

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
G01N 33/53 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680023978.3

[43] 公开日 2008年7月2日

[11] 公开号 CN 101213450A

[22] 申请日 2006.7.5

[21] 申请号 200680023978.3

[30] 优先权

[32] 2005. 7. 6 [33] EP [31] 05014618.2

[32] 2006. 3. 6 [33] EP [31] 06004447.6

[86] 国际申请 PCT/EP2006/006524 2006.7.5

[87] 国际公布 WO2007/003420 英 2007.1.11

[85] 进入国家阶段日期 2007.12.29

[71] 申请人 霍夫曼-拉罗奇有限公司

地址 瑞士巴塞尔

[72] 发明人 赫尔穆特·伦茨 维尔纳·朔伊尔
马丁娜·蒂尔

[74] 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任公司

代理人 王旭

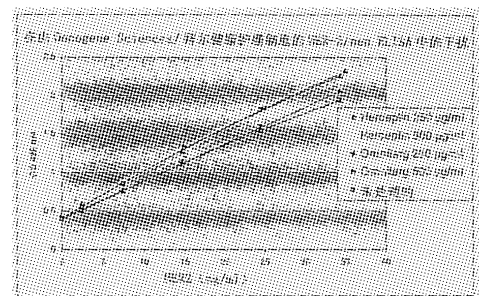
权利要求书2页 说明书23页 附图5页

[54] 发明名称

不论存在或不存在相对应的治疗用抗体而检测靶抗原

[57] 摘要

本发明涉及治疗用抗体领域。本发明特别涉及检测在样品中治疗用抗体的靶抗原的方法，所述方法包括下述步骤：a) 提供待分析的样品，b) 在适合所述治疗用抗体与所述靶抗原结合的条件下，将所述样品与所述治疗用抗体温育，由此形成靶抗原-治疗用抗体-复合物，和 c) 检测在(b)中形成的复合物。



1. 一种检测在样品中治疗用抗体的靶抗原的方法，该方法包括下述步骤：
 - a) 提供待分析的样品，
 - b) 在适合所述治疗用抗体与所述靶抗原结合的条件下，将所述样品与所述治疗用抗体温育，由此形成靶抗原-治疗用抗体-复合物，和
 - c) 检测在(b)中形成的复合物。
2. 按照权利要求 1 的方法，其中所述检测通过免疫测定进行。
3. 按照权利要求 2 的方法，其特征还在于所述免疫测定是夹心免疫测定。
4. 按照权利要求 1 至 3 中之一的方法，其特征还在于所述治疗用抗体是人或人源化抗体。
5. 按照权利要求 4 的方法，其特征还在于所述人或人源化抗体是单克隆抗体。
6. 按照权利要求 1 至 5 中之一的方法，其中所述治疗用抗体选自由 Avastin®, Herceptin®, MabThera®, Omnitarg®, 和 Zenapax®组成的组。
7. 按照权利要求 1 至 5 中之一的方法，其中所述靶抗原选自由 HER2、CD20 和白介素-2 受体组成的组。
8. 一种检测治疗用抗体在存在所述治疗用抗体的样品中的靶抗原的方法，该方法包括下述步骤：
 - a) 提供待分析的样品，

-
- b) 在适合所述治疗用抗体与所述靶抗原结合的条件下, 将所述样品与所述治疗用抗体温育, 由此形成靶抗原-治疗用抗体-复合物, 和
- c) 检测在(b)中形成的复合物。
9. 一种检测治疗用抗体在样品中的靶抗原的方法, 所述样品是从处于使用所述治疗用抗体进行治疗中的患者获得的, 所述方法包括下述步骤:
- a) 提供待分析的样品,
- b) 在适合所述治疗用抗体与所述靶抗原结合的条件下, 将所述样品与所述治疗用抗体温育, 由此形成靶抗原-治疗用抗体-复合物, 和
- c) 检测在(b)中形成的复合物。
10. 按照任一前述权利要求的方法在患者随访中的应用。

不论存在或不存在相对应的治疗用抗体而检测靶抗原

本发明涉及不论存在或不存在相对应的治疗用抗体而检测靶抗原的方法。本发明特别涉及在存在相对应的治疗用抗体时检测靶抗原。本发明公开检测治疗用抗体在样品中的靶抗原的方法，所述方法包括下述步骤：a) 提供待分析的样品，b) 在适合所述治疗用抗体与所述靶抗原结合的条件下，将所述样品与所述治疗用抗体温育，由此形成靶抗原-治疗用抗体-复合物，和 c) 检测在(b)中形成的复合物。本发明还涉及所述方法在患者随访中的应用。

发明背景

自从 1974 年 Köhler 和 Milstein 开发第一种单克隆抗体以来，已经有许多努力致力于开发适用于人类治疗的抗体。可用的第一种单克隆抗体已经在小鼠和大鼠中开发。当用于人类治疗时，由于抗-啮齿动物抗体，这些抗体带来不需要的副作用。已经有许多努力致力于减少或者甚至消除所述不需要的副作用。

在过去十年里，不断增长数量的人单克隆抗体或人源化单克隆抗体已经进入市场。公知的实例包括，例如，来自 Hoffmann-La Roche, Basel (霍夫曼-拉罗奇有限公司，巴塞尔) 的 Herceptin®和 MabThera®。

非常显著数量的人或人源化单克隆抗体正在研究中，并且在出于第一试验目的可以考虑进入人类之前需要在实验动物中进行研究。

治疗单克隆抗体典型地必须以在约 1 ng/ml-约 100 µg/ml 范围的血清水平应用。所述治疗用抗体，因此至少在治疗方案中的特定时间点，以非常高的浓度存在，例如，以与相对应的靶抗原的浓度同样高或者甚至更高的浓度存在。

认为准确检测靶抗原本身是非常重要的，尤其是在治疗后并且特别是在用相对应的治疗用抗体治疗后的患者随访中。由于在治疗方案的疗程

中，治疗用抗体的浓度将在很大程度上变化，所以在为检测其相对应的靶抗原所建立的检测中对所述治疗用抗体的任何干扰可能并且非常可能将导致对所述靶抗原的假检测。

靶抗原的水平可以通过任何适当的方法检测。在临床途径中，在大多数情形中所述方法将应用针对所述靶抗原的抗体，所谓的免疫测定。高和/或可变浓度的治疗用抗体可能干扰用于检测其靶抗原水平的免疫测定。

正如熟练的技术人员应该容易地理解，在检测其相对应的靶抗原中使用治疗用抗体本身是不可能的，或者至少不是容易的任务。如果所述治疗用抗体和用于免疫测定的至少一种抗体结合靶抗原的同一表位，那么将经常遇到相同的困难。然而这一事实是公知的并且普遍接受的，现在已经惊讶地发现，即使所述治疗用抗体结合这样的表位，即所述表位不与在用于相对应的靶抗原的免疫测定中所用的一种或多种抗体结合，但是用于检测靶抗原的免疫测定还可以受到存在或不存在治疗用抗体的危害。

Jilani 等(Jilani, I.,等, Blood (血液学) 1032 (2003) 3514-3520)报道，为了检测细胞表面上的利妥昔单抗，使用特异性检测利妥昔单抗中的小鼠序列并且不与人 Ig 交叉-反应的抗体。在 WO 03/024993 中，报道了一种检测和监测治疗用抗体：抗原复合物、可溶的抗原、游离的治疗用抗体和可溶的总治疗用抗体的方法。

本发明的任务是研究检测治疗用抗体在样品中的靶抗原的方法是否可以改进。所述方法应该产生关于靶抗原浓度的真实并且准确的值，而不管相对应的治疗用抗体存在或不存在，并且应该用于连续的检测，例如，在患者随访中。

这一任务已经由如下文和实施例部分所述并且如在后附的权利要求中所要求保护的本发明完成。

发明概述

本发明包括检测治疗用抗体在样品中的靶抗原的方法，所述方法包括下述步骤：

- a) 提供待分析的样品，
- b) 在适合所述治疗用抗体与所述靶抗原结合的条件下，将所述样品与所

述治疗用抗体温育，由此形成靶抗原-治疗用抗体-复合物，全部靶抗原都被所述治疗用抗体复合，和

c) 检测在 b)中形成的复合物。

发明详述

在第一个实施方案中，本发明涉及检测在样品中治疗用抗体的靶抗原的方法，所述方法包括下述步骤：a) 提供待分析的样品，b) 在适合所述治疗用抗体与所述靶抗原结合的条件下，将所述样品与所述治疗用抗体温育，由此形成靶抗原-治疗用抗体-复合物，和 c) 检测在 b)中形成的复合物。

术语“靶抗原”涉及被其相对应的治疗用抗体结合的生物分子。通过举例的方式，针对 HER2 (= ErbB2 或 p 185^{neu}) 的治疗用抗体如 Herceptin® 或 Omnitarg®的靶抗原是 HER2，针对 CD52 的治疗用抗体如 Campath®的靶抗原是 CD52，针对 EGF_R 的治疗用抗体如 Erbitux®的靶抗原是 EGF_R，针对 CD33 的治疗用抗体如 Mylotarg®的靶抗原是 CD33，针对 Tag-72 的治疗用抗体如 OncoScint®的靶抗原是 Tag-72，针对 17-1A 的治疗用抗体如 Panorex®的靶抗原是 17-1A，针对 CD20 的治疗用抗体如 Rituxan®、MabThera®或 Zevalin®的靶抗原是 CD20，并且针对 CD25 的治疗用抗体如 Zenapax®的靶抗原是 CD25。所述靶抗原可以是可溶的，即，分泌的或释放的 (shed)，靶抗原或 (细胞-) 膜结合的靶抗原。

在另一个实施方案中，所述在步骤 b)中形成的靶抗原-治疗用抗体-复合物的形成，使得所有靶抗原被所述治疗用抗体复合。

当在本申请中应用时，术语“可溶的靶抗原”表示可溶形式，即，分泌的或释放的形式的治疗用抗体的膜-结合靶抗原。治疗用抗体大多数针对它们结合的细胞表面抗原，例如，癌细胞的细胞表面抗原。除了细胞表面抗原的膜-结合变体以外，细胞可以产生这样的抗原的分泌的或释放的，即，可溶的变体。所述可溶的靶抗原可以在患病的个体的体液中发现。“可溶的靶抗原”是膜-结合抗原的分泌的或释放的变体，因此，所述可溶的变体具有与所述膜-结合抗原的至少一部分胞外结构域相同的氨基酸序列和相同的二级结构，因而允许针对 (膜-结合) 靶抗原的胞外结构域的抗

体还结合所述可溶的靶抗原。

在另一个实施方案中，所述靶抗原是可溶的靶抗原。

当在本申请中应用时，术语“表位”表示能够特异性地与抗体结合的蛋白决定簇。表位通常由诸如氨基酸或糖侧链的分子的化学活性表面基团组成，并且通常具有特异的三维结构特征，以及特异的电荷特征。构象和非-构象表位区别在于，在存在变性溶剂时，与前者的结合而不是与后者的结合丢失。取决于所述表位所属的抗原的大小，每一抗原多于一个表位可以是可行的，同样导致每一抗原多于一个的抗体结合位点（=表位）的可能性。

按照本发明的“样品”可以是取自实验动物、优选地取自哺乳动物的任何组织或液体样品。优选地，所述样品应该是液体样品，如唾液、尿、全血、血浆或血清。优选地，所述样品应该是全血、血浆或血清。优选地，所述样品是不含细胞的样品，即，不含携带膜-结合靶抗原的细胞的样品。

适于靶抗原与其相对应的“治疗用抗体”结合的条件是熟练的技术人员公知的，或者可以容易地确定。在这些条件下，所述治疗用抗体结合所述靶抗原，膜-结合的或可溶的变体，并且形成所述靶抗原与所述治疗用抗体之间的免疫复合物，这形成靶抗原-治疗用抗体-复合物。这一复合物可以通过任何适当的方法检测。

在一个优选的实施方案中，靶抗原-治疗用抗体-复合物通过借助免疫测定而检测。所用的免疫测定优选地是非均相免疫测定。还优选地，所述靶抗原-治疗用抗体-复合物的检测通过借助竞争免疫测定或通过借助所谓的夹心免疫测定而完成。

熟练的技术人员应该没有问题地设置免疫测定，当存在于所述靶抗原-治疗用抗体-复合物中时，所述免疫测定能够检测所述靶抗原。通过举例方式，所述检测可以以夹心型免疫测定进行，其中一种抗体用作捕获抗体，所述捕获抗体与所述靶抗原在不与所述治疗用抗体的表位相重叠的表位结合。对于所述靶抗原-治疗用抗体-复合物的检测，优选地使用针对所述靶抗原的第二或检测抗体，其与既不被所述治疗用抗体也不被所述捕获抗体识别的表位结合。

优选地使用能够形成检测抗体-靶抗体-治疗用抗体-复合物夹心的检

测抗体。所述第二或检测抗体优选地以如此方式标记，以致促进直接或间接的检测。

对于直接检测，标记基团可以选自任何已知的可检测标记基团，诸如染料、发光标记基团，诸如化学发光基团，例如吖啶鎓酯(acridinium esters)或二氧杂环丁烷，或荧光染料，例如荧光素、香豆素、罗丹明、噁嗪、试卤灵、花菁及它们的衍生物。标记基团的其它实例为发光金属复合物，诸如钌或铑复合物，酶，例如用于 ELISA 或用于 CEDIA (克隆的酶供体免疫测定 (Cloned Enzyme Donor Immunoassay)，例如，EP 0 061 888)的那些，以及放射性同位素。

间接检测系统包括，例如，将检测试剂，例如检测抗体，用生物亲和结合对 (bioaffine binding pair) 的第一配偶体标记。适当的结合对的实例是半抗原或抗原/抗体，生物素或生物素类似物诸如氨基生物素、亚氨基生物素或脱硫生物素/抗生物素蛋白或链霉抗生物素，糖/凝集素，核酸或核酸类似物/互补核酸。以及受体/配体，例如，类固醇激素受体/类固醇激素。优选的第一结合对成员包括半抗原、抗原和激素。特别优选的是半抗原，如洋地黄毒苷、地高辛配基和生物素以及它们的类似物。所述结合对的第二配偶体，例如，抗体、链霉抗生物素等，通常被标记，例如，通过上文提及的标记，以允许直接检测。

免疫测定是熟练的技术人员公知的。进行所述检测以及实际应用的方法和流程总结在相关教科书中。相关教科书的实例为 Tijssen, P., Preparation of enzyme-antibody or other enzyme-macromolecule conjugates (制备酶-抗体或其它酶-大分子缀合物)，在: Practice and theory of enzyme immunoassays (酶免疫测定的实践和理论) 中，Burdon, R.H. 和 v. Knippenberg, P.H. (eds.), Elsevier, Amsterdam (1990) 第 221-278 页；和在 Methods in Enzymology (酶学方法)，Colowick, S.P.和 Caplan, N.O. (eds.), Academic Press, 中涉及免疫测定方法的各卷，特别是第 70, 73, 74, 84, 92 和 121 卷。

在所有上述免疫测定方法中，选择允许所用试剂的结合例如允许抗体与其相对应抗原的结合的试剂条件。按照本发明检测的靶抗原-治疗用抗体-复合物与不论以膜-结合形式还是以可溶形式的靶抗原的相应的浓度

的技术流程发展水平相关。

在不被所述治疗用抗体识别的表位与所述靶抗原结合的一种或多种抗体可以是多克隆抗体、单克隆抗体、所述抗体的片段、以及包含所述抗体的结合结构域的遗传构建体。还可以使用适当的抗体片段。抗体以及抗体片段通过现有技术的方法产生，例如，如在 Tijssen (Tijssen, P., *Practice and theory of enzyme immunoassays* (酶免疫测定的实践和理论) 11 (1990), 全书, 特别是第 43-78 页, Elsevier, 阿姆斯特丹)中所述。

术语“治疗用抗体”涉及意欲用于人类的任何抗体制备物。优选地，所述治疗用抗体应该是单克隆抗体。更优选地，所述单克隆抗体应该从巨猿 (great ape) 获得，或者是人单克隆抗体或人源化抗体。优选地，它应该为人单克隆抗体。还优选所述治疗用抗体应该是人源化的单克隆抗体。

当用于本文时，术语“单克隆抗体”是指从基本上均一的抗体群获得的抗体，所述基本上均一的抗体，即，除了可以少量存在的可能天然发生的突变之外，包含所述群体的单个抗体相同。单克隆抗体是高度特异的，针对单个抗原位点。此外，与包含针对不同决定簇 (表位) 的不同抗体的多克隆抗体制剂相反，每一单克隆抗体对抗原的单一决定簇。除了它们的特异性，由于它们可以合成而不被其它抗体污染，所以所述单克隆抗体有利。修饰语“单克隆”表示从基本上均一的抗体群获得的抗体的特征，并且不解释为需要通过任何特别的方法生产所述抗体。例如，按照本发明所用的单克隆抗体可以通过由 Köhler, G., 等, *Nature* (自然) 256 (1975) 495-497 最先所述的杂交瘤方法制备，或者可以通过重组 DNA 方法制备 (参见，例如，US 4,816,567)。例如，所述“单克隆抗体”还可以使用 Clackson, T., 等., *Nature* (自然), 352 (1991) 624-628 和 Marks, J. D., 等, *J. Mol. Biol.* (分子生物学) 222 (1991) 581-597 中所述的技术从噬菌体抗体文库分离。

“人源化”形式的非-人 (例如，啮齿动物) 抗体是包含衍生于非-人免疫球蛋白和衍生于人免疫球蛋白的部分序列的嵌合抗体。在极大程度上，人源化抗体衍生于人免疫球蛋白 (受体抗体)，其中来自于受体高变区的残基被来自非-人物种 (供体抗体) 诸如小鼠、大鼠、兔或非-人灵长类的高变区的具有理想的特异性和亲和性的残基取代。在一些实例中，人

免疫球蛋白的构架区(FR)残基被相应的非-人残基取代。此外,人源化抗体可以包含进一步的修饰,例如,在受体抗体或在供体抗体中没有发现的氨基酸残基。所述修饰导致所述受体或供体抗体的变体,其与相对应的亲本序列同源但不相同。进行这些修饰以进一步改善抗体性能。一般地,人源化抗体应该包含至少一种、并且典型地至少两种的基本上全部的可变结构域,其中全部或基本上全部的高变环对应非-人供体抗体中的那些,并且全部或基本上全部的FRs是人受体抗体中的那些。所述人源化抗体任选地还包含至少部分免疫球蛋白恒定区(Fc),典型地人免疫球蛋白的恒定区。

将非-人抗体人源化的方法已经在本领域描述过。优选地,人源化的抗体具有从非-人来源引入的一个或多个氨基酸残基。这些非-人氨基酸残基通常叫做“输入”残基(“import” residues),其典型地取自“输入”可变结构域。人源化可以主要按照 Winter 与同事的方法(Jones, P. T.,等, Nature (自然) 321 (1986) 522-525; Riechmann, L., 等, Nature (自然) 332 (1988) 323-327; Verhoeyen, M., 等, Science (科学) 239 (1988) 1534-1536; 和 Presta, L. G., Curr. Op. Struct. Biol. (结构生物学现代观点) 2 (1992) 593-596)进行,通过用高变区序列取代人抗体的相应的序列而进行。因此,所述“人源化”抗体是嵌合抗体(US 4,816,567),其中基本上小于完整的人可变结构域已经被来自非-人物种的相应的序列取代。实际上,人源化抗体是典型的人抗体,其中一些高变区残基以及可能的一些FR残基被来自啮齿动物抗体中的相似位点的残基取代。

用于制备人源化抗体的人可变结构域,轻链和重链,的选择对于减少抗原性非常重要。按照所谓的“最适”方法(“best-fit” method),针对已知的人可变-结构域序列的完整文库而筛选啮齿动物抗体的可变结构域的序列。然后,将最接近啮齿动物的序列的人序列接受为用于人源化抗体的人构架区(FR) (Sims, M. J.,等, J. Immunol. (免疫学杂志) 151 (1993) 2296-2308; Chothia, C.,等, J. Mol. Biol. (分子生物学杂志) 196 (1987) 901-917)。另一种方法使用衍生于轻链或重链的特别亚组的所有人抗体的共有序列的特别的构架区。相同的构架可以用于一些不同的人源化抗体 (Carter, P., 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA (美国国家科学院学报) 89 (1992)

4285-4289; Presta, L. G., 等, J. Immunol. (免疫学杂志) 151 (1993) 2623-2632)。

免疫球蛋白可以针对例如人、小鼠、或大鼠多肽而产生。本发明包括特异识别所述靶抗原的免疫球蛋白, 不论多克隆还是单克隆的。所述免疫球蛋白使用本领域的技术人员已知的标准免疫学技术制备。免疫球蛋白可以是多克隆的或单克隆的, 或者可以重组产生, 诸如对于人源化抗体。确定抗体是否不与同已知的治疗用抗体相同的表位结合, 可以容易地在竞争检测系统中确定。

可以在竞争检测系统的帮助下, 检测与同一靶抗原结合的两种抗体的重叠的可能的表位。出于这一目的, 例如在酶免疫测定的帮助下, 检测新抗体与已知抗体竞争与固定的靶抗原结合的程度。为了这一目的, 将适当固定的靶抗原与已知的标记形式的抗体和过量的讨论抗体一起温育。通过检测结合的标记, 可以容易地确定讨论抗体可以从结合位点(=表位)置换已知抗体的程度。如果在与已知抗体相同的浓度或更高的浓度, 优选地在讨论抗体 10^5 -倍过量的情形中, 存在不大于 20% 的置换, 优选地不大于 10%, 那么不存在表位重叠。

公知的人源化治疗用抗体的实例是所谓的抗-ErbB2 抗体, 包括如在 US 5,821,337 的表 3 中所述的 huMAb4D5-1, huMAb4D5-2, huMAb4D5-3, huMAb4D5-4, huMAb4D5-5, huMAb4D5-6, huMAb4D5-7 和 huMAb4D5-8 (HERCEPTIN®), US 5,821,337 通过引用确切结合于此; 以及人源化的 520C9 (在 WO 93/21319 中所述)和在 PCT/US 03/21590 中所述的人源化的 2C4 抗体。

优选地, 用于按照本发明的方法的治疗用抗体选自由下列各项组成的组: Campath®, Erbitux®, Herceptin®, MabThera®, Mylotarg®, OncoScint®, Omnitarg®, Panorex®, Rituxan®, Zevalin®和 Zenapax®, 优选地选自由下列各项组成的组: Herceptin®, MabThera®, Omnitarg®和 Zenapax®。

Zevalin®是还叫作替伊莫单抗(ibrutumomab)的治疗用抗体的商标名。这种治疗用抗体基于与 CD20 结合的单克隆抗体, 并且被 FDA 核准用于 B-细胞非-霍奇金淋巴瘤的治疗。

Rituxan®是还叫作利妥昔单抗的治疗用抗体的商标名。这种治疗用抗

体基于与 CD20 结合的单克隆抗体，并且已被 FDA 核准用于 B-细胞非-霍奇金淋巴瘤的治疗。

Panorex®是还叫作依决可单抗的治疗用抗体的商标名。这种治疗用抗体结合 17-1A 抗原(Ep-CAM)，并且已被核准用于结肠直肠癌的治疗。

OncoScint®是还叫作沙妥莫单抗的治疗用抗体的商标名。这种治疗用抗体结合胰腺癌(pancarcinoma)抗原 Tag-72，并且已被核准用于结肠和卵巢癌的治疗。

Mylotarg®是还叫作吉姆单抗的治疗用抗体的商标名。这种治疗用抗体基于与 CD33 结合的单克隆抗体，并且已被 FDA 核准用于骨髓白血病的治疗。

Erbix®是还叫作西妥昔单抗的治疗用抗体的商标名。这种治疗用抗体结合表皮生长因子受体(EGFr)，并且已被核准用于结肠直肠癌的治疗。

Campath®是还叫作阿仑单抗的治疗用抗体的商标名。这种治疗用抗体基于与 CD52 结合的单克隆抗体，并且已被 FDA 核准用于慢性淋巴白血病的治疗。

Herceptin®是还叫作曲妥单抗的治疗用抗体的商标名。这种治疗用抗体基于与 4D5 结合的单克隆抗体。它与 HER2 结合。HER2 还叫作 ErbB2 或 p 185^{neu}。已经表明 Herceptin®对患有乳腺癌的 HER2-阳性患者的存活具有积极作用(De Laurentiis, M., 等, Ann. Oncol. (肿瘤学年刊) 16 (2005) iv7-iv13)。

MabThera®是还叫作利妥昔单抗的治疗用抗体的商标名。这种治疗用抗体基于与 CD20 结合的单克隆抗体。已经表明 MabThera®对患有慢性和迅速蔓延的非-霍奇金淋巴瘤的患者的存活具有积极作用 (Di Bella, N.,等, Cancer (癌症) 103 (2005) 978-984)。

Omnitarg®是与 HER2 结合的新型治疗用抗体的商标名。它基于单克隆抗体 2C4。2C4 和 4D5 结合 HER2 上的不同表位。目前 Omnitarg®正在进行临床试验。希望它将对患有乳腺癌的 HER2-过量表达-阴性患者的存活具有积极作用(Badache, A., 等, Cancer Cell (癌症细胞) 5 (2004) 299-301)。

Zenapax®是与白介素-2 受体结合的治疗用抗体的商标名。在肾移植

受体中它与减少的排斥和提高的患者存活有关 (Morris, J.A., 等, Clin. Transplant. (临床移植) 19 (2005) 340-345)。

还优选地, 在按照本发明的方法中检测的靶抗原是选自由下列各项组成的组: HER2、白介素-2 受体、IGF-1R、EGFr、Tag-72、17-1A、CD52、CD25、CD33 或 CD20, 优选地选自由 HER2、白介素-2 受体、IGF-1R、和 CD20 组成的组, 优选地选自由 HER2、白介素-2 受体、或 CD20 组成的组。

如上文提及, 本发明的发明人发现, 不只是与还被在检测相对应的靶抗原的检测所用的抗体而结合的表位相结合的治疗用抗体将干扰所述检测。干扰也可能发生, 并且已经在使用针对所述靶抗原上的非-重叠表位的抗体的检测方法中观察到。使用用于 HER2 抗原和与这一靶抗原相结合的两种不同的治疗用抗体的检测而获得在实施例部分描述的特异性观察。然而, 必须期望在其它靶抗原的准确量化中其将有效。实施例表明, 对于针对 HER2 的不同的抗体, 即, Herceptin®和 Omnitarg®, 可以应用按照本发明的方法, 并且可以不依赖于相对应的治疗用抗体在研究样品中的存在或不存在而可靠地检测靶抗原 HER2。

在一个实施方案中, 所述治疗用抗体是 Herceptin®, 所述捕获抗体是 Omnitarg®, 并且所述检测抗体是抗-ErbB2 抗体 7C2。

在一个实施方案中, 所述治疗用抗体是 Omnitarg®, 所述捕获抗体是 Herceptin®, 并且所述检测抗体是抗-ErbB2 抗体 7C2。

Herceptin®, Omnitarg®, 和抗-ErbB2 抗体 7C2 结合 HER2 抗原的不同表位。例如, 抗-ErbB2 抗体 7C2 识别在 ErbB2 的 N-端区域的表位(参见, 例如, WO 98/17797)。

在一个实施方案中, 在本发明的方法中在步骤 b) 中形成的靶抗原-治疗用抗体-复合物这样形成, 由此样品中的全部靶抗原被治疗用抗体复合。

本发明包括检测在样品中治疗用抗体的靶抗原的方法, 所述方法包括步骤:

- a) 提供待分析的样品,
- b) 在适合所述治疗用抗体与所述靶抗原结合的条件下, 将所述样品与所

述治疗用抗体温育，由此形成靶抗原-治疗用抗体-复合物，全部靶抗原都被所述治疗用抗体复合，和

c) 检测在 b)中形成的复合物。

对于包含干扰性治疗用抗体的任何样品，靶抗原的可靠的检测将是显著有利的。在一个优选的实施方案中，本发明因此涉及检测治疗用抗体在存在所述治疗用抗体的样品中的靶抗原的方法，所述方法包括下述步骤：

a) 提供待分析的样品， b) 在适合所述治疗用抗体与所述靶抗原结合的条件下，将所述样品与所述治疗用抗体温育，由此形成靶抗原-治疗用抗体-复合物，和 c) 检测在 b)中形成的复合物。

按照本发明的方法还将广泛用于接受治疗用抗体的患者的随访中。在一个优选的实施方案中，本发明因此涉及检测治疗用抗体在从处于使用所述治疗用抗体进行治疗中的患者获得的样品中的靶抗原的方法，所述方法包括下述步骤： a) 提供待分析的样品， b) 在适合所述治疗用抗体与所述靶抗原结合的条件下，将所述样品与所述治疗用抗体温育，由此形成靶抗原-治疗用抗体-复合物，和 c) 检测在 b)中形成的复合物。

相应的靶抗原的准确确定将在用于评估治疗功效的优选实施方案中。在另一个优选实施方案中，按照本发明的方法将辅助评估潜在的疾病的发作。

通常临床医生可以在通过应用本文所述的方法而从处于使用治疗用抗体的治疗中的患者的随访中获得有价值的信息。因此，本发明还涉及将上文所述的方法用于患者的随访的应用。

不希望受到所提议的解释的束缚，例如，治疗用抗体与其靶抗原的结合可能对其它表位的构象和/或其它抗体与存在于靶抗原-治疗用抗体-复合物中的这些表位的结合特性有一些影响。优选地，即使在针对免疫测定中所用的抗体的以及针对所述治疗用抗体的靶抗原上的表位分别不重叠，还应用按照本发明的方法。

在一个实施方案中，本发明的方法在芯片上进行。

“芯片”是固体、非多孔材料，诸如金属、玻璃或塑料。所述材料可以任选地完全或在特定区域被包被。在所述材料的表面，点的任何排列可以是/是可见的或按坐标存在。在每一点可以固定确定的多肽，具有或不

具有针对所述材料表面的接头或间隔基。优选地，固定的多肽至少为能够与靶抗原结合的抗体的片段。

提供下述实施例和附图，以帮助理解本发明，其真正的范围在后附的权利要求中列出。应该理解可以在所列出的方法中进行修改而不背离本发明的精神。

附图描述

- 图 1 在应用由 Oncogene Sciences (癌基因科学) 所售的商业检测的 HER2-检测中的两种不同治疗用抗体的干扰。
- 图 2 在应用由 Bender 所售的商业检测的 HER2-检测中两种不同治疗用抗体的干扰。
- 图 3 确定关于治疗用抗体 Omnitarg® 的最大干扰。
- 图 4 确定关于治疗用抗体 Herceptin® 的最大干扰。
- 图 5 应用分别缺乏 Omnitarg® 和 Herceptin® 干扰的检测的 HER2-检测的校准曲线。

缩略词

Bi	生物素
EDTA	乙二胺四乙酸
ELISA	酶联免疫吸附测定
Fcy (=Fcy)	免疫球蛋白的 Fc γ -片段
DIG (Dig)	洋地黄毒苷
hu, H	人
IgG	免疫球蛋白 G
n. d.	不确定
NSCLC	非-小细胞肺癌
OD	光密度
MAK (=Mab)	单克隆抗体
PAK (=Pab)	多克隆抗体
R	母牛(Rind)

RPLA	牛-血浆白蛋白
RT	室温
TAPS	N-tris(羟基甲基)甲基-3-氨基丙烷磺酸
VEGF	血管内皮生长因子

实施例 1

关于 HER2 的商业检测

- a) 由癌基因科学(Oncogene Science)/拜尔健康护理有限公司(Bayer Health Care LLC)制造的 HER-2/neu ELISA (目录号: DAKO Cytomation EL5011)

温育和洗涤步骤按照制造商给出的用法说明进行。将 35, 25, 15, 7.5, 2.5, 和 0 ng/ml HER2 的标准物分别掺加 (spiked) 500, 250, 0 $\mu\text{g/ml}$ Herceptin®或者它们分别掺加 500, 250, 0 $\mu\text{g/ml}$ Omnitarg®。将这些样品在包被的微量滴定平板上温育。在加入并且温育所述检测抗体后, 加入底物, 并且在 492 nm 读取吸光度。结果在表 1 中给出。

表 1

在样品中有或无干扰性治疗用抗体而测定的光密度(ODs)

参加下列各项的标准物	c(HER2) ng/ml	OD 492 nm	用空白校正的 OD	与未参加的标准物的差别
Herceptin® 250 µg/ml	34.3	2.246	1.833	3.5%
Herceptin® 250 µg/ml	24.5	1.829	1.416	0.1%
Herceptin® 250 µg/ml	14.7	1.263	0.850	7.8%
Herceptin® 250 µg/ml	7.4	0.853	0.440	-3.0%
Herceptin® 250 µg/ml	2.5	0.580	0.167	-25.6%
Herceptin® 250 µg/ml	0	0.396	-0.017	不确定
Herceptin® 500 µg/ml	33.6	2.184	1.771	6.8%
Herceptin® 500 µg/ml	24	1.726	1.313	7.3%
Herceptin® 500 µg/ml	14.4	1.204	0.791	14.2%
Herceptin® 500 µg/ml	7.2	0.798	0.385	9.8%
Herceptin® 500 µg/ml	2.4	0.514	0.101	24.1%
Herceptin® 500 µg/ml	0	0.395	-0.018	不确定
Omnitarg® 250 µg/ml	34.3	2.056	1.643	13.5%
Omnitarg® 250 µg/ml	24.5	1.591	1.178	16.9%
Omnitarg® 250 µg/ml	14.7	1.106	0.693	24.8%
Omnitarg® 250 µg/ml	7.4	0.762	0.349	18.3%
Omnitarg® 250 µg/ml	2.5	0.524	0.111	16.5%
Omnitarg® 250 µg/ml	0	0.401	-0.012	不确定
Omnitarg® 500 µg/ml	33.6	1.939	1.526	-6.0%
Omnitarg® 500 µg/ml	24	1.544	1.131	-15.7%
Omnitarg® 500 µg/ml	14.4	1.128	0.715	-34.3%

掺入下列各项的标准物	c(HER2) ng/ml	OD 492 nm	用空白校正的 OD	与未掺入的标准物的差别
Omnitarg® 500 µg/ml	7.2	0.754	0.341	-38.1%
Omnitarg® 500 µg/ml	2.4	0.493	0.080	-19.4%
Omnitarg® 500 µg/ml	0	0.395	-0.018	不确定
未掺入的	35	2.313	1.900	
未掺入的	25	1.830	1.417	
未掺入的	15	1.335	0.922	
未掺入的	7.5	0.840	0.427	
未掺入的	2.5	0.546	0.133	
未掺入的(空白)	0	0.413	0.000	

分别地，在由于掺入治疗用抗体 Omnitarg®而导致的 HER2 抗原的回收中的差别达到 38.1%，并且由于掺入 Herceptin®而导致的差别达到 25.6%。Omnitarg®和 Herceptin®的干扰还从图 1 中明显可见。

b) 由 Bender MedSystems 制造的 sp185^{HER-2} Module Set (目录号: Biozol BMS207MST)

温育和洗涤步骤按照制造商给出的用法说明进行。将 20, 10, 5, 2.5, 和 0 ng/ml HER2 的标准物分别掺入 500, 250, 0 µg/ml Herceptin®, 或者它们分别掺入 500, 250, 0 µg/ml Omnitarg®。将这些样品在包被的微量滴定平板上温育。在加入并且温育所述检测抗体后，加入底物，并且在 405 nm 读取吸光度。结果在表 2 中给出。

表 2

在样品中有或无干扰性治疗用抗体而测定的光密度(ODs)

掺加下列各项的标准物	c(HER2) ng/ml	OD 405 nm	用空白校正的 OD	与未掺加的标准物的差别
Herceptin® 250 µg/ml	20	0.043	0.001	98.6%
Herceptin® 250 µg/ml	10	0.043	0.001	97.1%
Herceptin® 250 µg/ml	5	0.043	0.001	95.0%
Herceptin® 250 µg/ml	2.5	0.044	0.002	77.8%
Herceptin® 250 µg/ml	0	0.044	0.002	不确定
Herceptin® 500 µg/ml	20	0.044	0.002	97.1%
Herceptin® 500 µg/ml	10	0.044	0.002	94.3%
Herceptin® 500 µg/ml	5	0.043	0.001	95.0%
Herceptin® 500 µg/ml	2.5	0.044	0.002	77.8%
Herceptin® 500 µg/ml	0	0.044	0.002	不确定
Omnitarg® 250 µg/ml	20	0.105	0.063	10.0%
Omnitarg® 250 µg/ml	10	0.071	0.029	17.1%
Omnitarg® 250 µg/ml	5	0.058	0.016	20.0%
Omnitarg® 250 µg/ml	2.5	0.051	0.009	0.0%
Omnitarg® 250 µg/ml	0	0.043	0.001	不确定
Omnitarg® 500 µg/ml	20	0.103	0.061	12.9%
Omnitarg® 500 µg/ml	10	0.067	0.025	28.6%
Omnitarg® 500 µg/ml	5	0.059	0.017	15.0%
Omnitarg® 500 µg/ml	2.5	0.050	0.008	11.1%
Omnitarg® 500 µg/ml	0	0.044	0.002	不确定

掺加下列各项的标准物	c(HER2) ng/ml	OD 405 nm	用空白校正的 OD	与未掺加的标准物的差别
未掺加的	20	0.112	0.070	
未掺加的	10	0.077	0.035	
未掺加的	5	0.062	0.020	
未掺加的	2.5	0.051	0.009	
未掺加的 (空白)	0	0.042	0.000	

在由于掺加治疗用抗体 Herceptin®而导致的 HER2 抗原的回收中的差别达到 98.6%，并且由于 Omnitarg®而导致的差别达到 28.6%。这还在图 2 中描述。

实施例 2

关于在存在 Omnitarg®时检测 HER2 的测定

本测定在链酶抗生物素蛋白包被的聚苯乙烯芯片上进行。将针对 HER2 的抗体应用在芯片上，每列大约 10 个 250 pL 的小滴。MAK<Her2>H-4D5-IgG-Bi (=来自克隆 4D5 的针对 HER2 的生物素酰化的单克隆抗体)用作捕获抗体，以建立没有 Omnitarg®干扰的检测。生物素酰化的抗体的浓度为 100 µg/ml。芯片保存在 4°C。

MAK<Her2>M-7C2-IgG-Dig (来自克隆 7C2 的洋地黄毒苷化的单克隆抗体)用作缀合抗体。这一缀合物的储液保存在-20°C。

HER2 标准蛋白 sp185 (HER-2) (sHER2)是一种商购可用的产品 (Biozol #BMS207MST S)，并且以 1000 ng/ml 的浓度保存在-20°C。

使用磷酸盐缓冲盐水(50mM 磷酸二氢钠-一水合物, 150mM NaCl, pH 7) 作为基本样品和缀合物缓冲液，其包含叠氮化钠(0.09% 叠氮化 Na)作为防腐剂，以及其它添加剂(0.035% EDTA, 0.05%吐温 20®, 2.00% RPLA4 (Roche Nr. 1726544001), 0.10% PAK<->R-IgG (Roche Nr. 1108750001), 100µg/ml 小鼠-MAK-33-IgG-Poly (Roche Nr. 1939661001))。将样品和缀合物缓冲液过滤(0.2µm 孔径)并且在使用之前保存在 4°C。

治疗用抗体 Omnitarg® rhuMAb 2C4 G186 CP R9805AX —— 由

Genentech, Inc.生产一一的储液具有 25 mg/ml 的浓度，并且保存在 4°C。

与 110 nm 荧光标记的胶乳(latex)颗粒缀合的 MAK<Dig>M19-11-IgG 用作检测抗体。所述检测抗体缀合物保存在 4°C。

pH 8.5 的 50 mM TAPS 和 1M NaCl 缓冲液用作检测缓冲液，其包含叠氮化钠(0.09% 叠氮化 Na)作为防腐剂，以及其它添加剂 (0.05%吐温 20®, 0.50% RPLA4 (Roche Nr. 1726544001), 10µg/ml 小鼠-MAK-33-IgG-Poly (Roche Nr. 1939661001))。将检测缓冲液过滤(0.2µm 孔径)并且在使用之前保存在 4°C。

洗涤缓冲液是 pH 8.0 的 10mM Tris/HCl 缓冲液，其包含 0.001% Oxypyron, 0.001% MIT, 和 0.01% Thesit。将洗涤缓冲液过滤(0.2µm 孔径)并且在使用之前保存在 4°C。

a) 潜在的 Omnitarg®干扰的检测

本检测在室温进行。所有试剂在本检测实际进行之前达到这一温度。

将含有 20 ng/ml HER2 的样品与不同量的 Omnitarg®温育，以导致在图 3 给出的浓度。将这些样品在样品缓冲液中 1: 5 稀释。将两份 40 µl 的每一稀释样品添加到芯片中，并且在 RT 温育 10 min。之后，将所述芯片通过自动洗涤步骤洗涤。将缀合抗体 MAK<Her2>M-7C2-IgG-Dig 在缀合缓冲液中稀释至 3 µg/ml。将 40 µl 稀释的缀合抗体添加到每一芯片中，并且温育 5 min，然后进行自动洗涤步骤。将标记的检测抗体在标记 (= 检测) 缓冲液中 1: 5 稀释。将 40 µl 稀释的检测抗体添加到每一芯片中，并且温育 5 min。在最后的洗涤步骤之后，使用具有 633 nm 的激发的激光量化结合的标记。通过适当的软件将数字图像转化成计数。如可以从图 3 看出，Omnitarg® (在 25 µg/ml 的最终浓度之上)的确以恒定的程度干扰上述检测。

b) 在存在 Omnitarg®时检测 HER2

为了检测可能表现出 Omnitarg®干扰的样品，将这种药物的活性成分 (rhu Mab 2C4 G186 CP R9805AX)以 6.25 µg/ml 的终浓度添加到样品缓冲液中(= 样品缓冲液(A))。

为了制备人工样品,将 HER2 标准物质分别在小鼠血清中稀释至 500, 200, 100, 50, 20, 10, 5, 2.5, 1 和 0 ng/ml。将这些样品在样品缓冲液(A)中 1:5 稀释。将两份 40 μ l 的每一稀释的样品添加到芯片中,并且在 RT 温育 10 min。之后,将所述芯片通过自动洗涤步骤洗涤。将缀合抗体 MAK<Her2>M-7C2-IgG-Dig 在缀合缓冲液中稀释至 3 μ g/ml。将 40 μ l 稀释的缀合抗体添加到每一芯片中,并且温育 5 min,然后进行自动洗涤步骤。将标记的检测抗体在检测缓冲液中 1:5 稀释。将 40 μ l 稀释的检测抗体添加到每一芯片中,并且温育 5 min。在最后的洗涤步骤之后,使用具有 633 nm 的激发的激光量化结合的标记。通过适当的软件将数字图像转化成计数。所述计数在表 3 中给出。

表 3

使用 MAK<Her2>H-4D5-IgG-Bi 点获得的计数
(在样品缓冲液(A)中的校准曲线)

sHER2 (ng/ml)	关于 Bi(4D5)的计数
0	4
1	205
2.5	503
5	1064
10	3197
20	5201
50	16316
100	25107
200	38368
500	50449

如可以从表 3 中看出,可以容易地建立存在基本水平的 Omnitarg®时的校准曲线。

实施例 3

关于存在 Herceptin®时检测 HER2 的测定

本测定在链酶抗生物素蛋白包被的聚苯乙烯芯片上进行。将针对 HER2 的抗体应用在芯片上，每列大约 10 个 250 pL 的小滴。MAK<Her2>H-2C4-IgG-Bi (=来自克隆 2C4 的针对 HER2 的生物素酰化的单克隆抗体)用作捕获抗体，以建立没有 Herceptin®干扰的检测。生物素酰化的抗体的浓度为 100 µg/ml。芯片保存在 4°C。

MAK<Her2>M-7C2-IgG-Dig (来自克隆 7C2 的洋地黄毒苷化的单克隆抗体)用作缀合抗体。这一缀合物的储液保存在-20°C。

HER2 标准蛋白 sp185 (HER-2) (sHER2)是一种商购可用的产品 (Biozol #BMS207MST S)，并且以 1000 ng/ml 的浓度保存在-20°C。

使用磷酸盐缓冲盐(50mM 磷酸二氢钠-一水合物, 150mM NaCl, pH 7)作为基本样品和缀合物缓冲液，其包含叠氮化钠(0.09% 叠氮化 Na)作为防腐剂，以及其它添加剂(0.035% EDTA, 0.05%吐温 20®, 2.00% RPLA4 (Roche Nr. 1726544001), 0.10% PAK<->R-IgG (Roche Nr. 1108750001), 100µg/ml 小鼠-MAK-33-IgG-Poly (Roche Nr. 1939661001))。将样品和缀合物缓冲液过滤(0.2µm 孔径)并且在使用之前保存在 4°C。

治疗用抗体 Herceptin 人变体 Mab4D5——由 Roche Diagnostics GmbH 生产——的储液具有 25 mg/ml 的浓度，并且保存在-20°C。

与 110 nm 荧光标记的胶乳(latex)颗粒缀合的 MAK<Dig>M19-11-IgG 用作检测抗体。所述检测抗体缀合物保存在 4°C。

在 pH 8.5 的 50 mM TAPS 和 1M NaCl 缓冲液用作检测缓冲液，其包含叠氮化钠(0.09% 叠氮化 Na)作为防腐剂，以及其它添加剂 (0.05%吐温 20®, 0.50% RPLA4 (Roche Nr. 1726544001), 10µg/ml 小鼠-MAK-33-IgG-Poly (Roche Nr. 1939661001))。将检测缓冲液过滤(0.2µm 孔径)并且在使用之前保存在 4°C。

洗涤缓冲液是 pH 8.0 的 10mM Tris/HCl 缓冲液，其包含 0.001% Oxypyrion, 0.001% MIT, 和 0.01% Thesit。将洗涤缓冲液过滤(0.2µm 孔径)并且在使用之前保存在 4°C。

a) 潜在的 Herceptin®干扰的检测

本检测在室温进行。所有试剂在本检测实际进行之前达到这一温度。

将含有 20 ng/ml HER2 的样品与不同量的 Herceptin®温育，以导致在图 4 给出的浓度。将这些样品在样品缓冲液中 1: 5 稀释。将两份 40 μ l 的每一稀释样品添加到芯片中，并且在 RT 温育 10 min。之后，将所述芯片通过自动洗涤步骤洗涤。将缀合抗体 MAK<Her2>M-7C2-IgG-Dig 在缀合缓冲液中稀释至 3 μ g/ml。将 40 μ l 稀释的缀合抗体添加到每一芯片中，并且温育 5 min，然后进行自动洗涤步骤。将标记的检测抗体在检测缓冲液中 1: 5 稀释。将 40 μ l 稀释的检测抗体添加到每一芯片中，并且温育 5 min。在最后的洗涤步骤之后，使用具有 633 nm 的激发的激光量化结合的标记。通过适当的软件将数字图像转化成计数。如可以从图 4 看出，Herceptin® (在 25 μ g/ml 的最终浓度之上)的确以恒定的程度干扰上述检测。

b) 在存在 Herceptin®时检测 HER2

为了检测可能表现出 Herceptin®干扰的样品，将这种药物的活性成分 (MAK<Herceptin> 7.4.04)以 6.25 μ g/ml 的终浓度添加到样品缓冲液中(=样品缓冲液(B))。将样品缓冲液(B)过滤 (0.2 μ m 孔径)，并且在使用之前保存在 4°C。

为了制备人工样品，将 HER2 标准物质分别在小鼠血清中稀释至 500, 200, 100, 50, 20, 10, 5, 2.5, 1 和 0 ng/ml。将这些样品在样品缓冲液(B)中 1: 5 稀释。将两份 40 μ l 的每一稀释的样品添加到芯片中，并且在 RT 温育 10 min。之后，将所述芯片通过自动洗涤步骤洗涤。将缀合抗体 MAK<Her2>M-7C2-IgG-Dig 在缀合缓冲液中稀释至 3 μ g/ml。将 40 μ l 稀释的缀合抗体添加到每一芯片中，并且温育 5 min，然后进行自动洗涤步骤。将标记的检测抗体在检测缓冲液中 1: 5 稀释。将 40 μ l 稀释的检测抗体添加到每一芯片中，并且温育 5 min。在最后的洗涤步骤之后，使用具有 633 nm 的激发的激光量化结合的标记。通过适当的软件将数字图像转化成计数。所述计数在表 4 中给出。

表 4

使用 MAK<Her2>H-2C4-IgG-Bi 点获得的计数
(在样品缓冲液(B)中的校准曲线)

sHER2 (ng/ml)	关于 Bi(2C4)的计数
0	4
1	116
2.5	286
5	788
10	1975
20	3522
50	11541
100	18984
200	33293
500	48428

如可以从表 4 中看出, 可以容易地建立存在基本水平的 Herceptin®时关于 HER2 的校准曲线。

实施例 4

分别检测在有和无治疗用抗体的样品中的 HER2

制备携带肿瘤 KPL-4 的小鼠(已知其产生 HER2)的血清收集物, 并且分成 4 份等分试样。

将等分试样 1 和 2 分别在样品缓冲液(B)和(A)中 1: 5 稀释 (=未处理的样品)。

对于等分试样 3, 加入额外的 Herceptin®, 以致最终浓度为 2000µg/ml。然后, 将它用样品缓冲液(B)稀释, 也最终获得如等分试样 1 的 1: 5 稀释物 (=处理的样品 3)。

对于等分试样 4, 加入额外的 Omnitarg®, 以致最终浓度为 2000µg/ml。然后, 将它用样品缓冲液(A)稀释, 也最终获得如等分试样 2 的 1: 5 稀释

物 (=处理的样品 4)。

样品分别如在实例 2b)和 3b)中所述进行检测。结果显示在表 5 中。

表 5

在存在高水平的治疗用抗体时样品的检测

样品/ “处理”	样品缓冲液	关于 2C4 点计数	关于 4D5 点计数	分别在“未处理的”(1)和 (2), 以及分别“处理的” 样品(3)和(4)之间的差别
1 / 未	B	23613		100%
2 / 未	A		22758	100%
3/ Herceptin®	B	21383		90% = -10%差别
4 / Omnitarg®	A		21238	93% = -7%差别

尽管加入极大量的治疗用抗体,但是在未处理的和处理的样品之间的差别不大于 10%。因此,对于 Omnitarg®以及 Herceptin®两种药物,可以建立即使在存在大量的相对应的治疗用抗体时也工作的检测。

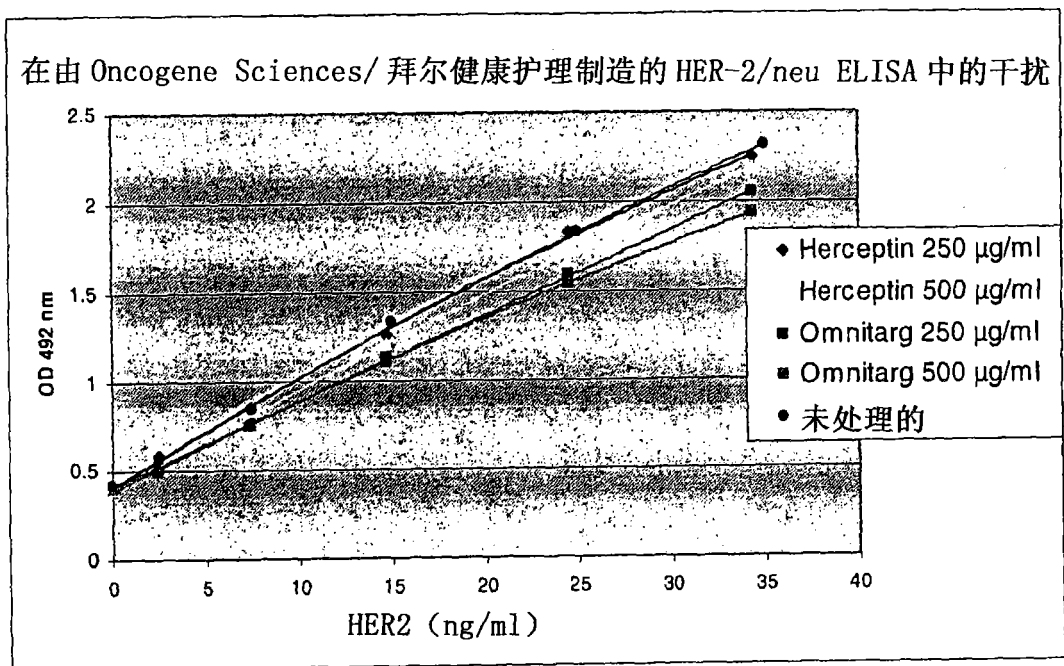


图 1

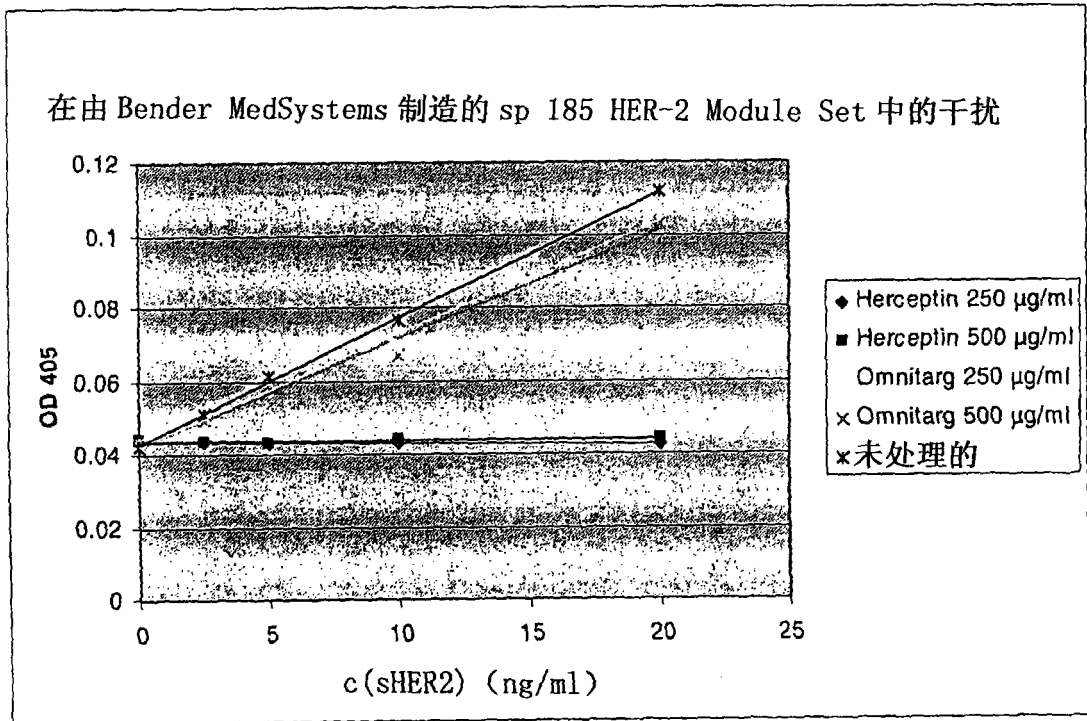


图 2

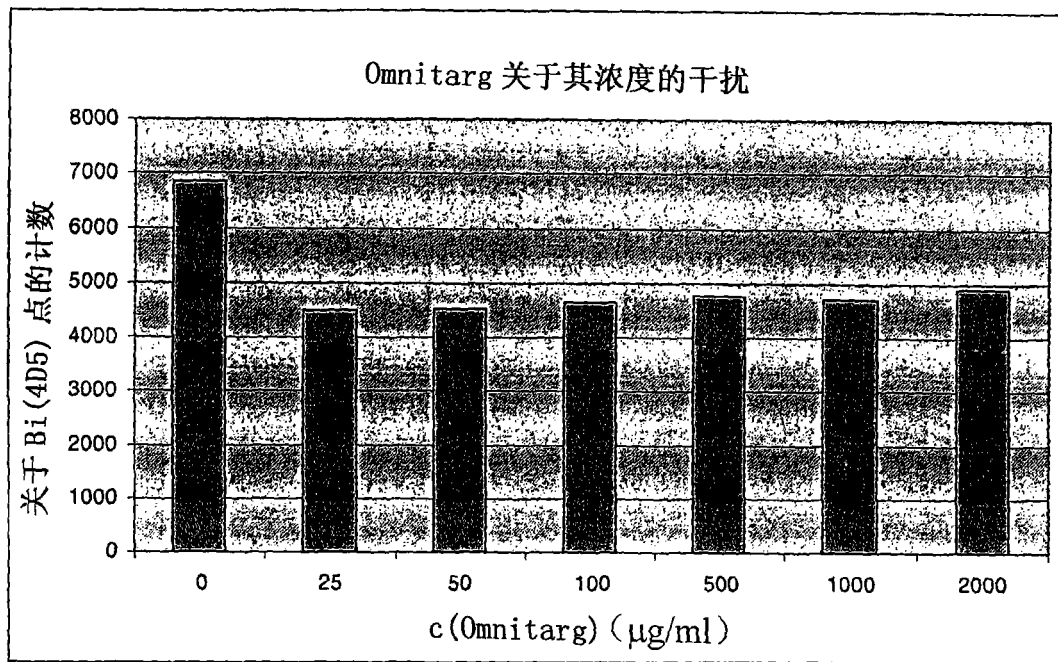


图 3

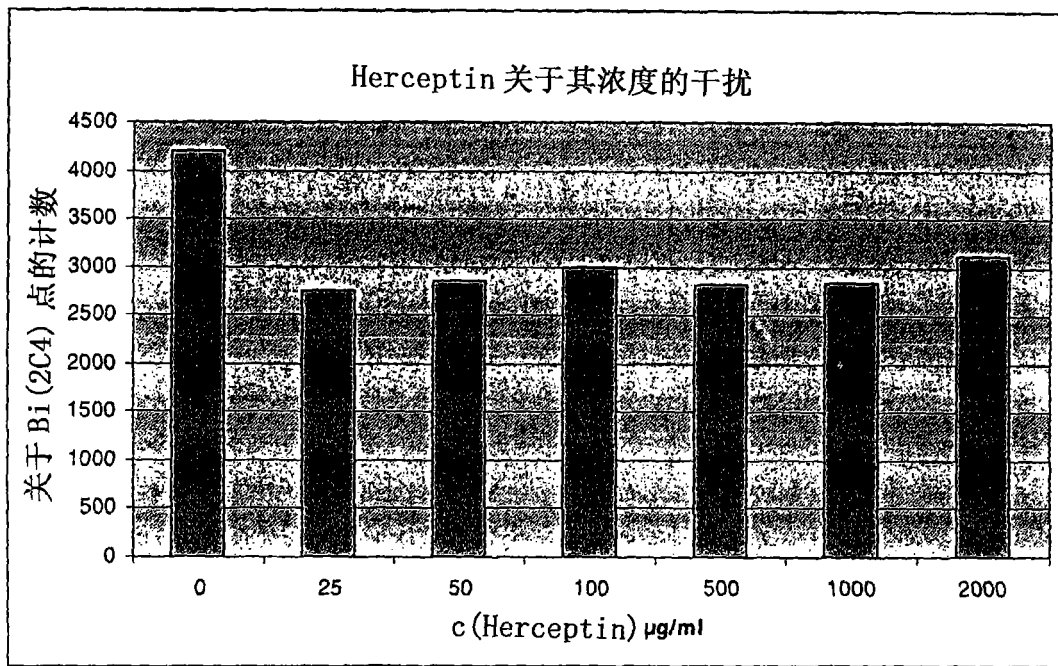


图 4

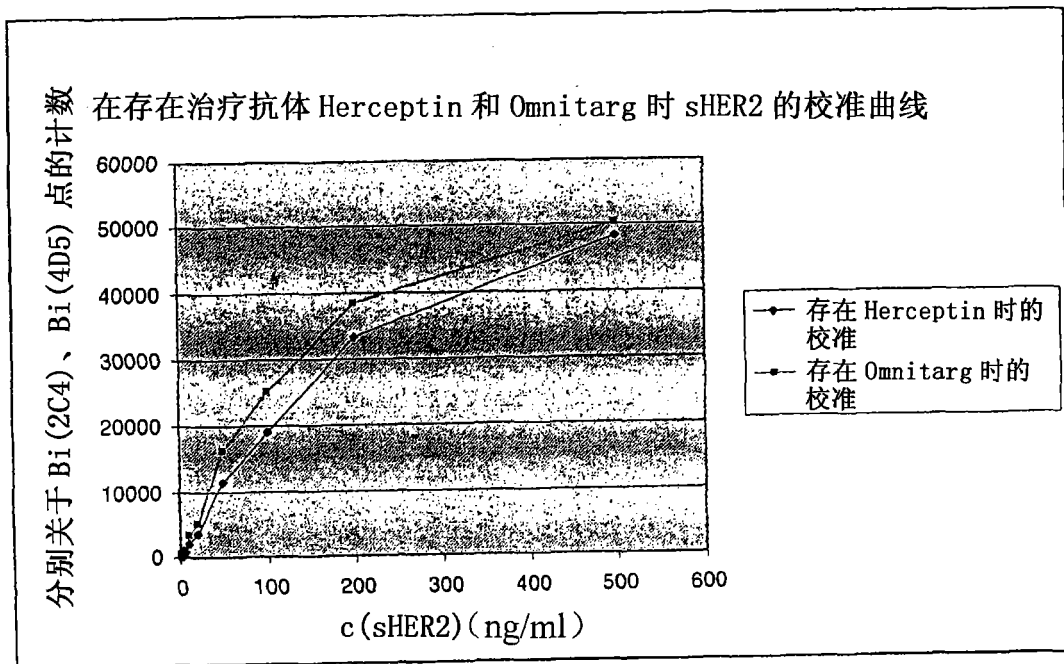


图 5

专利名称(译)	不论存在或不存在相对应的治疗用抗体而检测靶抗原		
公开(公告)号	CN101213450A	公开(公告)日	2008-07-02
申请号	CN200680023978.3	申请日	2006-07-05
申请(专利权)人(译)	霍夫曼-拉罗奇有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	霍夫曼-拉罗奇有限公司		
[标]发明人	赫尔穆特伦茨 维尔纳朔伊尔 马丁娜蒂尔		
发明人	赫尔穆特·伦茨 维尔纳·朔伊尔 马丁娜·蒂尔		
IPC分类号	G01N33/53		
CPC分类号	G01N2333/715 G01N33/53 G01N2333/70596 G01N2333/71		
代理人(译)	王旭		
优先权	2005014618 2005-07-06 EP 2006004447 2006-03-06 EP		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及治疗用抗体领域。本发明特别涉及检测在样品中治疗用抗体的靶抗原的方法，所述方法包括下述步骤：a)提供待分析的样品，b)在适合所述治疗用抗体与所述靶抗原结合的条件下，将所述样品与所述治疗用抗体温育，由此形成靶抗原 - 治疗用抗体 - 复合物，和c)检测在(b)中形成的复合物。

