抗原結合フラグメントは固体支持体に結合されており、サンプルまたは標準からの抗原は、捕捉抗体への結合が可能であり、次いで、第二の抗DPP-4“検出”抗体またはその抗原結合フラグメントを添加し、そして酵素反応、電気化学発光反応、放射能、または他の検出方法のいずれかによって検出される。

40

【0136】

特定の面において、免疫アッセイは、以下を含む：第一の捕捉抗体またはフラグメント、変異体もしくは誘導体を、固体支持体、例えば、当業者に知られているマルチウェルプレートまたは他のアッセイ装置に結合させる。捕捉抗体を、一定時間、例えば一晚結合させ、その後、結合していない抗体を除去する。次いで、プレートを洗浄して、結合していない捕捉抗体を除去する。次いで、プレートをブロッキング溶液で処理して、非特異的タンパク質を固体支持体の非結合領域に結合させる。一般的なブロッキング溶液には、無関係のタンパク質、例えば、脱脂粉乳または血清アルブミンが含まれる。次いで、プレート

50

を再度洗浄し、結合していないブロッキング溶液を除去する。次に、D P P - 4 を含むことが予期されるサンプルを該プレートに添加する。サンプルは一般的には、連続的に希釈され、デュプリケートまたはトリプリケートに播種される。標準量の D P P - 4 またはその好適なフラグメントおよび種々の陰性対照を含む対照もまた包含される。抗原を、一定時間、例えば室温で 1 時間、捕捉抗体に結合させる。その後、インキュベーション後にプレートを洗浄して、結合していない抗原を除去することができる。

【0137】

次に、検出抗体を添加する。検出抗体は、一般的に、捕捉抗体とは異なる D P P - 4 エピトープに結合する抗 D P P - 4 抗体である。検出抗体は、標識されていても、標識されていなくてもよい。検出抗体が標識されていない場合、標識された二次抗体を検出に用いることができ、このことは当業者に周知である。検出抗体は、酵素、例えば西洋ワサビペルオキシダーゼもしくはアルカリホスファターゼで直接標識することができるか、または酵素を結合させることができるタグで標識することができる。例えば、検出抗体はビオチンに結合させることができ、酵素結合ストレプトアビジンをビオチンタグに結合させることにより、次いで酵素を結合させることができる。あるいは、検出抗体は、化学発光性、蛍光性、または電気化学発光性のタグに結合され得る。後者の例はルテニウムキレートである。インキュベーション後、プレートを洗浄して、結合していない検出抗体を除去することができる。

【0138】

検出抗体の検出は、使用される検出抗体のタイプに基づいて変化し得る方法によって達成される。検出抗体がビオチンで標識されている場合、酵素結合ストレプトアビジンを添加し、結合していないストレプトアビジンを洗い流し、例えば分光光度計で読み取ることができる比色反応を提供する基質を添加する。検出抗体がルテニウムキレートに結合されている場合、プレートに電流を流し、発光を測定する。

【0139】

特定の面において、本方法は、患者サンプル中の D P P - 4 レベルを直接測定し、ここで、絶対レベルが、例えば精製された全長 D P P - 4 または D P P - 4 フラグメントを用いて標準曲線に免疫アッセイ結果をプロットすることにより、計算される。その後、検出抗体からの検出シグナルは、プレート上に含まれる種々の標準および対照に基づいて定量することができる。結果を標準曲線上にプロットすることにより、試験サンプル中の D P P - 4 の絶対レベルまたは量を、例えば、 ng/mL または pg D P P - 4/mL のタンパク質として計算することができる。

【0140】

本明細書で提供される免疫アッセイおよび方法の特定の面において、捕捉抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7 . 6 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体、あるいは寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7 . 7 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である。本明細書で提供される免疫アッセイおよび方法の特定の面において、検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2 . 1 5 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体、あるいは寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9 . 1 1 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である。

【0141】

本明細書で提供される免疫アッセイおよび方法の特定の面において、捕捉抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2 . 1 5 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体、あるいは寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9 . 1 1 またはその抗原結合

フラグメント、変異体もしくは誘導体である。本明細書で提供される免疫アッセイおよび方法の特定の面において、検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7 . 6 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体、あるいは寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7 . 7 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である。

【 0 1 4 2 】

本明細書で提供される免疫アッセイおよび方法の特定の面において、捕捉抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7 . 6 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、そして検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2 . 1 5 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である。本明細書で提供される免疫アッセイおよび方法の特定の面において、捕捉抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7 . 6 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、そして検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9 . 1 1 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である。

【 0 1 4 3 】

本明細書で提供される免疫アッセイおよび方法の特定の面において、捕捉抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7 . 7 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、そして検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 R 1 1 A 2 . 1 5 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である。本明細書で提供される免疫アッセイおよび方法の特定の面において、捕捉抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7 . 7 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、そして検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9 . 1 1 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である。

【 0 1 4 4 】

本明細書で提供される免疫アッセイおよび方法の特定の面において、捕捉抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2 . 1 5 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、そして検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7 . 6 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である。本明細書で提供される免疫アッセイおよび方法の特定の面において、捕捉抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2 . 1 5 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、そして検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7 . 7 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である。

【 0 1 4 5 】

本明細書で提供される免疫アッセイおよび方法の特定の面において、捕捉抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9 . 1 1 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、そして検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として A T C C に

10

20

30

40

50

寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m3B7.6またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である。本明細書で提供される免疫アッセイおよび方法の特定の面において、捕捉抗体は、寄託番号PTA-121873としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R11A9.11またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、そして検出抗体は、寄託番号PTA-121871としてATCCに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m5B7.7またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である。

【0146】

種々の対象サンプルを、本明細書に記載の方法において使用することができる。サンプルの限定しない例としては、全血、血清、血漿、唾液、喀痰、鼻ポリープ、鼻粘液、気管支肺胞洗浄液、皮膚細胞または肺組織、例えば、肺上皮細胞の1以上が挙げられる。特定の面において、サンプルは、血清サンプル、皮膚細胞または肺組織である。

【0147】

特定の面において、本明細書に記載の方法は、DPP-4アッセイの結果および／または少なくとも一部DPP-4レベルに基づく診断結果を対象に通知することを含む。患者は、口頭で、書面で、および／または電子的に通知され得る。この診断はまた、患者の診療記録 (medical record) に記録することもできる。

【0148】

用語“診療記録”または“患者の診療記録”とは、一般的に以下の項目の1以上を含む、患者の検査および／または処置の結果を意味する：患者の病歴および合併症、医師の身体所見、診断検査および処置の結果、ならびに患者の投薬および治療処置。診療記録は、一般的に、1名以上の医師および／またはフィジカルアシスタントによって作成され、それは、治療および／または接種を必要とする種々の疾患もしくは傷害の記録および／または病歴、および／またはアレルギーの記録および／または病歴、および／または処置の記録および／または履歴、および／または予後の記録および／または履歴、および／または親、兄弟姉妹および／または職業に関する継続的な健康情報の記録および／または履歴の書面、転記または他の記録である。記録は、場合によっては、病状を診断する際に医師によって再検討され得る。

【0149】

診療記録は、紙形態であってよく、および／またはコンピュータ可読媒体に保持されてもよい。診療記録は、研究室、医局、病院、保健管理組織、保険会社、および／または個人の医療記録ウェブサイトによって維持することができる。いくつかの面において、DPP-4レベルに少なくとも一部基づく診断は、カード、着用装具 (worn article)、および／または無線周波数識別 (RFID) タグなどの医療用警告装具上またはその中に記録される。本明細書で用いる用語“着用装具”は、タグ、ブレスレット、ネックレス、アームバンド、またはヘッドバンドを含むが、これに限定されない、対象の身体に着用することができる物品を意味する。

【0150】

特定の面において、本方法は、1以上のさらなるアッセイの順位付けおよび／または実施を伴い得る。例えば、DPP-4レベルが正常範囲にある（すなわち、上昇していない）と判定された場合、DPP-4アッセイは、偽陰性の結果を除外するために繰り返されてよく、および／または1以上のさらなるDPP-4アッセイを、対象の状態を観測するために行うことができる。DPP-4レベルが上昇していると判定された場合、偽陽性の結果を除外するためにDPP-4アッセイを繰り返すことが望ましい場合がある。

【0151】

DPP-4検出法、アッセイおよびキット

本発明は、サンプル中のDPP-4レベルまたはDPP-4の量の測定または分析を容易にする方法、アッセイおよびキットを提供する。いくつかの面において、本明細書に記載の方法、アッセイおよびキットは、対象由来のサンプル中のDPP-4レベルまたはD

10

20

30

40

50

P P-4 の量を決定するために、医療提供者、医療給付提供者、または臨床検査室により実施または使用される。

【0152】

特定の面において、免疫アッセイは、患者から得られたサンプルで、患者を処置する医療専門家によって、例えば“処置現場用”診断キットとして処方された本明細書に記載の免疫アッセイを用いて実施される。いくつかの面において、サンプルは患者から得られ、例えば、本明細書に記載の免疫アッセイを用いて、医療従事者の指示に従ってサンプル中のD P P-4 レベルを測定するために、例えば臨床検査室に提出される。

【0153】

特定の面において、I L-13 媒介性疾患または障害を有するか、または有すると予期される患者は、肺疾患もしくは障害、炎症性腸疾患もしくは障害、または慢性炎症性皮膚状態と診断されている。特定の面において、I L-13 媒介性病状を有するか、または有すると予期される疾患または障害は、喘息、特発性肺線維症（I P F）、慢性閉塞性肺疾患（C O P D）、潰瘍性大腸炎（U C）、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、または慢性鼻副鼻腔炎である。

【0154】

本発明はまた、本明細書に記載の免疫アッセイの実施における使用のためのキットを提供する。かかるキットは、例えば1以上の抗D P P-4 抗体を含む、方法において利用される1以上の種々の試薬を（例えば、濃縮された形態で）それぞれ有する容器が組み込まれていてよい。1以上の抗D P P-4 抗体、例えば捕捉抗体は、既に固体支持体に結合されて提供され得て、そして1以上の抗体、例えば検出抗体は、事前に検出可能なラベル、例えばビオチンまたはルテニウムキレートに結合されて提供され得る。キットはまた、本明細書で提供されるアッセイの実施を支持するために、検出可能なラベル（ならびに、標識自体）を抗体にカップリングさせるための試薬、緩衝液、および／または試薬ならびに装置を提供することもできる。特定の面において、検出抗体に結合する標識された二次抗体が提供される。本明細書に記載のキットはさらに、本明細書に記載されるアッセイを実施するのに必要な適切な容器、プレートおよび他の試薬または材料をさらに含み得る。

【0155】

サンプル中のD P P-4 レベルを測定するためのキットは、本明細書に記載の抗D P P-4 抗体またはそのフラグメントの1以上、例えば、寄託番号P T A-1 2 1 8 7 0として米国培養細胞系統保存機関（A T C C）に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m 3 B 7. 6、寄託番号P T A-1 2 1 8 7 1としてA T C Cに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m 5 B 7. 7、寄託番号P T A-1 2 1 8 7 2としてA T C Cに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R 1 1 A 2. 1 5、および／または寄託番号P T A-1 2 1 8 7 3としてA T C Cに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R 1 1 A 9. 1 1、および／またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体、あるいは本明細書にそれも記載される関連する抗体またはその抗原結合フラグメントを含んでいてよい。

【0156】

特定の面において、本明細書に記載のキットは、2つの単離された抗体またはその抗原結合フラグメント、捕捉抗体および検出抗体を含む。特定の面において、捕捉抗体は、寄託番号P T A-1 2 1 8 7 0としてA T C Cに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m 3 B 7. 6、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体、あるいは寄託番号P T A-1 2 1 8 7 1としてA T C Cに寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体m 5 B 7. 7、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、および検出抗体は、寄託番号P T A-1 2 1 8 7 2としてA T C Cに寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体R 1 1 A 2. 1 5、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体、あるいは寄託番号P T A-1 2 1 8 7 3としてA T C Cに寄託されたハイブリドーマから産生

されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9. 1 1、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である。

【0157】

特定の面において、捕捉抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2. 1 5 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体、あるいは寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9. 1 1 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、および検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7. 6、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体、あるいは寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7. 7 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である。

10

【0158】

本明細書で提供されるキットの特定の面において、捕捉抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7. 6、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、および検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2. 1 5、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である。本明細書で提供されるキットの特定の面において、捕捉抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7. 6 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、および検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9. 1 1 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である。

20

【0159】

本明細書で提供されるキットの特定の面において、捕捉抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7. 7 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、および検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 R 1 1 A 2. 1 5 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である。本明細書で提供されるキットの特定の面において、捕捉抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7. 7 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、および検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9. 1 1 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である。

30

【0160】

本明細書で提供されるキットの特定の面において、捕捉抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2. 1 5 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、そして検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7. 6 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である。本明細書で提供されるキットの特定の面において、捕捉抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2. 1 5 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、そして検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7. 7 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である。

40

【0161】

50

本明細書で提供されるキットの特定の面において、捕捉抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9 . 1 1 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、そして検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7 . 6 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である。本明細書で提供されるキットの特定の面において、捕捉抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9 . 1 1 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体であり、そして検出抗体は、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7 . 7 またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体である。

10

【0162】

特定の面において、検出抗体は、検出可能に標識されている。特定の面において、検出可能なラベルはビオチンであり、検出試薬は、ストレプトアビジン-西洋ワサビペルオキシダーゼ (H R P) 複合体および H R P のための発色基質を含む。特定の面において、検出可能なラベルはルテニウムキレートである。本明細書の他の箇所に記載される他の抗体、標識および試薬もまた、本明細書に記載のキットで 사용할 ことができる。

【0163】

特定の面において、本発明は、少なくとも 1 つの、例えば少なくとも 2 つの抗 D P P - 4 抗体またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体、例えば、本明細書に記載の、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 0 として米国培養細胞系統保存機関 (A T C C) に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 3 B 7 . 6、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 1 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるマウスモノクローナル抗体 m 5 B 7 . 7、寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 2 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 2 . 1 5、および/または寄託番号 P T A - 1 2 1 8 7 3 として A T C C に寄託されたハイブリドーマから産生されるラットモノクローナル抗体 R 1 1 A 9 . 1 1、またはその抗原結合フラグメント、変異体もしくは誘導体、あるいは本明細書にそれも記載される関連する抗体またはその抗原結合フラグメント、の使用を含む、1 以上のサンプル中の D P P - 4 レベルを検出するための免疫アッセイを提供する。

20

30

【0164】

特定の面において、本明細書に記載の免疫アッセイは、固体支持体に結合した第一の抗 D P P - 4 “捕捉” 抗体またはその抗原結合フラグメント、ならびに第二の抗 D P P - 4 “検出” 抗体またはその抗原結合フラグメントを含む、サンドイッチ免疫アッセイ、例えば E L I S A アッセイまたは E C L アッセイである。免疫アッセイは、本明細書で提供される方法または当業者に周知かつ理解される方法で実施される。一面において、免疫アッセイは、固体支持体に捕捉抗体またはそのフラグメント、変異体もしくは誘導体を結合させること；サンプル中に D P P - 4 が存在する場合、試験サンプルまたは対照サンプルを適用して、D P P - 4 が捕捉抗体またはそのフラグメント、変異体もしくは誘導体に結合するのを可能にすること；捕捉抗体またはそのフラグメント、変異体もしくは誘導体に既に結合した D P P - 4 への結合を可能にするのに、検出抗体またはそのフラグメントを適用すること；および、D P P - 4 に結合した検出抗体またはそのフラグメント、変異体もしくは誘導体の量を測定することを含み得る。特定の面において、アッセイは、洗浄工程、ブロッキング工程およびインキュベーション工程をさらに含み得る。

40

【0165】

特定の面において、検出抗体またはフラグメント、変異体もしくは誘導体は、検出可能なラベル、例えば、ビオチンまたはルテニウムキレートをさらに含む。

【0166】

本発明の複数の面は、本発明の特定の抗体の詳細な調製および本発明の抗体を使用するための方法を記載する、以下の限定を意図しない例示を参照することにより、さらに定義

50

され得る。本明細書の記載の範囲から逸脱することなく、材料および方法の両方に対する改変が行われ得ることは、当業者には明らかである。

【実施例】

【0167】

実施例

実施例1：ヒトDPP-4に特異的なラットおよびマウスモノクローナル抗体の作製および特性化

ヒトDPP-4に特異的なマウスおよびラットモノクローナル抗体を、以下の方法により作製した。動物を、反復性複数部位免疫化 (Repetitive Immunization at Multiple Sites) (RIMMS) プロトコル (Kilpatrick, K., et al., Hybridoma 16:381-389 (2009)) を用いて免疫化した。要するに、5匹のBalb/cマウスおよび2匹のWistarラット(全て4-6週齢)に、各投与日に、完全フロイントアジュバント (Sigma) (1回目は、その後の免疫化のために不完全フロイントアジュバントが続く) に混合したr-ヒトDPP-4-His (R&D Systems Catalog No. 1180) を6か所の背側部位に注射し、TiterMax (Sigma) アジュバントに混合した抗原を6か所の腹部側部位に皮下注射した。合計で、各動物に図1に示すように12か所注射した。13日目に採血し、免疫化前の血清および免疫化した血清の両方を、ELISAプレートに結合させたDPP-4 (r-DPP-4-His、R&D Systemsカタログ番号1180) および陰性対照糖タンパク質130 (r-gp130-His) を用いた直接結合ELISAによって試験した。高結合ELISAプレートのウェルを、50 μ Lの、PBS中r-ヒトDPP-4-Hisまたはgp130-Hisの2 μ g/mL溶液で、4°Cにて一晚、コーティングした。その後、プレートを200 μ L/ウェルの洗浄緩衝液 (PBS/0.1% TWEEN-20 (登録商標)) で3回洗浄した。洗浄後、150 μ L/ウェルのブロッキング緩衝液 (PBS/3%脱脂粉乳/0.1% TWEEN-20 (登録商標)) を各ウェルに添加し、プレートを室温にて1時間インキュベートした。その後、プレートを上記のように3回洗浄した。

【0168】

試験前および試験後の血清を、PBS、pH7.2緩衝液で、最初1:100希釈から最終1:218, 600希釈まで、連続希釈した。50 μ Lの各希釈サンプルをプレートに添加し、室温にて1時間インキュベートした。プレートを上記のように3回洗浄した。洗浄後、50 μ Lの検出抗体を各ウェルに添加した。マウス群については、PBSで1:8000希釈したロバ抗マウス (H+L) :HRP (Jackson ImmunoResearch, カタログ番号715-035-151) を使用した。ラット群については、PBSで1:8000希釈したロバ抗ラット (H+L) :HRP (Jackson ImmunoResearch, カタログ番号715-035-153) を使用した。プレートを室温にて1時間インキュベートした。その後、プレートを3回洗浄し、予め室温に温めた50 μ L/ウェルのTMB基質 (KPL、カタログ番号52-00-04) を添加した。プレートを、室温にて、暗所で10分間インキュベートし、50 μ Lの停止溶液 (1M HCl) を各ウェルに添加した。プレートを $\lambda = 450$ nmで分光光度計で読み取った。

【0169】

免疫化前の血清および免疫化後の血清のDPP-4に対する抗体価を図2に示す。16日目および19日目に、ロバストな血清力価を示すラットおよびマウスからリンパ節を取り出し、以下のようにハイブリドーマを作製した。19日目に、動物からリンパ節を取り出し、リンパ球細胞をリンパ系組織から抽出して、70 μ m細胞ストレイナーでろ過した。抗原特異的B細胞を、製造者が推奨するプロトコルを用いて、MACS、ストレプトアビジンマイクロビーズ (Miltenyi Biotec Catalog # 130-048-101) を用いることにより単離した。その後、DPP-4特異的B細胞を、PEG (Roche) 融合法に従って1:1の比でミエローマP3x/63Ag8.653細胞と融合させた。融合細胞を、 2.5×10^4 B細胞/ウェルの密度で、1 $\times$ HATを添加したハイブリドーマ増殖培地 (Ex-Cell 1610+10%Hi-FBS+1%ペニシリン-ストレプトマイシン+1

×BM-馴化H1ハイブリドーマクローニング補充液)中に播種した。融合の7日後、HAT含有培地を、1×HTを添加した増殖培地と交換した。

【0170】

ハイブリドーマ上清を、ヒトDPP-4に結合する抗体についてスクリーニングし、4つのハイブリドーマにより産生された抗体：マウスモノクローナル抗体m3B7.6 (IgG1/κ)、マウスモノクローナル抗体m5B7.7 (IgG1/κ)、ラットモノクローナル抗体R11A2.15 (IgG2a/κ)、およびラットモノクローナル抗体R11A9.11 (IgG2a/κ)を、さらなる試験のために選択した。これらの4つのモノクローナル抗体を発現するハイブリドーマ細胞株は、ブダペスト条約の規定により、2015年1月5日に、寄託番号PTA-121870 (m3B7.6)、寄託番号PTA-121871 (m5B7.7)、寄託番号PTA-121872 (R11A2.15)、および寄託番号PTA-121873 (R11A9.11)として米国培養細胞系統保存機関(ATCC)に寄託されている。

10

【0171】

実施例2：DPP-4を検出するためのサンドイッチELISAアッセイ

材料および方法

A. HRP検出システムを用いたDPP-4サンドイッチELISAプロトコル

HRPベースのサンドイッチELISAアッセイを以下のように行った。抗DPP-4捕捉抗体、試験すべきサンプル、および抗DPP-4検出抗体などの具体的な詳細は、種々の例における特定の試験について記載されている。標準的ELISAプロトコルに対する変形は、当業者によく知られており、本明細書の記載に従って使用可能である。

20

【0172】

高結合ELISAプレートを、抗DPP-4捕捉mAb、例えば、m3B7.6またはm5B7.7 (PBS中5 μg/mL; 50 μL/well)でコーティングし、4℃で一晩インキュベートした。プレートを200 μL/ウェルの洗浄緩衝液 (PBS/0.1% Tween-20 (登録商標))で3回洗浄した。洗浄後、150 μL/ウェルのブロッキング緩衝液 (PBS/3% 脱脂粉乳/0.1% Tween-20 (登録商標))を各ウェルに添加し、プレートを室温で1時間インキュベートした。その後、プレートを上記の通り3回洗浄した。

【0173】

標準曲線については、DPP-4標準 (例えば、R & D Systemsから入手可能な標準、カタログ番号1180-SE)を、PBS、pH 7.2緩衝液または1%正常ヒト血清で連続希釈し、例えば、500 ng/mLから0.49 ng/mLに2倍希釈した。50マイクロリットル (50 μL)の各標準サンプルまたは希釈サンプルをプレートに添加し、該プレートを室温にて1時間インキュベートした。再度、プレートを上記の通り3回洗浄した。洗浄後、50 μLの検出mAb R11A2.15、R11A9.11または222113.11 (2 μg/mL濃度)を各ウェルに添加し、プレートを室温にて1時間インキュベートした。再度、プレートを上記の通り3回洗浄した。洗浄後、PBSで1:8, 000に希釈した50 μLのロバ抗Rat (H+L)-HRP複合体 (Jackson ImmunoResearch カタログ番号 712-035-153)を各ウェルに添加し、プレートを室温にて1時間インキュベートした。再度、プレートを上記の通り3回洗浄した。洗浄後、予め室温に温めた50 μL/wellのTMB基質 (KPL, Catalog No. 52-00-04)を添加し、プレートを室温にて暗所で10分間インキュベートし、50 μLのTMB停止溶液 (1M HCl)を各ウェルに添加した。最後に、プレートをλ = 450 nmで分光光度計で読み取った。

30

40

【0174】

結果

マウスm3B7.6およびm5B7.7を捕捉抗体として用いた結果を図3Aおよび図3Bにそれぞれ示す。2つのマウスおよび2つのラットmAb (mAb R11A2.15またはR11A9.11)は、同様の検出限界 (LOD)を有するヒトCD26に対

50

する4つの異なる検出剤のペアを形成し、サンドイッチELISAアッセイでのヒトDPP-4の測定における高感度を提供した。これに対して、市販のラットmAb (R222113) (ヒトDPP-4/CD26 mAb (クローン222113)、R&D SystemsのラットIgG2A カタログ番号MAB1180) は、ヒトCD26を検出せず、2つのマウスmAb m3B7.6およびm5B7.7が対となる時、サンドイッチELISAアッセイでのヒトDPP-4の測定において感度が顕著に低かった。図3A-Bを参照のこと。これらの結果は、本発明の抗体 (m3B7.6、m5B7.7、R11A2.15およびR11A9.11) が、市販のラット抗体R222113と比べて免疫アッセイにおけるヒトCD26の検出に優れていることを実証する。加えて、本発明の抗体 (m3B7.6、m5B7.7、R11A2.15およびR11A9.11) は、内因性および組換えヒトCD26の両方を検出し、診断試薬としても有用である。

10

【0175】

図3に示す通り、m3B7.6+R11A2.15、m3B7.6+R11A9.11、m5B7.7+R11A2.15および/またはm5B7.7+R11A9.11は、サンドイッチELISAアッセイでのヒトDPP-4の測定に有効である。加えて、ペアの選択に関わらず、試験におけるDPP-4の血清濃度は、1-2 µg/mlの間であった。

【0176】

実施例3：OCTETを用いる抗DPP-4 mAb エピトープベニング

4つの抗DPP-4抗体 (m3B7.6、m5B7.7、R11A2.15およびR11A9.11) についてのエピトープベニングを、OCTETにより行った。試験抗体をビオチニル化し、20 µg/mlの濃度のストレプトアビジンバイオセンサー上で、200 µl/ウェルで5分間、捕捉し、その後、200 µlのPBS緩衝液で1分間洗浄した。次いで、該バイオセンサーを、10 µg/mlの組換えヒトDPP-4と共に5分間インキュベートし、200 µlのPBS緩衝液で1分間洗浄した。競合抗体を、終濃度20 µg/mlで試験抗体と1:1比で混合して、バイオセンサーと共に200 µlで5分間インキュベートした。

20

【0177】

アッセイの概略を図4Aに示し、試験抗体としての4つの抗体 (m3B7.6、m5B7.7、R11A2.15およびR11A9.11) の結果を図4B-Eにそれぞれ示す。結果は、マウスモノクローナル抗体m3B7.6とm5B7.7が互いに競合し、ラットモノクローナル抗体R11A2.15とR11A9.11が互いに競合することを実証した。マウス抗体はラット抗体と競合せず、従って、エピトープを共有しない。このデータに基づき、本発明者らは、2つのマウス抗体 (m3B7.6およびm5B7.7) が、同じか、または重複するエピトープを共有し、一方で、2つのラット抗体 (R11A2.15およびR11A9.11) が、マウス抗体によって共有されるエピトープとは異なる、エピトープまたは重複するエピトープを共有するという結論を出した。

30

【0178】

特定の面に関する上記の説明は、本明細書に記載の一般的な概念から逸脱することなく、過度の実験をすることなく、そのような特定の面を種々の用途に容易に改変および/または適合させることができる開示の一般的性質を完全に明らかにし得る。従って、そのような適合および改変は、本明細書に記載の教示および示唆に基づいて、開示された面の均等物の意味および範囲内にあることが意図される。本明細書の表現または用語は、本明細書の用語または表現が教示および示唆に照らして当業者によって解釈されるように、説明を目的とし、限定のためではないことが理解されるべきである。

40

【0179】

本発明の幅および範囲は、上記の例示的な面のいずれによっても限定されるべきではなく、添付の特許請求の範囲およびそれらの均等物によってのみ規定されるべきである。

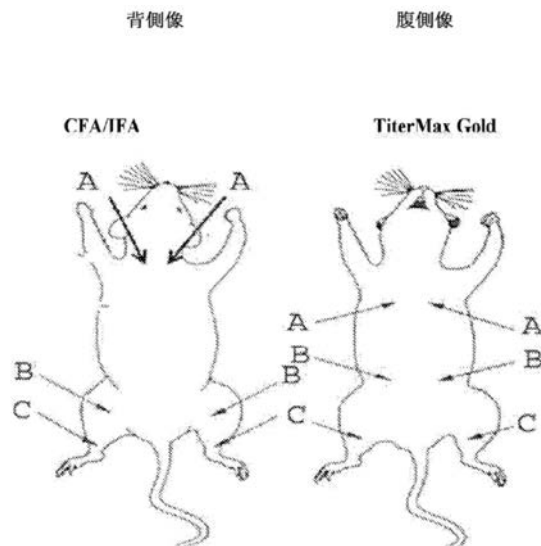
【0180】

本願に引用される全ての刊行物、特許、特許出願、および/または他の文書は、本願に

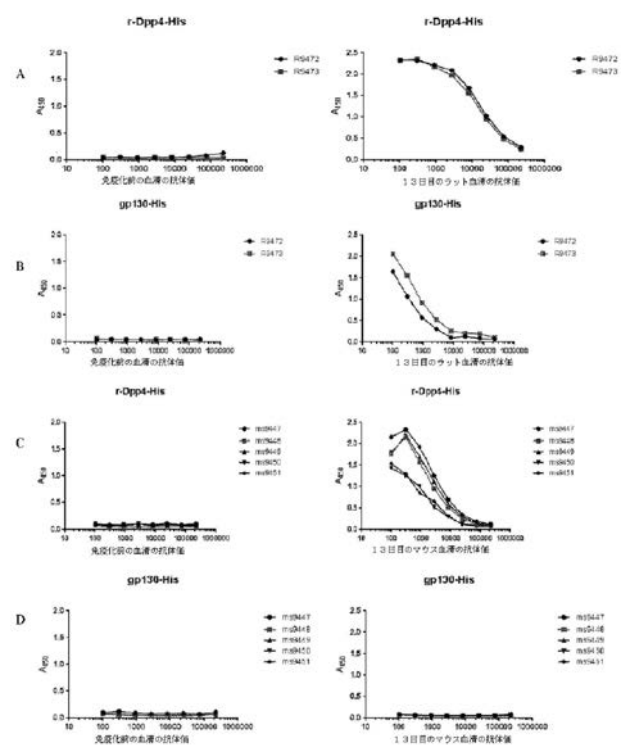
50

引用される全ての刊行物、特許、特許出願、および／または他の文書は、各個々の刊行物、特許、特許出願および／または他の文書が、すべての目的のために引用により組み込まれることが個別に示されている場合と同じ程度に、すべての目的のために引用によりその内容全体が包含される。

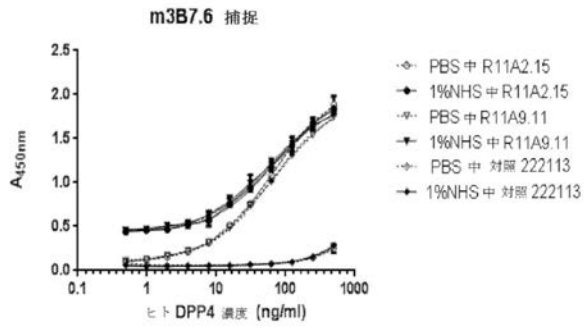
【図 1】



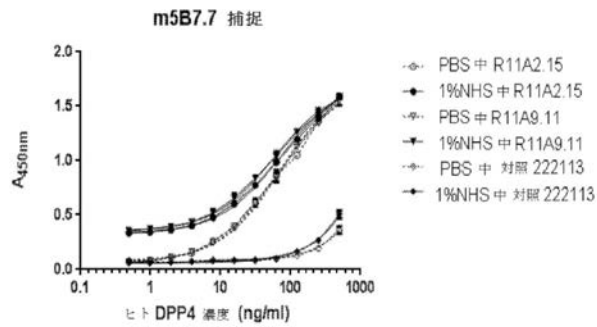
【図 2】



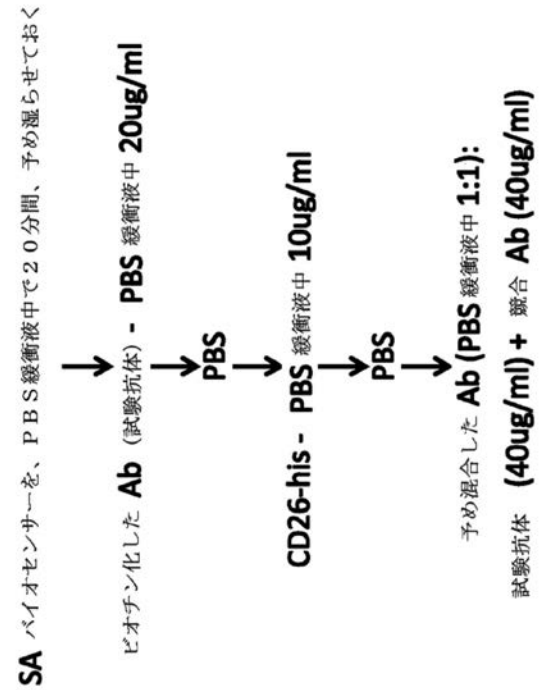
【図 3 A】



【図 3 B】



【図 4 A】



【図 4 B】

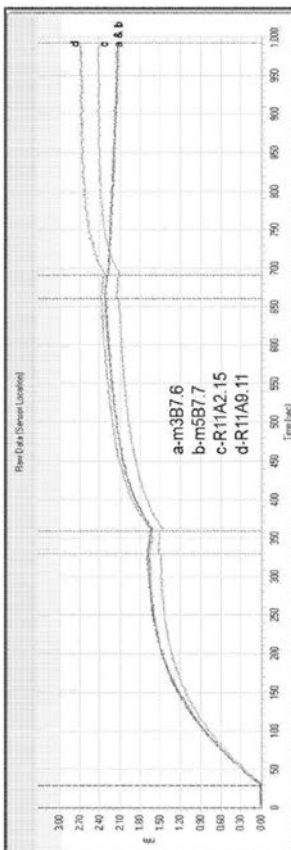


FIG. 4B

【図 4 C】

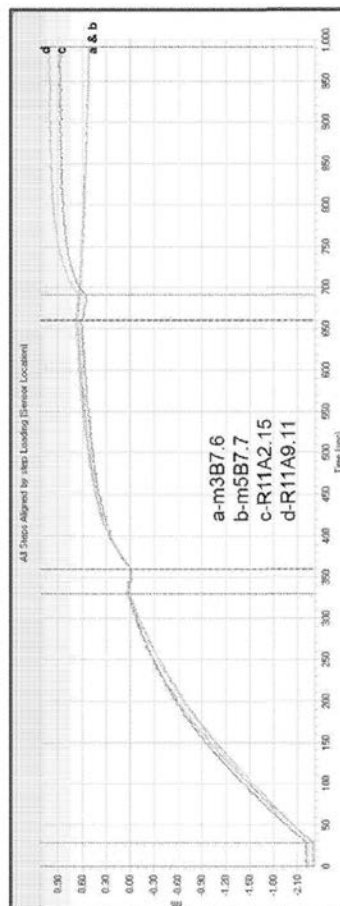


FIG. 4C

【図 4 D】

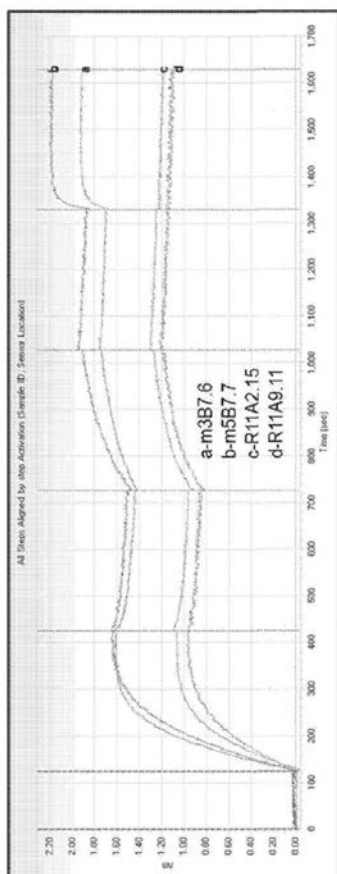


FIG. 4D

【図 4 E】

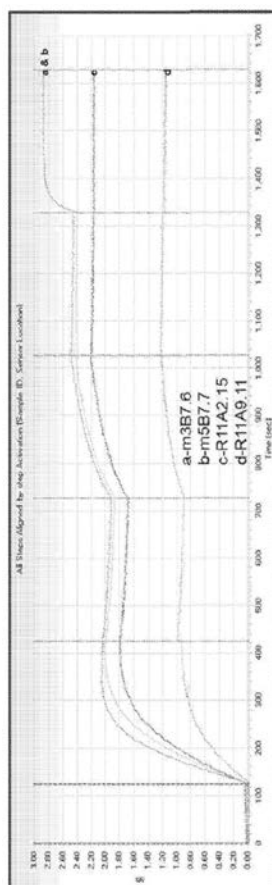


FIG. 4E

【配列表】

2018502577000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 16/12603

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - A61K 39/395, A61P 35/00, C07K 16/28, C12N 1/15, C12N 1/19, C12N 1/21, C12N 15/13 (2016.01)

CPC - A61K 47/48561, C07K 14/70596, C07K 16/2896, C12Y 304/14005, C12N 9/48, C12N 9/6424

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) - A61K 39/395, A61P 35/00, C07K 16/28, C12N 1/15, C12N 1/19, C12N 1/21, C12N 15/13 (2016.01)

CPC - A61K 47/48561, C07K 14/70596, C07K 16/2896, C12Y 304/14005, C12N 9/48, C12N 9/6424

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

IPC(8) - C12N 15/63, C12P 21/08 (2018.01); CPC - C12N 9/6491, C07K 16/40, A61K 2039/505

USPC- 530/387.3, 435/332, 530/388.2

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

PubWEST(PGPB,USPT,USOC,EPAB,JPAB); PatBase, Google/Scholar: human DPP4, ADABP, ADCP2, ADCP-2, Adenosine deaminase complexing protein 2, CD26, Dipeptidyl peptidase 4, Dipeptidyl peptidase IV, DPPIV, DPP IV, M3B7.6, m5B7.7, R11A2.15, R11A9.11, capture antibody, detection antibody, sandwich immunoassay....

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Hatano, et al. Establishment of monoclonal anti-human CD26 antibodies suitable for immunostaining of formalin-fixed tissue. Diagn Pathol. 2014, 9:30; pg 3	1-7, 31-33
A	US 7,250,492 B2 (Chen) 31 July 2007 (31.07.2007) col 9, ln 23-30; col 12, ln 63-67	1-7, 31-33

☐ 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

25 June 2016

Date of mailing of the international search report

29 JUL 2016

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. 571-273-8300

Authorized officer:

Lee W. Young

PCT Helpdesk: 571-272-4300
 PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 18/12803

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 8-30, 34-51
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.

***** See Supplemental Sheet to continue *****

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.: 1-7, 31-33, restricted to m3B7.6 and R11A2.15 monoclonal antibodies

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 16/12603

***** Supplemental Sheet *****

In Continuation of Box III. Observations where unity of invention is lacking:

Group I+: claims 1-7, 31-33, directed to an anti-DDP-4 antibody, a hybridoma producing said antibody, and a method for detecting DDP-4 in a sample. The anti-DDP-4 antibody, hybridoma producing said antibody, and a method for detecting DDP-4 in a sample will be searched to the extent that they encompass m3B7.6 monoclonal antibody produced from a mouse hybridoma, ATCC Deposit No. PTA-121870 and R11A2.15 MAB produced from a rat hybridoma, ATCC Deposit No. PTA-121872. It is believed that claims 1-7, 31-33 encompass this first named invention, and thus these claims will be searched without fee to the extent that they encompass a mouse MAB m3B7.6 produced from a hybridoma, ATCC Deposit No. PTA-121870 and a rat MAB R11A2.15 produced from a hybridoma, ATCC Deposit No. PTA-121872, hybridomas producing said antibodies, and a method for detecting DDP-4 in a sample utilizing said antibodies. Additional mouse and/or rat MAB(s), hybridomas producing thereof, and a method utilizing thereof will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected mouse and/or rat MAB(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. An exemplary election would be a mouse MAB m5B7.7, rat MAB R11A9.11, hybridoma cells ATCC Deposit No. PTA-121871 and No. PTA-121873, and a method for detecting DDP-4 in a sample utilizing mouse MAB m5B7.7 and rat MAB R11A9.11, i.e., claims 1-7, 31-33.

The inventions listed as Group I+ 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:

Special Technical Features

The special technical feature of each invention of Group I+ is a specific mouse anti-DDP-4 MAB and a specific rat anti-DDP-4 MAB.

Common Technical Features

Some inventions of Group I+ share the technical feature of a mouse anti-DDP-4 MAB and a hybridoma cells producing thereof. However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art as being anticipated by a paper titled "Establishment of monoclonal anti-human CD26 antibodies suitable for immunostaining of formalin-fixed tissue" by Hatano, et al. (Diagn Pathol. 2014, 9:30) (hereinafter "Hatano"). Hatano discloses a mouse anti-DDP-4 MAB (pg 3, col 1, "mouse anti-human CD26 mAbs, murine anti-human CD26 mAbs (clone 4G8, 1F7, 14D10, 5F8, 16D4B or 9C11)", NOTE: CD26 is synonymous with DDP-4 (see instant specification, para [0065], "The term "DPP-4" as used herein refers to the dipeptidyl peptidase IV protein... DPP-4 is also known as DPP-IV, adenosine deaminase complexing protein 2, or CD26 (cluster of differentiation 26)"; and Hatano, pg 1, para 1, "CD26 is a 110-kDa type II membrane-bound glycoprotein with dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) activity in its extra cellular domain") and a hybridoma cells producing thereof (pg 3, col 2, "Development of hybridomas and monoclonal anti-human CD26 antibodies"). As said technical feature was known in the art at the time of the invention, this cannot be considered special technical feature that would otherwise unify the groups.

Some inventions of Group I+ share the technical feature of a rat anti-DDP-4 MAB and a hybridoma cells producing thereof. However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art as being anticipated by US 7,250,492 B2 (Chen) (31 July 2007).

Chen discloses an anti-DDP-4 MAB (col 9, In 23-30, "mono specific antibodies which specifically bind an epitope of a human DPP-IV (dipeptidyl peptidase IV/CD26) ... the anti-DPP-IV antibodies E19 or E26"), and a hybridoma cells producing thereof (col 12, In 63-67, "The rat hybridoma that produces monoclonal antibody E26 was deposited... and assigned patent deposit accession number PTA-3377"). As said technical feature was known in the art at the time of the invention, this cannot be considered special technical feature that would otherwise unify the groups.

Some inventions of Group I+ share the technical feature of a method of detecting DPP-4 levels in a sample, comprising [contacting said one or more samples with] at least two anti-DPP-4 monoclonal antibodies. However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art as being obvious over a publication titled "Human Dipeptidyl Peptidase IV Elisa Kit (DPP4)" by ShangHai BlueGene Biotech CO.,LTD. (2011) [according to the properties of the posted document] [Retrieved from the Internet 28 April 2016: <http://www.hoelzel-biotech.com/media/import/pdf_manualVBG_Bluegene/E01D0039_Manual.pdf>] (hereinafter "BlueGene").

BlueGene discloses a method of detecting DPP-4 levels in a sample comprising [contacting said one or more samples with] at least two anti-DPP-4 antibodies (pg 1, 2nd para, "This DPP4 enzyme linked immunosorbent assay applies a technique called a quantitative sandwich immunoassay. The microtiter plate provided in this kit has been pre-coated with a monoclonal antibody specific for DPP4. Standards or samples are then added to the microtiter plate wells and DPP4 if present, will bind to the antibody pre-coated wells. In order to quantitatively determine the amount of DPP4 present in the sample, a standardized preparation of horseradish peroxidase (HRP)-conjugated polyclonal antibody, specific for DPP4 are added to each well to "sandwich" the DPP4 immobilized on the plate... The enzyme-substrate reaction is terminated by the addition of a sulphuric acid solution and the colour change is measured spectrophotometrically at a wavelength of 450 nm", wherein only the first, i.e., capture antibody is an anti-DPP-4 monoclonal antibody (pg 1, 2nd para, "The microtiter plate... has been pre-coated with a monoclonal antibody specific for DPP4"). BlueGene does not specifically disclose that the second/detection antibody is also a monoclonal anti-DPP-4 antibody. However, it would have been obvious to one of ordinary skill in the art to substitute, in the course of routine experimentation and with a reasonable expectation of success, the polyclonal anti-DPP-4 detection antibody disclosed by BlueGene (pg 1, 2nd para, "a standardized preparation of horseradish peroxidase (HRP)-conjugated polyclonal antibody, specific for DPP4 are added to each well to "sandwich" the DPP4 immobilized on the plate...") by a monoclonal anti-DPP-4 antibody that binds to an DPP-4 epitope other than the epitope to which the BlueGene monoclonal anti-DPP-4 antibody binds. As said technical feature would have been obvious to one of ordinary skill in the art at the time of the invention, this cannot be considered special technical feature that would otherwise unify the groups.

The inventions of Group I+ therefore lack unity under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

--- Continued on next sheet ---

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 16/12603

***** Supplemental Sheet *****

In Continuation of Box III. Observations where unity of invention is lacking:

NOTE re item 4: Claims 8-30, 34-51 are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4 (a). These claims are improper multiple dependent claims.

NOTE re claim 31:

Claim 31 is objected to as unclear because a method cannot comprise an antibody. For the purpose of this Lack of Unity analysis, the ISA/USA has construed claim 31 as follows:

31. A method of detecting dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) levels in one or more samples, comprising [contacting said one or more samples with] at least two anti-DPP-4 antibodies or antigen-binding fragments thereof, wherein...

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード (参考)
C 1 2 N	5/20	(2006.01)	C 1 2 N	5/20
C 0 7 K	19/00	(2006.01)	C 0 7 K	19/00
G 0 1 N	33/573	(2006.01)	G 0 1 N	33/573 A
G 0 1 N	33/53	(2006.01)	G 0 1 N	33/53 U

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(72)発明者 チエンイーイン・チャン
アメリカ合衆国 2 0 8 7 8 メリーランド州ゲイザースバーグ、ワン・メドイミュン・ウェイ、メドイミュン・リミテッド・ライアビリティ・カンパニー内

(72)発明者 シャオドン・シャオ
アメリカ合衆国 2 0 8 7 8 メリーランド州ゲイザースバーグ、ワン・メドイミュン・ウェイ、メドイミュン・リミテッド・ライアビリティ・カンパニー内

(72)発明者 パルタ・チョウドゥリー
アメリカ合衆国 2 0 8 7 8 メリーランド州ゲイザースバーグ、ワン・メドイミュン・ウェイ、メドイミュン・リミテッド・ライアビリティ・カンパニー内

F ターム (参考) 4B029 AA07 BB16 BB17 CC01 FA12
4B064 AG27 CA19 CC24
4B065 AA92X AA92Y AB05 AC14 BA08 CA25 CA46
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 CA40 DA76 EA50 FA74

专利名称(译)	用于检测人DPP-4的测定		
公开(公告)号	JP2018502577A	公开(公告)日	2018-02-01
申请号	JP2017536325	申请日	2016-01-08
[标]申请(专利权)人(译)	免疫医疗公司		
申请(专利权)人(译)	MedImmune公司，有限责任公司		
[标]发明人	チエンインチャン シャオドンシャオ パルタチョウドウリー		
发明人	チエン-イン・チャン シャオドン・シャオ パルタ・チョウドウリー		
IPC分类号	C12N15/09 C07K16/40 C12N7/01 C12P21/08 C12M1/34 C12N5/20 C07K19/00 G01N33/573 G01N33/53		
CPC分类号	A61P35/00 C07K16/2896 C07K16/40 C12Q1/37 G01N33/573 C07K2317/565 C07K2317/76 G01N2333/948		
FI分类号	C12N15/00.A C07K16/40.ZNA C12N7/01 C12P21/08 C12M1/34.F C12N5/20 C07K19/00 G01N33/573.A G01N33/53.U		
F-TERM分类号	4B029/AA07 4B029/BB16 4B029/BB17 4B029/CC01 4B029/FA12 4B064/AG27 4B064/CA19 4B064/CC24 4B065/AA92X 4B065/AA92Y 4B065/AB05 4B065/AC14 4B065/BA08 4B065/CA25 4B065/CA46 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA41 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA50 4H045/FA74		
代理人(译)	富田健二		
优先权	62/101697 2015-01-09 US		
其他公开文献	JP2018502577A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了用于检测和测量得自人类患者的样品中DPP-4水平的鲁棒，灵敏且特异性的测定法。本发明进一步提供了识别人DPP-4的新型抗DPP-4单克隆抗体，以及包含一种或多种这些抗体的测定试剂盒。

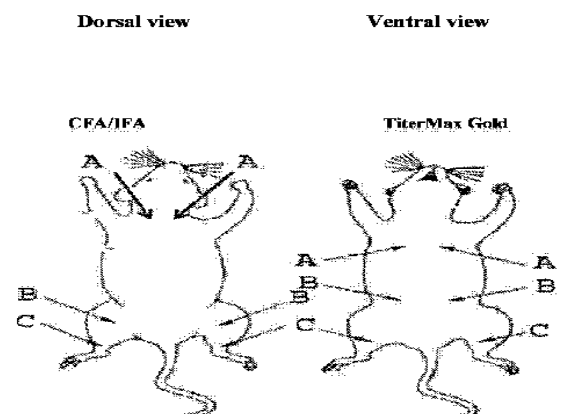


FIG. 1