

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2009-517667

(P2009-517667A)

(43) 公表日 平成21年4月30日(2009.4.30)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543	5 O 1 D
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53	N

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 23 頁)

(21) 出願番号	特願2008-542594 (P2008-542594)	(71) 出願人	508161805 シュトローナー・パヴェル
(86) (22) 出願日	平成18年11月29日 (2006.11.29)		ドイツ連邦共和国、13187 ベルリン
(85) 翻訳文提出日	平成20年7月16日 (2008.7.16)		、ヴォランクストラーセ、133
(86) 国際出願番号	PCT/DE2006/002107	(74) 代理人	100069556
(87) 国際公開番号	W02007/062628		弁理士 江崎 光史
(87) 国際公開日	平成19年6月7日 (2007.6.7)	(74) 代理人	100093919
(31) 優先権主張番号	102005057920.5		弁理士 奥村 義道
(32) 優先日	平成17年12月2日 (2005.12.2)	(74) 代理人	100111486
(33) 優先権主張国	ドイツ (DE)		弁理士 鍛冶澤 實
		(72) 発明者	シュトローナー・パヴェル
			ドイツ連邦共和国、13187 ベルリン
			、ヴォランクストラーセ、133

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 サンプル中の被検体（抗原）および該被検体を標的とする治療用抗体を同時に免疫化学的に測定するためのイムノアッセイ（リカバリー・イムノアッセイ (Recovery Immunoassay)

(57) 【要約】

本発明は、サンプル中の被検体（抗原）および該被検体を標的とする治療用抗体を同時に免疫化学的に測定するためのイムノアッセイ（リカバリー・イムノアッセイ）に関する。本発明のイムノアッセイは、表面に結合し、場合により標識された捕捉抗体、標識された治療用抗体、または前記治療用抗体と同様の結合エピトープを示す標識抗体；捕捉抗体および治療用抗体と異なるエピトープにおいて結合し、それによって免疫化学的サンドイッチを形成する抗原；既知濃度の標識されていない治療用抗体の溶液、およびサンプルの増量のための抗原溶液を含む。本発明の適用分野は、医学的診断、治療のコントロールおよびおよび薬理学的研究である。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

被検体および該被検体を標的とする治療用抗体を同時に免疫化学的に測定するためのイムノアッセイであって、以下：

- 表面に結合し、場合により標識された捕捉抗体 (Faengerantikörper)、
 - 標識された治療用抗体、または前記治療用抗体と同様の結合エピトープを示す標識抗体、
 - 異なるエピトープにおいて捕捉抗体および治療用抗体と結合し、それによって免疫化学的サンドイッチを形成する抗原、
 - 既知濃度の標識されていない治療用抗体の溶液、および
 - サンプルの増量 (Aufstockung) のための抗原溶液、
- を含む、前記のイムノアッセイ。

10

【請求項 2】

請求項1記載のイムノアッセイを用いて、被検体および該被検体を標的とする治療用抗体を同時に免疫化学的に測定する方法であって、

- 治療用抗体の2~5つの異なる濃度でサンドイッチ・イムノアッセイ標準曲線を作成すること、
 - 治療用抗体の添加と再計算された抗原濃度 (標準濃度) の減少との関係を、統計的評価を用いて求めること、
 - 未知の抗原濃度を有するサンプルを2~3つの既知抗原濃度で増量し、再検出を測定すること、
 - 標準曲線の再検出値に基づいてサンプルで算出した再検出値を用いて、治療用抗体の濃度および実質的な抗原全濃度を推量すること、
- を特徴とする、前記方法。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、被検体 (抗原) および該被検体を標的とする治療用抗体を同時に免疫化学的に測定するためのイムノアッセイに関する。本発明は、医学的診断、治療のコントロールおよびおよび薬理学的研究の分野に適用することができる。

30

【背景技術】

【0002】

以下の技術が既に知られている：

A) イムノアッセイに関して

イムノアッセイは、サンプル物質、例えば血清、血漿、組織サンプル、残留調製物 (Rückstandspräparationen)、細胞培養液の上清等における、未知濃度の関連物質 (被検体) の分析的または診断的測定のために非常に広く用いられている技術である。イムノアッセイ (ラジオイムノアッセイ (RIA)、エンザイムイムノアッセイ (EIA)、蛍光イムノアッセイ (LIA) およびそれに関連して使用されるアッセイ変法) は、ある被検体濃度を標準として定め、これに対して、標識された化合物を含む中で抗体を反応させた後に、結合した標識抗原もしくは抗体の応答 (カウント (Impulsrate)、吸光度、相対発光量) を測定することに基づくものである。応答と標準の被検体濃度との関係を数学的な標準関数を用いるかまたはグラフにより標準曲線の形で記載する。

40

【0003】

未知のサンプルの被検体濃度は、被検体濃度に応じて変化させた標準関数を使用して未知サンプルの応答から算出するか、またはグラフとして作成された標準曲線上で読み取る。標準曲線を用いる検量では、通常、測定における外部物質による影響を避けるために、サンプルの個別的な前処理 (例えば抽出、添加物質の添加) またはアッセイ成分の個別的な前処理 (0-血清における標準の導入、蛋白質の添加等) を行う。再検出実験 (Wiederfindexperimenten) を用いて、このように改変されたアッセイ成分またはサンプルでの測

50

定の正確性が調べられる。測定装置（ガンマカウンター、吸光度リーダー、蛍光測定装置）のソフトウェアパッケージがイムノアッセイ評価を担っており、これはイムノアッセイに関する研究および通常の研究所の標準装備となっている。さらに、種々の製造者によるイムノアッセイ研究用自動化装置が市販されており、これらでは、イムノアッセイの操作（Abarbeitung）もその測定および評価も自動装置に一体化されている。今日でもアッセイ技術、種々のアッセイの過程用に保存された標準関数または2つの標準濃度に換算された標準直線の使いやすさから、通常、これらの評価ソフトウェアパッケージおよび研究用自動化装置の全てが定量方法の基礎となっている。

B) 治療用抗体

近年、多くの治療用抗体が開発され、または今なお開発されている。これらによって主に、炎症、自己免疫疾患および癌の治療が達成される。これらの多くの治療用抗体は最初にモノクローナル抗体として生産され、しかしながらその多くが、該治療用抗体に対する患者の免疫防御を回避するために、遺伝子技術的にヒト抗体に変えられる。これらの一部は、ヒト抗体およびモノクローナル抗体のキメラであるか、またはモノクローナル抗体である。

【0004】

表1は、既に医薬品として承認されているか、または認可中の治療用抗体を選び出したものを示す。

【0005】

これらの治療用抗体は、疾患特異的なヒト蛋白質に対して向けられたものである。サンドイッチ・イムノアッセイに基づいて、関連する疾患特異的な抗原としてのヒト蛋白質を測定することが可能であるが、これらの測定は治療用抗体によって精度が低下し、遊離した抗原および全抗原を測定するためには特別なアッセイ概念が必要である（「Hamilton, R.G. et.al.」参照）。

【0006】

表1

【0007】

【表1】

治療用抗体の名称	開発者；製造者	抗体の型	抗原；適用
オマリズマブ (Xolair)	Genentech; Novartis; Tanox	ヒト化	IgE；アレルギー性喘息
インフリキシマブ (Remicade)	Centocor	キメラ	TNF- α ；リウマチ； クローン病 (Morbus Crohn)
アダリムマブ (Humira)	Cambridge Antibody Technology; Abbott	ヒト化	TNF- α ；リウマチ
ムロモマブ-CD3	Ortho Biotech; Johnson&Johnson	モノクローナル	CD3；臓器移植の拒絶反応の防止
ダクリズマブ (Zenapax)	Protein Design Labs	ヒト化	CD25；腎移植の拒絶反応の防止
バシリキシマブ (Simulect)	Novartis	キメラ	CD25；腎移植の拒絶反応の防止
ラプティバ	Genentech; Serono, Xoma	ヒト化	BLA ^a 、CD11a；乾癬
ナタリズマブ (Antegren)	Elan, Biogen	ヒト化	VLA-4 β 1 ^b ； クローン病；多発性硬化症
CDP-870	Celltech; Pfizer	ヒト化	TNF- α ；リウマチ、クローン病
トラスツズマブ (Herceptin)	Genentech	ヒト化	HER-2/neu (p183 ^{neu})； 乳癌、肺癌、膵臓癌
ダクリズマブ (Zenapax)	Protein Design Labs	キメラ	IL-2R；白血病
エンドレコロマブ (Panorex)	Johnson&Johnson	ヒト化	17-A1；大腸癌

10

20

30

40

50

【 0 0 0 8 】

特許文献1には、イムノアッセイにおいてサンプルを二次元で測定する方法を用いる方法が記載されており、これは交差反応性物質およびマトリックス効果の影響を解析することができ、抗原濃度を適切に修正することができる。

【 0 0 0 9 】

現在、抗原および該抗原に向けられた治療用抗体を同時に正確に測定できる方法は存在しない。

【特許文献1】欧州特許第0850416号明細書

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

10

【 0 0 1 0 】

本発明の課題は、簡単および迅速に実施される方法であって、抗原およびそれに向けられた治療用抗体を溶液中で同時に測定することができる方法を開発することにある。好ましくは、これは治療のコントロールに使用することができる。前記の課題は、特異的なイムノアッセイおよびこのイムノアッセイの使用方法が記載された特許請求の範囲の記載に従って解決される。

【課題を解決するための手段】

【 0 0 1 1 】

本発明のイムノアッセイは以下を含む：

- 表面に結合し、場合により標識された捕捉抗体 (Faengerantikörper)
- 標識された治療用抗体、または前記治療用抗体と同様の結合エピトープを示す標識抗体
- 異なるエピトープにおいて捕捉抗体および治療用抗体と結合し、それによって免疫化学的サンドイッチを形成する抗原
- 既知濃度の標識されていない治療用抗体の溶液、および
- サンプルの増量 (Aufstockung) のための抗原溶液。

20

【 0 0 1 2 】

本発明の基本的原理

前記アッセイは、通常のスンドイッチ・イムノアッセイに由来する。治療用抗体、または同一の結合エピトープに結合する抗体が標識された形態で検出抗体 (Nachweisantikörper) または捕捉抗体として使用され、正確に測定されるスンドイッチ・イムノアッセイにおいては、サンプル中の治療用抗体の存在により、測定される抗原の再検出が系統的に減少し、これは治療用抗体の濃度と相関する。未知の濃度の治療用抗体を測定するために、ならびに遊離のおよび全体の抗原濃度を測定するためにこの相関を利用することができる。このような理由から、このイムノアッセイを簡潔に再検出イムノアッセイ (Wiederfind e-Immunoassay) またはリカパリー・イムノアッセイと呼ぶこともできる。

30

【 0 0 1 3 】

手順：

検出すべき抗原用に通常のスンドイッチアッセイを開発する。このスンドイッチ・イムノアッセイは以下の構成を有する：

- a) マイクロタイタープレートまたはバイオチップ表面に固定化された捕捉抗体。
- b) 被験体は蛋白質または別のバイオポリマーであり、これは結合エピトープによって捕捉抗体に結合し、標準またはサンプルとしてイムノアッセイで測定される。
- c) 検出抗体は、放射性的または非放射性的の標識がなされており、捕捉抗体とは別の結合エピトープにおいて被験体と結合する治療用抗体である。非放射性標識としては、イムノアッセイにおいて慣用の方法 (ペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、発光もしくは蛍光ラベル) を全て利用することができる。

40

【 0 0 1 4 】

ここでは、2~5つの異なる抗体濃度の標識されていないヒト化治療用抗体を添加することなく、または前記抗体を添加して、スンドイッチ・イムノアッセイが実施される。この場合に、標識されていないヒト化治療用抗体を用いないスンドイッチ・イムノアッセイに

50

関しては、アッセイが調べるサンプルの抗原濃度を正確に再現することが重要である。

【0015】

ここではこのことを念頭において、2~6つのイムノアッセイの測定値を解析し、この測定においては、ヒト化治療用抗体の添加により測定値が減少し、同時に標準曲線における抗原濃度の再検出が減少する。測定値の減少 = 再計算した抗原濃度（標準濃度）の減少とヒト化治療用抗体との関係は、統計的評価を用いて適当な数学的関数でまとめられる。この関数（再検出関数：Wiederfindefunktion）を用いることにより、イムノアッセイにおける抗原の再検出と治療用抗体の濃度との関係が得られる。捕捉抗体および標識された治療用抗体が大幅に過剰な場合には、イムノアッセイにおける抗原の再検出の逆数と治療用抗体の濃度との間の関係は単純な一次関数である。測定値の偽性（Verfälschungen）をサンプルにおけるマトリックス効果により排除することが、この関数を適用できる前提条件である。このような理由により、標準溶液およびサンプルの反応培地が比較可能でなければならない。

10

【0016】

2~3つの既知抗原濃度（標準）を用いて未知のサンプルを増量する。ここでイムノアッセイにおいて、増量された既知抗原濃度の再検出が未知サンプル中においてどの程度であるかを確認する。再検出が100%周辺になる場合には、サンプルに治療用抗体は含まれない。再検出が少ない場合には、サンプル中の治療用抗体の濃度および実質的な抗原全濃度を、再検出関数を用いて間接的に推量することができる。

20

【0017】

全体のおよび遊離のIgEの測定に利用できる方法としては非常に費用のかかる方法のみが存在する。Hamilton R.G等の文献では、測定のために2つの別々のElisaが必要であり、有効な抗体濃度の測定は行われぬ。本発明の方法を用いることにより、例えばアレルギー性喘息および他の自己免疫疾患へのオマリズマブの使用において、治療コントロールを非常に容易に行うことができる。

【実施例】

【0018】

以下の2つの実施例により、前記の方法を詳細に説明する：

実施例1：

ストレプトアビジンコーティングマイクロタイタープレートでのIgEエンザイムイムノアッセイにおける、バッファーへの治療用抗体オマリズマブ（Xolair=E-25）の添加の効果

30

材料：

1. ストレプトアビジンコーティングマイクロタイタープレート（BioTeZ Berlin-Buch GmbHの最大ビオチン結合能に関するコーティング法による（MCコーティング））
2. ビオチン化抗体B 216 / 290702のストレプトアビジンコーティングマイクロタイタープレートに固定化するための捕捉抗体：抗ヒトIgE, mAb E411
3. IgE - 標準：OEMからのIgE
4. POD標識検出抗体PD 08/110501（ヒト由来のPODで標識されたmAk E25：Novartis製）
5. Novartis製のヒト化モノクローナル治療用抗体オマリズマブ（Xolair）=E-25
6. コーティングバッファー（PBS 0.05M、pH=7.2（0.1% RSAを含む））
7. 反応バッファー（PBS / 0.33 %カゼイン+ 0.0125 % TWEEN 20）
8. 洗浄溶液（0.9% NaCl / 0.1% Tween）
9. 酵素基質：オルトフェニレンジアミン（OPD）

40

表2にマイクロタイタープレート上での試験の構成を示し、表3に試験結果を示す。

【0019】

試験手順：

1. マイクロタイタープレートの全てのウェルにおける捕捉抗体の固定化。捕捉抗体溶液（4 µg/ml）200 µlの添加。4 で一晩インキュベーション
2. 翌日にMTP-Washerで洗浄溶液を用いて2回洗浄

50

3. 試験構成に従ったIgE標準系列 0 / 3.125 / 6.25 / 12.5 / 25 / 50 / 100 / 200 ng / mlの作製
4. 試験構成に従ったE-25希釈系 0 / 0.0625 / 0.125 / 0.25 / 0.5 / 1 μg/mlの作製
5. 開始溶液へ3および4をそれぞれ50 μlずつ混合
6. 開始溶液 (100 μl) の検出用コンジュゲート (PD08、100 ng/ml、100 μl) との混合
7. 開始溶液および検出用コンジュゲートからなる混合物200 mlのマイクロタイタープレートへの添加
8. 混合物を室温で3時間以上インキュベーション
9. MTP-Washerで洗浄溶液を用いて2回洗浄
10. OPD (20 mlのSoerensenバッファーに14 mgのOPD + 80 μlの3% H₂O₂) での酵素検出、200 μlのOPD溶液の添加、および30分後に50 μlのH₂SO₄[5M]による酵素反応の停止。

10

【 0 0 2 0 】

表2：マイクロタイタープレート上における試験構成

【 0 0 2 1 】

【表 2】

	全測定とも2回ずつ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
細胞	E-25 量 (μg/ml) ⇒	0	0	0.033	0.033	0.063	0.063	0.125	0.125	0.25	0.25	0.5	0.5
段	IgE 濃度 ng/ml ↓												
A	0												
B	1.5625												
C	3.125												
D	6.25												
E	12.5												
F	25												
G	50												
H	100												

20

【 0 0 2 2 】

表3：試験結果

吸光度としての2回の測定の平均値 (O.D. : 光学密度)

【 0 0 2 3 】

【表 3】

	E-25 量 (μg/ml) ⇒	0	31.250	62.5	125	250	500
	IgE 濃度 (ng/ml) ↓	O.D.	O.D.	O.D.	O.D.	O.D.	O.D.
A	0	0.070	0.064	0.054	0.054	0.052	0.064
B	1.563	0.154	0.149	0.143	0.112	0.102	0.104
C	3.125	0.201	0.192	0.169	0.145	0.127	0.119
D	6.25	0.277	0.266	0.256	0.186	0.156	0.146
E	12.5	0.493	0.501	0.434	0.365	0.290	0.244
F	25	0.984	0.879	0.805	0.707	0.585	0.382
G	50	1.482	1.257	1.198	0.948	0.751	0.587
H	100	2.378	2.285	2.216	1.927	1.432	1.134

40

【 0 0 2 4 】

図1は、E-25の添加に依存したIgE-ELISAを示す。

【 0 0 2 5 】

ここで、異なるE-25を添加した場合のIgE-標準曲線の測定結果 (O.D.) をE-25を添加しない場合のIgE-標準曲線にあてはめると、以下の非常に単純な直線関係になる (表4) :

表4 :

【 0 0 2 6 】

【表 4】

IgE 標準溶液への E-25 の添加 ($\mu\text{g/ml}$)	0	0.03125	0.0625	0.125	0.25	0.5
E-25を添加しない場合の、 標準領域に対する直線関係の決定係数	1.000	0.994	0.993	0.984	0.990	0.981
測定値 (O.D.) における IgE 標準の再検出	100.00%	93.05%	90.32%	77.62%	57.77%	44.06%

【0027】

従ってこれは、E-25を添加した場合のIgE-標準曲線の全ての測定値が非常に直線的に、E-25を添加していないIgE-標準曲線と相関することを示す。ELISAに使用されるIgE-標準溶液の再検出は、E-25量が増加するほど系統的に減少する。

10

【0028】

1 / 再検出 = 1 + 2.626 * E-25量 (式1)

E-25濃度に対する再検出の相関値の直線関係の決定係数 (Bestimmtheitsmass) は0.9907であった。

【0029】

しかしながら、イムノアッセイは未知の抗原濃度の測定のためのものであると考えられる。このような理由から、既知の抗原濃度の標準希釈に関してイムノアッセイの測定値をいわゆる標準曲線として算出する。既知の抗原濃度と測定値との関係を、イムノアッセイにおいて回帰により慣用の数学的関数として求め、イムノアッセイにおけるその測定値から未知サンプルの抗原濃度を算出するために利用する。

20

【0030】

$\text{Logit}(E) = \ln((E-\text{NSB}) / (E_{\text{max}} - E + \text{NSB})) = a + b * \ln(X)$ (式2)

ln: 自然対数

E: 吸光度 (エンザイムイムノアッセイ)

NSB: 非特異的結合

E_{max} : 最大吸光度

a, b: 回帰関数のパラメーター。

【0031】

直線回帰により、以下の標準曲線の評価関数が得られた:

$\text{Logit}(E) = 0.892 * \ln(\text{IgE}) - 5.30775$ (式3)。

30

【0032】

直線関係に関する決定係数は99.292%であった。この評価関数 (Auswertefunktion) は、測定値とhedghog濃度との関係が99.3%まで正確であることを示し、0.7%の測定値のみがそこから偶発的に外れる。

【0033】

評価関数から導き出される逆関数:

$\ln(\text{IgE}) = (5.30775 + \text{Logit}(E)) / 0.892$ (式4)

を、非常に小さい誤差で測定値 (ここでは吸光度) から未知サンプルを算出するために用いることができる。

【0034】

40

ここでこの逆関数を用いることにより、測定値 (吸光度) から、E-25を添加した場合の標準曲線におけるIgE濃度が得られた (表5):

表5:

【0035】

【表 5】

E-25量 ($\mu\text{g/ml}$)	0	0.03125	0.0625	0.125	0.25	0.5
IgE ng/ml	IgE, rekalk.	IgE, rekalk.	IgE, rekalk.	IgE, rekalk.	IgE, rekalk.	IgE, rekalk.
1.56	1.81	1.69	1.56	0.82	0.62	0.66
3.13	3.02	2.77	2.20	1.61	1.17	0.99
6.25	5.09	4.78	4.49	2.63	1.87	1.62
12.50	11.61	11.87	9.74	7.63	5.46	4.17
25.00	29.25	25.19	22.41	18.85	14.64	8.14
50.00	50.74	40.55	38.03	27.82	20.43	14.72
100.00	99.60	93.84	89.64	73.20	48.41	35.32
決定係数		0.994	0.994	0.985	0.988	0.993
再検出		92.23%	88.50%	71.91%	47.86%	34.74%

IgE-rekalk. : 評価関数の逆関数により測定された IgE 濃度

【0036】

測定値と同様に、ここでも予測どおりに、測定された IgE 濃度が標準サンプルにおける E-25 量に依存して減少した。測定値と同様に、E-25 を添加しない場合の IgE 値と添加した場合の IgE 値との間で簡単な直線関係を示した (全ての決定係数が 98.5% 以上であった)。

【0037】

既知標準濃度における E-25 量と IgE 濃度の再検出との関係は簡単な関数によって示すことができ (図 2)、ここで、 $1/WF = 0.9606 + 3,932 * X$ (式 5) ; WF : 再検出 ; X : E-25 量 ($\mu\text{g/ml}$) ; この関数に関する決定係数は 98.74 % であった。

【0038】

この関数の逆関数により、再検出値からサンプル中の E-25 量を評価することができる。

【0039】

この実施例 1 においては、既知サンプル中の治療用抗体 E-25 (Xolair) 濃度の測定の基本原理のみを示した。また、イムノアッセイはバッファー溶液においてのみ行った。

【0040】

実施例 2 では、同一の方法により、未知の血清サンプルにおいても、イムノアッセイにおける簡単な増量実験によって E-25 量の測定が可能であることを示す。標準の反応溶液と未知血清サンプルの比較可能性を担保するために、イムノアフィニティークロマトグラフィーを通して IgE 不含血清を調製し、ここにイムノアッセイの IgE 標準を加えた。

【0041】

実施例 2 :

ストレプトアビジンコーティングマイクロタイタープレート上での IgE-エンザイムイムノアッセイにおける未知の血清サンプルの再検出での治療用抗体オマリズマブ (Xolair=E-25) の添加の効果、ならびに、E-25 と混合した未知の血清サンプルにおける E-25 量の測定

材料 :

10. ストレプトアビジンコーティングマイクロタイタープレート (BioTeZ Berlin-Buch GmbH の最大ビオチン結合能に関するコーティング法による (MCコーティング))
11. ビオチン化抗体 B 216 / 290702 のストレプトアビジンコーティングマイクロタイタープレートに固定化するための捕捉抗体 : 抗ヒト IgE, mAb E-411
12. IgE - 標準 : OEM からの IgE
13. POD 標識検出抗体 PD 08/110501 (ヒト由来の POD で標識された mAb E25 : Novartis 製)
14. Novartis 製のヒト化モノクローナル治療用抗体オマリズマブ (Xolair) =E-25
15. コーティングバッファー (PBS 0.05M、pH=7.2 (0.1% RSA を含む))
16. 反応培地による標準曲線 (PBS において 1:10-希釈した IgE 不含の血清 / 0.33% カゼイン + 0.0125% TWEEN 20)
17. PBS において 1:10 希釈したサンプル / 0.33% カゼイン + 0.0125% TWEEN 20
18. 洗浄溶液 (0.9% NaCl / 0.1% Tween)

10

20

30

40

50

19. 酵素基質：オルトフェニレンジアミン（OPD）

表6および7にマイクロタイタープレート（1.および2.で半分づつ）上における試験構成を示し、表8にイムノアッセイの結果を示す。

【0042】

表6：マイクロタイタープレート上の試験構成（1.最初の半分）

【0043】

【表6】

		標準曲線					
全測定とも2回ずつ		1	2	3	4	5	6
細胞	E-25量 ($\mu\text{g/ml}$) \Rightarrow	0	0	0.125	0.125	0.5	0.5
段	IgE濃度 (ng/ml) \downarrow						
A	0						
B	1.5625						
C	3.125						
D	6.25						
E	12.5						
F	25						
G	50						
H	100						

10

【0044】

表7：マイクロタイタープレート上の試験構成（2番目の半分）

【0045】

【表7】

		未知サンプル					
全測定とも2回ずつ		7	8	9	10	11	12
細胞	IgE (ng/ml) による未知サンプルの増量 \Rightarrow	0	0	6.25	6.25	25	25
段	未知サンプル						
A	血清サンプル3						
B	血清サンプル5						
C	血清サンプル6						
D	血清サンプル7						
E	血清サンプル3 + $0.031 \mu\text{g/ml}$ E-25						
F	血清サンプル5 + $0.063 \mu\text{g/ml}$ E-25						
G	血清サンプル6 + $0.125 \mu\text{g/ml}$ E-25						
H	血清サンプル7 + $0.25 \mu\text{g/ml}$ E-25						

30

【0046】

試験手順：

1. マイクロタイタープレートの全てのウェルにおける捕捉抗体の固定化。捕捉抗体溶液 ($4 \mu\text{g/ml}$) $200 \mu\text{l}$ の添加。4 で一晩インキュベーション

2. 翌日にMTP-Washerで洗浄溶液を用いて2回洗浄

3. 標準の系列

A~H行、1~6列に関して：反応バッファーで1:10希釈したIgE不含血清における 0 / 3.125 / 6.25 / 12.5 / 25 / 50 / 100 / 200 ng IgE/ml、および0 / 0.125 / 0.5 $\mu\text{g/ml}$ E-25。

4. サンプル

【0047】

40

【表 8】

段 7-12, A-D 血清3, 5, 6, 7, バッファーで1:10希釈 0 / 6.25 / 25 ng/ml IgEで増量
 段 7-12, E 血清3 バッファーで1:10希釈 + 0.031 $\mu\text{g/ml}$ E-25 0 / 6.25 / 25 ng/ml IgEで増量
 段 7-12, F 血清5 バッファーで1:10希釈 + 0.063 $\mu\text{g/ml}$ E-25 0 / 6.25 / 25 ng/ml IgEで増量
 段 7-12, G 血清6 バッファーで1:10希釈 + 0.125 $\mu\text{g/ml}$ E-25 0 / 6.25 / 25 ng/ml IgEで増量
 段 7-12, H 血清7 バッファーで1:10希釈 + 0.25 $\mu\text{g/ml}$ E-25 0 / 6.25 / 25 ng/ml IgEで増量

【0048】

5. 混合物を室温で3時間以上インキュベーション

6. MTP-Washerで洗浄溶液を用いて2回洗浄

7. OPD (20 mlのSoerensenバッファーに14 mgのOPD + 80 μl の3% H_2O_2) での酵素検出、200 μl のOPD溶液の添加、および30分後に50 μl の H_2SO_4 [5M]による酵素反応の停止。 10

【0049】

表8: イムノアッセイの結果:

a) 標準曲線 (吸光度)

【0050】

【表 9】

ng/ml IgE ↓	E-25 添加 ($\mu\text{g/ml}$) ⇒		
	0	0.125	0.5
	0. D.	0. D.	0. D.
0	0.045	0.039	0.050
1.5625	0.098	0.096	0.074
3.125	0.121	0.102	0.084
6.25	0.170	0.150	0.110
12.5	0.281	0.264	0.195
25	0.546	0.439	0.282
50	0.921	0.827	0.421
100	1.602	1.316	0.798
決定係数		0.9968	0.9856
再検出	1	0.8283	0.4671

0. D. : エンザイムイムノアッセイの測定値; 光学密度 (吸光度)

20

30

【0051】

予測されるとおりに、E-25を添加したIgE不含血清での標準曲線においても、測定値の再検出の系統的な減少が見られた。

【0052】

既知抗原濃度と測定値との関係を、E-25添加なしの標準曲線において、ここでもイムノアッセイに関して慣用のLogit-Log関数による回帰を用いて求め、E-25と混合したIgE標準を算出するために、およびイムノアッセイにおける測定値から未知サンプルのIgE濃度を算出するために使用した。

【0053】

$\text{Logit}(E) = 0.8984 * \ln(\text{IgE}) - 5.9079$ (式6)。

40

【0054】

ここで、この評価関数の逆関数 ($\ln(\text{IgE}) = (5.39079 + \text{Logit}(E)) / 0.8984$) (式7)を用いて、E-25と混合した標準および未知サンプルの測定値からIgE濃度を算出した。

【0055】

E-25の添加ありおよびなしの標準曲線に関して、以下のIgE濃度が得られた (表9):

表9:

【0056】

【表 10】

E-25 添加 (μ g/ml)	0	0.0625	0.25
既知IgE標準濃度 (ng/ml)	再計算された IgE 濃度 (ng/ml)	再計算された IgE 濃度 (ng/ml)	再計算された IgE 濃度 (ng/ml)
0			
1.5625	1.91	1.82	0.88
3.125	2.95	2.08	1.30
6.25	5.29	4.29	2.42
12.5	11.02	10.11	6.54
25	26.48	20.02	11.10
50	51.62	44.98	18.93
100	101.94	81.97	43.01
IgE 標準の再検出	102.709%	83.349%	42.050%
決定係数	99.938%	99.721%	99.464%

10

【0057】

標準曲線において、エンザイムイムノアッセイにおけるIgE濃度の系統的な減少が確認された。E-25の添加とIgE再検出との関係は、以下の簡単な一次関数で表すことができ（図3）、 $Wf = 0.99 - 2.291 * X$ （式8）； Wf ：IgE濃度の再検出； X ：E-25の添加は μ g/mlである。この直線関係の決定係数は99.84%であった。

【0058】

20

未知血清サンプルに関して、以下の結果がELISAにおいて得られた（表10）：

表10：E-25を添加したまたは添加していない匿名患者の血清

【0059】

【表 1 1】

増量 IgE (ng/ml)	E-25 添加 (μ g/ml)	0.00	6.25	25.00	再検出	初期値	決定係数	E-25 量理論値 (μ g/ml)
血清 3								
測定 IgG (ng/ml)	0.000	10.54	20.97	38.60	108.04%	12.114	0.982	
理論値		12.11	16.79	35.54				
測定 IgG (ng/ml)	0.031	7.46	12.86	32.84	102.68%	7.021	0.998	0.01
理論値		7.02	13.71	32.46				
血清 5								
測定 IgG (ng/ml)	0.000	14.70	23.92	41.06	102.19%	15.915	0.988	
理論値		15.92	20.95	39.70				
測定 IgG (ng/ml)	0.063	12.28	15.86	29.91	71.54%	11.897	0.998	0.08
理論値		11.9	18.53	37.28				
血清 6								
測定 IgG (ng/ml)	0.000	4.08	9.63	27.98	96.14%	3.880	1.000	
理論値		3.88	10.33	29.08				
測定 IgG (ng/ml)	0.125	3.39	8.00	16.52	50.89%	4.002	0.988	0.18
理論値		4.00	10.64	29.39				
血清 7								
測定 IgG (ng/ml)	0.000	3.67	7.36	26.82	95.20%	2.700	0.991	
理論値		2.70	9.92	28.67				
測定 IgG (ng/ml)	0.250	2.97	5.36	12.94	40.00%	2.924	1.000	0.27
理論値		2.94	9.22	27.97				

10

20

30

【0060】

考察：

アッセイには、4人の健康な匿名の献血患者からの血清を用いた。全ての血清を既知のIgE濃度6.25および25 ng/mlで増量し、測定を行った。治療用抗体含有血清の模擬実験を行うために、同一の血清において、種々のE-25濃度を加えた。標準曲線として適用可能な評価関数の逆関数 ($\ln(\text{IgE}) = (5.39079 + \text{Logit}(E))/0.8984$) を用いて、測定値から各IgE濃度の算出を行った。

【0061】

以下の結果において詳細を示す：

1. 血清3：

血清3を6.25および25 ng/ml IgEで増量した。E-25を添加しない場合に、加えられたIgE濃度の12 ng/ml (1:10希釈) の血清初期値付近での再検出は108%程度であった。これは予想される100%の再検出から有意に外れてはいなかった。

40

【0062】

0.031 μ g/ml E-25 (Xolair) の添加は、IgE濃度の再検出を有意に変化させなかった。

【0063】

2. 血清5：

血清5を6.25および25 ng/ml IgEで増量した。E-25を添加しない場合に、加えられたIgE濃度の15.9 ng/ml (1:10希釈) の血清初期値付近での再検出は102%程度であった。これは予想される100%の再検出から有意に外れてはいなかった。

50

【 0 0 6 4 】

0.063 $\mu\text{g/ml}$ E-25 (Xolair) の添加により、IgE濃度の再検出が72%に有意に減少した。標準曲線から得られた関係(式8)から、E-25濃度を0.08 $\mu\text{g/ml}$ と推量することができ、これは実際に加えられたE-25濃度の0.063 $\mu\text{g/ml}$ と近いものであった。

【 0 0 6 5 】

3. 血清6 :

血清6を6.25および25 ng/ml IgEで増量した。E-25を添加しない場合に、加えられたIgE濃度の3.9 ng/ml (1:10希釈)の血清初期値付近での再検出は96%程度であった。これは予想される100%の再検出から有意に外れてはいなかった。

【 0 0 6 6 】

0.125 $\mu\text{g/ml}$ E-25 (Xolair) の添加により、IgE濃度の再検出が50%に有意に減少した。標準曲線から得られた関係(式8)から、E-25濃度を0.18 $\mu\text{g/ml}$ と推量することができ、これは実際に加えられたE-25濃度の0.125 $\mu\text{g/ml}$ と近いものであった。

【 0 0 6 7 】

4. 血清7 :

血清7を6.25および25 ng/ml IgEで増量した。E-25を添加しない場合に、加えられたIgE濃度の2.7 ng/ml (1:10希釈)の血清初期値付近での再検出は95%程度であった。これは予想される100%の再検出から有意に外れてはいなかった。

【 0 0 6 8 】

0.125 $\mu\text{g/ml}$ E-25 (Xolair) の添加により、IgE濃度の再検出が40%に有意に減少した。標準曲線から得られた関係(式8)から、E-25濃度を0.27 $\mu\text{g/ml}$ と推量することができ、これは実際に加えられたE-25濃度の0.25 $\mu\text{g/ml}$ と近いものであった。

【 0 0 6 9 】

全体のおよび遊離のIgEの測定に利用できる方法としては非常に費用のかかる方法のみが存在する。Hamilton R.G等の文献では、測定のために2つの別々のElisaが必要であり、有効な抗体濃度の測定は行われぬ。本発明の方法を用いることにより、例えばアレルギー性喘息および他の自己免疫疾患へのオマリズマブの使用において、治療コントロールを非常に容易に行うことができる。

【 0 0 7 0 】

文献

Rodbard D., Ratford P.L., Cooper J. and Ross G.T. (1968). Statistical quality control of radioimmunoassays. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 29, 352.

【 0 0 7 1 】

Azizadeh A., Pellequer J.L. and Van Regenmortel M.H.V. (1992). Operational aspects of antibody affinity constants measured by liquid-phase and solid-phase assays. *J. Molecular Recognition.* 5, 9.

【 0 0 7 2 】

Goldberg M.E. and Djavadi-Ohanian L. (1993). Methods for measurement of antibody/antigen affinity based on ELISA and RIA. *Current Opinion in Immunology* 5, 278.

【 0 0 7 3 】

Hamilton R.G., Marcotte G.V., Saini S.S.: Immunological methods for quantifying free and total serum IgE levels in allergy patients receiving omalizumab (Xolair) therapy. *J. Immunol. Methods.* 2005, 303 (1-2):81-91.

【 0 0 7 4 】

2001年8月1日の欧州特許第0850416号明細書。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 7 5 】

【 図 1 】 図1は、E-25の添加に依存したIgE-ELISAを示す。

【 図 2 】 図2は、既知標準濃度におけるE-25量とIgE濃度の再検出との関係を示す。

10

20

30

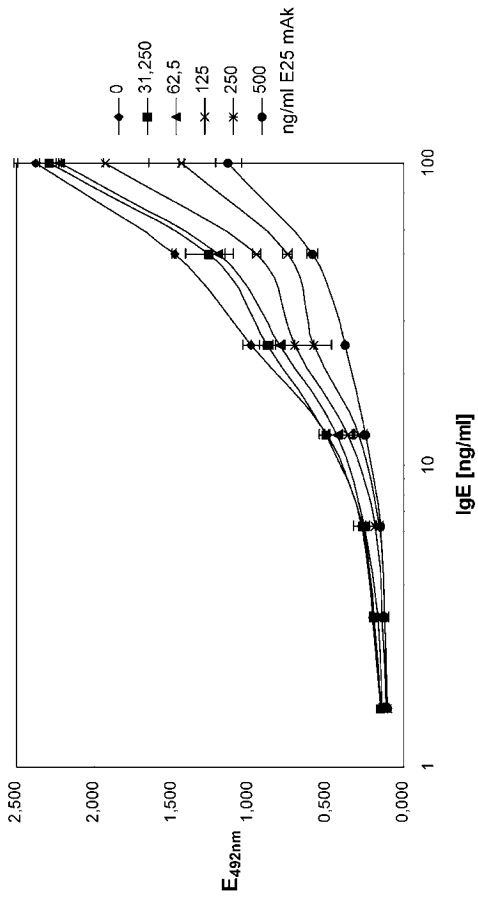
40

50

【 図 3 】 図3は、E-25の添加とIgE再検出との関係を示す。

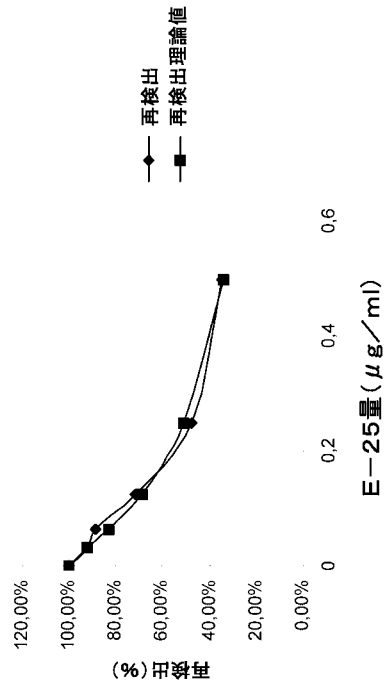
【 図 1 】

図 1 : E-25添加に依存したIgE-ELISA



【 図 2 】

図 2 : E-25量に依存したIgE-ELISAにおける再検出



$$1/WF = 0.9606 + 3.932 * X \quad (\text{式5})$$

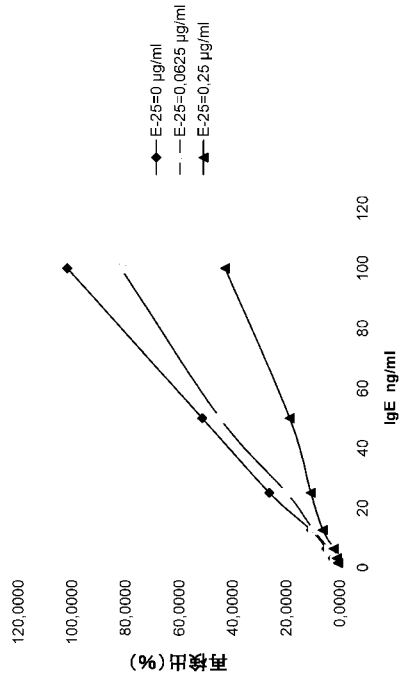
WF: 再検出

X: E-25量 (μg/ml)

この関数に関する決定係数は98.74%であった。

【 図 3 】

図3: E-25を添加した場合および添加しなかった場合のIgE-ELISA



$WF = 0.99 - 2.291 * X$ (式B)

Wf: IgE濃度の再検出

X: E-25添加 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)

この直線関係に関する決定係数は99.84%であった

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/DE2006/002107

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N33/543		
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) 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 practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, INSPEC, FSTA, COMPENDEX		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	-/--	
<input checked="" 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 document 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. *Z* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 15 May 2007	Date of mailing of the international search report 22/05/2007	
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5518 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Adida, Anne	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No
 PCT/DE2006/002107

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	HAMILTON ET AL: "Immunological methods for quantifying free and total serum IgE levels in allergy patients receiving Omalizumab (Xolair) therapy" JOURNAL OF IMMUNOLOGICAL METHODS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V., AMSTERDAM, NL, vol. 303, no. 1-2, August 2005 (2005-08), pages 81-91, XP005037172 ISSN: 0022-1759 cited in the application page 82, left-hand column, line 6 - line 13 pages 83-84, paragraph 2.3 page 84, right-hand column, line 18 - line 24 pages 84-85, paragraph 2.5 page 85, paragraph 3.1 figure 4	1
A	the whole document	2
A	BEUM P V ET AL: "Three new assays for rituximab based on its immunological activity or antigenic properties: analyses of sera and plasmas of RTX-treated patients with chronic lymphocytic leukemia and other B cell lymphomas" JOURNAL OF IMMUNOLOGICAL METHODS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V., AMSTERDAM, NL, vol. 289, no. 1-2, June 2004 (2004-06), pages 97-109, XP004520883 ISSN: 0022-1759 the whole document	1,2
A	EP 0 850 416 B1 (STROHNER PAVEL [DE]) 1 August 2001 (2001-08-01) cited in the application the whole document	1,2
A	US 6 174 688 B1 (BRIZZOLARA ROBERT A [US]) 16 January 2001 (2001-01-16) the whole document	1,2
A	WO 93/10451 A (STROHNER PAVEL [DE]) 27 May 1993 (1993-05-27) the whole document	1,2
	-/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/DE2006/002107

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>PATTON ET AL: "An acid dissociation bridging ELISA for detection of antibodies directed against therapeutic proteins in the presence of antigen" JOURNAL OF IMMUNOLOGICAL METHODS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V., AMSTERDAM, NL, vol. 304, no. 1-2, September 2005 (2005-09), pages 189-195, XP005065150 ISSN: 0022-1759 the whole document</p>	1,2
A	<p>PAGANELLI R ET AL: "STUDIES ON THE IN VITRO EFFECTS OF AUTO-ANTI-IGE. INHIBITION OF TOTAL AND SPECIFIC SERUM IGE DETECTION BY A HUMAN IGG AUTOANTIBODY TO IGE" JOURNAL OF CLINICAL AND LABORATORY IMMUNOLOGY, TREVIOT-KIMPTON PUBLICATIONS, LONDON, GB, vol. 26, no. 3, July 1988 (1988-07), pages 153-157, XP008078693 ISSN: 0141-2760 the whole document</p>	1,2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/DE2006/002107

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
EP 0850416	B1	01-08-2001	WO 9708930 A2 DE 19532655 A1 EP 0850416 A2	13-03-1997 27-02-1997 01-07-1998
US 6174688	B1	16-01-2001	US 6127130 A	03-10-2000
WO 9310451	A	27-05-1993	AU 2461992 A DE 4138712 A1	15-06-1993 27-05-1993

INTERNATIONALER RESEARCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/DE2006/002107

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES INV. G01N33/543		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC		
B. RESEARCHIERTE GEBIETE		
Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) G01N		
Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, INSPEC, FSTA, COMPENDEX		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	HAMILTON ET AL: "Immunological methods for quantifying free and total serum IgE levels in allergy patients receiving Omalizumab (Xolair) therapy" JOURNAL OF IMMUNOLOGICAL METHODS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V., AMSTERDAM, NL, Bd. 303, Nr. 1-2, August 2005 (2005-08), Seiten 81-91, XP005037172 ISSN: 0022-1759 in der Anmeldung erwähnt Seite 82, linke Spalte, Zeile 6 - Zeile 13 Seiten 83-84, Absatz 2.3 Seite 84, rechte Spalte, Zeile 18 - Zeile 24 Seiten 84-85, Absatz 2.5 Seite 85, Absatz 3.1 Abbildung 4	1
A	das ganze Dokument	2
-/-		
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
<p>* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :</p> <p>*A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist</p> <p>*E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>*L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgefüllt)</p> <p>*O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p> <p>*P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p> <p>*T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist</p> <p>*X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>*Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahelegend ist</p> <p>*Z* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p>		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche		Abenddatum des internationalen Recherchenberichts
15. Mai 2007		22/05/2007
Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 6818 Patentaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Beauftragter Adida, Anne

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

 Internationales Aktenzeichen
 PCT/DE2006/002107

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	BEUM P V ET AL: "Three new assays for rituximab based on its immunological activity or antigenic properties: analyses of sera and plasmas of RTX-treated patients with chronic lymphocytic leukemia and other B cell lymphomas" JOURNAL OF IMMUNOLOGICAL METHODS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V.,AMSTERDAM, NL, Bd. 289, Nr. 1-2, Juni 2004 (2004-06), Seiten 97-109, XP004520883 ISSN: 0022-1759 das ganze Dokument	1,2
A	EP 0 850 416 B1 (STROHNER PAVEL [DE]) 1. August 2001 (2001-08-01) in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	1,2
A	US 6 174 688 B1 (BRIZZOLARA ROBERT A [US]) 16. Januar 2001 (2001-01-16) das ganze Dokument	1,2
A	WO 93/10451 A (STROHNER PAVEL [DE]) 27. Mai 1993 (1993-05-27) das ganze Dokument	1,2
A	PATTON ET AL: "An acid dissociation bridging ELISA for detection of antibodies directed against therapeutic proteins in the presence of antigen" JOURNAL OF IMMUNOLOGICAL METHODS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V.,AMSTERDAM, NL, Bd. 304, Nr. 1-2, September 2005 (2005-09), Seiten 189-195, XP005065150 ISSN: 0022-1759 das ganze Dokument	1,2
A	PAGANELLI R ET AL: "STUDIES ON THE IN VITRO EFFECTS OF AUTO-ANTI-IGE. INHIBITION OF TOTAL AND SPECIFIC SERUM IGE DETECTION BY A HUMAN IGG AUTOANTIBODY TO IGE" JOURNAL OF CLINICAL AND LABORATORY IMMUNOLOGY, TREVIOT-KIMPTON PUBLICATIONS, LONDON, GB, Bd. 26, Nr. 3, Juli 1988 (1988-07), Seiten 153-157, XP008078693 ISSN: 0141-2760 das ganze Dokument	1,2

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE2006/002107

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0850416	B1	01-08-2001	WO 9708930 A2	13-03-1997
			DE 19532655 A1	27-02-1997
			EP 0850416 A2	01-07-1998
US 6174688	B1	16-01-2001	US 6127130 A	03-10-2000
WO 9310451	A	27-05-1993	AU 2461992 A	15-06-1993
			DE 4138712 A1	27-05-1993

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(54)【発明の名称】サンプル中の被検体（抗原）および該被検体を標的とする治療用抗体を同時に免疫化学的に測定するためのイムノアッセイ（リカバリー・イムノアッセイ（Recovery Immunoassay））

专利名称(译)	免疫测定 (Recovery Immunoassay) , 用于同时免疫化学测量样品中的分析物 (抗原) 和靶向分析物的治疗性抗体 ,		
公开(公告)号	JP2009517667A	公开(公告)日	2009-04-30
申请号	JP2008542594	申请日	2006-11-29
[标]申请(专利权)人(译)	施特劳宾罗娜过帕维尔		
申请(专利权)人(译)	Shutorona - 帕维		
[标]发明人	シュトローナーパヴェル		
发明人	シュトローナーパヴェル		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/54306		
FI分类号	G01N33/543.501.D G01N33/53.N		
优先权	102005057920 2005-12-02 DE		
其他公开文献	JP4918556B2 JP2009517667A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

免疫分析法 (同时免疫测定法) 技术领域本发明涉及用于同时免疫化学测定样品中分析物 (抗原) 和针对分析物的治疗性抗体的免疫分析法 (同时免疫分析法) 。本发明结合到表面上 , 任选地标记的捕获抗体 , 标记的治疗性抗体或表示类似治疗性抗体结合表位的标记的抗体的免疫测定 ; 从所述捕获抗体和治疗性抗体的表位不同抗原结合在同一细胞中 , 从而形成免疫化学夹心 ; 已知浓度的未标记治疗性抗体和用于增加样品的抗原溶液的溶液。本发明的应用领域是医学诊断 , 治疗控制和药理学研究。

治療用抗体名称	開発者 ; 製造者	抗体型	抗原 ; 適用
オマリズマブ (Xolair)	Genentech; Novartis; Tanox	ヒト化	IgE ; アレルギー性喘息
インフリキシマブ (Remicade)	Centocor	キメラ	TNF- α ; リウマチ ; クロウン病 (Morbus Crohn)
アダリムマブ (Humira)	Cambridge Antibody Technology; Abbott	ヒト化	TNF- α ; リウマチ
ムロモマブ-CD3	Ortho Biotech; Johnson&Johnson	モノクローナル	CD3 ; 臓器移植の拒絶反応の防止
ダクリズマブ (Zenapax)	Protein Design Labs	ヒト化	CD25 ; 腎移植の拒絶反応の防止
バシリキシマブ (Simlect)	Novartis	キメラ	CD25 ; 腎移植の拒絶反応の防止
ラプティバ	Genentech; Seroxo, Xoma	ヒト化	BLA ^a ; CD11a ; 乾癬
ナタリズマブ (Antegren)	Elan, Biogen	ヒト化	VLA-4p1 ^b ; クロウン病 ; 多発性硬化症
CDP-870	Celltech; Pfizer	ヒト化	TNF- α ; リウマチ ; クロウン病
トラスツズマブ (Herceptin)	Genentech	ヒト化	HER-2/neu (p183 ^c) ; 乳癌 ; 肺癌 ; 膵臓癌
ダクリズマブ (Zenapax)	Protein Design Labs	キメラ	IL-2R ; 白血病
エンドレクロマブ (Panorex)	Johnson&Johnson	ヒト化	17-A1 ; 大腸癌