

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】令和2年5月28日(2020.5.28)

【公表番号】特表2019-521953(P2019-521953A)

【公表日】令和1年8月8日(2019.8.8)

【年通号数】公開・登録公報2019-032

【出願番号】特願2018-555492(P2018-555492)

【国際特許分類】

C 0 7 K 16/18 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

C 0 7 K 14/47 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 K 47/68 (2017.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P 25/28 (2006.01)

C 1 2 N 15/13 (2006.01)

【 F I 】

C 0 7 K 16/18 Z N A

G 0 1 N 33/53 D

C 0 7 K 14/47

A 6 1 K 39/395 N

A 6 1 K 39/395 D

A 6 1 K 39/395 V

A 6 1 K 39/395 C

A 6 1 K 39/395 L

A 6 1 K 47/68

A 6 1 P 43/00 1 1 1

A 6 1 P 25/28

C 1 2 N 15/13

【手続補正書】

【提出日】令和2年4月20日(2020.4.20)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

ジメチル化抗原に特異的に結合する抗体であって、前記ジメチル化抗原がジメチル化リシン残基を含み、前記リシン残基がヒトヒストンH1.0のK180に対応し、前記ジメチル化リシン残基が結合のために必要とされる抗体。

【請求項2】

前記ジメチル化抗原が、メチル化されたいずれの他のリシン残基も含まない、請求項1に記載の抗体。

【請求項3】

i) 前記抗原が、ヒトヒストンH1.0タンパク質のK166、K172、K174、K175、および/またはK177に対応するリシン残基においてジメチル化リシン残基を含む場合、結合しないか、または最小限に結合するにすぎない；または

i i) 前記抗原が、ヒトヒストンH 1 . 0 タンパク質のK 1 6 6、K 1 7 2、K 1 7 4、K 1 7 5、K 1 7 7、および/またはK 1 8 0に対応するリシン残基においてモノメチル化リシン残基を含む場合、結合しないか、または最小限に結合するにすぎない；または

i i i) 前記抗原が、ヒトヒストンH 1 . 0 タンパク質のK 1 6 6、K 1 7 2、K 1 7 4、K 1 7 5、K 1 7 7、および/またはK 1 8 0に対応するリシン残基においてトリメチル化リシン残基を含む場合、結合しないか、または最小限に結合するにすぎない；または

i v) 前記抗原が、モノメチル化抗原に対するもの、もしくはトリメチル化抗原に対するものよりも前記ジメチル化抗原に対して少なくとも2倍特異的であり、前記モノメチル化抗原がモノメチル化リシン残基を含み、もしくは前記トリメチル化抗原がトリメチル化リシン残基を含み、前記リシン残基がヒトヒストンH 1 . 0 タンパク質のK 1 8 0に対応する、

請求項1に記載の抗体。

【請求項4】

i) 標識を含み、必要に応じて、ビオチン化されている；または

i i) 固体表面に付着されており、必要に応じて、ビーズ、カラム、樹脂、またはマイクロプレートに付着されている、

請求項1～3のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項5】

i) 放射性核種、細胞毒素、化学療法剤、薬物、プロドラッグ、毒素、酵素、イムノモジュレーター、アポトーシス促進剤、サイトカイン、ホルモン、オリゴヌクレオチド、アンチセンス分子、s i R N A、および二次抗体からなる群から選択される少なくとも1種の治療剤にコンジュゲートされている；または

i i) 試料中のH 1 . 0 K 1 8 0 m e 2を取り除くこと、H 1 . 0 K 1 8 0 m e 2を含む細胞を取り除くこと、もしくは老化細胞を取り除くことができる、

請求項1に記載の抗体。

【請求項6】

ジメチル化抗原の濃度を、個体が、アルツハイマー病を有するか、または発症するリスクがあるかどうかの指標とする方法であって、

(a) 前記個体由来の生体試料を請求項1～4のいずれか一項に記載の抗体と接触させるステップと、

(b) 前記抗体に結合する前記試料中のジメチル化抗原の濃度を決定するステップであって、対照に対する前記濃度の低下が、前記個体が、アルツハイマー病を有するか、または発症するリスクがあることを示すステップと

を含む方法。

【請求項7】

i) ヒストンH 1 . 0 タンパク質の血清濃度が5 . 6 1 n m o l / m l 未満である、もしくはそれより低い場合、P L R (L R +) が3 . 6である、もしくはそれより大きい場合、またはN L R (L R -) が0 . 2 6である、もしくはそれより小さい場合、前記個体がアルツハイマー病を有するか、または発症するリスクがある；あるいは

i i) 前記低下が、最適な特異性および感度に対する受診者動作特性曲線分析によって確立された閾値を下回る、

請求項6に記載の方法。

【請求項8】

ジメチル化抗原の濃度を、アルツハイマー病と診断され、前記アルツハイマー病に対する処置を受けている個体が、前記処置から利益を得るかまたは前記処置から利益を得続けるかどうかの指標とする方法であって、

(a) 前記個体由来の生体試料を請求項1～4のいずれか一項に記載の抗体と接触させるステップと、

(b) 前記抗体に結合する前記試料中のジメチル化抗原の濃度を決定するステップと

を含み、対照に対する前記濃度の上昇が存在する場合、前記個体が前記処置から利益を得るかまたは前記処置から利益を得続ける、方法。

【請求項 9】

ジメチル化抗原の濃度および/または細胞内局在を、アルツハイマー病と診断された個体が候補処置から利益を得るかどうかの指標とする方法であって、前記個体が前記処置をまだ開始しておらず、前記方法が、

(a) i) 前記候補処置の投与後の前記個体由来の生体試料を、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の抗体と接触させるステップ; または

i i) 前記個体由来の生体試料を候補処置と接触させ、前記生体試料を請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の抗体と接触させるステップと、

(b) 前記抗体に結合する前記試料中のジメチル化抗原の濃度および/または細胞内局在を決定するステップと

を含み、対照に対する前記濃度の上昇または対照に対する細胞質への細胞内局在の低下が存在する場合、前記個体が前記候補処置から利益を得る、方法。

【請求項 10】

前記候補処置が、A P P 合成阻害剤、ベータ - セクレターゼ阻害剤、ガンマ - セクレターゼ阻害剤およびモジュレーター、A 凝集阻害剤、A 免疫療法、コレステロール降下薬、抗タウ薬、コリンエステラーゼ阻害剤、N - メチル D - アスパラギン酸 (N M D A) アンタゴニスト、非定型抗精神病薬、タンパク質の S - ニトロシル化のブロッカー、グルカゴン様ペプチド - 1 受容体アゴニスト、ラパマイシン、ラパログ、内在性カンナビノイド、カンナビノイド、神経保護物質、カルシウム流入を制御する分子、抗酸化剤、抗炎症薬、グルタミン酸ホメオスタシスの制御を制御する薬物、オートファジー誘導物質、ホルモン、ホルモン調節剤、スタチン、インスリン、インスリン担体、多機能ナノキャリア、ビタミン、栄養補助剤、小 R N A 分子、ペプチド、および超音波療法からなる群から選択される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記個体が、60 歳またはそれより高い年齢である、請求項 6 から 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

ジメチル化抗原の濃度を、個体が D N A 損傷剤に曝露されたかどうかの指標とする方法であって、

(a) 前記個体由来の生体試料を請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の抗体と接触させるステップと、

(b) 前記抗体に結合する前記試料中のジメチル化抗原の濃度を決定するステップであって、対照に対する前記濃度の上昇が、前記個体が D N A 損傷剤に曝露されたことを示すステップと

を含む方法。

【請求項 13】

前記上昇が、最適な特異性および感度に対する受診者動作特性曲線分析によって確立された閾値を超える、請求項 8、9 または 12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

前記 D N A 損傷剤が、放射線である、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 15】

ジメチル化抗原の濃度を、ラパログによる処置を受けている個体がこのような処置に応答性であるかどうかの指標とする方法であって、

(a) 前記個体由来の生体試料を請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の抗体と接触させるステップと、

(b) 前記抗体に結合する前記試料中のジメチル化抗原の濃度を決定するステップとを含み、前記個体が処置に応答性であり、対照に対する前記濃度の低下が、前記個体が応答性であることを示す、方法。

【請求項16】

i) 前記低下が、最適な特異性および感度に対する受診者動作特性曲線分析によって確立された閾値を下回る、

ii) ラパログが、ラパマイシン、シロリムス、Rapamune、エベロリムス、RA001、Afinitor、Zortress、テムシロリムス、CCI-779、Torisel、リダフォロリムス、AP23573、MK-8669、デフォロリムス、ゾタロリムス、ABT-578、AZD8055、AZD2014、OSI-027、MLN0128、WYE-132、Torin1、PI-103、P7170、PF-04691502、PF-05212384、PKI-587、GNE477、PKI-180、WJD008、XL765、SAR245409、NVP-BEZ235、BGT226、SF1126、GSK2126458、Ku-0063794、WYE-354、NVP-BEZ235、PF-05212384、XL765、Torin2、WYE-125132、およびOSI-027からなる群から選択される、

請求項15に記載の方法。

【請求項17】

i) 前記生体試料が、全血、血漿、血清、唾液、尿、滑液、脳脊髄液、気管支洗浄、腹水液、骨髄穿刺液、胸水、組織、細胞、生検材料、間質液、およびリンパ液からなる群から選択される；または

ii) 濃度が、ELISAによって決定される、

請求項6～10、12または15のいずれか一項に記載の方法。

【請求項18】

請求項1から5に記載の抗体のうちのいずれか1つ、および薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物であって、必要に応じて、前記組成物が無菌である、医薬組成物。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0031

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0031】

別の態様では、ヒストンH1.0ペプチドおよびメチルトランスフェラーゼ酵素を含む複合体であって、in vitroである複合体が本明細書において提供される。一部の実施形態では、H1.0ペプチドは、配列番号42～74からなる群から選択される配列を含む。一部の実施形態では、メチルトランスフェラーゼ酵素は、G9Aメチルトランスフェラーゼ酵素である。一部の実施形態では、メチルトランスフェラーゼ酵素はGLPメチルトランスフェラーゼ酵素である。

特定の実施形態では、例えば以下の項目が提供される。

(項目1)

ジメチル化抗原に特異的に結合する抗体であって、前記ジメチル化抗原がジメチル化リシン残基を含み、前記リシン残基がヒトヒストンH1.0のK180に対応し、前記ジメチル化リシン残基が結合のために必要とされる抗体。

(項目2)

前記ジメチル化抗原が、メチル化されたいずれの他のリシン残基も含まない、項目1に記載の抗体。

(項目3)

前記抗原が、ヒトヒストンH1.0タンパク質のK166、K172、K174、K175、および/またはK177に対応するリシン残基においてジメチル化リシン残基を含む場合、結合しないか、または最小限に結合するにすぎない、項目1に記載の抗体。

(項目4)

前記抗原が、ヒトヒストンH1.0タンパク質のK166、K172、K174、K1

75、K177、および/またはK180に対応するリシン残基においてモノメチル化リシン残基を含む場合、結合しないか、または最小限に結合するにすぎない、項目1に記載の抗体。

(項目5)

前記抗原が、ヒトヒストンH1.0タンパク質のK166、K172、K174、K175、K177、および/またはK180に対応するリシン残基においてトリメチル化リシン残基を含む場合、結合しないか、または最小限に結合するにすぎない、項目1に記載の抗体。

(項目6)

モノメチル化抗原よりも前記ジメチル化抗原に対して少なくとも2倍特異的であり、前記モノメチル化抗原がモノメチル化リシン残基を含み、前記リシン残基がヒトヒストンH1.0タンパク質のK180に対応する、項目1に記載の抗体。

(項目7)

トリメチル化抗原よりも前記ジメチル化抗原に対して少なくとも2倍特異的であり、前記トリメチル化抗原がトリメチル化リシン残基を含み、前記リシン残基がヒトヒストンH1.0タンパク質のK180に対応する、項目1に記載の抗体。

(項目8)

標識を含む、項目1に記載の抗体。

(項目9)

ビオチン化されている、項目8に記載の抗体。

(項目10)

固体表面に付着されている、項目1に記載の抗体。

(項目11)

ビーズ、カラム、樹脂、またはマイクロプレートに付着されている、項目10に記載の抗体。

(項目12)

放射性核種、細胞毒素、化学療法剤、薬物、プロドラッグ、毒素、酵素、イムノモジュレーター、アポトーシス促進剤、サイトカイン、ホルモン、オリゴヌクレオチド、アンチセンス分子、siRNA、および二次抗体からなる群から選択される少なくとも1種の治療剤にコンジュゲートされている、項目1に記載の抗体。

(項目13)

試料中のH1.0K180me2を取り除くことができる、項目1に記載の抗体。

(項目14)

H1.0K180me2を含む細胞を取り除くことができる、項目1に記載の抗体。

(項目15)

老化細胞を取り除くことができる、項目1に記載の抗体。

(項目16)

ジメチル化リシン残基を含む合成ヒストンH1.0ペプチド、またはジメチル化リシン残基を含む合成ヒストンH1.0タンパク質であって、前記ジメチル化リシン残基がヒトヒストンH1.0のK180に対応する、合成ヒストンH1.0ペプチドまたは合成ヒストンH1.0タンパク質。

(項目17)

前記タンパク質またはペプチドが、標識を含む、項目16に記載のペプチド。

(項目18)

前記タンパク質またはペプチドが、ビオチン化されている、項目16に記載のペプチド。

(項目19)

前記タンパク質またはペプチドが、ジメチル化されたいずれの他のリシン残基も含まない、項目16に記載のペプチド。

(項目20)

前記タンパク質またはペプチドが、メチル化されたいずれの他のリシン残基も含まない、項目 1 6 に記載のペプチド。

(項目 2 1)

前記タンパク質またはペプチドが、ビーズ、マイクロプレート、カラム、または樹脂に付着されている、項目 1 6 に記載のペプチド。

(項目 2 2)

配列番号 3 ~ 3 5 の配列のうちのいずれか 1 つを含む、項目 1 6 に記載のペプチド。

(項目 2 3)

配列番号 3 の配列を含む、項目 2 2 に記載のペプチド。

(項目 2 4)

前記タンパク質が、配列番号 2 の配列を含む、項目 1 6 に記載のペプチド。

(項目 2 5)

前記タンパク質またはペプチドが、放射性核種、細胞毒素、化学療法剤、薬物、プロドラッグ、毒素、酵素、イムノモジュレーター、アポトーシス促進剤、サイトカイン、ホルモン、オリゴヌクレオチド、アンチセンス分子、s i R N A、および二次抗体からなる群から選択される少なくとも 1 種の治療剤にコンジュゲートされている、項目 1 6 に記載のペプチド。

(項目 2 6)

前記タンパク質またはペプチドが、H 1 . 0 K 1 8 0 m e 2 自己抗体を取り除くかまたは遮断することができる、項目 1 6 に記載のペプチド。

(項目 2 7)

前記タンパク質またはペプチドが、H 1 . 0 K 1 8 0 m e 2 I g G 自己抗体を取り除くかまたは遮断することができる、項目 2 6 に記載のペプチド。

(項目 2 8)

前記タンパク質またはペプチドが、H 1 . 0 K 1 8 0 m e 2 I g M 自己抗体を取り除くかまたはブロックすることができる、項目 2 6 に記載のペプチド。

(項目 2 9)

個体が、アルツハイマー病を有するか、または発症するリスクがあるかどうかを決定する方法であって、

(a) 前記個体由来の生体試料を項目 1 に記載の抗体と接触させるステップと、

(b) 前記抗体に結合する前記試料中のジメチル化抗原の濃度を決定するステップであって、対照に対する前記濃度の低下が、前記個体が、アルツハイマー病を有するか、または発症するリスクがあることを示すステップとを含む方法。

(項目 3 0)

ヒストン H 1 . 0 タンパク質の血清濃度が 5 . 6 1 n m o l / m l 未満である、またはそれより低い場合、前記個体がアルツハイマー病を有するか、または発症するリスクがある、項目 2 9 に記載の方法。

(項目 3 1)

前記低下が、最適な特異性および感度に対する受診者動作特性曲線分析によって確立された閾値を下回る、項目 2 9 に記載の方法。

(項目 3 2)

P L R (L R +) が 3 . 6 である、またはそれより大きい場合、前記個体がアルツハイマー病を有するか、または発症するリスクがある、項目 2 9 に記載の方法。

(項目 3 3)

N L R (L R -) が 0 . 2 6 である、またはそれより小さい場合、前記個体がアルツハイマー病を発症するリスクを有さない、項目 4 4 に記載の方法。

(項目 3 4)

前記個体が、アルツハイマー病を有するか、または発症するリスクがあると決定された場合、アルツハイマー病薬またはレジメンで前記個体を処置するステップをさらに含む、

項目 2 9 に記載の方法。

(項目 3 5)

アルツハイマー病と診断され、前記アルツハイマー病に対する処置を受けている個体が、前記処置から利益を得るかまたは前記処置から利益を得続けるかどうかを決定する方法であって、

(a) 前記個体由来の生体試料を項目 1 に記載の抗体と接触させるステップと、

(b) 前記抗体に結合する前記試料中のジメチル化抗原の濃度を決定するステップと、

(c) 対照に対する前記濃度の上昇が存在する場合、前記個体が前記処置から利益を得るかまたは前記処置から利益を得続けると決定するステップと

を含む方法。

(項目 3 6)

前記上昇が、最適な特異性および感度に対する受診者動作特性曲線分析によって確立された閾値を超える、項目 3 5 に記載の方法。

(項目 3 7)

前記個体が前記処置から利益を得るかまたは利益を得続けると決定された場合、アルツハイマー病薬またはレジメンで前記個体を処置するステップをさらに含む、項目 3 5 に記載の方法。

(項目 3 8)

アルツハイマー病と診断された個体が候補処置から利益を得るかかどうかを決定する方法であって、前記個体が前記処置をまだ開始しておらず、前記方法が、

(a) 候補処置を前記個体に投与するステップと、

(b) 前記候補処置の投与後の前記個体由来の生体試料を項目 1 に記載の抗体と接触させるステップと、

(c) 前記抗体に結合する前記試料中のジメチル化抗原の濃度および / または細胞内局在を決定するステップと、

(d) 対照に対する前記濃度の上昇または細胞質への細胞内局在の低下が存在する場合、前記個体が前記候補処置から利益を得ると決定するステップと

を含む、方法。

(項目 3 9)

前記濃度の前記上昇が、最適な特異性および感度に対する受診者動作特性曲線分析によって確立された閾値を超える、項目 3 8 に記載の方法。

(項目 4 0)

前記個体が前記処置から利益を得ると決定された場合、アルツハイマー病薬またはレジメンで前記個体を処置するステップをさらに含む、項目 3 8 に記載の方法。

(項目 4 1)

アルツハイマー病と診断された個体が候補処置から利益を得るかかどうかを決定する方法であって、前記個体が前記処置をまだ開始しておらず、前記方法が、

(a) 前記個体由来の生体試料を候補処置と接触させるステップと、

(b) 前記生体試料を項目 1 に記載の抗体と接触させるステップと、

(c) 前記抗体に結合する前記試料中のジメチル化抗原の濃度および / または細胞内局在を決定するステップと、

(d) 対照に対する前記濃度の上昇または対照に対する細胞質への細胞内局在の低下が存在する場合、前記個体が前記候補処置から利益を得ると決定するステップと

を含む、方法。

(項目 4 2)

前記上昇が、最適な特異性および感度に対する受診者動作特性曲線分析によって確立された閾値に対するものである、項目 4 1 に記載の方法。

(項目 4 3)

前記個体が前記処置から利益を得ると決定された場合に、アルツハイマー病薬またはレジメンで前記個体を処置するステップをさらに含む、項目 4 1 に記載の方法。

(項目44)

前記処置が、A P P合成阻害剤、ベータ-セクレターゼ阻害剤、ガンマ-セクレターゼ阻害剤およびモジュレーター、A凝集阻害剤、A免疫療法、コレステロール降下薬、抗タウ薬、コリンエステラーゼ阻害剤、N-メチルD-アスパラギン酸(NMDA)アンタゴニスト、非定型抗精神病薬、タンパク質のS-ニトロシル化のブロッカー、グルカゴン様ペプチド-1受容体アゴニスト、ラパマイシン、ラパログ、内在性カンナビノイド、カンナビノイド、神経保護物質、カルシウム流入を制御する分子、抗酸化剤、抗炎症薬、グルタミン酸ホメオスタシスの制御を制御する薬物、オートファジー誘導物質、ホルモン、ホルモン調節剤、スタチン、インスリン、インスリン担体、多機能ナノキャリア、ビタミン、栄養補助剤、小RNA分子、ペプチド、および超音波療法からなる群から選択される、項目38から42のいずれか一項に記載の方法。

(項目45)

前記生体試料が、全血、血漿、血清、唾液、尿、糞便、滑液、脳脊髄液、気管支洗浄、腹水液、骨髄穿刺液、胸水、組織、細胞、生検材料、間質液、およびリンパ液からなる群から選択される、項目29から44のいずれか一項に記載の方法。

(項目46)

前記個体が、60歳またはそれより高い年齢である、項目29から45のいずれか一項に記載の方法。

(項目47)

前記抗体が、標識を含む、項目29から46のいずれか一項に記載の方法。

(項目48)

前記抗体が、ビーズ、マイクロプレート、カラム、または樹脂に付着されている、項目29から47のいずれか一項に記載の方法。

(項目49)

前記濃度が、E L I S Aによって決定される、項目29から48のいずれか一項に記載の方法。

(項目50)

前記抗体が、モノメチル化抗原よりも前記ジメチル化抗原に対して少なくとも2倍特異的であり、前記モノメチル化抗原がモノメチル化リシン残基を含み、前記リシン残基がヒトヒストンH1.0タンパク質のK180に対応する、項目29から49のいずれか一項に記載の方法。

(項目51)

前記抗体が、トリメチル化抗原よりも前記ジメチル化抗原に対して少なくとも2倍特異的であり、前記トリメチル化抗原がトリメチル化リシン残基を含み、前記リシン残基がヒトヒストンH1.0タンパク質のK180に対応する、項目29から49のいずれか一項に記載の方法。

(項目52)

個体が、アルツハイマー病を有するか、または発症するリスクがあるかどうかを決定する方法であって、

(a)前記個体由来の生体試料を項目16に記載のタンパク質またはペプチドと接触させるステップと、

(b)前記タンパク質またはペプチドに結合する前記試料中の自己抗体の濃度を決定するステップであって、対照に対する前記濃度の上昇が、前記個体が、アルツハイマー病を有するか、または発症するリスクがあることを示すステップとを含む方法。

(項目53)

前記タンパク質またはペプチドに結合する前記試料中のI g M自己抗体の濃度を決定するステップを含む、項目52に記載の方法。

(項目54)

前記タンパク質またはペプチドに結合する前記試料中のI g G自己抗体の濃度を決定す

るステップを含む、項目52に記載の方法。

(項目55)

総IgGレベルに対して正規化したIgG自己抗体の血清濃度が、 9.69ug/ml より高いかまたはそれに等しい場合、前記個体がアルツハイマー病を有するか、または発症するリスクがある、項目52に記載の方法。

(項目56)

血清体積に対して正規化したIgG自己抗体の血清濃度が、 8.23ug/ml より高いかまたはそれに等しい場合、前記個体がアルツハイマー病を有するか、または発症するリスクがある、項目52に記載の方法。

(項目57)

血清体積に対して正規化したIgM自己抗体の血清濃度が、 409fMol/ml より高いかまたはそれに等しい場合、前記個体がアルツハイマー病を有するか、または発症するリスクがある、項目52に記載の方法。

(項目58)

総IgM濃度に対するIgM自己抗体の濃度の比が 26.6×10^{-6} より大きい場合、前記個体がアルツハイマー病を有するか、または発症するリスクがある、項目52に記載の方法。

(項目59)

前記上昇が、最適な特異性および感度に対する受診者動作特性曲線分析によって確立された閾値を超える、項目52に記載の方法。

(項目60)

PLR(LR+)がIgG自己抗体について2.4もしくはそれより大きいか、またはPLR(LR+)がIgM自己抗体について3.5もしくはそれより大きい場合、前記個体がアルツハイマー病を有するか、または発症するリスクがある、項目52に記載の方法。

(項目61)

前記タンパク質またはペプチドに結合する前記試料中のIgM自己抗体の濃度を決定するステップと、その測定値を前記試料中の総IgM濃度と比較するステップとを含む、項目52に記載の方法。

(項目62)

前記個体が、アルツハイマー病を有するか、または発症するリスクがあると決定された場合に、アルツハイマー病薬またはレジメンで前記個体を処置するステップをさらに含む、項目52に記載の方法。

(項目63)

アルツハイマー病と診断され、前記アルツハイマー病に対する処置を受けている個体が、前記処置から利益を得るかまたは前記処置から利益を得続けるかどうかを決定する方法であって、

(a) 前記個体由来の生体試料を項目16に記載のタンパク質またはペプチドと接触させるステップと、

(b) 前記タンパク質またはペプチドに結合する前記試料中の自己抗体の濃度を決定するステップと、

(c) 対照に対する前記濃度の低下が存在する場合、前記個体が前記処置から利益を得るかまたは前記処置から利益を得続けると決定するステップとを含む方法。

(項目64)

前記低下が、最適な特異性および感度に対する受診者動作特性曲線分析によって確立された閾値を下回る、項目63に記載の方法。

(項目65)

前記タンパク質またはペプチドに結合する前記試料中のIgM自己抗体の濃度を決定するステップを含む、項目63に記載の方法。

(項目66)

前記タンパク質またはペプチドに結合する前記試料中の I g G 自己抗体の濃度を決定するステップを含む、項目63に記載の方法。

(項目67)

アルツハイマー病と診断された個体が候補処置から利益を得るかどうかを決定する方法であって、前記個体が前記処置をまだ開始しておらず、前記方法が、

(a) 候補処置を前記個体に投与するステップと、

(b) 前記個体由来の生体試料を項目16に記載のタンパク質またはペプチドと接触させるステップと、

(c) 前記タンパク質またはペプチドに結合する前記試料中の自己抗体の濃度を決定するステップと、

(d) 対照に対する前記濃度の低下が存在する場合、前記個体が前記候補処置から利益を得ると決定するステップと

を含む、方法。

(項目68)

前記低下が、最適な特異性および感度に対する受診者動作特性曲線分析によって確立された閾値を下回る、項目67に記載の方法。

(項目69)

前記タンパク質またはペプチドに結合する前記試料中の I g M 自己抗体の濃度を決定するステップを含む、項目67に記載の方法。

(項目70)

前記タンパク質またはペプチドに結合する前記試料中の I g G 自己抗体の濃度を決定するステップを含む、項目67に記載の方法。

(項目71)

前記処置が、A P P 合成阻害剤、ベータ - セクレターゼ阻害剤、ガンマ - セクレターゼ阻害剤およびモジュレーター、A 凝集阻害剤、A 免疫療法、コレステロール降下薬、抗タウ薬、コリンエステラーゼ阻害剤、N - メチル D - アスパラギン酸 (N M D A) アンタゴニスト、非定型抗精神病薬、タンパク質の S - ニトロシル化の遮断剤、グルカゴン様ペプチド - 1 受容体アゴニスト、ラパマイシン、ラパログ、内在性カンナビノイド、カンナビノイド、神経保護物質、カルシウム流入を制御する分子、抗酸化剤、抗炎症薬、グルタミン酸ホメオスタシスの制御を制御する薬物、オートファジー誘導物質、ホルモン、ホルモン調節剤、スタチン、インスリン、インスリン担体、多機能ナノキャリア、ビタミン、栄養補助剤、小 R N A 分子、ペプチド、および超音波療法からなる群から選択される、項目63から70のいずれか一項に記載の方法。

(項目72)

前記生体試料が、全血、血漿、血清、唾液、尿、糞便、滑液、脳脊髄液、気管支洗浄、腹水液、骨髄穿刺液、胸水、組織、細胞、生検材料、間質液、およびリンパ液からなる群から選択される、項目52から71のいずれか一項に記載の方法。

(項目73)

前記個体が、60歳またはそれより高い年齢である、項目52から72のいずれか一項に記載の方法。

(項目74)

前記タンパク質またはペプチドが、標識を含む、項目52から73のいずれか一項に記載の方法。

(項目75)

前記タンパク質またはペプチドが、ビオチン化されている、項目52から74のいずれか一項に記載の方法。

(項目76)

前記タンパク質またはペプチドが、ビーズ、マイクロプレート、カラム、または樹脂に付着されている、項目52から75のいずれか一項に記載の方法。

(項目 77)

前記ペプチドが、配列番号 3 ~ 35 の配列のうちのいずれか 1 つを含む、項目 52 から 76 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 78)

前記ペプチドが、配列番号 3 の配列を含む、項目 52 から 76 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 79)

前記タンパク質が、配列番号 2 の配列を含む、項目 52 から 76 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 80)

H1.0K180me2 に特異的な自己抗体の濃度が決定される、項目 52 から 79 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 81)

IgG 自己抗体の濃度が決定される、項目 52 から 79 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 82)

IgM 自己抗体の濃度が決定される、項目 52 から 79 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 83)

IgG および IgM 自己抗体の濃度が決定される、項目 52 から 79 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 84)

総 IgG および / または IgM の濃度が決定される、項目 52 から 79 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 85)

総 IgG の濃度に対する IgG 自己抗体の濃度の比が決定される、項目 52 から 79 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 86)

総 IgM の濃度に対する IgM 自己抗体の濃度が決定される、項目 52 から 79 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 87)

個体が DNA 損傷剤に曝露されたかどうかを決定する方法であって、

(a) 前記個体由来の生体試料を項目 1 に記載の抗体と接触させるステップと、

(b) 前記抗体に結合する前記試料中のジメチル化抗原の濃度を決定するステップであって、対照に対する前記濃度の上昇が、前記個体が DNA 損傷剤に曝露されたことを示すステップと

を含む方法。

(項目 88)

前記上昇が、最適な特異性および感度に対する受診者動作特性曲線分析によって確立された閾値を超える、項目 87 に記載の方法。

(項目 89)

前記 DNA 損傷剤が、放射線である、項目 87 に記載の方法。

(項目 90)

前記生体試料が、全血、血漿、血清、唾液、尿、滑液、脳脊髄液、気管支洗浄、腹水液、骨髓穿刺液、胸水、組織、細胞、生検材料、間質液、およびリンパ液からなる群から選択される、項目 87 に記載の方法。

(項目 91)

前記抗体が、標識を含む、項目 87 に記載の方法。

(項目 92)

前記抗体が、ビーズ、マイクロプレート、カラム、または樹脂に付着されている、項目 87 に記載の方法。

(項目 93)

前記濃度が、E L I S Aによって決定される、項目 8 7 に記載の方法。

(項目 9 4)

前記抗体が、モノメチル化抗原よりも前記ジメチル化抗原に対して少なくとも 2 倍特異的であり、前記モノメチル化抗原がモノメチル化リシン残基を含み、前記リシン残基がヒトヒストン H 1 . 0 タンパク質の K 1 8 0 に対応する、項目 8 7 に記載の方法。

(項目 9 5)

前記抗体が、トリメチル化抗原よりも前記ジメチル化抗原に対して少なくとも 2 倍特異的であり、前記トリメチル化抗原がトリメチル化リシン残基を含み、前記リシン残基がヒトヒストン H 1 . 0 タンパク質の K 1 8 0 に対応する、項目 8 7 に記載の方法。

(項目 9 6)

個体が D N A 損傷剤に曝露されたかどうかを決定する方法であって、

(a) 前記個体由来の生体試料を項目 1 6 に記載のタンパク質またはペプチドと接触させるステップと、

(b) 前記タンパク質またはペプチドに結合する前記試料中の自己抗体の濃度を決定するステップであって、対照に対する前記濃度の上昇が、前記個体が D N A 損傷剤に曝露されたことを示すステップと

を含む方法。

(項目 9 7)

前記上昇が、最適な特異性および感度に対する受診者動作特性曲線分析によって確立された閾値を超える、項目 9 6 に記載の方法。

(項目 9 8)

前記タンパク質またはペプチドに結合する前記試料中の I g M 自己抗体の濃度を決定するステップを含む、項目 9 6 に記載の方法。

(項目 9 9)

前記タンパク質またはペプチドに結合する前記試料中の I g G 自己抗体の濃度を決定するステップを含む、項目 9 6 に記載の方法。

(項目 1 0 0)

前記 D N A 損傷剤が、放射線である、項目 9 6 に記載の方法。

(項目 1 0 1)

前記生体試料が、全血、血漿、血清、唾液、尿、滑液、脳脊髄液、気管支洗浄、腹水液、骨髄穿刺液、胸水、組織、細胞、生検材料、間質液、およびリンパ液からなる群から選択される、項目 9 6 に記載の方法。

(項目 1 0 2)

前記タンパク質またはペプチドが、標識を含む、項目 9 6 に記載の方法。

(項目 1 0 3)

前記タンパク質またはペプチドが、ビーズ、マイクロプレート、カラム、または樹脂に付着されている、項目 9 6 に記載の方法。

(項目 1 0 4)

前記濃度が E L I S A により決定される、項目 9 6 に記載の方法。

(項目 1 0 5)

前記ペプチドが、配列番号 3 ~ 3 5 の配列のうちのいずれか 1 つを含む、項目 9 6 に記載の方法。

(項目 1 0 6)

前記ペプチドが、配列番号 3 の配列を含む、項目 1 0 5 に記載の方法。

(項目 1 0 7)

前記タンパク質が、配列番号 2 の配列を含む、項目 9 6 に記載の方法。

(項目 1 0 8)

ラパログによる処置を受けている個体がこのような処置に応答性であるかどうかを決定する方法であって、

(a) 前記個体由来の生体試料を項目 1 に記載の抗体と接触させるステップと、

(b) 前記抗体に結合する前記試料中のジメチル化抗原の濃度を決定するステップと、
(c) 前記個体が処置に応答性であるかどうかを決定するステップであって、対照に対する前記濃度の低下が、前記個体が応答性であることを示すステップと
を含む方法。

(項目 1 0 9)

前記低下が、最適な特異性および感度に対する受診者動作特性曲線分析によって確立された閾値を下回る、項目 1 0 8 に記載の方法。

(項目 1 1 0)

前記ラパログが、ラパマイシン、シロリムス、Rapamune、エベロリムス、RA 0 0 1、Afinitor、Zortress、テムシロリムス、CCI - 7 7 9、Torisel、リダフォロリムス、AP 2 3 5 7 3、MK - 8 6 6 9、デフォロリムス、ゾタロリムス、ABT - 5 7 8、AZD 8 0 5 5、AZD 2 0 1 4、OSI - 0 2 7、MLN 0 1 2 8、WYE - 1 3 2、Torin 1、PI - 1 0 3、P 7 1 7 0、PF - 0 4 6 9 1 5 0 2、PF - 0 5 2 1 2 3 8 4、PKI - 5 8 7、GNE 4 7 7、PKI - 1 8 0、WJD 0 0 8、XL 7 6 5、SAR 2 4 5 4 0 9、NVP - BEZ 2 3 5、BGT 2 2 6、SF 1 1 2 6、GSK 2 1 2 6 4 5 8、Ku - 0 0 6 3 7 9 4、WYE - 3 5 4、NVP - BEZ 2 3 5、PF - 0 5 2 1 2 3 8 4、XL 7 6 5、Torin 2、WYE - 1 2 5 1 3 2、および OSI - 0 2 7 からなる群から選択される、項目 1 0 8 に記載の方法。

(項目 1 1 1)

前記生体試料が、全血、血漿、血清、唾液、尿、滑液、脳脊髄液、気管支洗浄、腹水液、骨髄穿刺液、胸水、組織、細胞、生検材料、間質液、およびリンパ液からなる群から選択される、項目 1 0 8 に記載の方法。

(項目 1 1 2)

前記抗体が、標識を含む、項目 1 0 8 に記載の方法。

(項目 1 1 3)

前記抗体が、ビーズ、マイクロプレート、カラム、または樹脂に付着されている、項目 1 0 8 に記載の方法。

(項目 1 1 4)

前記濃度が、ELISAによって決定される、項目 1 0 8 に記載の方法。

(項目 1 1 5)

前記抗体が、モノメチル化抗原よりも前記ジメチル化抗原に対して少なくとも 2 倍特異的であり、前記モノメチル化抗原がモノメチル化リシン残基を含み、前記リシン残基がヒトヒストン H 1 . 0 タンパク質の K 1 8 0 に対応する、項目 1 0 8 に記載の方法。

(項目 1 1 6)

前記抗体が、トリメチル化抗原よりも前記ジメチル化抗原に対して少なくとも 2 倍特異的であり、前記トリメチル化抗原がトリメチル化リシン残基を含み、前記リシン残基がヒトヒストン H 1 . 0 タンパク質の K 1 8 0 に対応する、項目 1 0 8 に記載の方法。

(項目 1 1 7)

ラパログによる処置を受けている個体がこのような処置に応答性であるかどうかを決定する方法であって、

(a) 前記個体由来の生体試料を項目 1 6 に記載のタンパク質またはペプチドと接触させるステップと、

(b) 前記タンパク質またはペプチドに結合する前記試料中の自己抗体の濃度を決定するステップと、

(c) 前記個体が処置に応答性であるかどうかを決定するステップであって、対照に対する自己抗体の濃度の変化が、前記個体が応答性であることを示すステップと
を含む方法。

(項目 1 1 8)

前記変化が、最適な特異性および感度に対する受診者動作特性曲線分析によって確立さ

れた閾値に対するものである、項目117に記載の方法。

(項目119)

前記タンパク質またはペプチドに結合する前記試料中のIgM自己抗体の濃度を決定するステップを含む、項目117に記載の方法。

(項目120)

前記タンパク質またはペプチドに結合する前記試料中のIgG自己抗体の濃度を決定するステップを含む、項目117に記載の方法。

(項目121)

前記ラパログが、ラパマイシン、シロリムス、Rapamune、エベロリムス、RA001、Afinitor、Zortress、テムシロリムス、CCI-779、Torisel、リダフォロリムス、AP23573、MK-8669、デフォロリムス、ゾタロリムス、ABT-578、AZD8055、AZD2014、OSI-027、MLN0128、WYE-132、Torin1、PI-103、P7170、PF-04691502、PF-05212384、PKI-587、GNE477、PKI-180、WJD008、XL765、SAR245409、NVP-BEZ235、BGT226、SF1126、GSK2126458、Ku-0063794、WYE-354、NVP-BEZ235、PF-05212384、XL765、Torin2、WYE-125132、およびOSI-027からなる群から選択される、項目117に記載の方法。

(項目122)

前記生体試料が、全血、血漿、血清、唾液、尿、滑液、脳脊髄液、気管支洗浄、腹水液、骨髄穿刺液、胸水、組織、細胞、生検材料、間質液、およびリンパ液からなる群から選択される、項目117に記載の方法。

(項目123)

前記タンパク質またはペプチドが、標識を含む、項目117に記載の方法。

(項目124)

前記タンパク質またはペプチドが、ビーズ、マイクロプレート、カラム、または樹脂に付着されている、項目117に記載の方法。

(項目125)

前記濃度がELISAにより決定される、項目117に記載の方法。

(項目126)

前記ペプチドが、配列番号3~35の配列のうちのいずれか1つを含む、項目117に記載の方法。

(項目127)

前記ペプチドが、配列番号3の配列を含む、項目126に記載の方法。

(項目128)

前記タンパク質が、配列番号2の配列を含む、項目117に記載の方法。

(項目129)

項目16に記載のタンパク質またはペプチドを含む診断キット。

(項目130)

前記ペプチドが、配列番号3~35からなる群から選択される配列を含む、項目129に記載のキット。

(項目131)

前記タンパク質またはペプチドが、標識を含む、項目130に記載のキット。

(項目132)

前記タンパク質またはペプチドが、ビオチン化されている、項目131に記載のキット。

(項目133)

前記タンパク質またはペプチドが、固体表面に付着されている、項目129に記載のキット。

(項目134)

前記タンパク質またはペプチドが、ビーズ、マイクロプレート、カラム、または樹脂に付着されている、項目133に記載のキット。

(項目135)

前記タンパク質またはペプチドが、試料中のH1.0K180me2自己抗体の検出のために提供される、項目129に記載のキット。

(項目136)

前記タンパク質またはペプチドが、参照標準として提供される項目130に記載のキット。

(項目137)

H1.0K180me2抗体をさらに含む、項目129に記載のキット。

(項目138)

アルツハイマー病、放射線曝露、遺伝毒性物質への曝露、またはDNA損傷剤への曝露の検出のために使用される、項目129に記載のキット。

(項目139)

薬物スクリーニングのために使用される、項目129に記載のキット。

(項目140)

患者の階層化のために使用される、項目129に記載のキット。

(項目141)

処置選択のために使用される、項目129に記載のキット。

(項目142)

皮下組織標的分子の濃度を測定するための経皮吸収パッチであって、

(a)(1)項目1に記載の抗体、または(2)項目16に記載のタンパク質もしくはペプチドのいずれかを含む基質、および

(b)複数のマイクロニードルを含む経皮吸収パッチ。

(項目143)

前記基質が、項目1に記載の抗体を含む、項目142に記載のパッチ。

(項目144)

前記抗体が、標識を含む、項目143に記載のパッチ。

(項目145)

前記基質が、項目16に記載のタンパク質またはペプチドを含む、項目142に記載のパッチ。

(項目146)

前記ペプチドが、標識を含む、項目145に記載のパッチ。

(項目147)

前記ペプチドが、ビオチン化されている、項目146に記載のパッチ。

(項目148)

前記ペプチドが、配列番号3～35の配列のうちのいずれか1つを含む、項目145に記載のパッチ。

(項目149)

前記ペプチドが、配列番号3の配列を含む、項目148に記載のパッチ。

(項目150)

前記タンパク質が、配列番号2の配列を含む、項目142に記載のパッチ。

(項目151)

経皮吸収マイクロニードルアレイパッチである、項目142に記載のパッチ。

(項目152)

前記基質が、弾性伸縮性である、項目142に記載のパッチ。

(項目153)

個体が、放射線またはDNA損傷剤に曝露されたかどうかを決定するためのポータブル

な装置であって、

(a) 試料採取装置、

(b) 読み取り機、

(c) (1) 項目 1 に記載の抗体、または (2) 項目 1 6 に記載のタンパク質もしくはペプチドのいずれかを含むアッセイモジュール、および

(d) 複数のマイクロニードル

を含む装置。

(項目 1 5 4)

基質が、項目 1 に記載の抗体を含む、項目 1 5 3 に記載の装置。

(項目 1 5 5)

前記抗体が、標識を含む、項目 1 5 4 に記載の装置。

(項目 1 5 6)

基質が、項目 1 6 に記載のタンパク質またはペプチドを含む、項目 1 5 3 に記載の装置

。

(項目 1 5 7)

前記タンパク質またはペプチドが、標識を含む、項目 1 5 3 に記載の装置。

(項目 1 5 8)

前記タンパク質またはペプチドが、ビオチン化されている、項目 1 5 7 に記載の装置。

(項目 1 5 9)

前記ペプチドが、配列番号 3 ~ 3 5 の配列のうちのいずれか 1 つを含む、項目 1 5 3 に記載の装置。

(項目 1 6 0)

前記ペプチドが、配列番号 3 の配列を含む、項目 1 5 3 に記載の装置。

(項目 1 6 1)

前記タンパク質が、配列番号 2 の配列を含む、項目 1 5 3 に記載の装置。

(項目 1 6 2)

分析物のラテラルフローアッセイに適する試験片であって、試料受容ゾーンを含み、前記試料受容ゾーンが、(1) 項目 1 に記載の抗体、または (2) 項目 1 6 に記載のタンパク質もしくはペプチドのいずれかを含む、試験片。

(項目 1 6 3)

前記受容ゾーンが、項目 1 に記載の抗体を含む、項目 1 6 2 に記載の試験片。

(項目 1 6 4)

前記抗体が、標識を含む、項目 1 6 3 に記載の試験片。

(項目 1 6 5)

前記受容ゾーンが、項目 1 6 に記載のタンパク質またはペプチドを含む、項目 1 6 2 に記載の試験片。

(項目 1 6 6)

前記タンパク質またはペプチドが、標識を含む、項目 1 6 2 に記載の試験片。

(項目 1 6 7)

前記タンパク質またはペプチドが、ビオチン化されている、項目 1 6 2 に記載の試験片

。

(項目 1 6 8)

前記ペプチドが、配列番号 3 ~ 3 5 の配列のうちのいずれか 1 つを含む、項目 1 6 2 に記載の試験片。

(項目 1 6 9)

前記ペプチドが、配列番号 3 の配列を含む、項目 1 6 8 に記載の試験片。

(項目 1 7 0)

前記タンパク質が、配列番号 2 の配列を含む、項目 1 6 2 に記載の試験片。

(項目 1 7 1)

個体のメチル化 H 1 . 0 関連疾患または状態を処置する方法であって、治療有効量の項

目 1 から 1 5 のいずれか一項に記載の抗体を前記個体に投与するステップを含む方法。

(項目 1 7 2)

前記疾患または状態が、アルツハイマー病、放射線曝露、遺伝毒性ストレス要因への曝露、老化細胞の蓄積を含む疾患または状態、および H 1 . 0 K 1 8 0 m e 2 タンパク質またはペプチドのレベル上昇が伴う疾患または状態からなる群から選択される、項目 1 7 1 に記載の方法。

(項目 1 7 3)

個体のメチル化 H 1 . 0 関連疾患または状態を処置する方法であって、治療有効量の項目 1 6 から 2 8 に記載のタンパク質またはペプチドのうちのいずれか 1 つを前記個体に投与するステップを含む方法。

(項目 1 7 4)

前記疾患または状態が、アルツハイマー病、放射線曝露、遺伝毒性ストレス要因への曝露、老化細胞の蓄積を含む疾患もしくは状態、または H 1 . 0 K 1 8 0 m e 2 自己抗体のレベル上昇が伴う疾患もしくは状態からなる群から選択される、項目 1 7 3 に記載の方法

。

(項目 1 7 5)

個体の H 1 . 0 K 1 8 0 m e 2 を取り除く方法であって、治療有効量の項目 1 から 1 5 のいずれか一項に記載の抗体を前記個体に投与するステップを含む方法。

(項目 1 7 6)

前記個体が、アルツハイマー病、放射線曝露、遺伝毒性物質への曝露、DNA 損傷剤への曝露、および老化細胞の蓄積を含む状態からなる群から選択される疾患または状態に罹患している、項目 1 7 5 に記載の方法。

(項目 1 7 7)

個体の H 1 . 0 K 1 8 0 m e 2 自己抗体を取り除くか、ブロックするか、または中和する方法であって、治療有効量の項目 1 6 から 2 8 に記載のタンパク質またはペプチドのうちのいずれか 1 つを前記個体に投与するステップを含む方法。

(項目 1 7 8)

前記個体が、アルツハイマー病、放射線曝露、遺伝毒性ストレス要因への曝露、老化細胞の蓄積を含む疾患または状態、ならびに H 1 . 0 K 1 8 0 m e 2 自己抗体のレベル上昇が伴う疾患および状態からなる群から選択される疾患または状態に罹患している、項目 1 7 7 に記載の方法。

(項目 1 7 9)

項目 1 から 2 8 に記載の抗体、タンパク質またはペプチドのうちのいずれか 1 つ、および薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物。

(項目 1 8 0)

無菌である、項目 1 7 9 に記載の組成物。

(項目 1 8 1)

項目 1 から 2 8 または 1 7 9 から 1 8 0 に記載の抗体、タンパク質、ペプチド、または組成物のいずれか 1 つを含むキット。

(項目 1 8 2)

項目 1 から 2 8 または 1 7 9 から 1 8 1 に記載の組成物のいずれか 1 つを含む製品。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 4 1 7

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 4 1 7】

非修飾 H 1 . 0 ペプチド (A K P V K A S K P K K A K P V K P K (配列番号 4 2)) に関する G 9 A メチル化の正確な位置を特定するために、メチル化反応をセットアップし

、LC-MSにより生成物を特定した。メチル化反応は、組換えG9A、標識されていないメチルドナー（S-アデノシル-L-メチオニン）、および非修飾H1.0ペプチドを含んだ。次に、メチル化反応をLC-MSにより分析し、各スペクトルピーク（最終反応のペプチド種に対応する）を特定し、スペクトルカウントを使用して定量化した。図22Aにおける「me」の円の数は、リシン残基のメチル化状態（モノ-、ジ-、またはトリ-メチル化）を表す。図22Aは、非メチル化H1.0ペプチドの存在下で、G9Aが特異的かつ多量にH1.0K180をジメチル化する（すべてのペプチドの99.9%）ことを示す。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0420

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0420】

非修飾H1.0ペプチド（AKPVKASKPKKAKPVKPK（配列番号42））でのGLPメチル化の正確な位置を特定するために、メチル化反応をセットアップし、生成物をLC-MSにより特定した。メチル化反応は、組換えGLP、標識されていないメチルドナー（S-アデノシル-L-メチオニン）、および非修飾H1.0ペプチドを含んだ。次に、メチル化反応をLC-MSによって分析し、各スペクトルピーク（最終反応におけるペプチド種に対応する）を特定し、スペクトルカウントを使用して定量化した。図25における「me」の円の数は、リシン残基のメチル化状態（モノ-、ジ-、またはトリ-メチル化）を表す。図25は、非メチル化H1.0ペプチドの存在下で、GLPがH1.0K180を特異的にジメチル化する（すべてのペプチドの96.6%）ことを示す。

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0424

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0424】

細胞培養物をTrizol（Invitrogen）中でホモジナイズし、RNeasyキット（Qiagen）を使用して全RNAを単離した。RNAはQubit（Invitrogen）で定量化し、製造業者のプロトコール（Invitrogen）に従って、SuperScript IIIを使用して逆転写した。定量的PCR分析を、製造業者のプロトコール（Applied Biosystems）に従い、約5ngのcDNA、1μMの指定されたプライマー対およびFast-SYBR Green PCR masterミックスを用いて、Applied Biosystems 7700配列検出器を使用して三連で実施した。プライマー対は以下に列挙する。各遺伝子に対する平均サイクル閾値（Ct）を、同一試料中のベータ-アクチンのレベル（デルタCt）に対して正規化した。対合していない2つの試料のt検定を使用して、処置群間の平均デルタCt値の差を決定した。該当する場合、デルタ-デルタCt方法により倍数変化を計算した（倍数 = $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ）。

【表 1 4】

表 14: プライマー

GLP-フォワード	5'-AGGGGAGTGCTGACACAGAG-3' (配列番号 107)
GLP-リバース	5'-GGGATCTTTACTGGCTGCAT-3' (配列番号 80)
ベータ-アクチン-フォワード	5'-CTCTTCCAGCCTTCCTTCCT-3' (配列番号 81)
ベータ-アクチン-リバース	5'-AGCACTGTGTTGGCGTACAG-3' (配列番号 82)
H1.0-フォワード	5'-CTCAAGCAGACCAAAGGGGT-3' (配列番号 83)
H1.0-リバース	5'-GGCGTGGCTACCTTCTTGAT-3' (配列番号 84)
H1.1-フォワード	5'-AGGCAACGGGTGCATCTAAA-3' (配列番号 85)
H1.1-リバース	5'-GATTTCCCTTGTTGCCGCAGG-3' (配列番号 86)
H1.2-フォワード	5'-CAAAGAAGGCCAAGGTTGCG-3' (配列番号 87)
H1.2-リバース	5'-CGCCTTCTTAGGCTTGACAAC-3' (配列番号 88)
H1.3-フォワード	5'-AGTGGCCAAGAGTGCGAAAA-3' (配列番号 89)
H1.3-リバース	5'-CTTCGGCTTCCCCGACTTAG-3' (配列番号 90)
H1.4-フォワード	5'-ACGCTTGCCTTCAACATGTCC-3' (配列番号 91)
H1.4-リバース	5'-AGTAATGAGCTCGGACACCG-3' (配列番号 92)
H1.5-フォワード	5'-CCGGCTAAGAAGAAGGCAAC-3' (配列番号 93)
H1.5-リバース	5'-GCTCCTTAGAAGCAGCCACA-3' (配列番号 94)
G9A-フォワード	5'-TGCTGAGGCTGATGTGAGAG-3' (配列番号 95)
G9A-リバース	5'-GGTCACACAGGTGGTTGATG-3' (配列番号 96)

結果

專利名稱(譯)	<無法獲取翻譯>		
公開(公告)號	JP2019521953A5	公開(公告)日	2020-05-28
申請號	JP2018555492	申請日	2017-04-20
[標]發明人	ラニアックビクトリア		
發明人	ラニアック, ビクトリア トラービー, ジェイムズ ロバート		
IPC分類號	C07K16/18 G01N33/53 C07K14/47 A61K39/395 A61K47/68 A61P43/00 A61P25/28 C12N15/13		
CPC分類號	A61P25/28 C07K14/47 C07K16/44 C12N9/1007 C12P21/02 C12Y201/01 C12Y201/01043 C12P21/06 C07K16/18 G01N33/54306 G01N33/573 G01N33/6896 G01N2800/2821 G01N2800/50		
FI分類號	C07K16/18.ZNA G01N33/53.D C07K14/47 A61K39/395.N A61K39/395.D A61K39/395.V A61K39/395. C A61K39/395.L A61K47/68 A61P43/00.111 A61P25/28 C12N15/13		
F-TERM分類號	4C076/AA95 4C076/CC41 4C076/EE41 4C076/EE59 4C076/FF31 4C076/FF34 4C085/AA13 4C085 /AA14 4C085/AA21 4C085/AA33 4C085/EE01 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/AA40 4H045/BA54 4H045/BA70 4H045/FA74 4H045/GA26		
代理人(譯)	夏木森下 飯田TakashiSatoshi 石川大介 山本健作		
優先權	62/325392 2016-04-20 US 62/325408 2016-04-20 US 62/325362 2016-04-20 US 62/355265 2016-06-27 US 62/355277 2016-06-27 US		
其他公開文獻	JP2019521953A		

摘要(譯)

本文提供了H1.0K180me2抗体，H1.0K180me2蛋白和H1.0K180me2肽，以及用于诊断和治疗的方法。这些H1.0K180me2抗体等可用于治疗个体的甲基化H1.0相关疾病或病症。这些抗体等也可用于检测和定量在赖氨酸残基180处含有二甲基化赖氨酸的组蛋白H1.0蛋白或其片段（H1.0K180me2），这样的组合物和方法可用于检测复制老化，DNA损伤，基因毒性应激，辐射暴露，阿尔茨海默病，用于监测治疗方案，患者分层，药物筛选，可以作为衰老的标志。

表 14: プライマー

GLP-フォワード	5'-AGGGGAGTGTGACACAGAG-3' (配列番号 107)
GLP-リバース	5'-GGGATCTTTACTGGCTGCAT-3' (配列番号 80)
ベータ-アクチン-フォワード	5'-CTCTTCCAGCCTTCCTCCT-3' (配列番号 81)
ベータ-アクチン-リバース	5'-AGCACTGTGTGGCGTACAG-3' (配列番号 82)
H1.0-フォワード	5'-CTCAAGCAGACCAAGGGGT-3' (配列番号 83)
H1.0-リバース	5'-GGCGTGGCTACCTTCTTGAT-3' (配列番号 84)
H1.1-フォワード	5'-AGGCAACGGGTGCATCTAAA-3' (配列番号 85)
H1.1-リバース	5'-GATTTCCTTGTTCGCCAGG-3' (配列番号 86)
H1.2-フォワード	5'-CAAAGAAGGCCAAGGTTGCG-3' (配列番号 87)
H1.2-リバース	5'-CGCCTTCTTAGGCTTGACAAC-3' (配列番号 88)
H1.3-フォワード	5'-AGTGGCCAAGAGTGCAGAAA-3' (配列番号 89)
H1.3-リバース	5'-CTTCGGCTTCCCGACTTAG-3' (配列番号 90)
H1.4-フォワード	5'-ACGCTTGCCCTTCAACATGTCC-3' (配列番号 91)
H1.4-リバース	5'-AGTAATGAGCTCGGACACCG-3' (配列番号 92)
H1.5-フォワード	5'-CCGGCTAAGAAGAAGGCAAC-3' (配列番号 93)
H1.5-リバース	5'-GCTCCTTAGAAGCAGCCACA-3' (配列番号 94)
G9A-フォワード	5'-TGTGAGGCTGATGTGAGAG-3' (配列番号 95)
G9A-リバース	5'-GGTCACACAGGTGGTTGATG-3' (配列番号 96)