



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110622002 A

(43)申请公布日 2019.12.27

(21)申请号 201780085705.X

(22)申请日 2017.12.18

(30)优先权数据

2016-245952 2016.12.19 JP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2019.08.14

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2017/045376 2017.12.18

(87)PCT国际申请的公布数据

W02018/117044 JA 2018.06.28

(71)申请人 株式会社乐检生物科技

地址 日本爱知县

(72)发明人 泷本阳介 萩原启太郎

(74)专利代理机构 上海科律专利代理事务所

(特殊普通合伙) 31290

代理人 金碎平

(51)Int.Cl.

G01N 33/53(2006.01)

C07K 16/16(2006.01)

C12N 15/09(2006.01)

C12P 21/08(2006.01)

权利要求书2页 说明书11页

序列表10页 附图2页

(54)发明名称

抗雌马酚抗体组合物及其利用

(57)摘要

本发明公开了一种使用含有以下物质的组合物:作为免疫球蛋白重链可变区,具有SEQ ID NO:1所示的氨基酸排列构成重链超可变区CDR1, SEQ ID NO:2所示的氨基酸排列构成超可变区CDR2及SEQ ID NO:3所示的氨基酸排列构成超可变区CDR3,抗雌马酚抗体或其抗体片段,作为免疫球蛋白轻链可变区,具有SEQ ID NO:4所示的氨基酸排列构成超可变区CDR1', SEQ ID NO:5所示的氨基酸排列构成超可变区CDR2' 及SEQ ID NO:6所示的氨基酸排列构成超可变区CDR3', 作为免疫球蛋白重链可变区,具有SEQ ID NO:1所示的氨基酸排列构成重链超可变区CDR1, SEQ ID NO:2所示的氨基酸排列构成超可变区CDR2及SEQ ID NO:3所示的氨基酸排列构成超可变区CDR3, 抗雌马酚抗体或其抗体片段,作为免疫球蛋白轻链可变区,具有SEQ ID NO:7所示的氨基酸排列构成超可变区CDR1', SEQ ID NO:8所示的氨基酸排列构成超可变区CDR2' 及SEQ ID NO:9所示的

氨基酸排列构成超可变区CDR3'。

1. 一种抗雌马酚抗体组合物,其特征在于,含有以下物质:

抗雌马酚抗体或其抗体片段,作为免疫球蛋白重链可变区,具有SEQ ID NO:1所示的氨基酸排列构成重链超可变区CDR1,SEQ ID NO:2所示的氨基酸排列构成超可变区CDR2及SEQ ID NO:3所示的氨基酸排列构成超可变区CDR3,

作为免疫球蛋白轻链可变区,具有SEQ ID NO:4所示的氨基酸排列构成超可变区CDR1',SEQ ID NO:5所示的氨基酸排列构成超可变区CDR2'及SEQ ID NO:6所示的氨基酸排列构成超可变区CDR3';

抗雌马酚抗体或其抗体片段,作为免疫球蛋白重链可变区,具有SEQ ID NO:1所示的氨基酸排列构成重链超可变区CDR1,SEQ ID NO:2所示的氨基酸排列构成超可变区CDR2及SEQ ID NO:3所示的氨基酸排列构成超可变区CDR3,

作为免疫球蛋白轻链可变区,具有SEQ ID NO:7所示的氨基酸排列构成超可变区CDR1',SEQ ID NO:8所示的氨基酸排列构成超可变区CDR2'及SEQ ID NO:9所示的氨基酸排列构成超可变区CDR3'。

2. 根据权利要求1所述的组合物,其特征在于,从整体而言,是对于S-雌马酚的交叉率在100%时,对于R-雌马酚的交叉率在80%以上。

3. 根据权利要求1或2所述的组合物,其特征在于,对于R-雌马酚的交叉率在85%以上。

4. 根据权利要求1~3所述的任意一个组合物,其特征在于,并且,对于从大豆昔元、金雀异黄素及大豆黄素构成的群里被选择的1种或2种以上的异黄酮的交叉率在0.01%以下。

5. 根据权利要求4所述的组合物,其特征在于,对于大豆昔元、金雀异黄素及大豆黄素的各个异黄酮的交叉率在0.01%以下。

6. 根据权利要求1~5所述的任意一个组合物,其特征在于,并且,对于从鞣花酸二水合物、儿茶素一水物及没食子酸构成的群里被选择的1种或2种以上的交叉率在1%以下。

7. 根据权利要求6所述的组合物,其特征在于,对于鞣花酸二水合物及儿茶素一水物的交叉率在0.01%以下。

8. 一种雌马酚检测试剂,其特征在于,含有请求项1~7中任意一个记载的组合物。

9. 抗雌马酚抗体或其抗体片段,其特征在于,作为免疫球蛋白重链可变区,具有SEQ ID NO:1所示的氨基酸排列构成重链超可变区CDR1,SEQ ID NO:2所示的氨基酸排列构成超可变区CDR2及SEQ ID NO:3所示的氨基酸排列构成超可变区CDR3,

作为免疫球蛋白轻链可变区,具有SEQ ID NO:4所示的氨基酸排列构成超可变区CDR1',SEQ ID NO:5所示的氨基酸排列构成超可变区CDR2'及SEQ ID NO:6所示的氨基酸排列构成超可变区CDR3'。

10. 抗雌马酚抗体或其抗体片段,其特征在于,作为免疫球蛋白重链可变区,具有SEQ ID NO:1所示的氨基酸排列构成重链超可变区CDR1,SEQ ID NO:2所示的氨基酸排列构成超可变区CDR2及SEQ ID NO:3所示的氨基酸排列构成超可变区CDR3,

作为免疫球蛋白轻链可变区,具有SEQ ID NO:7所示的氨基酸排列构成超可变区CDR1',SEQ ID NO:8所示的氨基酸排列构成超可变区CDR2'及SEQ ID NO:9所示的氨基酸排列构成超可变区CDR3'。

11. 生物来源样品中雌马酚的测定方法,其特征在于,

备置根据权利要求8中所述的雌马酚检测试剂和上述生物来源样品中的雌马酚进行接

触的工序的方法。

12. 雌马酚的测定设备装置,其特征在于,备置根据固相载体被结合的权利要求8中所述的检测试剂的设备装置。

13. 雌马酚的测定成套工具,其特征在于,备置根据权利要求8中所述的检测试剂的成套工具。

14. 具有根据权利要求9中所述的抗体或其抗体片段编码的多核苷酸的表达载体。

15. 具有根据权利要求10中所述的抗体或其抗体片段编码的多核苷酸的表达载体。

## 抗雌马酚抗体组合物及其利用

### 技术领域

[0001] 本说明书,关于抗雌马酚抗体组合物及其利用。

### 背景技术

[0002] 雌马酚,被公认为是异黄酮在人类等的肠道细菌作用下产生的代谢产物。众所周知,雌马酚通过抗雌激素效果,可以改善女性因荷尔蒙低下引起的各种症状。

[0003] 雌马酚是由豆制品等在肠道细菌作用下产生,但是除了大豆摄入量以外,有时根据肠道菌群的个体差异或其情况不同雌马酚的产生量也会不同。而且,雌马酚也可直接摄入。雌马酚,能发挥抗雌激素的效果,但是除了个体的雌马酚产生能(产生量)以外在体内对雌马酚量的监控也很重要。

[0004] 在此,已提供使用抗雌马酚抗体测定尿中的雌马酚的方法(专利文献1)。

### 发明内容

[0005] 但是,以前的抗雌马酚抗体,关于其交叉性或检测灵敏度等,未必是足够的。被要求提供具有高灵敏度且高正确性,并且能简便测定雌马酚的方法。

[0006] 本说明书,以提供一个可以更实用地使用抗雌马酚抗体组合物及其利用为目的。

[0007] 本发明者们,专心研究的结果,取得了含有对于雌马酚具有更合适的交叉性或亲和性的抗雌马酚抗体组合物。根据本说明书,基于这一知识,提供以下手段。

[0008] [1]一种抗雌马酚抗体组合物,含有以下物质:

抗雌马酚抗体或其抗体片段,作为免疫球蛋白重链可变区,具有SEQ ID NO:1所示的氨基酸排列构成重链超可变区CDR1,SEQ ID NO:2所示的氨基酸排列构成超可变区CDR2及SEQ ID NO:3所示的氨基酸排列构成超可变区CDR3,

作为免疫球蛋白轻链可变区,具有SEQ ID NO:4所示的氨基酸排列构成超可变区CDR1',SEQ ID NO:5所示的氨基酸排列构成超可变区CDR2'及SEQ ID NO:6所示的氨基酸排列构成超可变区CDR3',

抗雌马酚抗体或其抗体片段,作为免疫球蛋白重链可变区,具有SEQ ID NO:1所示的氨基酸排列构成重链超可变区CDR1,SEQ ID NO:2所示的氨基酸排列构成超可变区CDR2及SEQ ID NO:3所示的氨基酸排列构成超可变区CDR3,

作为免疫球蛋白轻链可变区,具有SEQ ID NO:7所示的氨基酸排列构成超可变区CDR1',SEQ ID NO:8所示的氨基酸排列构成超可变区CDR2'及SEQ ID NO:9所示的氨基酸排列构成超可变区CDR3'。

[2]从整体而言,是对于S-雌马酚的交叉率在100%时,对于R-雌马酚的交叉率在80%以上的,组合物。

[3][1]或[2]中记载的组合物,对于R-雌马酚的交叉率在85%以上。

[4][1]~[3]中任意一个记载的组合物,并且,对于从大豆苷元、金雀异黄素及大豆黄素构成的群里被选择的1种或2种以上的异黄酮的交叉率在0.01%以下。

[5][4]中记载的组合物,对于大豆昔元、金雀异黄素及大豆黄素的各个异黄酮的交叉率在0.01%以下。

[6][1]~[5]中任意一个记载的组合物,并且,对于从鞣花酸二水合物、儿茶素一水物及没食子酸构成的群里被选择的1种或2种以上的交叉率在1%以下。

[7][6]中记载的组合物,对于鞣花酸二水合物及儿茶素一水物的交叉率在0.01%以下。

[8]一种雌马酚检测试剂,含有[1]~[7]中任意一个记载的组合物。

[9]抗雌马酚抗体或其抗体片段,作为免疫球蛋白重链可变区,具有SEQ ID NO:1所示的氨基酸排列构成重链超可变区CDR1,SEQ ID NO:2所示的氨基酸排列构成超可变区CDR2及SEQ ID NO:3所示的氨基酸排列构成超可变区CDR3,

作为免疫球蛋白轻链可变区,具有SEQ ID NO:4所示的氨基酸排列构成超可变区CDR1',SEQ ID NO:5所示的氨基酸排列构成超可变区CDR2'及SEQ ID NO:6所示的氨基酸排列构成超可变区CDR3'。

[10]抗雌马酚抗体或其抗体片段,作为免疫球蛋白重链可变区,具有SEQ ID NO:1所示的氨基酸排列构成重链超可变区CDR1,SEQ ID NO:2所示的氨基酸排列构成超可变区CDR2及SEQ ID NO:3所示的氨基酸排列构成超可变区CDR3,

作为免疫球蛋白轻链可变区,具有SEQ ID NO:7所示的氨基酸排列构成超可变区CDR1',SEQ ID NO:8所示的氨基酸排列构成超可变区CDR2'及SEQ ID NO:9所示的氨基酸排列构成超可变区CDR3'。

[11]生物来源样品中雌马酚的测定方法,

备置[8]中记载的雌马酚检测试剂和上述生物来源样品中的雌马酚进行接触的工序的方法。

[12]雌马酚的测定设备装置,

备置固相载体被结合的[8]中记载的检测试剂的设备装置。

[13]雌马酚的测定成套工具,

备置[8]中记载的检测试剂的成套工具。

[14]具有[9]中记载的抗体或其抗体片段编码的多核苷酸的表达载体。

[15]具有[10]中记载的抗体或其抗体片段编码的多核苷酸的表达载体。

## 附图说明

[0009] 【图1】抗雌马酚单克隆抗体的抗体价的评价结果如图所示。

【图2】根据抗雌马酚单克隆抗体的HPLC和免疫色谱法测定的结果如图所示。

## 具体实施方式

[0010] 本说明书公开了关于抗雌马酚抗体组合物及其利用。根据本说明书被公开的含有抗雌马酚单克隆抗体(以下,也仅称为本抗体。)的组合物(以下,仅,称为本抗体组合物。),可在高检测灵敏度下,且高正确性地测定雌马酚。并且,根据其优秀的交叉性,也能高精度且正确测定生物样品中的雌马酚。

[0011] 本抗体组合物,虽然对于R-雌马酚也会特异结合,但是从整体而言对于S-雌马酚

具有高结合能力,具有关于S-雌马酚的高检测灵敏度。即使是雌马酚含有量低下的生物来源样品或少量的生物来源样品,也能简便测定雌马酚。

[0012] 以下,关于本发明代表的且非限定的具体例,参照适当的图片作详细说明。像这样详细的说明,意图单纯是为了把实施本发明令人满意例子的详细向本行业从业者表示,并不是为了限定本发明的范围。而且,以下被公开的追加特征及发明,是为了提供被改善的抗雌马酚抗体组合物及其利用,除了其他的特征或发明以外,也可以共用。

[0013] 而且,通过以下详细的说明被公开的特征或工序组合,最广泛的意思而言并非实施本发明的时候所必须的,特别是仅为了说明本发明代表的具体例而记载的东西。并且,上述及下述代表的具体例的各种特征,同独立及从属要求被记载的东西的各种特征,在提供本发明追加且有用的实施形态时,按照这里被记载的具体例,并不是必须要按照被列举的顺序组合。

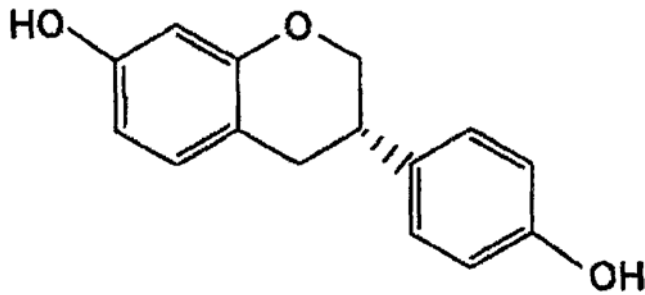
[0014] 本说明书及/或要求中被记载的全部特征,除了实施例及/或要求中被记载的特征构成以外,作为申请当初的公开及被要求的特定事项的限定,意图是个别的、且互相独立的被公开。并且,关于全部的数值范围及组或群的记载,作为申请当初的公开及被要求特定事项的限定,意图公开那些中间的构成。

[0015] 以下,作关于本说明书被公开的抗雌马酚抗体组合物及其利用的实施形态的详细说明。

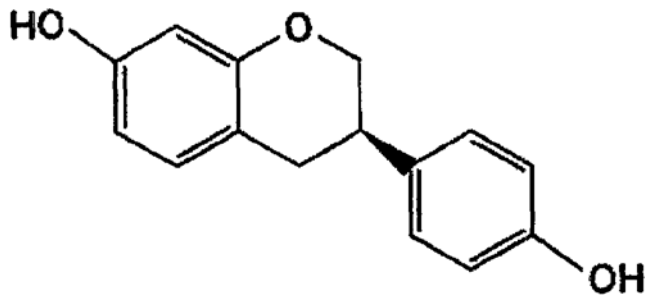
[0016] (抗雌马酚抗体组合物)

本抗体组合物,能含有2个抗雌马酚单克隆抗体。组合这些抗体得到的本抗体组合物具有特异结合能力,比如,可以列举如下。本抗体组合物,至少能具有(1)的特异结合能力。并且能具有以下(2)~(4)中任意1个或2个以上的特异结合能力。此外,在本说明书中,“特异结合能力”或“特异的结合”,指基于抗体,换言之,免疫球蛋白具有的抗原识别能力而结合的能力及结合。以下,显示R-雌马酚及S-雌马酚的构造。此外,肠道菌,限定生成S-雌马酚。

[0017] 【化1】



(S)-equol



(R)-equol

[0018] (1) 对于S-雌马酚的交叉率在100%时,对于R-雌马酚的交叉率在80%以上。此外,对于R-雌马酚的交叉率即使在85%以上也可以,即使在90%以上也可以,并且,即使在95%以上也可以,而且比如即使在98%左右也可以。而且比如即使在105%以下也可以。

(2) 对于从大豆苷元、染料木素及大豆黄素构成群里被选择的1种或2种以上的异黄酮的交叉率无论哪一个都在0.01%以下。而且比如,对于大豆苷元、染料木素及大豆黄素的交叉率无论哪一个即使在0.01%以下也可以。而且,并且,这样的交叉率即使在0.005%以下也可以。

(3) 对于从鞣花酸二水合物、儿茶素一水物及没食子酸构成的群里被选择的1种或2种以上交叉率无论哪一个都在1%以下。而且比如,对于鞣花酸二水合物及儿茶素一水物的交叉率即使在0.01%以下也可以,即使在0.005%以下也可以。

(4) 对于芹菜苷元、R-O-安哥拉紫檀素 (DMA) 的交叉率为0.01%。而且比如,同交叉率在0.005%以下。

[0019] 上述交叉性及交叉率,本行业从业者用周知的方法可以测定。比如,能通过ELISA、竞争ELISA等进行测定。

[0020] 本抗体的交叉性,虽然并不是特别限定的,但是各异黄酮浓度在0.1 $\mu$ M以上75 $\mu$ M以下的范围里可以测定任意的浓度范围。而且,比如,同浓度即使在1 $\mu$ M以上10 $\mu$ M以下也可以。

[0021] 此外,上述交叉率,比如,通过如下所示可以取得。首先,使用S-雌马酚创建标准曲线。准备含有1 $\mu$ M浓度和10 $\mu$ M浓度的S-雌马酚化合物,让每个浓度和抗体进行反应,从标准曲线开始计算S-雌马酚的浓度。比如,添加10 $\mu$ M的大豆苷元,作为从标准曲线开始10 $\mu$ M的浓度被检测出的情况下视为100%的交叉性,作为1 $\mu$ M的浓度被检测出的情况下视为10%的交

叉性,和0.1 $\mu$ M的浓度被检测出的情况下视为1%的交叉性。

[0022] 本抗体组合物能含有2种单克隆抗体。这些2种单克隆抗体的重链及轻链的超可变区的氨基酸排列是被特定的。

[0023] 第1抗体重链(IgG)的可变区( $V_H$ 区),每个都具备了SEQ ID NO:1~3所示的氨基酸排列构成超可变区CDR1、CDR2及CDR3。含有3个超可变区的重链可变区,比如,能具有SEQ ID NO:10所示的氨基酸排列。把SEQ ID NO:1~3及10所示的各氨基酸排列编码的多核苷酸的碱基排列,每个被表示为SEQ ID NO:13~15及16。

[0024] 第1抗体轻链的可变区( $V_L$ 区),每个都具备了SEQ ID NO:4~6所示的氨基酸排列构成超可变区CDR1'、CDR2'及CDR3'。含有3个超可变区的轻链可变区,比如,能具有SEQ ID NO:11所示的氨基酸排列。具有SEQ ID NO:2所示的氨基酸排列。此外,该轻链,为 $\kappa$ 链。把SEQ ID NO:4~6及11所示的各氨基酸排列编码的多核苷酸的碱基排列,每个被表示为SEQ ID NO:18~20及21。

[0025] 第2抗体重链的可变区( $V_H$ 区),每个都具备了SEQ ID NO:1~3所示的氨基酸排列构成超可变区CDR1、CDR2及CDR3。含有3个超可变区的重链可变区,比如,能具有SEQ ID NO:10所示的氨基酸排列。把SEQ ID NO:1~3及10所示的各氨基酸排列编码的多核苷酸的碱基排列,每个被表示为SEQ ID NO:13~15及16。

[0026] 第1抗体轻链的可变区( $V_L$ 区),每个都具备了SEQ ID NO:7~9所示的氨基酸排列构成超可变区CDR1'、CDR2'及CDR3'。含有3个超可变区的轻链可变区,比如,能具有SEQ ID NO:12所示的氨基酸排列。此外,该轻链,为 $\kappa$ 链。把SEQ ID NO:7~9及12所示的各氨基酸排列编码的多核苷酸的碱基排列,每个被表示为SEQ ID NO:23~25及26。

[0027] 本抗体组合物,本申请在申请时用周知的技术,对于特异的任意抗原(在本说明书中,比如,S-雌马酚等)能含有具有结合能力的完整抗体,或含有具有该结合能力抗原结合部分的部分。本抗体,本申请在申请时除了技术常识以外能根据如下所示的内容采取各种形态。

[0028] 抗体的“抗原结合部分”,是指特异的任意抗原(比如,指保持S-雌马酚结合能力的完整抗体的1个以上的片段)的意思。“抗原结合部分”,并不是特别限定的,Fab片段、 $V_L$ 、 $V_H$ 、 $C_L$ 及CH1领域构成的一价片段;F(ab)<sub>2</sub>片段、铰链区里通过二硫化物桥被连接的含有2个Fab片段(一般情况下从重链及轻链开始的1个)的二价片段; $V_H$ 及CH1领域构成的Fd片段;抗体单一两臂的 $V_L$ 及 $V_H$ 领域构成的FV片段; $V_H$ 领域构成的单一领域抗体(dAb)片段;及被分离的互补决定区(CDR)等各种形态的片段或能含有其组合。而且,抗原结合部分,使用重组的方法, $V_L$ 及 $V_H$ 区配对形成的一价分子作为一个蛋白质链可以进行制作通过人工肽键连接器可以进行联结。

[0029] 除此以外,抗原结合部分,也可以被编入单一领域抗体、Maxi Body、Mini Body、内部Body、DIA Body、氧化钪Body、脂鲤Body、v-NAR及Bis-scFv。

[0030] 本抗体的来源生物种类并不是特别限定的,虽然根据适用的生物体或目的不同而不同,但适用于人类抗体、老鼠抗体、山羊抗体等。此外,为人类抗体时,是指抗体的框架及CDR领域的双方含有具有来源于人类起源排列的可变领域的抗体的意思。并且,抗体含有恒定区时,恒定区这样的人类排列,比如,是指来源于人类生殖细胞系列排列或突然变异型的人类生殖细胞系列的排列的意思。而且,能以来源于2以上生物种类的片段抗体为基础来嵌

合抗体。

[0031] 本抗体若为单克隆抗体时,对于抗原能发挥稳定的结合性能。单克隆抗体的取得,是本行业从业者周知的。除了下述方法以外,比如,人类单抗体,通过从被融合入永生化细胞里的遗传基因导入非人类动物(比如,具有含有人类重链导入遗传基因及轻链导入遗传基因的染色体组的遗传基因导入老鼠)处得到的含有B细胞的杂种细胞被制造。

[0032] 而且,本抗体,比如,即使是重组人类抗体等的重组抗体也可以。重组人类抗体,比如,遗传基因导入人类免疫球蛋白遗传基因或被染色体导入的动物(比如,老鼠)或从之后被制造的杂种细胞处被分离的抗体;为了发现人类抗体被转化后的寄主细胞,比如从转染瘤处被分离的抗体;从重组组合人类抗体数据库处被分离的抗体;及通过含有剪接人类免疫球蛋白遗传基因排列的全部或部分其他的DNA排列的其他手段制造、发现、制作或含有被分离的抗体。像这样的重组人类抗体的框架及CDR区具有来源于人类生殖细胞系列免疫球蛋白排列的可变区。

[0033] 关于本抗体的制造方法,后半段有详述,本抗体,用周知的方法取得的抗体在具有识别并结合RS-雌马酚的结合能力的范围内,即使其变异体也可以。比如,作为起始物质的抗体的至少一部分,比如,全长重链及/或轻链排列, $V_H$ 及/或 $V_L$ 排列或根据其结合的在恒定区里导入变异等的修饰,也能取得新的抗体。而且,对于取得的抗体换言之也能导入PEG链等。这样的抗体的改变的技巧本身,是本行业从业者周知的。

[0034] 本抗体,根据需要,能具备标识要素。标识要素,并不是特别限定的,能合适选择使用以前周知的标识物质。标识物质,并不是特别限定的,典型的,能举例出利用荧光、放射能、酵素(比如,过氧化物酶、碱性磷酸酶等)、磷光、化学发光、着色等的标识要素。

[0035] 本抗体,作为标识要素,也能具备可以和标识要素结合的物质。最终通过标识物质也能具备可识别这些可结合的分子或物质。作为这样的物质等,能利用蛋白质-蛋白质相互作用,低分子化合物-蛋白质相互作用等。比如,能举例出在抗原抗体反应里的抗体或,抗生物素蛋白(链霉亲和素)-在生物素系统中的生物素、在抗地谷新配基(DIG)-地谷新配基(DIG)系统中抗地谷新配基、或在抗FITC-FITC系统中FITC等被代表的半抗原类等。这种情况下,最终为了检测而被使用的标识物质,这样的标识物质和具有结合性的物质相互作用的另一方面的分子或物质(比如,抗原、换言之,链霉亲和素、抗FITC等),为了具有作为为了和标识物质结合物质结合的部位而被修饰。

[0036] 这样各种形态的标识要素,除了商业能得到以外,用标识要素修饰抗体的方法也是本行业从业者周知的。因此,如果是本行业从业者的话,取得各种标识要素后,对于抗体借助氨基酸或羰基等的官能基是可以的。

[0037] (抗雌马酚抗体的制造方法)

本说明书中公开的,本抗体的制造方法,RS-雌马酚(外消旋体)能具备,使用复合载体蛋白质的复合体的动物免疫工序和,从来源于上述动物的脾脏细胞的杂种细胞中取得对于RS-雌马酚具有特异结合能力的抗体工序。

[0038] 而且,上述抗体的取得工序,从上述动物中分离的脾细胞和骨髓瘤细胞融合得到的杂种细胞处能具备,分离对于RS-雌马酚具有特异结合能力的具有抗体产生能的杂种细胞的工序和,使用上述杂种细胞产生上述抗体的工序。根据本制造方法,能有效取得单克隆抗体即本抗体及本抗体组合物。

[0039] (免疫工序)

以下,作关于免疫工序的说明。作为为了得到复合体的载体蛋白质,从钥孔戚血蓝素(KLH)、牛血清白蛋白(BSA)、卵清蛋白(OVA)、兔血清白蛋白(RSA)、牛甲状腺球蛋白(THY)等周知的载体蛋白质中被合适选择。作为载体蛋白质,并且,人类、老鼠、兔、山羊等各种脊椎动物种来源的东西以外即使是变异体也可以。

[0040] 复合体,比如,借助导入了RS-雌马酚(外消旋体)羟基羰基的羰基根据常用的方法,导入KLH等的载体蛋白质后能取得。此外,雌马酚的2个4'及7位的羟基里双方羰基为了被导入,双方借助4'的羟基导入了载体蛋白质的4'复合体和,7位复合体。换言之,从R体4'位复合体,R体7位复合体,S体4'位复合体,S体7位复合体的4种复合体里,R体的复合体及S体的复合体至少使用各1种组合,就可以使用作为RS-雌马酚的载体蛋白质复合体。令人满意的是,组合这些4种复合体并使用。用这样得到的复合体免疫动物,对于RS-雌马酚(外消旋体)把特异结合能力作为指标来评价本抗体产生能,能有效取得本抗体组合物适合的单克隆抗体。

[0041] 用这样得到的RS-雌马酚-载体蛋白质复合体免疫脊椎动物。免疫脊椎动物(以下,也称为免疫动物。)的种类并不是特别限定的,能举例出转基因或没有转基因的非人类动物。适合的有,能举例出老鼠、小白鼠、山羊、兔等。和已述的一样,为了得到人类抗体,为了能制作人类型抗体可使用遗传的被改变的非人类脊椎动物。

[0042] 给免疫原的免疫动物的给药,并不是特别限定的,腹腔内给药、静脉给药等,根据需要从周知的方法中进行合适的选择。而且,在复合体的给药时,能够使用适合的、完整辅助、不完整辅助。复合体的给药,能进行充分反复的被免疫。通常,2次~5次左右,复合体能被给药。

[0043] 使用这样的免疫原,免疫脊椎动物,通过对于RS-雌马酚评价抗体价,在免疫动物范里,能确认本抗体的产生。在免疫动物里,是否产生意图的抗体,能用合适的,从免疫动物中采血,使用RS-雌马酚等评价抗体价。评价,能合适使用ELISA等周知的方法进行。

[0044] 从能确认高抗体价的RS-雌马酚的免疫动物中切除脾脏,调制脾细胞后,P3U1细胞等的老鼠骨髓瘤细胞和聚乙二醇等根据使用周知的细胞融合方法进行细胞融合,之后,杂种细胞为一组要求。此外,杂种细胞的选择,比如,杂种细胞利用骨髓瘤8-氮鸟嘌呤的耐药菌株在正常培养基(HAT培养基)中,比如,根据10~14天的培养能进行选择。并且,被选择的杂种细胞产生抗体的抗体价,使用RE-雌马酚用ELISA法进行解析,产生抗体价高的抗体的杂种细胞通过界限稀释法等进行分离。从分离后的杂种细胞在适合的培养基中培养得到的培养澄清层中,能通过硫酸铵分级分离、亲和色谱法等合适的方法精制得到单克隆抗体。

[0045] 本抗体组合物适用的单克隆抗体(杂种细胞),除了(1)S-雌马酚以外,对于R-雌马酚交叉反应性以外,对于雌马酚的前驱物等已述的各种异黄酮类的交叉反应(2)~(4)性进行评价,能选择单克隆抗体。

[0046] 这样的单克隆抗体及其抗体片段的氨基酸排列,能通过抗体的氨基酸排列的解析及/或根据从杂种细胞处得到的抗体编码区的碱基排列得到。

[0047] 对这样得到的单克隆抗体的重链可变区及轻链可变区的氨基酸排列进行编码的DNA等的多核苷酸,也是本公开的一个实施例。而且,保持这样的表达载体的寄主细胞,也是本公开的一个实施例。此外,表达载体,根据寄主的种类除了本行业从业者周知的合适形态

以外,也能合适选择发起人、终结者等的控制领域。多核苷酸,比如,DNA,而且比如,cDNA。

[0048] 关于能含有本抗体组合物的单克隆抗体的重链可变区及其超可变区、轻链可变区及其超可变区就如已述说明的那样。

[0049] (生物来源样品中雌马酚的测定方法)

本说明书公开的雌马酚测定方法,能具备让本抗体和生物来源样品中的雌马酚被接触的工序。根据本工序,以本抗体的特异结合能力为基础与雌马酚结合。这个雌马酚抗体复合体,用各种方法或借助抗体被赋予的标识要素进行检测,能测定雌马酚的有无或其浓度(量)。

[0050] 使用抗体,以其特异结合能力为基础,检测结合的抗原,测定方法本身,是本行业从业者周知的。本测定方法,能适用这样周知的方法。作为这样的周知方法,除了ELISA、RIA、免疫色谱法以外,能举例出复合体的沉降反应及以沉降反应为基础的免疫电泳法、单细胞免疫核酸法、免疫电核酸法、交叉免疫电泳法;利用复合体凝集反应的乳胶凝集法、蛋白质印迹法(作为检测方法,酵素免疫法或化学发光法等),免疫组织科学的检测方法等。

[0051] 在本测定方法里,雌马酚的浓度,抗体浓度等的测定条件,根据测定方法的种类等如果是本行业从业者的话能合适设定。本抗体,因为具有高抗体结合性,比如,多孔质性的固相作为载体使用免疫色谱法,作为雌马酚的浓度能确保 $0.5\mu\text{M}$ 的检测界限值。检测界限值,并且比如,同 $0.4\mu\text{M}$ ,并且比如 $0.3\mu\text{M}$ ,并且比如 $0.2\mu\text{M}$ ,并且比如 $0.1\mu\text{M}$ ,并且比如 $0.05\mu\text{M}$ 。并且,比如 $0.04\mu\text{M}$ ,并且比如 $0.03\mu\text{M}$ ,并且比如 $0.02\mu\text{M}$ ,并且比如 $0.01\mu\text{M}$ 。

[0052] 而且,这样的免疫色谱法,超过检测界限的雌马酚浓度,比如, $0.01\mu\text{M}$ 以上 $180\text{mM}$ 以下的范围里的雌马酚定量值,确认和使用高效液相色谱法(HPLC)的定量值的高相关性。从上述可得知,根据本抗体,即使通过免疫色谱法等简便设置,也能高灵敏度且正确的检测雌马酚并能定量。

[0053] 本测定方法,能适用于各种生物来源样品中雌马酚的测定。作为生物来源样品,并不是特别限定的,来源于动物、植物及微生物的各种样品都可以。比如,在人类等的动物情况下,能举例出尿、血液、唾液、泪液、血清、血浆、粪便、组织或组织抽出物等。并且,在植物的情况下,能举例出食材等。而且,在微生物的情况下,能举例出培养澄清层、细胞破碎物、细胞抽出物等。

[0054] S-雌马酚的检测或测定,以雌马酚抗体复合体的形成为基础,能合适采用ELISA或抗体色谱等周知的方法。本测定方法,在检测雌马酚抗体的复合体时,合适的,对于本抗体也可以使用二次抗体。

[0055] (雌马酚的测定装置)

本说明书被公开的,雌马酚的测定装置,能具有固相载体被结合或能结合的本抗体。根据本装置,为了具备优秀的检测灵敏度的本抗体组合物,能高灵敏度且高正确性的简便测定雌马酚。

[0056] 测定装置,能采用各种形态,比如,作为固相载体,能举例出棒状、长条状等的免疫色谱法固相载体,乳胶微球、玻璃或塑料等的板用固相载体等。

[0057] (雌马酚测定的成套工具)

本说明书公开的,雌马酚测定的成套工具,能含有本抗体组合物。本成套工具,并且,能含有为了检测雌马酚抗体复合体的试剂。关于试剂,比如,已述的标识要素,比如,除了标识

要素或标识物质及/或标识物质结合物以外,能举例出这些标识物质及/或为了导入标识物质结合物质的试剂,或也可以具有标识物质的二次抗体,为了标识物质的试剂(比如,把过氧化物酶作为标识物质时的基质等)。

[0058] 并且,本成套工具,除此以外,通过ELISA或抗体色谱法能含有意图的检测阻断试剂、清洗液、缓冲器等。

[0059] 【实施例】以下,根据本说明书的公开为了更具体的说明作为具体例的实施例而记载。以下的实施例,是为了说明本说明书的公开,并不是限定其范围。

#### 【实施例1】

[0060] (抗雌马酚单克隆抗体的制作)

##### (1) 免疫原的制作

因为雌马酚是低分子,所以就这样的话无法成为抗原。所以,首先,RS-雌马酚(外消旋体)66mg(Toronto Research Chemicals公司制)、溴乙酸苄酯、碳酸钾90mg,在室温下放置一个晚上后,通过跟钯炭的接触还原进行雌马酚的加水分解,通过这样的操作后,在4位及7位的碳原子里导入羧甲基,得到雌马酚。4位和7位的羧甲基结合后能得到2种种类的这个羧甲基雌马酚。把这2个羧甲基雌马酚20mg、EDC15mg、sulfo-NHS 21mg放在DMF中反应24小时以后,和钥孔-戚血蓝蛋白(Keyhole Limpet Hemocyanin,KLH)46mg的PBS溶液3mL在25℃下反应4小时,制作出根据氨基结合而结合的雌马酚-KLH轭合物。

[0061] (2) 对老鼠的免疫及杂种细胞的建立

雌马酚-KLH轭合物0.5mg/mL PBS和等量的辅助充分混合后,给雌性BALB/c老鼠(年龄6周)的腹腔内给药0.15mL。每2周进行2次追加免疫,进行最终免疫的3天后,切除该老鼠的脾脏,和骨髓瘤细胞(P3U1)融合后作出杂种细胞。这些细胞的融合,脾脏细胞和骨髓瘤细胞以1:5比例混合,根据常用方法使用PEG进行融合。把这个在HAT培养基里培养10~14天后选择杂种细胞。

[0062] 从杂种细胞的细胞集群形成的坑井的培养澄清层上根据上述的ELISA法测定澄清层的抗体价,抗体价高的抗体产生的杂种细胞通过界限稀释法分离。此外,为了分离杂种细胞的筛选,作为抗原使用RS-雌马酚。分离的融合细胞的10%在DMEM培养基里培养后,使用IgG柱进行精制,得到单克隆抗体(抗雌马酚抗体)。

[0063] (3) 抗体的评价

关于得到的单克隆抗体,进行其氨基酸排列解析及碱基排列解析。此时,作为轻链可变区检测2种( $\kappa$ 及 $\lambda$ ),重链可变区检测1种。由此可得知,得到的杂种细胞,有2种种类的杂种细胞的混合物,得到的抗体,也有2种单克隆抗体的混合物(组合物)。 $\kappa$ 链轻链可变区的超可变区及全体的氨基酸排列表示了SEQ ID NO:4~6及11,这些编码的碱基排列表示了SEQ ID NO:18~21。并且, $\lambda$ 轻链可变区的超可变区及全体氨基酸表示了SEQ ID NO:7~9及12,这些编码的碱基排列表示了SEQ ID NO:23~26。并且,IgG重链可变区的超可变区及全体氨基酸排列表示了SEQ ID NO:1~3及10,这些编码的碱基及排列表示了SEQ ID NO:13~16。

#### 【实施例2】

[0064] (抗雌马酚单克隆抗体组合物的交叉性的评价)

为了调查得到的抗体组合物的交叉性,研究关于含有S-雌马酚的9种种类(S-雌马酚、大豆昔元、染料木素、大豆黄素、鞣花酸二水合物、儿茶素一水物、没食子酸、芹菜昔元、DMA)

化合物的反应性。首先,使用S-雌马酚创建标准曲线。准备含有S-雌马酚的9种种类的化合物1 $\mu$ M和10 $\mu$ M,让每个浓度和本抗体反应,从标准曲线开始计算出交叉性。结果如以下的表1所示。

[0065] 【表1】

化合物名称	1 $\mu$ M	10 $\mu$ M
R-雌马酚	1.20	11.88
S-雌马酚	1.34	10.84
鞣花酸二水合物	0.00	0.00
(+)-儿茶素水合物	0.00	0.01
Galic acid	0.00	0.08
大豆昔元	0.00	0.00
染料木素	0.00	0.00
大豆黄素	0.00	0.00
芹菜素	0.00	0.00
R-O-DMA	0.00	0.00
对S-雌马酚的交叉性 (%)	1 $\mu$ M	10 $\mu$ M
R-雌马酚	89.55	109.59
S-雌马酚	100.00	100.00
鞣花酸二水合物	0.00	0.00
(+)-儿茶素水合物	0.00	0.09
Galic acid	0.00	0.74
大豆昔元	0.00	0.00
染料木素	0.00	0.00
大豆黄素	0.00	0.00
芹菜素	0.00	0.00
R-O-DMA	0.00	0.00

[0066] 如表1所示,得到的抗体组合物,除了S-雌马酚以外R-雌马酚是特异的,类似化合物仅呈现出非常低的交叉性。

#### 【实施例3】

[0067] (雌马酚标准曲线的制作)

使用得到的抗体组合物,通过最大浓度3 $\mu$ M的S-雌马酚标准液在稀释缓冲器进行阶段稀释,图1所示使用了每个浓度3、1、0.3、0.1、0.03、0.01、0 $\mu$ M标准液的免疫色谱法实施时的标准曲线。如图1所示,测量范围为0.01 $\mu$ M~3 $\mu$ M。通过实施例1得到的抗体组合物,可得知具有非常高的检测灵敏度。

[0068] 此外,免疫色谱法,使用作为免疫色谱法装置的免疫测定(Aisin精器株式会社制),在以下条件下进行。把标准液、缓冲器及胶体金抗雌马酚抗体每个都为室温后,假设胶体金在1400 $\mu$ l的缓冲器下溶解所定浓度的抗体溶液。用微型管抽出抗体溶液96 $\mu$ l,雌马酚标准液(0、0.01、0.03、0.1、0.3、1及3 $\mu$ M),每个加入4 $\mu$ l尿标本及调节尿并混合,把微型管内75 $\mu$ l的混合液从免疫色谱法装置的指定部位滴下来,在湿润箱里展开并静置20分钟,之后,能根据胶体金检测发色。

#### 【实施例4】

[0069] (根据免疫色谱法根据雌马酚测定结果HPLC的评价)

关于根据使用以前测定HPLC的方法和实施例1得到的抗体组合物,和实施例3在同一条件下进行免疫染色测定方法的相关,评价关于人类尿的30检查材料。图2所示比较的测定结果。如图2所示,测定法在HPLC法的中间有直线关系被承认,相似曲线 $y=0.4979x-0.3677$ ,相关系数为 $R^2=0.982$ 。

【现有技术文献】

【专利文献】

[0070] 【专利文献1】公开2010-169507公报

## 序列表

- <110>株式会社乐检生物科技
- <120>抗雌马酚抗体组合物及其利用
- <130> K160791PCT
- <160> 27
- <170> SIPOSequenceListing 1.0
- <210> 1  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus
- <400> 1  
 Ala Tyr Ala Trp Asn  
 1 5
- [0001] <210> 2  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus
- <400> 2  
 Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Ser Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu  
 1 5 10 15
- <210> 3  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus
- <400> 3  
 Ala Gln Gly Ile Phe Gly Asn Leu Gly Asp Tyr  
 1 5 10
- <210> 4  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

<400> 4  
 Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Met His  
 1                   5                   10

<210> 5  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

<400> 5  
 Leu Val Ser Asn Leu Glu Ser  
 1                   5

<210> 6  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

<400> 6  
 Gln His Ile Arg Glu Leu Thr Arg Ser  
 1                   5

[0002]

<210> 7  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

<400> 7  
 Arg Leu Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Arg Asn Tyr Ala Asn  
 1                   5                   10

<210> 8  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

<400> 8  
 Gly Thr Asn Asn Arg Ala Pro  
 1                   5

<210> 9  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

<400> 9  
Ala Leu Trp Tyr Ser Asn His Trp Val  
1 5

<210> 10  
<211> 155  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

<400> 10  
Met Arg Val Leu Ile Leu Leu Trp Leu Phe Thr Ala Phe Pro Gly Ile  
1 5 10 15  
Leu Ser Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro  
20 25 30  
Ser Gln Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr  
35 40 45  
Ser Ala Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu  
50 55 60  
Glu Trp Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Ser Tyr Tyr Asn Pro  
65 70 75 80  
Ser Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln  
[0003] 85 90 95  
Phe Phe Leu His Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr  
100 105 110  
Tyr Cys Ala Gln Gly Ile Phe Gly Asn Leu Gly Asp Tyr Trp Gly Gln  
115 120 125  
Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val  
130 135 140  
Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr  
145 150 155

<210> 11  
<211> 128  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

<400> 11  
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15  
Gly Ser Thr Gly Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala  
20 25 30  
Val Ser Leu Gly Gln Arg Ala Thr Ile Ser Tyr Arg Ala Ser Lys Ser  
35 40 45

Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Met His Trp Asn Gln Gln Lys Pro  
 50 55 60  
 Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Asn Leu Glu Ser  
 65 70 75 80  
 Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr  
 85 90 95  
 Leu Asn Ile His Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys  
 100 105 110  
 Gln His Ile Arg Glu Leu Thr Arg Ser Glu Gly Gly Pro Ser Trp Lys  
 115 120 125

<210> 12  
 <211> 156  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

<400> 12

[0004] Met Ala Trp Thr Ser Leu Ile Leu Ser Leu Leu Ala Leu Ser Ser Gly  
 1 5 10 15  
 Val Ile Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Val Ile Thr Thr Ser  
 20 25 30  
 Pro Gly Glu Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Leu Ser Thr Gly Ala Val  
 35 40 45  
 Thr Ser Arg Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu  
 50 55 60  
 Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Asn Arg Ala Pro Gly Val Pro  
 65 70 75 80  
 Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Val Leu Thr Ile  
 85 90 95  
 Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp  
 100 105 110  
 Tyr Ser Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
 115 120 125  
 Gly Gln Pro Lys Ser Ser Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Thr  
 130 135 140  
 Glu Glu Leu Ser Leu Gly Ile Gly Ser Pro Gly Thr  
 145 150 155

<210> 13  
 <211> 15  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus

<400> 13

	gcttatgcct ggaac	15
	<210> 14	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> Mus musculus	
	<400> 14	
	atgggctaca taagctacag tggtagctct tactacaacc catctctc	48
	<210> 15	
	<211> 33	
	<212> DNA	
	<213> Mus musculus	
	<400> 15	
	gcgcagggaa tcttttgtaa cctaggtgac tac	33
	<210> 16	
	<211> 465	
	<212> DNA	
	<213> Mus musculus	
[0005]	<220>	
	<221> CDS	
	<222> (1)..(465)	
	<400> 16	
	atg aga gtg ctg att ctt ttg tgg ctg ttc aca gcc ttt cct ggt atc	48
	Met Arg Val Leu Ile Leu Leu Trp Leu Phe Thr Ala Phe Pro Gly Ile	
	1                    5                    10                    15	
	ctg tct gat gtg cag ctt cag gag tcg gga cct ggc ctg gtg aaa cct	96
	Leu Ser Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro	
	20                    25                    30	
	tct cag tct ctg tcc ctc acc tgc act gtc act ggc tac tca atc acc	144
	Ser Gln Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr	
	35                    40                    45	
	agt gct tat gcc tgg aac tgg atc cgg cag ttt cca gga aac aaa ctg	192
	Ser Ala Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu	
	50                    55                    60	
	gag tgg atg ggc tac ata agc tac agt ggt agc tct tac tac aac cca	240
	Glu Trp Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Ser Tyr Tyr Asn Pro	
	65                    70                    75                    80	
	tct ctc aaa agt cga atc tct atc act cga gac aca tcc aag aac cag	288

Ser	Leu	Lys	Ser	Arg	Ile	Ser	Ile	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln		
				85					90					95			
ttc	ttc	ctg	cac	ttg	aat	tct	gtg	act	act	gag	gac	aca	gcc	aca	tat		336
Phe	Phe	Leu	His	Leu	Asn	Ser	Val	Thr	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr		
			100					105					110				
tac	tgt	gcg	cag	gga	atc	ttt	ggt	aac	cta	ggt	gac	tac	tgg	ggc	caa		384
Tyr	Cys	Ala	Gln	Gly	Ile	Phe	Gly	Asn	Leu	Gly	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln		
		115					120					125					
ggc	acc	act	ctc	aca	gtc	tcc	tca	gcc	aaa	acg	aca	ccc	cca	tct	gtc		432
Gly	Thr	Thr	Leu	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Ser	Val		
		130					135					140					
tat	cca	ctg	gcc	cct	gga	tct	gct	gcc	caa	act							465
Tyr	Pro	Leu	Ala	Pro	Gly	Ser	Ala	Ala	Gln	Thr							
145					150					155							

<210> 17  
 <211> 155  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

<400> 17

[0006] Met Arg Val Leu Ile Leu Leu Trp Leu Phe Thr Ala Phe Pro Gly Ile  
 1 5 10 15  
 Leu Ser Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro  
 20 25 30  
 Ser Gln Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr  
 35 40 45  
 Ser Ala Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu  
 50 55 60  
 Glu Trp Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Ser Tyr Tyr Asn Pro  
 65 70 75 80  
 Ser Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln  
 85 90 95  
 Phe Phe Leu His Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr  
 100 105 110  
 Tyr Cys Ala Gln Gly Ile Phe Gly Asn Leu Gly Asp Tyr Trp Gly Gln  
 115 120 125  
 Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val  
 130 135 140  
 Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr  
 145 150 155

<210> 18  
 <211> 36







	85	90	95	
aca ggg gca cag act gag gat gag gca ata tat ttc tgt gct cta tgg				336
Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp				
	100	105	110	
tac agc aac cat tgg gtg ttc ggt gga gga acc aaa ctg act gtc cta				384
Tyr Ser Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu				
	115	120	125	
ggc cag ccc aag tct tcg cca tca gtc acc ctg ttt cca ccc tcc aca				432
Gly Gln Pro Lys Ser Ser Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Thr				
	130	135	140	
gaa gag cta agc ttg gga atc gga tcc ccg ggt acc				468
Glu Glu Leu Ser Leu Gly Ile Gly Ser Pro Gly Thr				
	145	150	155	

&lt;210&gt; 27

&lt;211&gt; 156

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 27

[0010]

Met Ala Trp Thr Ser Leu Ile Leu Ser Leu Leu Ala Leu Ser Ser Gly				
1	5	10	15	
Val Ile Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Val Ile Thr Thr Ser				
	20	25	30	
Pro Gly Glu Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Leu Ser Thr Gly Ala Val				
	35	40	45	
Thr Ser Arg Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu				
	50	55	60	
Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Asn Arg Ala Pro Gly Val Pro				
65	70	75	80	
Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Val Leu Thr Ile				
	85	90	95	
Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp				
	100	105	110	
Tyr Ser Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu				
	115	120	125	
Gly Gln Pro Lys Ser Ser Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Thr				
	130	135	140	
Glu Glu Leu Ser Leu Gly Ile Gly Ser Pro Gly Thr				
	145	150	155	

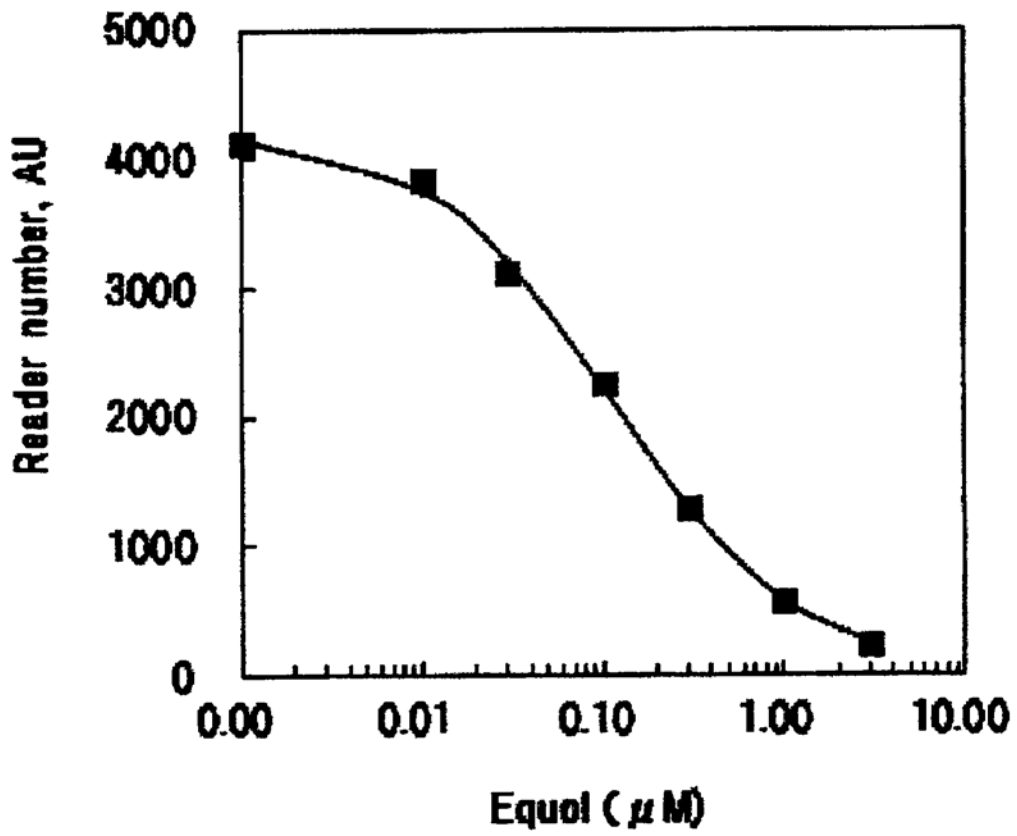


图1

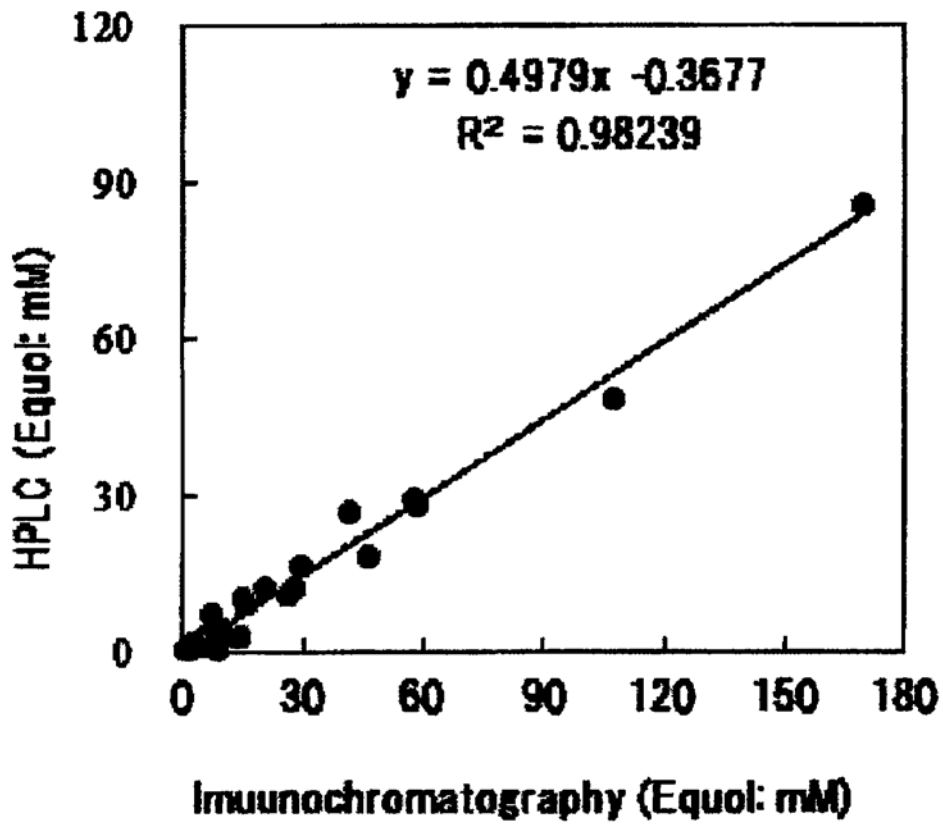


图2

专利名称(译)	抗雌马酚抗体组合物及其利用		
公开(公告)号	<a href="#">CN110622002A</a>	公开(公告)日	2019-12-27
申请号	CN201780085705.X	申请日	2017-12-18
[标]发明人	萩原启太郎		
发明人	泷本阳介 萩原启太郎		
IPC分类号	G01N33/53 C07K16/16 C12N15/09 C12P21/08		
CPC分类号	C07K16/16 C07K16/18 C12N15/09 G01N33/5308 G01N33/53 C07K2317/33 C07K2317/565 C07K2317/92		
优先权	2016245952 2016-12-19 JP		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明公开了一种使用含有以下物质的组合物：作为免疫球蛋白重链可变区，具有SEQ ID NO：1所示的氨基酸排列构成重链超可变区CDR1，SEQ ID NO：2所示的氨基酸排列构成超可变区CDR2及SEQ ID NO：3所示的氨基酸排列构成超可变区CDR3，抗雌马酚抗体或其抗体片段，作为免疫球蛋白轻链可变区，具有SEQ ID NO：4所示的氨基酸排列构成超可变区CDR1'，SEQ ID NO：5所示的氨基酸排列构成超可变区CDR2'及SEQ ID NO：6所示的氨基酸排列构成超可变区CDR3'，作为免疫球蛋白重链可变区，具有SEQ ID NO：1所示的氨基酸排列构成重链超可变区CDR1，SEQ ID NO：2所示的氨基酸排列构成超可变区CDR2及SEQ ID NO：3所示的氨基酸排列构成超可变区CDR3，抗雌马酚抗体或其抗体片段，作为免疫球蛋白轻链可变区，具有SEQ ID NO：7所示的氨基酸排列构成超可变区CDR1'，SEQ ID NO：8所示的氨基酸排列构成超可变区CDR2'及SEQ ID NO：9所示的氨基酸排列构成超可变区CDR3'。

序列表

```

<110>株式会社乐检生物科技
<120>抗雌马酚抗体组合物及其利用
<130> K160791PCT
<160> 27
<170> SIPOSequenceListing 1.0
<210> 1
<211> 5
<212> PRT
<213> Mus musculus
<400> 1
Ala Tyr Ala Trp Asn
1 5
<210> 2
<211> 16
<212> PRT
<213> Mus musculus
<400> 2
Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Ser Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu
1 5 10 15
<210> 3
<211> 11
<212> PRT
<213> Mus musculus
<400> 3
Ala Gln Gly Ile Phe Gly Asn Leu Gly Asp Tyr
1 5 10
<210> 4
<211> 12
<212> PRT
<213> Mus musculus

```