

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A) (11)特許出願公表番号

特表2003 - 522537

(P2003 - 522537A)

(43)公表日 平成15年7月29日(2003.7.29)

(51) Int.Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マコード (参考)
C 1 2 N 15/02		C 0 7 K 14/435	4 B 0 2 4
C 0 7 K 14/435		16/18	4 B 0 6 4
	16/18	16/44	4 B 0 6 5
	16/44	C 1 2 P 21/08	4 H 0 4 5
C 1 2 N 5/10		G 0 1 N 33/53	S

審査請求 有 予備審査請求 (全 20数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001 - 558737(P2001 - 558737)

(86)(22)出願日 平成13年2月12日(2001.2.12)

(85)翻訳文提出日 平成14年8月13日(2002.8.13)

(86)国際出願番号 PCT/EP01/01535

(87)国際公開番号 W001/059458

(87)国際公開日 平成13年8月16日(2001.8.16)

(31)優先権主張番号 0003360.5

(32)優先日 平成12年2月14日(2000.2.14)

(33)優先権主張国 イギリス(GB)

(71)出願人 ノバルティス アクチエンゲゼルシャフト
スイス国、4056 バーゼル、リヒトシュト
ラーセ 35

(72)発明者 ビルギット・ドロベク
ドイツ連邦共和国デー - 79650 ショップフハ
イム、ベルヒエンブリック2番

(72)発明者 ベーター・ヌスバウマー
オーストリア、アー - 2344 マリア・エンツ
ァースドルフ、カイゼリン・エリーザベト
- シュトラーセ5/9番

(74)代理人 弁理士 青山 葆 (外 3 名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 テルピナフィンに対する特異的モノクローナル抗体

(57)【要約】

本発明は、遊離塩基または塩形のテルピナフィンに対するモノクローナル抗体、それらの製造に適当な免疫原性接合体、それらを産生できるハイブリドーマおよび対応するアッセイキットに関する。抗体は、適当な動物に免疫原に共有結合的に結合したテルピナフィンの適当な誘導体の免疫原性接合体を投与し、接合体に感受性の抗体産生細胞を回収し、抗体産生細胞を不死化し、得られた不死化細胞系を選択し、得られた抗体をそこから回収することにより製造できる。それらは、体液または一部、特に爪におけるテルピナフィン組織濃度および分布の測定における使用が意図される。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 遊離形または塩形のテルビナフィンに対するモノクローナル抗体。

【請求項2】 テルビナフィンのエフェクター部分上のエピトープを認識する請求項1に記載の抗体。

【請求項3】 テルビナフィンを認識する、請求項1記載の特異的抗体。

【請求項4】 カルボキシ - テルビナフィンから調製する、請求項1記載の抗体。

【請求項5】 LAM-JA(DSM ACC2422)から調製する、請求項1記載の抗体。

【請求項6】 請求項1に記載の抗体を産生できるハイブリドーマ。

【請求項7】 LAM-JA(DSM ACC2422)である、請求項6記載のハイブリドーマ。

【請求項8】 免疫原に共有結合的に結合したテルビナフィンの誘導体を含む、請求項1に記載の抗体を製造するのに適した免疫原性接合体。

【請求項9】 適当な動物に免疫原に共有結合的に結合したテルビナフィンの適当な誘導体の免疫原性接合体を投与し、接合体に感受性の抗体産生細胞を回収し、抗体産生細胞を不死化し、得られた不死化細胞系を選択し、得られた抗体をそこから回収することを含む、請求項1に記載の抗体の製造法。

【請求項10】 請求項1から5のいずれかに記載の抗体を含む、体液またはコンパートメント、特に爪におけるテルビナフィン組織濃度および分布の測定のための免疫アッセイキット。

【発明の詳細な説明】

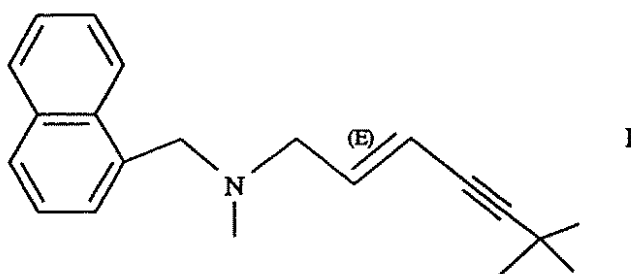
【0001】

本発明は、モノクローナル抗体に関する。

【0002】

本発明は、テルビナフィン(ラミシール(登録商標))、すなわち、遊離形または塩形、特に塩酸塩形の式 I

【化1】



の(E) - N - (6,6 - ジメチルヘプタ - 2 - エン - 4 - イニル) - N - メチル - 1 - ナフタレンメタンアミンに対するモノクローナル抗体 - 以後簡単に “ 本発明の抗体 ” と呼ぶ - に関する。

【0003】

テルビナフィンは経口および局所製剤の両方で、特に、皮膚、爪および髪の毛の真菌感染の処置のために世界中に販売されている抗真菌剤である。臨床的に使用される他の抗真菌剤と化学的および機構的に区別される、代表的なアリルアミンクラスの合成抗真菌剤である。

【0004】

テルビナフィンの利点の一つはその非常に低い免疫原性である。したがって、数年間販売されているが、それに対する強い免疫応答を記載した文献があるという報告は現在までない。これは臨床的利点であるが、免疫学的方法による医薬の検出を、免疫応答を促進するために免疫原性タンパク質に結合したときでさえ、困難にする。

【0005】

更に、その広範な使用の観点から、患者の体液、組織またはコンパートメント、例えば、血清または爪におけるテルビナフィンの容易で検出を可能にする単純

な免疫アッセイ法の開発が非常に望まれる。例えば、特に処置が失敗した患者(デルマトフィトーマ)におけるテルビナフィンの血中または爪のレベルのモニタリングが、例えば、爪真菌症における有益な薬理的活性に十分な最少レベルを維持するための、投与量の細かい調節および作用の形態の良好な理解に非常に望まれる。しかし、テルビナフィンを認識するモノクローナル抗体の先の報告は、恐らく上記の医薬の低い免疫原性の観点から、このような抗体の製造に固有の困難さのために、ない。

【0006】

免疫原性タンパク質に共有結合的に結合するテルビナフィンの誘導体を使用して、テルビナフィンに驚くほど感受性の、テルビナフィンに対するモノクローナル抗体が製造できることが判明した。

【0007】

このような誘導体は、例えば、テルビナフィンの代謝産物または更に構造的に密接に関係する誘導体である。

テルビナフィンのエフェクター部分上のエピトープを認識するテルビナフィンに対するモノクローナル抗体が、それ自体薬理的に不活性なテルビナフィンの代謝誘導体を使用して得ることができることも判明した。

【0008】

したがって、本発明はテルビナフィン検出および投与のための免疫学をベースにした方法、例えば、ネガティブおよびポジティブサンプルの間のアッセイの区別の程度、すなわち、二つのシステムの相対的親和性に関して、非常に感受性であり特異的であるテルビナフィンのアッセイ(下記実施例参照)を可能にする。

【0009】

本発明の抗体は、適当な動物、例えばマウスに、免疫原、例えば、免疫原性タンパク質に共有結合的に結合したテルビナフィンの適当な誘導体の免疫原性接合体を接種することにより調製する。これは、慣用法で、例えば、Koehler and Milstein (Nature 256 [1975] 495-497)に記載のものに沿って行ない得る。工程は、簡便に免疫原性接合体の投与、接合体に感受性の抗体産生細胞の回収、抗体産生細胞の、例えば、適当なミエローマとの融合による不死化、得られた不死化細

胞系の選択およびそこから得られた本発明の抗体の回収を含む。

【0010】

免疫原性タンパク質は、例えばウシ血清アルブミン(BSA)、卵白アルブミン(OVA)またはキーホールリンペットヘモシアニン(KLH)である。

【0011】

本発明の抗体は、慣用の方法で、例えば、相対的交差反応性の決定により、例えば、テルビナフィンとその代謝物およびその誘導体を、区別する能力に従い、スクリーニングおよび特徴付けする。それらは更に他の既知の抗菌剤、例えばアゾールまたはアンホテリシンBに対する相対的結合親和性により特徴付けし得る。交差反応性は、本明細書で、テルビナフィンおよび下記のその代謝誘導体1)から5)に対する抗体応答の測定およびテルビナフィンとその代謝誘導体を区別する能力により測定する[The Immunoassay Handbook, D. Wild, Ed. (1994), Stockton Press, p. 89)。相対的交差反応性は、アナライトの非存在下で達成されるシグナルの50%に対応するシグナルが減少する点で50%を提供するアナライトの(50%の比 B/B_0)濃度であって、シグナルの同じ減少を提供するアナライト濃度の割合として表される。

【0012】

テルビナフィンの以下の誘導体を製造する：

- 1)(E)-2,2-ジメチル-7-[メチル(ナフタレン-1-イルメチル)アミノ]ヘプタ-5-エン-3-イン酸、すなわち、Pestic. Sci. 31 (1991) 437-455の443頁の化合物XXIX、以後簡単に“カルボキシ-テルビナフィン”と命名；
- 2)(E)-N-(6,6-ジメチルヘプタ-2-エン-4-イニル)-1-ナフタレンメタンアミン、すなわち、Arzneim. F./Drug Res. 39 (1989) 527-532の528頁の化合物(2)、以後簡単に“デスメチル-テルビナフィン”と命名；
- 3)(E)-2,2-ジメチル-7-[メチル(ナフタレン-1-イルメチル)アミノ]ヘプタ-5-エン-3-イン-1-オール、すなわち、Pestic. Sci.(前掲)の443頁の化合物XXX、以後簡単に“ヒドロキシ-テルビナフィン”と命名；
- 4)(E)-2,2-ジメチル-7-[(ナフタレン-1-イルメチル)アミノ]ヘプタ-5-エン-イン酸、すなわち、Arzneim. F./Drug Res.(前掲)の528頁の化

合物(4)、以後、簡単に“デスメチル-カルボキシ-テルビナフィン”と命名；
および

5)(E)-2,2-ジメチル-7-[(ナフタレン-1-イルメチル)アミノ]ヘプタ
-5-エン-イン-1-オール、すなわち、Pestic. Sci.(前掲)の443頁の化
合物XXXII、以後簡単に“デスメチル-ヒドロキシ-テルビナフィン”と命名。

【0013】

誘導体は遊離形または塩形、例えば、塩酸付加塩形であり得る。テルビナフィ
ンの特に適した誘導体は上記カルボキシ-テルビナフィンである。

【0014】

出発物質および中間体化合物は、既知であるかまたは実施例に記載のまたは類
似の方法で製造できる。

【0015】

カルボキシテルビナフィンのBSAタンパク質接合体で免疫化したマウスにお
けるPAI-0ミエローマから製造されるLAM-JA(11H2.F9.C4)と命名されるハイ
ブリドーマ細胞系(下記実施例1参照)は、ブダペスト条約の下、1999年11
月25日にDeutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH(DS
MZ), D-38124 Braunschweig, Germanyに寄託しており、受託番号DMS ACC2422を
付されている。

【0016】

本発明は、したがってまた：

- テルビナフィンのエフェクター部分上のエピトープを認識する、特にテルビナ
フィンを認識する本発明の抗体；
- カルボキシ-テルビナフィンから製造される本発明の抗体；
- ハイブリドーマLAM-JA(DSM ACC2422)から製造される本発明の抗体；
- 本発明の抗体を産生することができるハイブリドーマ；
- ハイブリドーマLAM-JA(DSM ACC2422)；
- 免疫原に共有結合的に結合したテルビナフィンの誘導体を含む、本発明の抗体
の製造に適した免疫原接合体；
- 適当な動物に免疫原に共有結合的に結合したテルビナフィンの適当な誘導体の

免疫原性接合体を投与し、接合体に感作された抗体産生細胞を回収し、抗体産生細胞を不死化し、得られた不死化細胞系を選択し、そしてそこから得られた抗体を回収することを含む、本発明の抗体の産生法；

- 本発明の抗体を含む、体液またはコンパートメント、特に爪におけるテルビナフィン組織濃度および分布の測定のための免疫アッセイキットに関する。

【0017】

以下の実施例は本発明を説明する。全ての温度は摂氏である。化合物は特記しない限り遊離塩基形である。以下の略語を使用する：

B S A	ウシ血清アルブミン
c h	塩酸付加塩形
D M S O	ジメチルスルフォキシド
E D C	1 - エチル - 3 - (3 - ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド
E L I S A	酵素免疫測定法
i . p .	腹腔内
m A b	モノクローナル抗体
m . p .	融点
O P D	o - フェニレンジアミン
O V A	卵白アルブミン
P B S	リン酸緩衝化食塩水
s . c .	皮下

【0018】

実施例1：カルボキシ - テルビナフィンのタンパク質接合体

4.02mgカルボキシ - テルビナフィン(m. p. 118 - 120 °)を200 μ lのDMSOに溶解し、800 μ lの接合緩衝液(Imject(登録商標)EDC Conjugation Kit, Pierce)をハプテン溶液に注意深く添加する。500 μ lのこの混合物をB S AまたはO V Aの適当なタンパク質溶液(タンパク質濃度2mg/ml)に激しく攪拌しながら滴下する。得られるタンパク質 - ハプテン溶液(500 μ l)の各々を10mg E D Cに添加する。反応混合物を3時間室温で攪拌し、得られた接

合体を4°で4 lのPBSに対して、2回24時間にわたり透析することにより精製する。得られた接合体(テルビナフィン-OVA;テルビナフィン-BSA)を分け、-18°に貯蔵する。

【0019】

実施例2：モノクローナル抗体の製造

雌Balb/Cマウス(20-25g)は、フロインド完全アジュバント中の、各々100µgの実施例1に従いOVAに共有結合的に結合したカルボキシ-テルビナフィン接合体を、i.p.注射により投与される。5および10週後、最初の量の半分の不完全フロインドアジュバントに乳濁した免疫原性接合体を含む第1および第2ブーストを、i.p.注射により投与する。直接ELISA(下記参照)を使用して動物血清中の抗原に反応性の抗体の存在を確認する。13週後、マウスはi.p.注射により第3ブーストを投与され、10日後、50µgの抗原を含むブースター注射を、i.v.で-3、-2および-1日目に投与される。+1日目にマウスを殺し、脾臓細胞を単離し、例えば、PAI-0細胞または他の適当なミエローマ細胞と融合させる。得られたハイブリドーマを培養し、テルビナフィンに対する高い親和性を有する抗体の発現に関して、ELISAを使用して選択する。最高の産生率の細胞系の選択後、分泌された抗体を、Streamline-Protein Aを充填されたStreamline 25カラムシステムで、拡張床吸着クロマトグラフィーにより精製する。

【0020】

実施例3：テルビナフィンに対する直接ELISAによる抗体の選択

マイクロタイタープレートを、カーボネート緩衝液中の5µg/mlテルビナフィン塩酸塩-タンパク質(BSA)接合体で一晩4°でコートし、ついで遮断試薬[SuperBloc(登録商標)緩衝液(Pierce)]で飽和し、3回0.05%(v/v)Tween(登録商標)-PBSで洗浄する。スクリーニングするハイブリドーマ上清をPBS-Tween(登録商標)の1%(w/v)溶液で希釈し、2時間、37°でインキュベートする。結合抗体のレベルを、ホースラディッシュペルオキシダーゼに結合した抗-マウスIgGウサギ免疫グロブリンにより、OPDを基質として測定する。1時間、室温でインキュベーション後、酵素基質を加水分解し、490/650nm

の吸光度を暗所で15分インキュベーション後に測定する。

【0021】

この試験に基づいて、実施例2で得たLAM-JA(11H2.F9.C4)(サブクラスIgG 2a の抗体を産生)と命名されたハイブリドーマ細胞系が抗体産生のために選択された。

【0022】

実施例4：テルビナフィン誘導体用競合ELISA

上記実施例3の直接ELISAを、競合物質をモノクローナル溶液に添加し、競合物質の存在下および非存在下におけるmABの接合体への結合を測定する、競合ELISAに変える。選択抗体のテルビナフィンおよびその誘導体に対する交差反応性を決定する標準曲線を、既知の濃度のテルビナフィンおよび適当な誘導体(例えば、緩衝液中10 µg/mlから0.0001 µg/ml)を含む溶液を使用して調製する。

【0023】

ハイブリドーマ細胞系LAM-JA由来の精製抗体のこのような競合アッセイの結果は、下記の通りである(ここで、使用した免疫原はOVAに結合したカルボキシ-テルビナフィンであった)：

【表1】

表：交差反応性(LAM-JA)

化合物	以下のテルビナフィン濃度(µg/ml)での阻害(%)					
	10	1	0.1	0.01	0.001	0.0001
テルビナフィン ch	92.6	73.8	31.5	2.70	-1.92	0.99
カルボキシ-テルビナフィン	89.2	63.8	25.8	4.30	2.11	0.85
デスメチル-テルビナフィン ch	7.87	5.96	1.22	1.55	-0.14	-0.45
ヒドロキシ-テルビナフィン	93.0	92.9	72.5	3.74	0.56	0.40
デスメチル-カルボキシ-テルビナフィン	12.1	3.85	4.40	3.74	1.38	2.81
デスメチル-ヒドロキシ-テルビナフィン	58.0	15.7	5.30	1.60	0.79	3.60

およびまた図1においてグラフ形で提示する。

【0024】

アナライト以外の物質に反応する抗体の測定は交差反応性である。それは“シグナルの減少がアナライトがない時達成されるシグナルの50%に対応するシグナル($B/B_0 = 50\%$)と同じ減少を与える点に関して、アナライト濃度のパーセントとして表現”し得る[The Immunoassay Handbook, David Wild, Stockton Press, USA, 1994]。

【0025】

交差反応%は、図1から下記のように計算できる：

【数1】

$$\frac{50\% B/B_0 \text{を} \text{提供} \text{する} \text{アナライト} \text{の} \text{濃度}}{50\% B/B_0 \text{を} \text{提供} \text{する} \text{交差} \text{反応} \text{物質} \text{の} \text{濃度}}$$

【0026】

上記結果から、強い交差反応が基の免疫原のカルボキシ - テルピナフィンおよびヒドロキシ - テルピナフィンに対して(>67%)；低い交差反応性がデスメチル - ヒドロキシ - テルピナフィンに対して(4.5%)、およびごくわずかな交差反応性がデスメチル - カルボキシ - テルピナフィンおよびデスメチル - テルピナフィン(検出不可能)に対してあることが明らかである。

【0027】

抗体特異性は、目的のアナライトにのみの測定可能な反応を産生する抗体の能力を記載する：上記結果は、非常に特異的な抗体を記載する。

【0028】

本発明の抗体は、医学的背景における、例えば、適当なアッセイ、特に、真菌感染における、特に、体液またはコンパートメント、例えば爪におけるテルピナフィンの正確な測定をするための爪甲真菌症における、テルピナフィン組織濃度および分布の測定のための本発明の抗体を含むキットにおける使用が意図される。このような測定は、特に爪真菌症において、処置失敗を特に参照して示される(デルマトフィトーマ)。

【0029】

一つの試みは、本発明の抗体およびテルビナフィントレーサーを使用したエキソビボ競合アッセイである。例えば、マイクロタイタープレートに抗体でコートし、標識テルビナフィン、例えば蛍光標識、放射能標識、例えばユーロピウム標識または酵素標識、特にビオチニル化テルビナフィンに、テルビナフィンを含むと考えられる物質、例えば、患者からの血漿、血液、組織または爪の存在下および非存在下で曝す。プレートを濯ぎ、抗体に結合した標識競合物質の量を測定する。この量は、試験流体におけるテルビナフィンの量と逆に変化する。

【0030】

他の試みは、抗体、テルビナフィン接合体およびマウスIgGを認識する標識、例えば酵素標識トレーサー抗体を使用したELISAである。例えば、マイクロタイタープレートをテルビナフィン-タンパク質接合体、例えば免疫原性BSA-カルボキシ-テルビナフィン接合体(実施例1)でコートし、ついで試験物質の存在下および非存在下に抗体に曝し、濯ぎ、テルビナフィン接合体に結合する抗体を、テルビナフィン接合体に結合する抗体に対するトレーサー抗体の結合により検出する。また、結合抗体の量は、試験サンプル中のテルビナフィンの量と逆に変わる。

【0031】

いずれの場合も、アッセイは既知の濃度のテルビナフィンを含む試験溶液で標準化する。

【0032】

したがって、本発明はまた本発明の抗体を、好ましくは凍結乾燥形で、またはマイクロタイタープレート上にコートされて含むアッセイキットを含む。キットは所望により更に、所望によりプレート上にコートされているテルビナフィンタンパク質接合体および/または標識テルビナフィン誘導体のいずれかを含む。また所望により標準化のためのテルビナフィン溶液および使用指示書を含む。あるいは、本発明のモノクローナル抗体は、特別あつらえのELISAまたは他のアッセイ系において使用し得る。

【0033】

爪における上記アッセイの適用、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)での

分析およびUV検出は、爪マトリックスにおけるテルビナフィンの極性代謝物の存在のヒントを与えず、すなわち、ヒドロキシ-テルビナフィンもデスメチル-ヒドロキシ-テルビナフィンもカルボキシ-テルビナフィンも見られないが、デスメチル-テルビナフィンは測定可能であった。したがって、上記代謝物との本発明の抗体の交差反応性に関して(実施例4参照)、検出妨害は同様に爪におけるテルビナフィンと遭遇しないようである。

【0034】

他の試みにおいて、酵素標識テルビナフィン抗体を、組織または細胞に存在する成分を局在化するために、あるいは、患者の血清または他のコンパートメントにおいて、細胞性分に対する抗体の存在を証明するために、酵素に特異的な細胞化学着色剤の検出を、マーカーとして使用し、蛍光検出に代える以外、免疫蛍光法と同じ基本原則に基づいて、使用する。

【表2】

INDICATIONS RELATING TO DEPOSITED MICROORGANISMS OR OTHER BIOLOGICAL MATERIAL

(PCT Rule 13bis)

A. The indications made below relate to the deposited microorganism or other biological material referred to in the description on page <u>4</u> , line <u>5</u> <u>1-5</u>	
B. IDENTIFICATION OF DEPOSIT Further deposits are identified on an additional sheet <input type="checkbox"/>	
Name of depositary institution <u>Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH</u>	
Address of depositary institution (including postal code and country) <u>Mascherater Weg 1b</u> <u>D-38124 Braunschweig</u> <u>Germany</u>	
Date of deposit <u>November 25, 1999</u>	Accession Number <u>DSM ACC 2422</u>
C. ADDITIONAL INDICATIONS (leave blank if not applicable) This information is continued on an additional sheet <input type="checkbox"/>	
<u>LAM-1A (11 H₂ - F₃ C₄)</u> <u>Applicant wishes that the biological material be made available as provided in Rule 28(3) EPC only by issue of a sample to expert nominated by requestor (Rule 28(4) EPC).</u>	
D. DESIGNATED STATES FOR WHICH INDICATIONS ARE MADE (if the indications are not for all designated States)	
(Stamp: EPO-DG 1, 29.05.2001)	
E. SEPARATE FURNISHING OF INDICATIONS (leave blank if not applicable)	
The indications listed below will be submitted to the International Bureau later (specify the general nature of the indications e.g., "Accession Number of Deposit")	
For receiving Office use only <input type="checkbox"/> This sheet was received with the international application <u>PCT/EP 01/01535</u> Authorized officer <u>Ulrike Staab</u>	For International Bureau use only <input type="checkbox"/> This sheet was received by the International Bureau on: Authorized officer

Form PCT/RO/134 (July 1999)

【表3】

(訳文)

寄託された微生物に関する表示

(PCT規則13の2)

A. 下記の表示は明細書5頁7-12行に記載された微生物に関連している。	
B. 寄託の表示 他の寄託が追加頁に表示されている <input type="checkbox"/>	
寄託機関の名称 ドイチェ・ザムルング・フォン・ミクロオルガニズメン・ウント・ツェルクルチュウレン ・ゲゼルシャフト・ミット・ベシュレンクテル・ハフツング (デーエスエムツェット)	
寄託機関の住所 ドイツ連邦共和国、デー-38124 ブラウンシュバイヒ、マシェルオーダー・ベーク 1 べー番	
寄託の日付	1999年11月25日
受託番号	DSM ACC 2422
C. 追加の表示 この情報は追加頁に続く <input type="checkbox"/>	
LAM-JA (11H2, F9, C4) 出願人は、生物学的物質が、依頼人により推薦された専門家 (Rule 28(4)EPC) へのサンプルの配給によってのみ、Rule 28(3)EPC によって提供される通り、利用可能とすることを願う。	
D. この表示を行うための指定国	
E. 追加事項の表示の届け出	

受理官庁記入欄

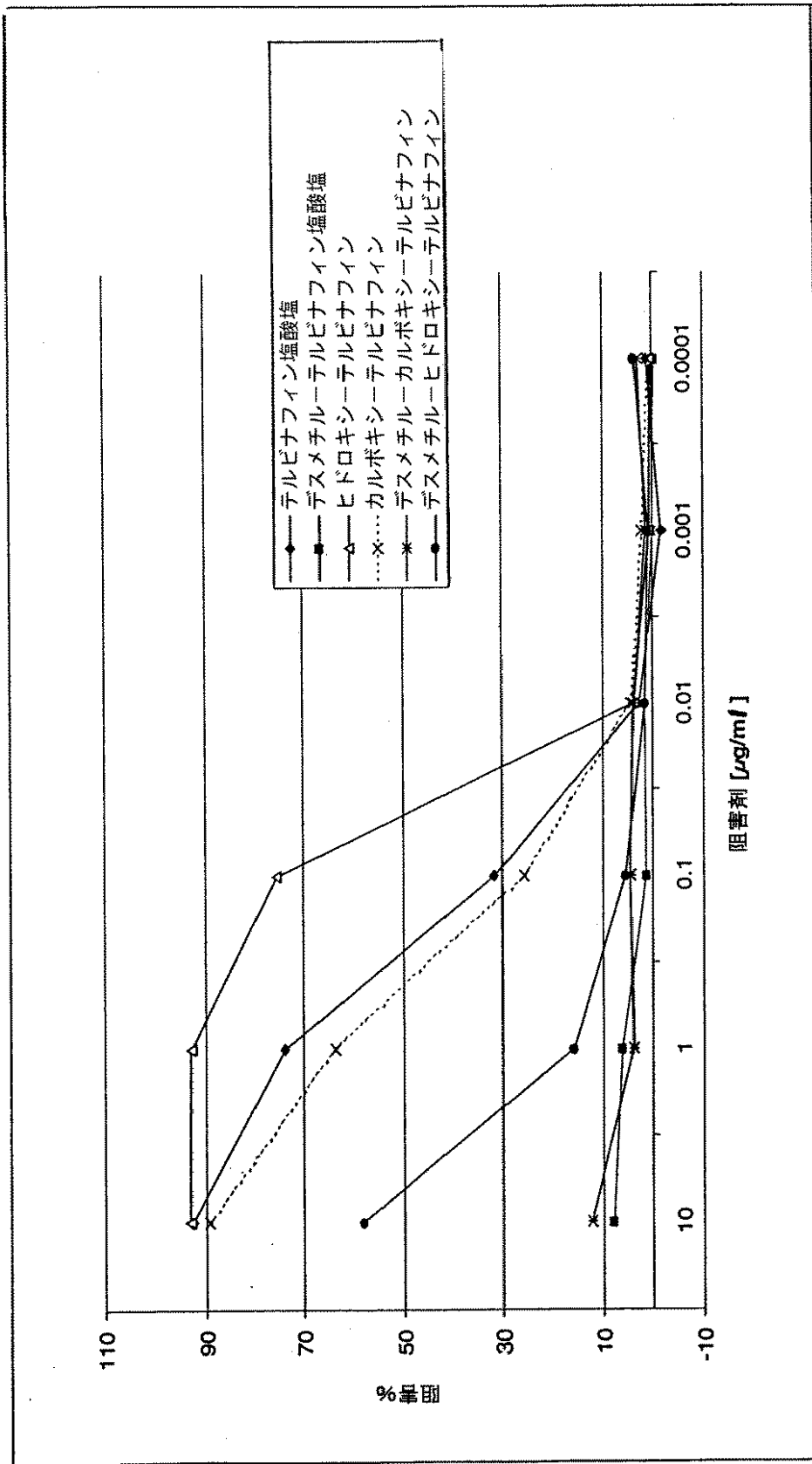
<input type="checkbox"/> この用紙は国際出願とともに受理した PCT/EP 01/01535
権限のある職員 (署名)

国際事務局記入欄

<input type="checkbox"/> この用紙は に国際事務局が 受理した
権限のある職員

【図1】

図1：交差反応性 (LAM-JA)



【手続補正書】**【提出日】**平成14年8月13日(2002.8.13)**【手続補正1】****【補正対象書類名】**明細書**【補正対象項目名】**特許請求の範囲**【補正方法】**変更**【補正の内容】****【特許請求の範囲】**

【請求項1】 テルビナフィンのデスメチル誘導体と交差反応しない、遊離形または塩形のテルビナフィンに対するモノクローナル抗体。

【請求項2】 請求項1に記載の抗体を産生できるハイブリドーマ。

【請求項3】 適当な動物に免疫原に共有結合的に結合したテルビナフィンの適当な誘導体の免疫原性接合体を投与し、接合体に感受性の抗体産生細胞を回収し、抗体産生細胞を不死化し、得られた不死化細胞系を選択し、得られた抗体をそこから回収することを含む、請求項1に記載の抗体の製造法。

【請求項4】 請求項1に記載の抗体を含む、体液またはコンパートメント、特に爪におけるテルビナフィン組織濃度および分布の測定のための免疫アッセイキット。

【國際調查報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		International Application No. PCT/EP 01/01535
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7: G01N33/577 G01N33/53 A61K47/48 C07K16/44 C12N5/20		
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) IPC 7 C07K A61K		
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) WPI Data, EPO-Internal, PAJ, MEDLINE, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE, LIFESCIENCES		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	"Instructions: Imject(R) Carboxyl Reactive Antibody Production & Purification Kits.", 1999, Published by PIERCE CHEMICAL COMPANY, ROCKFORD, IL, USA, pp. 1-7 XPO02168315 page 1 -page 7 ---	1-4,6, 8-10
A	DENOUEL ET AL: "Determination of terbinafine and its desmethyl metabolite in human plasma by high-performance liquid chromatography" JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY, vol. 8663, 1995, pages 353-359, XPO02168314 the whole document --- -/--	1-10
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
* Special categories of cited documents:		
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		*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
E earlier document but published on or after the international filing date		*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
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)		*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.
O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		*A* document member of the same patent family
P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 28 May 2001		Date of mailing of the international search report 28/06/2001
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5018 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Wagner, R

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/EP 01/01535

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, A	MACHARD ET AL: "A sensitive amphotericin B Immunoassay for Pharmacokinetic and Distribution Studies" ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, vol. 44, no. 3, March 2000 (2000-03), pages 546-550, XP000999851 the whole document ---	1-10
A	WO 97 49732 A (DOX-AL ITALIA S.P.A.) 31 December 1997 (1997-12-31) the whole document -----	1-10

1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/EP 01/01535

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9749732 A	31-12-1997	IT MI961309 A	29-12-1997
		AU 3437497 A	14-01-1998
		EP 0934339 A	11-08-1999

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-ト' (参考)
C 1 2 P 21/08		C 1 2 N 15/00	C
G 0 1 N 33/53		5/00	B
(81)指定国	EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW		
Fターム(参考)	4B024 AA11 BA53 GA03 HA03 HA11 4B064 AG27 CA10 CA20 CC01 CC24 CE12 DA13 4B065 AA91X AB05 AC14 BA08 BD14 CA25 CA46 4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 BA50 CA40 DA76 DA86 EA50 FA10 FA72 GA26		

专利名称(译)	针对特比萘芬的特异性单克隆抗体		
公开(公告)号	JP2003522537A	公开(公告)日	2003-07-29
申请号	JP2001558737	申请日	2001-02-12
[标]申请(专利权)人(译)	瑞士商诺华公司		
申请(专利权)人(译)	诺华股份公司		
[标]发明人	ビルギットドロバク ペーターヌスバウマー		
发明人	ビルギット・ドロバク ペーター・ヌスバウマー		
IPC分类号	G01N33/53 A61K47/48 C07K14/435 C07K16/18 C07K16/44 C12N5/10 C12N15/02 C12P21/08		
CPC分类号	C07K16/44 A61K47/643 A61K47/646		
FI分类号	C07K14/435 C07K16/18 C07K16/44 C12P21/08 G01N33/53.S C12N15/00.C C12N5/00.B		
F-TERM分类号	4B024/AA11 4B024/BA53 4B024/GA03 4B024/HA03 4B024/HA11 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA20 4B064/CC01 4B064/CC24 4B064/CE12 4B064/DA13 4B065/AA91X 4B065/AB05 4B065/AC14 4B065/BA08 4B065/BD14 4B065/CA25 4B065/CA46 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA50 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA50 4H045/FA10 4H045/FA72 4H045/GA26		
优先权	2000003360 2000-02-14 GB		
其他公开文献	JP3973424B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及游离碱或盐形式的抗特比萘芬的单克隆抗体，适合其生产的免疫原性缀合物，能够产生它们的杂交瘤和相应的测定试剂盒。将该抗体与合适的特比萘芬衍生物的免疫原性缀合物施用于合适的动物，所述特比萘芬的衍生物与免疫原共价连接，回收对缀合物敏感的抗体产生细胞，使抗体产生细胞永生，可以通过选择获得的永生细胞系并从中回收获得的抗体来产生。它们旨在用于测量特比萘芬组织在体液或部位（尤其是指甲）中的浓度和分布。

