

【特許請求の範囲】

【請求項1】

VEGFR1自己抗体の検出に用いる組成物であって、それは次の3つの抗原ポリペプチドを含む：

H - D E G V Y H C K A T N Q K G S V E S S A Y L T V Q G T S D K S N L E - O H ;

H - D L K L S C T V N K F L Y R D V T W I L L R T V N N R T M H Y S I - O H ;

H - E S G L S D V S R P S F C H S S C G H V S E G K R R F T Y D H A E L - O H .

10

【請求項2】

請求項1に記載の組成物であって、その特徴は、組成物における各抗原ポリペプチドの比率は1：1：1であることにある。

【請求項3】

個体におけるVEGFR1自己抗体を検出する方法であって、それは以下のことを含む：請求項1に記載の3つの抗原ポリペプチドを等比率で混合し、次いでマレイミド(Maleimide)で活性化される96ウエルプレートにコーティングし、4℃で一晩インビトロ培養し、プレートを洗浄し、次いで複数回に分けてサンプルを添加して分析を行う。

【請求項4】

請求項4に記載の方法であって、それにおいて、複数回に分けてサンプルを添加して分析するプロセスは以下のことを含む：検出される血漿サンプルをダブルウェル設置し、また2つの陰性対照ウェルと2つの陽性対照ウェルを設置し、分析液を用いて血漿を希釈し、またペルオキシダーゼ標識のヒツジ抗ヒトIgGを希釈し、プレートを洗浄し、ウェルごとに100μlの3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン(TMB)及びペルオキシダーゼからなる混合液を添加し、室温避光20～30分とし、ウェルごとに反応停止液の10%硫酸溶液(10% H_2SO_4)を50μl添加し、次いでマイクロプレートリーダーを用いて光学濃度値(OD値)を検出し、検出波長は450nmであり、参照波長は630nmである。

20

【請求項5】

VEGFR1自己抗体の検出における請求項1又は2に記載の組成物の応用。

30

【請求項6】

請求項1又は2に記載の組成物で生産される検出キットのセットであって、その特徴は、3つの抗原ポリペプチドを医療用非金属包装材で真空個別包装した後に、1例ずつ取って検出キットのセットに組み合わせて使用に備える。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は免疫学の技術分野に属し、VEGFR1抗原ポリペプチドに関する。該抗原ポリペプチドを用いてヒト血漿中のVEGFR1抗体レベルの検出に用いる特異試薬を調製することができる。

40

【背景技術】

【0002】

近年の研究では、健康者集団の血液中の腫瘍関連抗体の発見と測定は標的療法を指導する価値があることが分かる。例えば、臨床にて広く応用されているトラスツズマブ(Trastuzumab)及びベバシズマブ(Bevacizumab)は上皮成長因子受容体2型(HER2)と血管内皮細胞増殖因子A(VEGF-A)を標的とするものであり、臨床では末期腫瘍の治療における重要な手段となっている。しかし、副作用が大きすぎるため、この2つのモノクローナル抗体は第三選択薬としてしか用いることができない。したがって、腫瘍に対する局所治療後の移転と再発の防止に用いることができ、且つ副作

50

用が小さい新規な手段の開発は現在、早急に解決しなければならない問題である。免疫治療の分野においてこの難題の解決方法を探す際に、新規な腫瘍の免疫治療方法を得るには、新規性のある、標的技術に関する実用的な解決手段を見つけなければならないという技術的問題に直面している。

【0003】

VEGFR1は血管内皮細胞増殖因子受容体1型とも呼ばれ、がん細胞の発現における特異的タンパク質の一つとして知られている。研究を重ねたところ、肝臓がん、肺がん、腎臓がん、腸がん及び乳がんなど多くのヒト固形腫瘍では、VEGFR1を大量発現できることが判明した。VEGFR1エピトープのポリペプチドは主に腫瘍細胞の表面にあり、直接、対応する抗体による腫瘍の殺傷における標的とすることができるため、学界では、臨床におけるVEGFR1関連抗体の応用は、最も早く実現化できる、副作用が小さい新規な抗がん治療手段となる可能性が極めて高いとしている。現在、バイオ技術分野における方法は、組換タンパク質を抗原とするVEGFR1関連抗体の検出とスクリーニングのみであり、それにおいてキャリアの構築、トランスフェクション、発現、スクリーニング、精製など複雑なプロセスを経なければならない。しかし、タンパク質立体構造は複雑であり、線形エピトープを露出させにくく、そのため組換タンパク質で検出される抗体は特異性に劣り、腫瘍細胞膜の表面における抗原標的と結合できないものは非常に多くあり、したがって、低レベルの定性的検出しか行うことができない。これに基づき腫瘍を予防治療するための実用的手段を得ることができない。また、ELISA法における高感度によりタンパク質精製技術の安定性が強く求められており、そのため検出要件に適合する組換タンパク質はコストが高くなる。国内外では、VEGFR1関連抗体の検出とスクリーニングの効果的な手段に関する報告はまだなかった。

10

20

【0004】

本発明は線形VEGFR1エピトープのポリペプチドを的確に設計し、上記技術的難題を効果的に解決し、特異性に優れる検出試薬を調製することができる。設定したプロセス基準に基づいて健康献血者の血漿における免疫標識物-VEGFR1抗体の濃度指標値を検出することにより、正確で、操作しやすく、コストが適切なVEGFR1抗体の検出、選別、定性的・定量的応用に対する一括解決手段を得ることができる。したがって、本発明の技術は健康な人体における天然VEGFR1抗体を利用して新規で、副作用が小さい腫瘍の免疫的治療方法を開発するために、確固たる基礎を作ることができる。

30

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

本発明はVEGFR1自己抗体の検出に用いる線形抗原ポリペプチドを提供し、それによりVEGFR1自己抗体の検出に用いる特異試薬を調製することを目的とし、また、対応する好ましい操作プロセスを設計する。本発明は3つのVEGFR1線形抗原ポリペプチドを設計し、それらのアミノ酸配列は表1に示されるとおりである。

【0006】

【表1】

表1. VEGFR1抗原ポリペプチドの配列

略記VEGFR1	H-DEGVYHCKATNQKGSVSSAYLTVQGTSDKSNLE-OH
	H-DLKL SCTV NKFLYRDVTWILLRTVNNRTMHYSI-OH
	H-ESGLSDVSRPSFCHSSCGHVSEGKRRFTYDHAEL-OH

40

【0007】

周知のように、抗原と抗体の結合はエピトープと抗体結合部位との間にのみ発生し、両者は立体構造と立体配置において完全な相補的關係にあるほど、抗原と抗体の結合が安定的になり、特異性と結合の効率が高くなる。ターゲットの抗体及びその結合部位の構造は

50

最も重要な要素であるため、エピトープのみによってタンパク質抗原全体と抗体との結合状態及び親和性を決めることができる。

【0008】

そのため、本発明はVEGFR1タンパク質の生物学的特性に基づき、複数のエピトープについて免疫情報学的予測とシミュレーションを行い、抗原性に関連する各パラメータを分析することで、立体構造と立体配置においてターゲットの抗体と完全な相補的關係にある上記3つの線形ポリペプチド抗原のアミノ酸配列を設計する。

【0009】

大量の研究資料により、VEGFR1は腫瘍関連抗原であり、多くの固形腫瘍において発現されることを証明できる。したがって、VEGFR1抗体は天然の抗腫瘍抗体とすることができる。人体にて免疫的モニタリングの機能を果たして腫瘍の形成と進行を防止する。本発明の技術はこの天然の抗腫瘍抗体に対する定量的検出という空白を埋め、血漿・バイオ製品会社による新製品の開発及び臨床における腫瘍の予防・治療のための新しい手段の開発のために、重要な道具を提供する。例えば、血漿・バイオ製品会社は本発明の技術を利用して血漿をスクリーニングし、それによりVEGFR1抗体を多く含んでいるガンマグロブリンを調製し、臨床における腫瘍の予防と治療に用いることができる；臨床では早期腫瘍患者に対する局所治療の後に（手術又は放射線治療の後など）、本発明の技術でのスクリーニングにより得られるVEGFR1抗体を多く含んでいる血漿を直接注入ことで、免疫的モニタリング機能を高め、腫瘍の再発と移転を予防することもできる。これは本発明の技術の応用上の価値である。

10

20

【0010】

表1に示される3つの抗原ポリペプチドはELISA法による血漿VEGFR1自己抗体の検出において高濃度の製品を使用しなければならず、純度95%以上の製品が好ましい。次に、本分野にて通用する「サンドイッチ法比較検証モード」を用いて技術的検証を行って本発明での実現可能な技術的効果を説明する。

【課題を解決するための手段】

【0011】

本出願は表1に示される3つの抗原ポリペプチドで血漿免疫標識物 - VEGFR1自己抗体を検出する方法を提供し、それは次のステップを含む：

1、操作する前に、各抗原ポリペプチドを65%～70%の酢酸で5mg/mlの貯蔵液に溶解し、次いで等体積で混合して-20（誤差は2以内）の冷蔵庫に入れて保存する；

30

2、操作する際に、まず表1に示される3つの抗原ポリペプチドの等比混合液を被覆液で10～50マイクログラム/mlに希釈し、該被覆液は塩化ナトリウム0.15MとEDTA10Mを含んだリン酸塩緩衝液0.1Mであり、pHは7.0～7.4である；

3、次いでマレイミド(Maleimide)で活性化される96ウェルプレート(Thermo Scientific、アメリカ)をコーティングし、4で一晩インビトロ培養した後に、洗浄液でプレートを3回洗浄し、前記洗浄液は0.15Mの塩化ナトリウムと0.1%TWEEN-20を含んだリン酸塩緩衝液0.1Mであり、pHは7.0～7.4である；

40

4、次いで複数回に分けてサンプルを添加し、次のとおり分析を行う：

a、検出される血漿サンプルをダブルウェル設置し、他に2つの陰性対照ウェル(NC、参照物は血漿VEGFR1抗体を含まない陰性対照液であり、それによりVEGFR1自己抗体を含まない陰性環境における表1に記載の本発明の3つの抗原ポリペプチドの指標値を得ることができ、目的は、本発明の組成物はVEGFR1自己抗体を含まない場合に、陽性結果を示さないことを証明することである)及び2つの陽性対照ウェル(PC、参照物はVEGFR1抗体標準品を含んだ陽性対照液であり、それによりVEGFR1抗体標準品の基準含有量レベルの場合の、表1に記載の本発明の3つの抗原ポリペプチドの指標値を得ることができ、目的は本発明の組成物はVEGFR1自己抗体を含んだ環境において陽性結果を示せることを証明し、さらに基準値として検出される血漿サンプルの

50

指標値の比較に用いることである)を設置する;

b、分析液を用いて検出対象の血漿サンプルを1:200で希釈し、前記分析液は抗原コーティング液と同じであり、即ち塩化ナトリウム0.15MとEDTA10mMを含んだリン酸塩緩衝液0.1Mであり、pHは7.0~7.4であり、ウェルごとに100 μ l添加し、25 $^{\circ}$ Cで1-2時間インビトロ培養し、次いでプレートを3回洗浄する;

c、前記分析液を用いて上記bステップ(塩化ナトリウム0.15MとEDTA10mMを含んだリン酸塩緩衝液0.1M、pHは7.0~7.4)に従って操作した後に、ペルオキシダーゼ標識のヒツジ抗ヒトIgG(血漿中の検出対象物質は特異性抗体であるか否かを検出するために使用する)を希釈し、抗体の機能保証範囲は1:10000~1:50000であり、ウェルごとに100 μ l添加し、25 $^{\circ}$ Cで1-2時間インビトロ培養する;

d、前記洗浄液(0.15Mの塩化ナトリウムと0.1%のTWEEN-20を含んだリン酸塩緩衝液0.1M、pHは7.0~7.4)を用いてプレートを3回洗浄した後に、ウェルごとに100 μ lの3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン(TMB)及びペルオキシダーゼからなる混合液を添加し、室温避光20~30分とする;

e、ウェルごとに反応停止液の10%硫酸溶液(10% H_2SO_4)を50 μ l添加し、次いでマイクロプレートリーダーを用いて光学濃度値(OD値)を検出し、検出波長は450nmであり、参照波長は630nmである。検出プロセスは反応停止液添加後の10分以内に終了させなければならない。これに基づき個体の血漿VEGFR1自己抗体レベルを定量的に分析することができる。

5、母集団からの無作為抽出を行う際に、各個体の検出データについて分析して、サンプル陽性率(Positive sample ratio、PSR)で血漿中のVEGFR1自己抗体の相対的レベルを確定することができる。PSRの算出方法は次のとおりである: $PSR = [VEGFR1 \text{ OD値} - NC \text{ OD値}] / [PC \text{ OD値} - NC \text{ OD値}]$ 。次いで正規化四分法(Q-Q)を用いてグラフを作成する。

【0012】

表1に記載の3つ抗原ポリペプチドは実際に応用する際に、便利な検出キットのセットに生産することができる。非金属材料で真空密封包装することが可能であり、4 $^{\circ}$ Cの環境において6か月以上保存することができる。そのため、本出願は表1に記載の3つの抗原ポリペプチドを含んだ検出キットをさらに提供する。要するに、3つの抗原ポリペプチドからなる混合液でコーティングする、マレイミド(Maleimide)で活性化される96ウェルプレートを45 $^{\circ}$ Cのオープンにて乾燥させた後、非金属の包装材料で真空密封包装し、各試薬を1例ずつ取って便利な検出キットのセットに組み合わせる。好ましくは、3つの抗原ポリペプチドはいずれも純度95%以上の製品である。

【図面の簡単な説明】

【0013】

【図1】血漿VEGFR1抗体濃度の四分位数の分布図である。図中において、横軸はPSR値で示される血漿VEGFR1抗体濃度であり、縦軸は血漿VEGFR1抗体濃度の四分位数の分布範囲であり、零点に対応するPSR値は中位数である。

【発明を実施するための形態】

【0014】

具体的な実施例

1. サンプルの収集: 健常成人121例(男性65例、女性56例)の血漿サンプルを収集する。前記血漿サンプルの提供者はいずれも臨床健診にていかなる腫瘍もかからないと確定した個体である。操作する前にすべての血漿サンプルをともに-80 $^{\circ}$ Cの条件下で保存し、確認したところ、保存期間は2年を超えておらず、繰り返し凍結融解された血漿サンプルがなかった(凍結融解回数は3回以下)ことが判明した。

【0015】

2. サンプルの検出: 4 $^{\circ}$ Cの環境下で血漿サンプルを解凍し、本実験にて使用する表1に記載の3つの抗原ポリペプチドはイギリスのSEVERN BIOTECH, Limi

10

20

30

40

50

t e dにより合成され、純度は95%である。具体的には次のステップを行う：

(1) 操作する前に、各抗原ポリペプチドを67%の酢酸で5.7mg/mlの貯蔵液に溶解し、次いで等体積で混合して-20℃の冷蔵庫に入れて保存する；

(2) 操作する際に、まず3つの抗原ポリペプチドの混合液を被覆液で28.5マイクログラム/mlに希釈し、該被覆液は塩化ナトリウム0.15MとEDTA10Mを含んだリン酸塩緩衝液0.1Mであり、測定したところ、pHは7.2である；

(3) 次いでマレイミド(Maleimide)で活性化される96ウエルプレート(Thermo Scientific、アメリカ)をコーティングし、4℃で一晩16.5時間インビトロ培養した後に、洗浄液でプレートを3回洗浄し、前記洗浄液は0.15Mの塩化ナトリウムと0.1%TWEEN-20を含んだリン酸塩緩衝液0.1Mであり、測定したところ、pHは7.3である；

(4) 次いで複数回に分けてサンプルを添加し、次のとおり分析を行う：

a、検出される血漿サンプルをダブルウェル設置し、他に2つの陰性対照ウェル(NC、参照物はSigma-Aldrich社の提供するVEGFR1抗体を含まないヒト血漿陰性対照液)及び2つの陽性対照ウェル(PC、参照物は同じく、Sigma-Aldrich社の提供するヒト血漿VEGFR1抗体標準品の陽性対照液)を設置する；

b、分析液を用いて血漿を1:200で希釈し、前記分析液は抗原コーティング液と同じであり、塩化ナトリウム0.15MとEDTA10mMを含んだリン酸塩緩衝液0.1Mであり、測定したところ、pHは7.2である。ウェルごとに100μl添加し、25℃で1.5時間インビトロ培養する；

c、前記洗浄液(0.15Mの塩化ナトリウムと0.1%TWEEN-20を含んだリン酸塩緩衝液0.1M、測定したところ、pHは7.2)を用いてプレートを3回洗浄した後に、分析液を用いてペルオキシダーゼ標識のヒツジ抗ヒトIgG(Sigma-Aldrich社提供)を希釈し、抗体の機能保証範囲は1:285000であり、ウェルごとに100μl添加し、25℃で1.5時間インビトロ培養する；

d、前記洗浄液(0.15Mの塩化ナトリウムと0.1%のTWEEN-20を含んだリン酸塩緩衝液0.1M、測定したところ、pHは7.2程度)を用いてプレートを3回洗浄した後に、ウェルごとに100μlの3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン(TMB)及びペルオキシダーゼからなる混合液(Life Technologies社提供)を添加し、室温避光25分とする；

e、ウェルごとに反応停止液の10%硫酸溶液(10% H_2SO_4)を50μl添加し、次いでマイクロプレートリーダーを用いて光学濃度値(OD値)を検出し、検出波長は450nmであり、参照波長は630nmである。反応停止液添加後の10分以内に検出を終了させる。

【0016】

3. 結果の分析：次に実験結果に基づき、実験対象の集団についてVEGFR1自己抗体の分布をさらに比較分析する。前記検出にて得られるデータに基づいて分析を行う際、サンプル陽性率(Positive sample ratio、PSR)で血漿中のVEGFR1自己抗体レベルを確定する。PSRの算出式は次のとおりである： $PSR = [VEGFR1 \text{ OD値} - NC \text{ OD値}] / [PC \text{ OD値} - NC \text{ OD値}]$ 。さらに正規化四分法(Q-Q)を用いて下図を作成する。図中において、横軸はPSR値で示される血漿VEGFR1抗体濃度であり、縦軸は血漿VEGFR1抗体濃度の四分位数の分布範囲であり、零点に対応するPSR値は中位数である。

【0017】

図1に示されるように、血漿VEGFR1抗体濃度の中位数はPSR=1.53、変動係数S=1.65、尖度係数K=4.63であり、統計学的に顕著な有意である(w=0.89、p<0.0001)。正規分布近似曲線における右向きの反曲点の最大値を閾値(cut-off=3.8)とし、即ち健常成人121例の血漿サンプルのうち、VEGFR1を多く含んでいるのは8例であり、本実施例では該閾値以上と検出される人数の割合は6.6%である。本実施例から、無作為抽出する健常成人集団の血漿VEGFR1抗

10

20

30

40

50

体の含有量は歪んだ分布を示し、そのうち、8例の血漿サンプルは臨床的応用価値が大きな、天然VEGFR1自己抗体を多く含んだ貴重な血液源である。

【0018】

本実施例において、並行陰性対比試験により本発明にて結果の誤報告がなかったことを証明でき、上図の横軸はSigma-Aldrich社の提供するヒト血漿VEGFR1抗体標準品の陽性対照液を参照物とする個体ごとの血漿サンプルPSRの算出値を示し、またこれに基づいてマークして上図を得る。分かりやすさのために、VEGFR1自己抗体濃度（PSR値）を4つの区間に分布させることもでき、下表においては、本実施例における各抗体濃度区間に入っている人数の割合を示している。

【0019】

10

【表2】

別表. 健常成人血漿サンプル121例におけるVEGFR1自己抗体の分布

例数 (百分率)	抗体濃度 (PSR)
34 (28.1%)	0.00-0.90
50 (41.3%)	0.91-2.30
29 (24.0%)	2.31-3.79
8 (6.6%)	3.80-8.60

20

【0020】

上記具体的な実施例において、国際的な大手生化学試薬会社Sigma-Aldrichの提供するヒト血漿VEGFR1抗体陰性対照液と陽性標準品対照液を使用し、サンドイッチ法比較試験の結果により、本発明にて設計する3つ線形抗原ポリペプチドは血漿中のVEGFR1自己抗体と特異的結合することができ、即ち3つの線形抗原ポリペプチドのアミノ酸配列は立体構造と立体配置においてVEGFR1抗体タンパク質と有効な相補的關係にあり、それにより異なる個体の血漿VEGFR1自己抗体レベルを定量的に測定することができる。それにより、実用的な血漿VEGFR1自己抗体の検出手段を得ることができる。また、本発明にて3つの線形抗原ポリペプチドを設計する際に使用する合成手段はシンプルでかつコストが適切であるため、臨床における天然VEGFR1自己抗体大量含有の血漿による腫瘍治療の応用を実現化するために理論的・実践的基礎を作る。

30

【 図 1 】

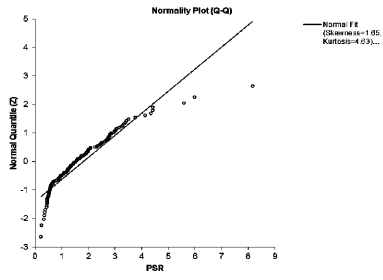


图 1

【 配列表 】

2017538920000001.app

【 国际调查报告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CN2015/086348
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
A61K 39/385 (2006.01) i; G01N 33/53 (2006.01) i; C07K 14/71 (2006.01) i 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) A61K; C07K; G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNABS; CNKI; CNTXT and Key Words: WEI, Jun; vascular endothelial growth factor receptor 1, VEGFR1, Flt1, epitope, antibody, etc.; VEN; MEDLINE; EPTXT; USTXT; WOTXT and Key Words: WEI, Jun; VEGFR1, Flt1, epitop+, antibod+, etc.; NATIONAL BIO-SEQUENCE DATABASE OF CHINESE PATENT; Genbank; EMBL; STN and search sequence: SEQ ID NOs: 1-3.		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ISHIZAKI, H. et al., "Inhibition of Tumor Growth with Antiangiogenic Cancer Vaccine Using Epitope Peptides Derived from Human Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 1", CLIN CANCER RES, volume 12, number 19, 01 October 2006 (01.10.2006), see table 1	1-6
A	CHEN, Chuan et al., "Development of Anti-tumour Drugs Targeting VEGF/VEGFR: a Progress", CHINESE JOURNAL OF CANCER BIOTHERAPY, volume 14, number 3, 30 June 2007 (30.06.2007), see page 292, left column, paragraph 1 to page 294, left column, paragraph 2, table 1	1-6
A	CN 102724996 A (YALE UNIVERSITY), 10 October 2012 (10.10.2012) see embodiments 1-28	1-6
A	CN 102134277 A (SHANGHAI NATIONAL ENGINEERING RESEARCH CENTRE OF ANTIBODY MEDICINE CO., LTD.), 27 July 2011 (27.07.2011), see embodiments 1-6	1-6
PX	CN 104356226 A (SHENZHEN HAILANSHEN BIOMEDICAL TECHNOLOGY CO., LTD.), 18 February 2015 (18.02.2015), see claims 1-6	1-6
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* 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 23 October 2015 (23.10.2015)	Date of mailing of the international search report 30 October 2015 (30.10.2015)	
Name and mailing address of the ISA/CN: State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No.: (86-10) 62019451	Authorized officer WANG, Jinfeng Telephone No.: (86-10) 62412282	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2015/086348

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 102724996 A	10 October 2012	CA 2785723 A1	28 July 2011
		IL 220147 D0	31 July 2012
		EP 2519253 A4	07 August 2013
		JP 2013515776 A	09 May 2013
		RU 2012132470 A	10 February 2014
		SG 181495 A1	30 July 2012
		MX 2012007745 A	23 November 2012
		AU 2010343193 A1	21 June 2012
		KR 20120115348 A	17 October 2012
		US 2013071397 A1	21 March 2013
		WO 2011090648 A3	05 January 2012
		WO 2011090648 A2	28 July 2011
		EP 2519253 A2	07 November 2012
CN 102134277 A	27 July 2011	None	
CN 104356226 A	18 February 2015	None	

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2015/086348

A. 主题的分类	
A61K 39/385(2006.01)i; G01N 33/53(2006.01)i; C07K 14/71(2006.01)i	
按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类	
B. 检索领域	
检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)	
A61K; C07K; G01N	
包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献	
在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))	
CPRSABS; CNABS; CNKI; CNTXT和关键词: 尉军, 血管内皮生长因子受体1, VEGFR1, Flt1, 表位, 抗体, 等; VEN; MEDLINE; EPTXT; USTXT; WOTXT和关键词: wei jun, VEGFR1, Flt1, epitop+, antibod+, 等; 中国专利生物序列检索系统; Genbank; EMBL; STN和检索的序列: SEQ ID NO:1-3.	
C. 相关文件	
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落
A	ISHIZAKI, H.等. "Inhibition of tumor growth with antiangiogenic cancer vaccine using epitope peptides derived from human vascular endothelial growth factor receptor 1" Clin Cancer Res, 第12卷, 第19期, 2006年 10月 1日 (2006 - 10 - 01), 见表1
A	陈川等. "以VEGF/VEGFR为靶点的抗肿瘤药物的研究进展" 《中国肿瘤生物治疗杂志》, 第14卷, 第3期, 2007年 6月 30日 (2007 - 06 - 30), 见第292页左栏第1段至294页左栏第2段、表1
A	CN 102724996 A (耶鲁大学) 2012年 10月 10日 (2012 - 10 - 10) 见实施例1-28
A	CN 102134277 A (上海抗体药物国家工程研究中心有限公司) 2011年 7月 27日 (2011 - 07 - 27) 见实施例1-6
PX	CN 104356226 A (深圳市海兰深生物医学技术有限公司) 2015年 2月 18日 (2015 - 02 - 18) 见权利要求1-6
<input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。	
* 引用文件的具体类型:	
"A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件	"T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件
"E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利	"X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性
"L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其特殊理由而引用的文件(如具体说明的)	"Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性
"O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件	"&" 同族专利的文件
"P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件	
国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期
2015年 10月 23日	2015年 10月 30日
ISA/CN的名称和邮寄地址	授权官员
中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 中国	王金凤
传真号 (86-10) 62019451	电话号码 (86-10) 62412282

表 PCT/ISA/210 (第2页) (2009年7月)

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2015/086348

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	102724996	A	2012年 10月 10日	CA	2785723	A1	2011年 7月 28日
				IL	220147	D0	2012年 7月 31日
				EP	2519253	A4	2013年 8月 7日
				JP	2013515776	A	2013年 5月 9日
				RU	2012132470	A	2014年 2月 10日
				SG	181495	A1	2012年 7月 30日
				MX	2012007745	A	2012年 11月 23日
				AU	2010343193	A1	2012年 6月 21日
				KR	20120115348	A	2012年 10月 17日
				US	2013071397	A1	2013年 3月 21日
				WO	2011090648	A3	2012年 1月 5日
				WO	2011090648	A2	2011年 7月 28日
				EP	2519253	A2	2012年 11月 7日
CN	102134277	A	2011年 7月 27日	无			
CN	104356226	A	2015年 2月 18日	无			

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)

フロントページの続き

(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 王 偉 力

中華人民共和国 5 1 8 0 5 2 広 東 省 深 セン 市 南山 区 海 月 路 2 8 号 2 - 2 0 9
Fターム(参考) 4H045 AA11 AA30 BA18 CA40 DA86 EA50

专利名称(译)	用于检测VEGFR1自身抗体的血浆免疫标记物质 - 抗原多肽及其应用		
公开(公告)号	JP2017538920A	公开(公告)日	2017-12-28
申请号	JP2017522419	申请日	2015-08-07
发明人	尉 ▲軍▼ 王 ▲偉▼力		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/543 C07K14/475		
FI分类号	G01N33/53.N G01N33/543.545.A C07K14/475.ZNA		
F-TERM分类号	4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA18 4H045/CA40 4H045/DA86 4H045/EA50		
优先权	201410615968.5 2014-11-04 CN		
其他公开文献	JP6423092B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本申请提供了VEGFR1抗原性多肽，其血浆中使用了H-ESGLSDVSRPSFCHSSCGHVSEGKRRFTYDHAV-H抗原的H-DEGVYHCKATNQKGSVESSAYLTVQGTSKSNLE-OH，H-DLKLSTVKNFLYRDVTWILLRVTNNRTMHYSI-OH和三种H-ESGLSDVSRPSFCHSSCGHVSEGKRRFTYDHAV-抗原使用的抗原标记抗体。包括。进一步提供了使用本申请中描述的VEGFR1抗原多肽检测血浆免疫标记-VEGFR1自身抗体的方法，以及包含VEGFR1抗原多肽的检测试剂盒。

