



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103391946 A

(43) 申请公布日 2013. 11. 13

(21) 申请号 201280006665. 2

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2012. 01. 17

C07K 16/24 (2006. 01)

(30) 优先权数据

G01N 33/53 (2006. 01)

2011-015176 2011. 01. 27 JP

G01N 33/543 (2006. 01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

G01N 33/576 (2006. 01)

2013. 07. 26

G01N 33/577 (2006. 01)

(86) PCT申请的申请数据

PCT/JP2012/050794 2012. 01. 17

(87) PCT申请的公布数据

W02012/102126 JA 2012. 08. 02

(71) 申请人 富士瑞必欧株式会社

地址 日本东京都

(72) 发明人 藤井信之 白川贵志 小见和也

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

司 72001

代理人 庞立志 孟慧岚

权利要求书1页 说明书9页

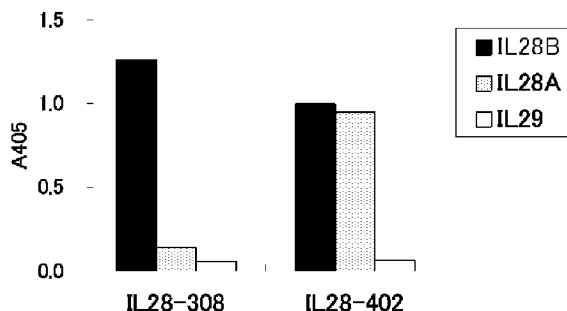
序列表11页 附图2页

(54) 发明名称

抗 IL28B 抗体及使用该抗体的 IL28B 的测定方法

(57) 摘要

本发明公开了能与白介素 28A(IL28A) 区分开来识别白介素 28B(IL28B) 的新型抗体。利用本发明的抗体,能区分作为分泌蛋白仅有 7 个残基不同的 IL28A 和 IL28B,能特异性地检出、定量 IL28B。期待 IL28B 作为事先预测聚乙二醇干扰素 + 利巴韦林并用疗法能否治疗 HCV 感染症的标记物。藉由本发明,能通过简便、迅速且廉价的免疫测定来测定 IL28B,因此本发明对于 HCV 感染症的治疗现场也能作出贡献。



1. 抗体或其抗原结合性片段,其与白介素 28B 通过抗原抗体反应结合,与白介素 28A 实质上不结合。
2. 权利要求 1 所述的抗体或其抗原结合性片段,其与白介素 29 实质上不结合。
3. 权利要求 1 或 2 所述的抗体或其抗原结合性片段,其与白介素 28B 的第 97 位~第 136 位氨基酸的区域内的表位结合。
4. 权利要求 3 所述的抗体或其抗原结合性片段,其识别白介素 28B 的第 120 位氨基酸。
5. 权利要求 4 所述的抗体或其抗原结合性片段,其还识别白介素 28B 的第 114 位和第 124 位氨基酸。
6. 权利要求 4 所述的抗体或其抗原结合性片段,其与将第 120 位氨基酸置换为甘氨酸的白介素 28A 突变体结合,与将第 120 位氨基酸置换为缬氨酸的白介素 28B 突变体不结合。
7. 权利要求 1~6 中任一项所述的抗体或其抗原结合性片段,其中,所述抗体是单克隆抗体。
8. 白介素 28B 的测定方法,其包括通过使用权利要求 1~7 中任一项所述的抗体或其抗原结合性片段的免疫测定来测定试样中的白介素 28B 的步骤。
9. 权利要求 8 所述的方法,其中,所述免疫测定通过使用固定化于固相的固相化抗体和经标记的标记抗体的夹心法来进行,固相化抗体和标记抗体中的至少任一方使用权利要求 1~7 中任一项所述的抗体或其抗原结合性片段。
10. 白介素 28B 的免疫测定试剂盒,其包含权利要求 1~7 中任一项所述的抗体或其抗原结合性片段。
11. 权利要求 10 所述的试剂盒,其中,以固定化于固相的固相化抗体和经标记的标记抗体中的至少任一种形态含有所述抗体或其抗原结合性片段。
12. 预测聚乙二醇干扰素+利巴韦林并用疗法对 HCV 感染症的治疗效果的方法,该方法包括通过权利要求 8 或 9 所述的方法来测定从 HCV 感染患者中分离的试样中的白介素 28B、考察所述患者中的白介素 28B 表达量的步骤,其中,白介素 28B 的低水平的表达表示所述并用疗法没有效果的可能性高。

抗 IL28B 抗体及使用该抗体的 IL28B 的测定方法

技术领域

[0001] 本发明涉及与白介素 28B 特异性结合的抗体、以及使用该抗体的 IL28B 的测定方法。

背景技术

[0002] 日本国的丙型肝炎病毒 (HCV) 感染者约有 200 万人,是日本国内最大的感染症。HCV 一旦感染,就有 6 ~ 8 成会转成慢性肝炎,几乎不会自然治愈,大多会发展为肝硬化、肝癌,在日本的现状是每年约有 2 万 5 千人因肝癌而死亡。该 HCV 的根治治疗可通过聚乙二醇干扰素 + 利巴韦林并用疗法来根治,但现状是,在日本人中最多的 Genotype 1 型高病毒量的病例中只有约 50% 左右的根治,约 20% 的聚乙二醇干扰素 + 利巴韦林并用疗法完全无效。聚乙二醇干扰素 + 利巴韦林并用疗法有很高的频率会发生严重的副作用,并且价格非常高,因此特别是对完全无效的患者而言是一种负担。

[0003] 聚乙二醇干扰素 + 利巴韦林并用疗法的治疗效果与白介素 28B (IL28B) 基因多态性有着很强的关联,而且有报道称,并用治疗没有效果的患者的 IL28B 基因表达水平显著地低 (非专利文献 1),期待 IL28B 作为 HCV 治疗效果预测标记物。然而,现状是不存在 IL28B 特异性抗体,也不存在 IL28B 特异性测定方法及试剂盒。

[0004] 现有技术文献

专利文献

专利文献 1 :日本专利第 4350950 号

非专利文献

非专利文献 1 :Nature Genetics, vol. 41, No. 10, 2009, p. 1105-1109。

发明内容

[0005] 发明所要解决的课题

因此,本发明的目的在于提供能进行 IL28B 的免疫测定的新方法。

[0006] 用于解决课题的手段

本发明人以重组 IL28B 作为免疫原,在抗体筛选中使用重组 IL28B 和重组 IL28A 来制备单克隆抗体,结果成功地取得了与 IL28B 结合而与 IL28A 实质上不结合的抗体。所得抗体的表位分析的结果发现,以 IL28B 的氨基酸序列中的 aa97-136 的区域作为表位,在将 IL28B 的第 120 位的 G (甘氨酸) 置换为 IL28A 的第 120 位的 V (缬氨酸) 的 IL28B-G120V 中无法确认到反应,发现该抗体能特异性地识别与 IL28A 不同的氨基酸、即 IL28B 的第 120 位的 G。还发现,在该抗体与 IL28B 的结合中,第 114 位的 D 和第 124 位的 D 也很重要。此外,确立了使用该抗体以及以与该抗体不同的区域作为表位而与 IL28B 结合的抗体的夹心免疫测定的方法,使得可提供免疫测定试剂盒,从而完成了本发明。

[0007] 即,本发明提供抗体或其抗原结合性片段,其与白介素 28B 通过抗原抗体反应而结合,与白介素 28A 实质上不结合。此外,本发明提供白介素 28B 的测定方法,该方法包括

通过使用上述本发明的抗体或其抗原结合性片段的免疫测定来测定试样中的白介素 28B 的步骤。本发明还提供白介素 28B 的免疫测定试剂盒,其包括上述本发明的抗体或其抗原结合性片段。本发明还提供一种方法,该方法是预测聚乙二醇干扰素 + 利巴韦林并用疗法对 HCV 感染症的治疗效果的方法,包括通过上述本发明的方法来测定从 HCV 感染患者中分离的试样中的白介素 28B、考察所述患者中的白介素 28B 表达量的步骤,其中,白介素 28B 的低水平的表达表示所述并用疗法没有效果的可能性高。

[0008] 发明的效果

通过本发明,首次提供了能将 IL28B 和 IL28A 区分开识别的抗体。利用本发明的抗体,能区分作为分泌蛋白仅有 7 个残基不同的 IL28A 和 IL28B,能特异性地检出、定量 IL28B。已知聚乙二醇干扰素 + 利巴韦林并用疗法对 HCV 感染症的治疗效果与 IL28B 基因多态性有着很强的关联,该并用治疗没有效果的患者的 IL28B 基因表达水平显著地低,期待 IL28B 作为事先预测该并用疗法能否治疗 HCV 感染症的标记物。然而,基因多态性分析繁琐,需要时间,且价格高。藉由本发明,能通过简便、迅速且廉价的免疫测定来测定 IL28B,因此对于 HCV 感染症的治疗现场也能作出贡献。

附图说明

[0009] [图 1] 表示 IL28A 和 IL28B 的氨基酸序列的比对。

[0010] [图 2] 表示对于实施例制备的两种单克隆抗体 IL28-308 及 IL28-402、通过固相 ELISA 来考察与 IL28B、IL28A 及 IL29 的反应性的结果。

[0011] [图 3] 表示通过实施例中确立的夹心 ELISA 来测定 IL28B 及 IL28A 的结果。

具体实施方式

[0012] 如上所述,本发明的抗体与白介素 28B(IL28B) 通过抗原抗体反应结合,与白介素 28A(IL28A) 实质上不结合。下面有时将这样的结合性称为“与 IL28B 特异性结合”。此外,有时将该抗体称为“抗 IL28B 抗体”。

[0013] 这里,“实质上不结合”是指:不与 IL28A 以能检出的水平结合(即与 IL28A 的结合在背景以下),或者即使以能检出的水平结合,该结合的程度也极其微弱、且和与 IL28B 的结合相比明显更少,只能结合到只要是本领域技术人员就能判断其未与 IL28B 结合的程度。本发明的抗 IL28B 抗体优选为仅与 IL28B 结合、不与 IL28A 以能检出的水平结合的抗体。例如,通过 ELISA 考察了下述实施例中制备的抗体与 IL28A 的结合性,如果在通过该方法考察时只能以背景程度以下的水平检出结合,则可以判断不以能检出的水平结合。此外,本发明的抗 IL28B 抗体与 IL29 也实质上不结合,优选不以能检出的水平结合。

[0014] IL28A、IL28B 及 IL29 本身是公知的蛋白质,在 GenBank 中也分别以登录号 AY129148、AY129149、AY129150 登录。这些已登录的序列示于序列表的序列编号 1~6。序列编号 4 所示的 IL28B 的氨基酸序列中,第 1~第 25 个氨基酸(aa1-25)的区域是信号肽,aa26-200 的区域是作为成熟蛋白质分泌的区域。

[0015] [表 1]

	序列表	GenBank 登录号
IL28A	序列编号 1(cDNA) 序列编号 2(蛋白质)	AY129148
IL28B	序列编号 3(cDNA) 序列编号 4(蛋白质)	AY129149
IL29	序列编号 5(cDNA) 序列编号 6(蛋白质)	AY129150

[0016] 本发明中,任意的氨基酸残基的位置以包含信号肽的 IL28B 的全长 200 个残基的氨基酸序列为基准来表示。例如,IL28B 的“第 120 个氨基酸”是指序列编号 4 所示的氨基酸序列中的第 120 位的氨基酸。该残基在除去了信号肽的成熟型 IL28B 中是自 N 末端起第 95 位。

[0017] IL28B 是与 IL28A 及 IL29 同源性高的蛋白质。特别是 IL28B 和 IL28A 的同源性非常高,两者间的不同的氨基酸在全长 200 个残基中有 8 个残基,在分泌蛋白区域中有 7 个残基(图 1)。本发明的抗体与如上所述同源性非常高的 IL28A 区分开,与 IL28B 特异性结合。

[0018] 抗 IL28B 抗体优选与 IL28B 的 aa97-136 的区域内的表位结合。这里,“aa97-136 的区域内的表位”的表述包括由 aa97-136 的区域的全长构成的表位、以及由 aa97-136 的区域内的部分区域构成的表位。下述实施例中制备的抗 IL28B 抗体与由 IL28B 的 aa97-136 构成的部分片段结合,与由 IL28A 的相同区域构成的部分片段不结合。此外,确认与 IL28B 及 IL28A 这两者结合的抗体以不同的区域作为表位。因此,以 aa97-136 的区域内的任意区域(全长或其一部分)作为表位的抗体是能与 IL28B 特异性结合的抗体。

[0019] 抗 IL28B 抗体能识别 IL28B 中的特定的氨基酸残基。“识别氨基酸残基”是指与该残基本身或由该残基形成的抗原分子表面的部分结构结合,除了抗 IL28B 抗体与外露在 IL28B 分子表面的该残基结合的情况外,也包括虽然该残基本身位于分子结构的内部、但却是决定抗 IL28B 抗体所结合的 IL28B 分子表面的部分结构(也包括糖链结构等表面修饰)的重要的残基的情况。

[0020] 例如,抗 IL28B 抗体识别 IL28B 的第 120 个氨基酸。第 120 个氨基酸在 IL28B 中是甘氨酸,而在 IL28A 中是缬氨酸。下述实施例中制备的抗 IL28B 抗体与将 IL28B 的第 120 个氨基酸置换为缬氨酸的 IL28B 突变体不结合,另一方面,与将 IL28A 的第 120 个氨基酸置换为甘氨酸的 IL28A 突变体结合。因此,该抗 IL28B 抗体是识别 IL28B 的第 120 个氨基酸的抗体。

[0021] 此外,抗 IL28B 抗体除了第 120 个氨基酸外,也能识别第 114 个和第 124 个氨基酸。第 114 个和第 124 个氨基酸在 IL28B 和 IL28A 中均同为天冬氨酸,而下述实施例的抗 IL28B 抗体即使在将这些氨基酸残基置换了的情况下也不能结合。因此,这些残基也可能是构成抗 IL28B 抗体的表位的重要的残基。

[0022] 本发明的抗体既可以是多克隆抗体也可以是单克隆抗体,为了免疫测定等,优选重现性高的单克隆抗体。

[0023] 本发明的抗 IL28B 抗体例如可以使用 IL28B 的分泌蛋白区域(序列编号 4 的 aa26-200)作为免疫原、通过周知的杂交瘤法来制备。具体而言,例如通过周知的基因工程

方法来制备除去了信号肽的成熟型 IL28B,用其作为免疫原来免疫动物(人除外),在该动物体内诱发抗体。从该动物回收脾细胞和淋巴细胞之类的抗体产生细胞,使其与骨髓瘤细胞等永生化细胞融合,从而能制成杂交瘤。使用 IL28B 和 IL28A 作为筛选抗原,从该杂交瘤中选择与 IL28B 结合、与 IL28A 不结合的杂交瘤,使其增殖,从而能从培养上清中得到抗 IL28B 单克隆抗体。

[0024] 也能由本发明的抗体来制备抗原结合性片段。“抗原结合性片段”是指例如免疫球蛋白的 Fab 片段和 F(ab')₂ 片段之类的、维持着该抗体与对应抗原的结合性(抗原抗体反应性)的抗体片段。众所周知这样的抗原结合性片段也能用于免疫测定,与原本的抗体同样有用。众所周知, Fab 片段和 F(ab')₂ 片段可通过用木瓜蛋白酶和胃蛋白酶之类的蛋白分解酶对单克隆抗体进行处理而得。应予说明,抗原结合性片段不限于 Fab 片段和 F(ab')₂ 片段,可以是维持着与对应抗原的结合性的任意片段,也可以是通过基因工程方法制备的片段。此外,例如也可以使用通过基因工程方法使单链可变区(scFv: single chain fragment of variable region)在大肠杆菌内表达而得的抗体。scFv 的制备方法也是周知的,可以提取如上所述制备的杂交瘤的 mRNA,制备单链 cDNA,用免疫球蛋白 H 链及 L 链的特异性引物进行 PCR,将免疫球蛋白 H 链基因及 L 链基因扩增,用接头将它们连接,赋予合适的限制酶位点,导入质粒载体中,用其转化大肠杆菌,从大肠杆菌中回收 scFv,从而制成 scFv。这样的 scFv 也作为“抗原结合性片段”包括在本发明的范围内。

[0025] 藉由使用本发明的抗体或其抗原结合性片段的免疫测定,能区分作为分泌蛋白仅有 7 个残基不同的 IL28A 和 IL28B,能特异性地检出、定量 IL28B。本发明也提供白介素 28B 的测定方法,该方法包括通过使用抗体或其抗原结合性片段的免疫测定来测定试样中的白介素 28B 的步骤。应予说明,本发明中,“测定”这一用语包括检出、定量、半定量。

[0026] 免疫测定本身在本领域内是周知的,本发明的测定方法中可以采用任意一种。即,如果根据反应形式将免疫测定法分类,则有夹心法、竞争法、凝集法、蛋白质印迹法等,此外,如果根据标记来分类,则有酶联免疫分析、放射免疫分析、荧光免疫分析等,其中的任何一种方法都包括在本发明所说的“免疫测定”中,本发明的测定方法中可以采用。虽无特别限定,但如果要例举具体例,则可以优选采用免疫沉淀、ELISA、免疫染色、免疫色谱等方法。从在医疗现场迅速、简便地检出 IL28B 的观点来看,更优选夹心 ELISA、免疫色谱等夹心法。

[0027] 各免疫测定中所需的试剂类也是周知的,除了所使用的抗体是本发明的抗体或其抗原结合性片段外,可以使用普通的免疫测定用试剂盒来进行免疫测定。即,本发明也提供用于实施本发明的测定方法的测定试剂盒,其包括上述本发明的抗体或其抗原结合性片段。抗体或其抗原结合性片段以外的试剂盒中包括的试剂种类可以与公知的普通的免疫测定用试剂盒相同。例如,本发明的测定试剂盒除了上述抗体或其抗原结合性片段外,还可以包括能作为样品稀释液或洗涤液等使用的缓冲液及操作说明书等。

[0028] 对于试样无任何限定,只要是能含有 IL28B 的试样就都可以。既可以从机体分离出来的来源于机体的试样,也可以是不来源于机体的试样(例如在实验室中通过基因工程方法制备的 IL28B 试样等)。例如,作为来源于机体的试样,可例举血液试样(全血、血浆、血清等)、细胞提取液、组织试样等,但不限于此。机体无特别限定,有人、狗、猫、兔、小鼠、仓鼠等哺乳动物。

[0029] 这些免疫测定法本身是周知的,无需在本说明书中说明,但如果要简单地记载,则

例如在夹心法中,将与 IL28B 结合的抗体固定化于固相(固相化抗体),使其与试样反应,洗涤后,使其与在与固相化抗体不同的位点与 IL28B 结合的经标记的抗体(标记抗体)反应,洗涤后,测定与固相结合标记的抗体。通过使用与 IL28B 特异性结合的抗 IL28B 抗体作为固相化抗体和标记抗体中的至少任一方,可将试样中的 IL28B 和 IL28A 区分开来测定。固相化抗体和标记抗体可以一方采用抗 IL28B 抗体、另一方采用与 IL28A 也能结合的抗 IL28A/B 抗体,或者也可以采用在彼此不同的位点与 IL28B 分子结合的两种抗 IL28B 抗体。抗 IL28A/B 抗体例如可通过在上述抗 IL28B 抗体的制备方法中的杂交瘤的筛选工序中选择产生与 IL28A 的 IL28B 这两者结合的抗体的杂交瘤而获得。固相化抗体和标记抗体可以都是多克隆抗体也可以都是单克隆抗体,从提高测定精度的观点来看,优选两者都是单克隆抗体。应予说明,免疫测定中,也可以使用该抗体的抗原结合性片段来代替抗体。

[0030] 标记抗体的测定可通过测定来自标记物质的信号来进行。信号的测定方法根据标记物质的种类适当选择。例如为酶标记时,可以将该酶的底物添加至反应体系内,用吸光度计或发光计测定通过酶反应而产生的显色或发光的量。对于以各种浓度含有 IL28B 的浓度已知的标准试样,可以用本发明的抗体或其抗原结合性片段来进行免疫测定,将来自标记的信号的和标准试样中的 IL28B 浓度的相关关系作图,预先制成校正曲线,对 IL28B 浓度未知的受试试样进行同样的操作,测定来自标记的信号量,将测定值代入该校正曲线,从而定量受试试样中的 IL28B。

[0031] 固相化抗体和标记抗体这两者为单克隆抗体时,可通过尝试实际进行免疫测定来容易地考察单克隆抗体的组合是否是优选的。根据需要,可以进行抗体的识别位点的鉴定,考察是否识别不同的表位。抗体的识别位点的鉴定可通过本领域周知的常规方法来进行。如果要简洁地说明,则例如可以将作为对应抗原的 IL28B 蛋白用胰蛋白酶等蛋白质分解酶部分消化,使部分消化物溶液通过结合有欲考察识别位点的抗体的亲和柱,使消化物结合,接着使结合的消化物洗脱,进行常规方法的质谱,从而鉴定抗体的识别位点。

[0032] HCV 感染症虽然可通过聚乙二醇干扰素 + 利巴韦林并用疗法来根治,但在日本人中最多的 Genotype 1 型高病毒量的病例中的根治率低,约 20% 的该并用疗法完全无效。近年来,有报道称,该并用治疗没有效果的患者中 IL28B 基因表达水平显著地低(非专利文献 1),认为 IL28B 可以用作 HCV 治疗效果预测标记物。即,可以对从 HCV 感染患者中分离的试样用本发明的方法测定 IL28B,考察该患者中的 IL28B 表达量,根据该表达量测定值来事先预测 HCV 感染患者能否用聚乙二醇干扰素 + 利巴韦林并用疗法治疗。IL28B 的低水平的表达表示该并用疗法没有效果的可能性高。

[0033] 例如,可以针对并用疗法有效的已知的患者组考察 IL28B 表达量,预先确定“有效的基准值”,将 HCV 感染患者中的测定值与该有效的基准值进行对比,从而预测该 HCV 感染患者的并用治疗效果。与有效的基准值有显著差异的情况下(即与有效的基准值相比、测定值显著地低的情况下),可以预测该患者的上述并用疗法没有效果,因此可以事先避免使用高价且副作用也多的上述并用疗法。与有效的基准值没有显著差异的情况下(即与有效的基准值相比、测定值不是显著地低的值的情况下),可以预测该患者可通过上述并用疗法根治的可能性高,因此有助于作出积极应用上述并用疗法的判断。除了有效的基准值以外,也可以预先确定并用疗法没有效果的已知的患者组的 IL28B 表达量的平均值(无效的基准值),将其与测定值进一步进行对比。

实施例

[0034] 下面基于实施例对本发明进行更具体的说明。不过,本发明不限于下述实施例。

[0035] 1. 抗人 IL28B 单克隆抗体的制备

使用重组人 IL28B(rIL28B) 作为免疫原。由以人 IL28B 的序列信息(序列编号 3)为基础将寡聚 DNA 组合而成的 DNA 片段通过 PCR 来进行除去了信号肽的成熟型 IL28B 的 cDNA(编码序列编号 4 中的 aa26 ~ aa200 的区域)的基因人工合成,纯化后,整合到公知的表达载体中,导入大肠杆菌,用柱回收、纯化而得到表达的 rIL28B。用其免疫小鼠(腹腔内给药、给药量约 20 μ g/只、免疫次数 3 ~ 4 次),通过作为常规方法的杂交瘤法制备产生针对免疫原的抗体的杂交瘤。

[0036] 抗体筛选通过 ELISA 和蛋白质印迹(Western blotting(WB))来实施。作为筛选抗原,使用通过常规方法用杆状病毒-昆虫细胞表达系统制备的重组人 IL28B 和重组人 IL28A(均为不含信号肽的成熟型、分别为序列编号 4 和序列编号 2 中的 aa26 ~ aa200 的区域)。抗原固相 ELISA 的具体步骤如下所示。

[0037] 将重组 IL28B 或重组 IL28A 用 PBS 配制成 0.5 μ g/ml,将该溶液以 50 μ l/孔加入 96 孔试验板,于 37 $^{\circ}$ C 包被 1 小时。用 PBST 洗涤后,以 50 μ l/孔加入杂交瘤培养上清,于 37 $^{\circ}$ C 反应 1 小时。用 PBST 洗涤后,以 50 μ l/孔加入 POD 标记抗小鼠 IgG 抗体,于 37 $^{\circ}$ C 反应 1 小时。用 PBST 洗涤后,用 ABTS 底物体系进行显色,用酶标仪测定 A405nm 的吸光度。

[0038] 筛选出与重组 IL28B 反应、与重组人 IL28A 不反应的抗体,结果得到了多株对 IL28B 有特异性的单克隆抗体。也得到了多株与 IL28B 和 IL28A 两者都结合的抗体。对于所得抗体,通过 WB 确认反应性。结果的一部分示于下表 2。

[0039] [表 2]

mAb	特异性	WB 中的反应性的有无	
		IL28B	IL28A
IL28-202	A/B	+	+
IL28-302	B	+	-
IL28-307	B	+	-
IL28-308	B	+	-
IL28-310	A/B	+	+
IL28-314	B	+	-
IL28-316	A/B	+	+
IL28-402	A/B	+	+

[0040] 2. IL28 mAb IL28-308 及 IL28-402 的交叉反应性试验

使用结合有重组 IL28B、IL28A、IL29 的试验板来考察抗体的交叉反应性。重组 IL29 购自 R&D systems 公司(#1598-IL-025)。

[0041] 将重组 IL28B、重组 IL28A 或重组 IL29 用 PBS 配制成 0.5 μ g/ml,将该溶液以 100 μ l/孔加入 96 孔试验板,于 37 $^{\circ}$ C 包被 1 小时。用 PBST 洗涤后,以 250 μ l/孔加入 1% 脱脂牛奶-PBS,于 37 $^{\circ}$ C 封闭 1 小时。将抗体用 1% BSA-PBS 稀释至 200ng/ml,以 100 μ l/孔添加,于 37 $^{\circ}$ C 反应 1 小时。用 PBST 洗涤后,以 100 μ l/孔加入 POD 标记抗小鼠 IgG 抗体,

于 37℃ 反应 1 小时,用 PBST 洗涤后,用 ABTS 底物体系进行显色,用酶标仪测定 A405nm 的吸光度。

[0042] 结果示于图 2。IL28-308 与 IL28B 反应,与 IL28A 和 IL29 不反应 (IL28B 特异性抗体)。IL28-402 与 IL28B 和 IL28A 反应,与 IL29 不反应 (IL28 特异性抗体)。

[0043] 3. IL28 mAb IL28-308 和 IL28-402 的表位分析

制备 IL28B 和 IL28A 的重组缺失突变体 (deletion mutant) 及点突变体 (point mutant),针对如上所述得到的 IL28-308 和 IL28-402 通过 WB 来分析抗体表位。点突变体是以成熟型的 IL28A 和 IL28B 之间的不同的 7 个氨基酸作为靶点,将 IL28B 的 1 个残基置换为 IL28A 型、或者将 IL28A 的 1 个残基置换为 IL28B 型来制备的。WB 的结果示于下表 3。

[0044] [表 3]

抗原	WB 中的反应性的有无	
	单克隆抗体	
	IL28-308	IL28-402
IL28B wt	+	+
IL28A wt	-	+
IL28B aa97-136	+	-
IL28A aa97-136	-	-
IL28B R32H	+	+
IL28B K74R	+	+
IL28B R76H	+	+
IL28B V96M	+	+
IL28B G120V	-	+
IL28B L137F	+	+
IL28B H160Y	+	+
IL28A V120G	+	+

[0045] IL28-308 与 IL28B 反应,与 IL28A 不反应。该抗体与 IL28B 的 aa97-136 的区域反应,与 IL28A 的 aa97-136 的区域不反应。IL28B 的 aa97-136 的区域中与 IL28A 不同的氨基酸是第 120 位的甘氨酸这 1 个残基,该残基在 IL28A 中为缬氨酸。考察与该残基的点置换突变体的反应性,结果 IL28-308 与 IL28B G120V 不反应,与 IL28A V120G 反应。应予说明,与 IL28B 的第 120 位相对应的 IL29 的氨基酸是谷氨酰胺,第 120 位的甘氨酸是 IL28B 的特异性的氨基酸。

[0046] 除了 IL28B 的第 120 位的甘氨酸以外,与 IL28A 不同的氨基酸有 6 处,为第 32 位、第 74 位、第 76 位、第 96 位、第 137 位、第 160 位。如果考察与在这些部位置换为 IL28A 型的 IL28B 的点突变体 (IL28B R32A、K74R、R76H、V96M、L137F 和 H160Y) 的反应性,则 IL28-308 与这些置换突变体反应。

[0047] 由这些结果可知,IL28-308 在 IL28B 的 aa97-136 的区域内具有表位,识别第 120 位的甘氨酸。

[0048] 另一方面,可知 IL28-402 与 IL28B 和 IL28A 反应,是以与 IL28-308 不同的区域 (aa97-136 以外的区域) 作为表位的抗体。

[0049] 4. IL28 mAb IL28-308 的详细表位分析

将 IL28B 的第 114 位~第 125 位之间的氨基酸残基置换为丙氨酸,制成 IL28B 的丙氨酸点突变体,通过 WB 进一步详细分析抗体表位。WB 的结果示于下表 4。

[0050] [表 4]

抗原	WB 中的反应性的有无
	单克隆抗体
	IL28-308
IL28B wt	+
IL28B D114A	-
IL28B T115A	+
IL28B D116A	+
IL28B P117A	+
IL28B L119A	+
IL28B G120V	-
IL28B D121A	+
IL28B V122A	+
IL28B L123A	+
IL28B D124A	-
IL28B Q125A	+

[0051] IL28-308 除了置换突变体 G120V 以外,与 D114A 和 D124A 也不反应。由此可知,在抗体 IL28-308 与 IL28B 的结合中,除了第 120 位的 G 以外,第 114 位的 D 和第 124 位的 D 也很重要。

[0052] 5. IL28 mAb IL28-402 的表位分析

制备 IL28B 的重组缺失突变体,通过 WB 来分析抗体表位。结果示于表 5。

[0053] [表 5]

抗原	WB 中的反应性的有无
	单克隆抗体
	IL28-402
IL28B wt	+
IL28B aa26-200	+
IL28B aa60-200	-
IL28B aa26-60	+

[0054] IL28-402 与 aa60-200 区域不反应,与 aa26-60 区域反应。由此可知,抗体 IL28-402 是在 IL28B 的 aa26-60 的区域具有表位的抗体。

[0055] 6. 基于夹心 ELISA 的 IL28B 的测定体系的确立

在能获取的抗体中,预先对能纯化的抗体进行生物素标记,研究与各种 IL28 mAb 的夹心组合。作为标记抗体,使用 IL28-308(抗 B)、IL28-314(抗 B)、IL28-402(抗 A/B) 这 3 株。此外,作为固相抗体,除了这 3 株以外,还使用 IL28-302(抗 B)、307(抗 B)、316(抗 A/B)。其结果是,确认标记 402 与 302、307、308、314、316,标记 308 和标记 314 与 402 形成夹心。

[0056] 接着,通过使用固相 IL28-402 和标记 IL28-308 的夹心 ELISA 来进行 rIL28B 和 rIL28A 的测定。将 IL28-402 用 0.1M 柠檬酸缓冲液 (pH3.5) 配制成 $10 \mu\text{g/ml}$, 将该溶液以 $100 \mu\text{l}$ /孔加入 96 孔试验板, 于 37°C 包被 1 小时。用 1% BSA-PBS 封闭, 用 PBST 洗涤后, 以 $100 \mu\text{l}$ /孔加入将 rIL28B 或 rIL28A 梯度稀释的抗原溶液, 于 37°C 反应 1 小时。用 PBST 洗涤后, 以 $100 \mu\text{l}$ /孔加入生物素化 IL28-308, 于 37°C 反应 1 小时。用 PBST 洗涤后, 以 $100 \mu\text{l}$ /孔加入抗生物素蛋白链菌素结合碱性磷酸酶, 于 37°C 反应 1 小时。用 PBST 洗涤后, 用 p-NPP 底物体系进行显色, 用酶标仪测定 A405nm 的吸光度。

[0057] 结果示于图 3。使用固相 IL28-402 和标记 IL28-308 的夹心 ELISA 能浓度依赖性地测定 IL28B, 实质上未确认到与 IL28A 的交叉反应。确认能确立 IL28B 特异性测定方法。

序列表

<110> FUJIREBIO INC.

<120> 抗 IL28B 抗体及使用该抗体的 IL28B 的测定方法

<130> PF446-PCT

<160> 6

<170> PatentIn 版本 3.1

<210> 1

<211> 734

<212> DNA

<213> 智人 (Homo sapiens)

<220>

<221> CDS

<222> (53)..(655)

<223>

<400> 1

tgggtgacag cctcagagtg tttcttctgc tgacaaagac cagagatcag ga atg aaa 58
Met Lys
1

cta gac atg act ggg gac tgc acg cca gtg ctg gtg ctg atg gcc gca 106
Leu Asp Met Thr Gly Asp Cys Thr Pro Val Leu Val Leu Met Ala Ala
5 10 15

gtg ctg acc gtg act gga gca gtt cct gtc gcc agg ctc cac ggg gct 154
Val Leu Thr Val Thr Gly Ala Val Pro Val Ala Arg Leu His Gly Ala
20 25 30

ctc ccg gat gca agg ggc tgc cac ata gcc cag ttc aag tcc ctg tct 202
Leu Pro Asp Ala Arg Gly Cys His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser
35 40 45 50

cca cag gag ctg cag gcc ttt aag agg gcc aaa gat gcc tta gaa gag Pro Gln Glu Leu Gln Ala Phe Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu	250
55 60 65	
tcg ctt ctg ctg aag gac tgc agg tgc cac tcc cgc ctc ttc ccc agg Ser Leu Leu Leu Lys Asp Cys Arg Cys His Ser Arg Leu Phe Pro Arg	298
70 75 80	
acc tgg gac ctg agg cag ctg cag gtg agg gag cgc ccc atg gct ttg Thr Trp Asp Leu Arg Gln Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Met Ala Leu	346
85 90 95	
gag gct gag ctg gcc ctg acg ctg aag gtt ctg gag gcc acc gct gac Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr Ala Asp	394
100 105 110	
act gac cca gcc ctg gtg gac gtc ttg gac cag ccc ctt cac acc ctg Thr Asp Pro Ala Leu Val Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu	442
115 120 125 130	
cac cat atc ctc tcc cag ttc cgg gcc tgt atc cag cct cag ccc acg His His Ile Leu Ser Gln Phe Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr	490
135 140 145	
gca ggg ccc agg acc cgg ggc cgc ctc cac cat tgg ctg tac cgg ctc Ala Gly Pro Arg Thr Arg Gly Arg Leu His His Trp Leu Tyr Arg Leu	538
150 155 160	
cag gag gcc cca aaa aag gag tcc cct ggc tgc ctc gag gcc tct gtc Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val	586
165 170 175	
acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg cga gac ctg aat tgt gtt gcc Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala	634
180 185 190	
agt ggg gac ctg tgt gtc tga ccctcccacc agtcatgcaa cctgagattt Ser Gly Asp Leu Cys Val	685

195

200

tatttataaa ttageccactt gtcttaattt attgccaccc agtcgctat

734

<210> 2

<211> 200

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 2

Met Lys Leu Asp Met Thr Gly Asp Cys Thr Pro Val Leu Val Leu Met
 1 5 10 15

Ala Ala Val Leu Thr Val Thr Gly Ala Val Pro Val Ala Arg Leu His
 20 25 30

Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly Cys His Ile Ala Gln Phe Lys Ser
 35 40 45

Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala Phe Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu
 50 55 60

Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp Cys Arg Cys His Ser Arg Leu Phe
 65 70 75 80

Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Met
 85 90 95

Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr
 100 105 110

Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Val Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His
 115 120 125

Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Phe Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln
 130 135 140

Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg Gly Arg Leu His His Trp Leu Tyr
 145 150 155 160

Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala
 165 170 175

Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys
 180 185 190

Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val
 195 200

<210> 3

<211> 603

<212> DNA

<213> 智人 (Homo sapiens)

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (603)

<223>

<400> 3

atg aaa cta gac atg acc ggg gac tgc atg cca gtg ctg gtg ctg atg 48
 Met Lys Leu Asp Met Thr Gly Asp Cys Met Pro Val Leu Val Leu Met
 1 5 10 15

gcc gca gtg ctg acc gtg act gga gca gtt cct gtc gcc agg ctc cgc Ala Ala Val Leu Thr Val Thr Gly Ala Val Pro Val Ala Arg Leu Arg 20 25 30	96
ggg gct ctc ccg gat gca agg ggc tgc cac ata gcc cag ttc aag tcc Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly Cys His Ile Ala Gln Phe Lys Ser 35 40 45	144
ctg tct cca cag gag ctg cag gcc ttt aag agg gcc aaa gat gcc tta Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala Phe Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu 50 55 60	192
gaa gag tcg ctt ctg ctg aag gac tgc aag tgc cgc tcc cgc ctc ttc Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp Cys Lys Cys Arg Ser Arg Leu Phe 65 70 75 80	240
ccc agg acc tgg gac ctg agg cag ctg cag gtg agg gag cgc ccc gtg Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Val 85 90 95	288
gct ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg ctg aag gtt ctg gag gcc acc Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr 100 105 110	336
gct gac act gac cca gcc ctg ggg gat gtc ttg gac cag ccc ctt cac Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Gly Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His 115 120 125	384
acc ctg cac cat atc ctc tcc cag ctc cgg gcc tgt atc cag cct cag Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln 130 135 140	432
ccc acg gca ggg ccc agg acc cgg ggc cgc ctc cac cat tgg ctg cac Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg Gly Arg Leu His His Trp Leu His 145 150 155 160	480
cgg ctc cag gag gcc cca aaa aag gag tcc cct ggc tgc ctc gag gcc Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala	528

165	170	175	
tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg cga gac ctg aat tgt			576
Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys			
180	185	190	
gtt gcc agc ggg gac ctg tgt gtc tga			603
Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val			
195	200		
<210>	4		
<211>	200		
<212>	PRT		
<213>	智人 (Homo sapiens)		
<400>	4		
Met Lys Leu Asp Met Thr Gly Asp Cys Met Pro Val Leu Val Leu Met			
1	5	10	15
Ala Ala Val Leu Thr Val Thr Gly Ala Val Pro Val Ala Arg Leu Arg			
	20	25	30
Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly Cys His Ile Ala Gln Phe Lys Ser			
	35	40	45
Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala Phe Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu			
	50	55	60
Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp Cys Lys Cys Arg Ser Arg Leu Phe			
65	70	75	80
Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Val			

	85	90	95
Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr	100	105	110
Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Gly Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His	115	120	125
Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln	130	135	140
Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg Gly Arg Leu His His Trp Leu His	145	150	155
Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala	165	170	175
Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys	180	185	190
Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val	195	200	

- <210> 5
- <211> 856
- <212> DNA
- <213> 智人 (Homo sapiens)

- <220>
- <221> CDS
- <222> (98).. (700)

<223>

<400> 5

aattaccttt tcactttaca cacatcatct tggattgcc attttgcgtg gctaaaaagc 60

agagccatgc cgctggggaa gcagttgcga tttagcc atg gct gca gct tgg acc 115

Met Ala Ala Ala Trp Thr

1

5

gtg gtg ctg gtg act ttg gtg cta ggc ttg gcc gtg gca ggc cct gtc 163

Val Val Leu Val Thr Leu Val Leu Gly Leu Ala Val Ala Gly Pro Val

10

15

20

ccc act tcc aag ccc acc aca act ggg aag ggc tgc cac att ggc agg 211

Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys His Ile Gly Arg

25

30

35

ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc aag aag gcc agg 259

Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys Lys Ala Arg

40

45

50

gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg agt tgc agc tct 307

Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser Cys Ser Ser

55

60

65

70

cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc cag gtg agg gag 355

Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln Val Arg Glu

75

80

85

cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg ctg aag gtc ctg 403

Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu Lys Val Leu

90

95

100

gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta gac cag ccc ctt 451

Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu

105

110

115

cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc tgt atc cag cct 499

His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys Ile Gln Pro

120	125	130	
cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc cac cac tgg ctg			547
Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His His Trp Leu			
135	140	145	150
cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct ggc tgc ctg gag			595
His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly Cys Leu Glu			
	155	160	165
gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg cga gac ctc aaa			643
Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg Asp Leu Lys			
	170	175	180
tat gtg gcc gat ggg aac ctg tgt ctg aga acg tca acc cac cct gag			691
Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Cys Leu Arg Thr Ser Thr His Pro Glu			
	185	190	195
tcc acc tga cacccacac cttatztatg cgctgagccc tactccttcc			740
Ser Thr			
200			
ttaatttatt tectctcacc ctttatttat gaagctgcag ccctgactga gacatagggc			800
tgagtttatt gttttacttt tatacattat gcacaaataa acaacaagga attgga			856
<210> 6			
<211> 200			
<212> PRT			
<213> 智人 (Homo sapiens)			
<400> 6			
Met Ala Ala Ala Trp Thr Val Val Leu Val Thr Leu Val Leu Gly Leu			
1	5	10	15
Ala Val Ala Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys			

20					25					30									
Gly	Cys	His	Ile	Gly	Arg	Phe	Lys	Ser	Leu	Ser	Pro	Gln	Glu	Leu	Ala				
35					40					45									
Ser	Phe	Lys	Lys	Ala	Arg	Asp	Ala	Leu	Glu	Glu	Ser	Leu	Lys	Leu	Lys				
50					55					60									
Asn	Trp	Ser	Cys	Ser	Ser	Pro	Val	Phe	Pro	Gly	Asn	Trp	Asp	Leu	Arg				
65					70					75					80				
Leu	Leu	Gln	Val	Arg	Glu	Arg	Pro	Val	Ala	Leu	Glu	Ala	Glu	Leu	Ala				
85					90					95									
Leu	Thr	Leu	Lys	Val	Leu	Glu	Ala	Ala	Ala	Gly	Pro	Ala	Leu	Glu	Asp				
100					105					110									
Val	Leu	Asp	Gln	Pro	Leu	His	Thr	Leu	His	His	Ile	Leu	Ser	Gln	Leu				
115					120					125									
Gln	Ala	Cys	Ile	Gln	Pro	Gln	Pro	Thr	Ala	Gly	Pro	Arg	Pro	Arg	Gly				
130					135					140									
Arg	Leu	His	His	Trp	Leu	His	Arg	Leu	Gln	Glu	Ala	Pro	Lys	Lys	Glu				
145					150					155					160				
Ser	Ala	Gly	Cys	Leu	Glu	Ala	Ser	Val	Thr	Phe	Asn	Leu	Phe	Arg	Leu				
165					170					175									

Leu Thr Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Cys Leu Arg
180 185 190

Thr Ser Thr His Pro Glu Ser Thr
195 200

```

IL28A.aa  1  MKLDMTGDCMPVVLVLMAAVLTVTGAVPVARLHGALPDARGCHIAQFKSLSPQELQAFKRA  60
IL28B.aa  1  MKLDMTGDCMPVVLVLMAAVLTVTGAVPVARLHGALPDARGCHIAQFKSLSPQELQAFKRA  60

IL28A.aa  61  KDALEESLLLKDCRCHSRLEFPRTWDLRQLQVRRRPMALFAFLALTLKVLKATADTDPALV  120
IL28B.aa  61  KDALEESLLLKDCRCHSRLEFPRTWDLRQLQVRRRPMALFAFLALTLKVLKATADTDPALV  120

IL28A.aa  121  DVLDQPLHTLHHILSQFRACIQPQPTAGPRTGRLLHHWLYRLQEAPKKESPGCLEASVTF  180
IL28B.aa  121  DVLDQPLHTLHHILSQFRACIQPQPTAGPRTGRLLHHWLYRLQEAPKKESPGCLEASVTF  180

IL28A.aa  181  NLFRLLTRDLNVCVSGDLCV  200
IL28B.aa  181  NLFRLLTRDLNVCVSGDLCV  200
    
```

图 1

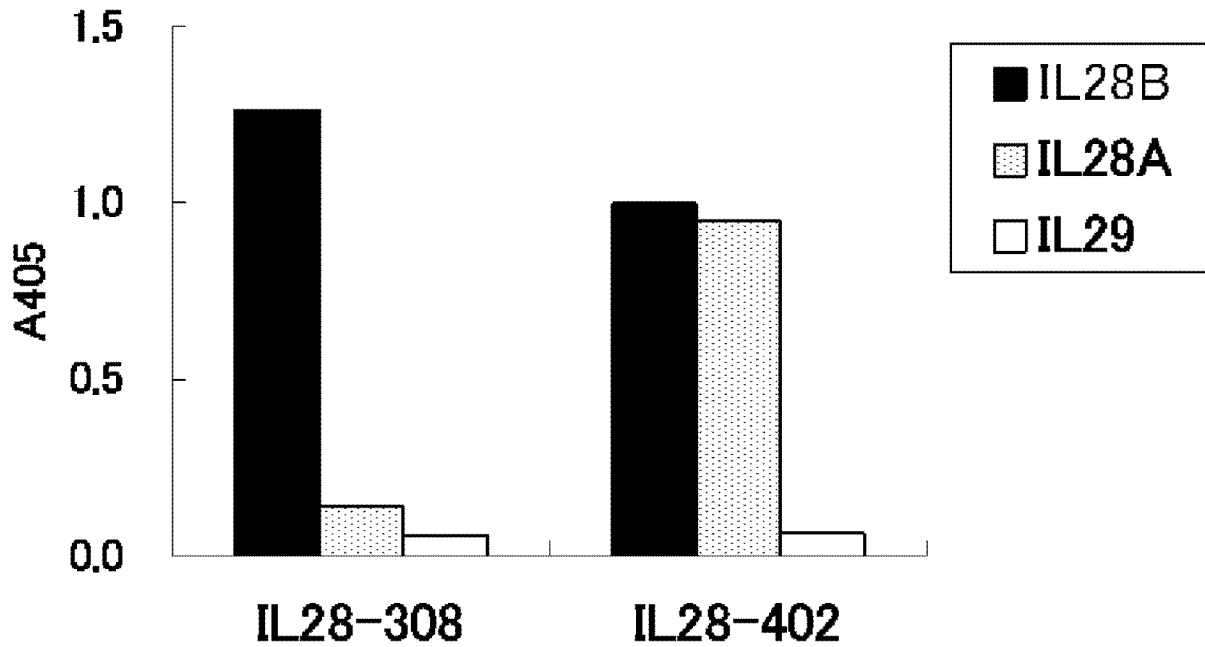


图 2

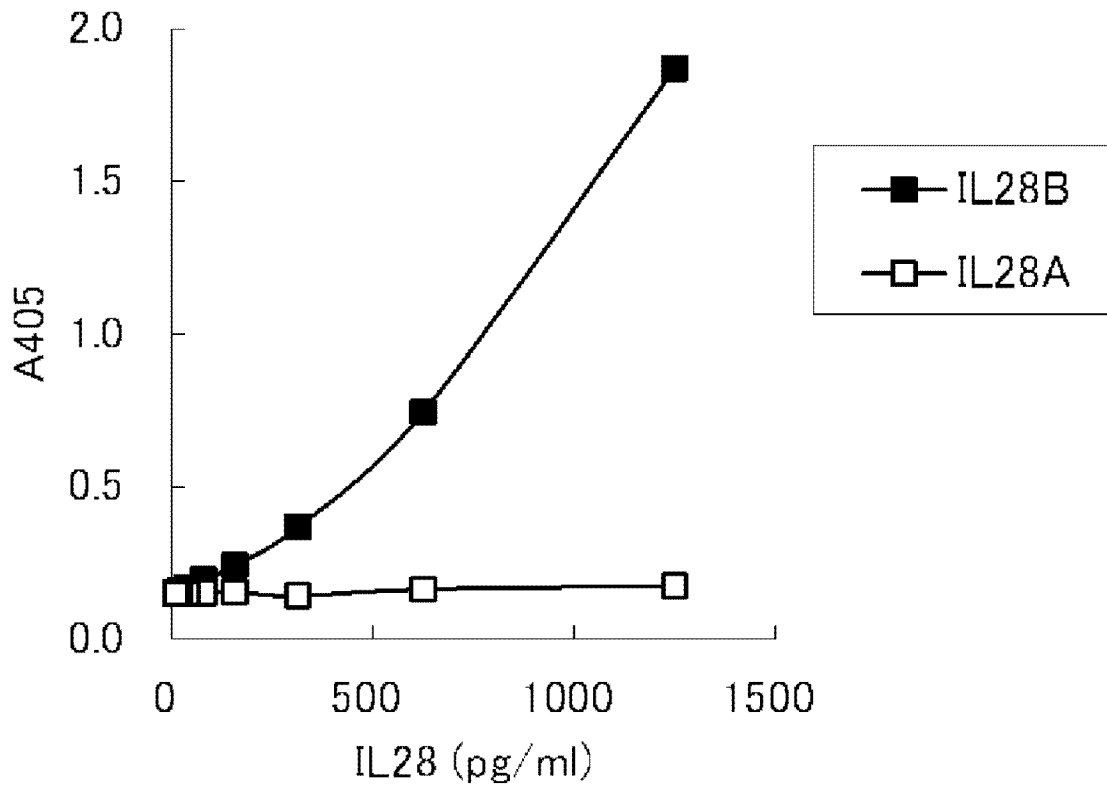


图 3

专利名称(译)	抗IL28B抗体及使用该抗体的IL28B的测定方法		
公开(公告)号	CN103391946A	公开(公告)日	2013-11-13
申请号	CN201280006665.2	申请日	2012-01-17
[标]申请(专利权)人(译)	富士瑞必欧株式会社		
申请(专利权)人(译)	富士瑞必欧株式会社		
当前申请(专利权)人(译)	富士瑞必欧株式会社		
[标]发明人	藤井信之 白川贵志 小见和也		
发明人	藤井信之 白川贵志 小见和也		
IPC分类号	C07K16/24 G01N33/53 G01N33/543 G01N33/576 G01N33/577		
CPC分类号	C07K2317/34 C07K2317/33 G01N33/6869 C07K16/244 G01N33/5767 G01N2800/52 A61P1/16		
代理人(译)	庞立志		
优先权	2011015176 2011-01-27 JP		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了能与白介素28A(IL28A)区分开来识别白介素28B(IL28B)的新型抗体。利用本发明的抗体，能区分作为分泌蛋白仅有7个残基不同的IL28A和IL28B，能特异性地检出、定量IL28B。期待IL28B作为事先预测聚乙二醇干扰素+利巴韦林并用疗法能否治疗HCV感染症的标记物。藉由本发明，能通过简便、迅速且廉价的免疫测定来测定IL28B，因此本发明对于HCV感染症的治疗现场也能作出贡献。

