

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-97225

(P2004-97225A)

(43) 公開日 平成16年4月2日(2004.4.2)

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/02	C 1 2 N 15/00	4 B O 2 4
C O 7 K 16/10	C O 7 K 16/10	4 B O 6 4
C 1 2 N 5/10	C 1 2 P 21/08	4 B O 6 5
C 1 2 P 21/08	G O 1 N 33/53	4 H O 4 5
G O 1 N 33/53	G O 1 N 33/569	
	審査請求 未請求 請求項の数 20 O L	(全 10 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2003-318535 (P2003-318535)	(71) 出願人	591011502 ワイス W y e t h アメリカ合衆国07940-0874 ニ ュージャージー州マディソン、ファイブ・ ジラルダ・ファームズ
(22) 出願日	平成15年9月10日 (2003.9.10)	(74) 代理人	100081422 弁理士 田中 光雄
(31) 優先権主張番号	60/410246	(74) 代理人	100106518 弁理士 松谷 道子
(32) 優先日	平成14年9月12日 (2002.9.12)	(74) 代理人	100116311 弁理士 元山 忠行
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100122301 弁理士 富田 憲史
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 不活性化ネコ免疫不全ウイルスコード化糖タンパク質のエピトープに特異的なモノクローナル抗体

## (57) 【要約】

本発明により、不活性化ネコ免疫不全ウイルス(F I V)エンベロープ糖タンパク質の表面タンパク質成分に独特なエピトープに特異的なモノクローナル抗体が提供される。該抗体は、不活性化F I Vの定量または不活性化F I Vワクチンの効能の測定に有用である。

【課題】 ワクチン組成物中の不活性化F I V成分のウイルス量または効能の決定に有用な公知のモノクローナル抗体が存在しない。

【解決手段】 不活性化F I V糖タンパク質のエピトープに特異的なモノクローナル抗体を提供する。

【選択図】 なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

不活性化 F I V コード化糖タンパク質に独特なエピトープに特異的なモノクローナル抗体。

## 【請求項 2】

不活性化 F I V が F I V - S h i z または F I V - P e t a l u m a である、請求項 1 記載のモノクローナル抗体。

## 【請求項 3】

糖タンパク質が g p 9 5 または g p 1 3 0 である、請求項 1 または 2 記載のモノクローナル抗体。

## 【請求項 4】

A T C C 番号第 P T A - 4 8 3 7 号として寄託された細胞株から産生される前記請求項いずれか 1 項記載のモノクローナル抗体。

## 【請求項 5】

m A b 1 D 9 である前記請求項いずれか 1 項記載のモノクローナル抗体。

## 【請求項 6】

糖タンパク質が g p 9 5 である、請求項 3 記載のモノクローナル抗体。

## 【請求項 7】

F I V が F I V - S h i z である、請求項 2 記載のモノクローナル抗体。

## 【請求項 8】

F I V がホルマリン処理により不活性化されたものである、前記請求項いずれか 1 項記載のモノクローナル抗体。

## 【請求項 9】

サンプル中の不活性化 F I V コード化糖タンパク質に独特なエピトープの検出のための方法であって、当該サンプルを不活性化 F I V コード化糖タンパク質に独特なエピトープに特異的なモノクローナル抗体と接触させて複合体を形成させること、ついで当該複合体を検出することを含む方法。

## 【請求項 10】

サンプル中の不活性化 F I V の量を測定するための方法であって、当該サンプルを不活性化 F I V コード化糖タンパク質に独特なエピトープに特異的なモノクローナル抗体と接触させて複合体を形成すること、ついで当該複合体を検出することを含む方法。

## 【請求項 11】

サンプル中の不活性化 F I V の効能を決定するための方法であって、当該サンプルを不活性化 F I V コード化糖タンパク質に独特なエピトープに特異的なモノクローナル抗体と接触させて複合体を形成すること、ついで当該複合体を検出することを含む方法。

## 【請求項 12】

モノクローナル抗体が、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載するモノクローナル抗体である、請求項 9 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 13】

不活性化 F I V コード化糖タンパク質に独特なエピトープに特異的なモノクローナル抗体を調製するための方法であって、適当な宿主を部分的に精製された不活性化 F I V で免疫化すること、当該宿主を、高 F I V 特異的抗体反応に関してスクリーニングすること、当該宿主からの脾細胞を適当な骨髓腫細胞株と融合させてハイブリドーマ細胞を作製すること、当該ハイブリドーマ細胞を不活性化 F I V との特異的反応に関してスクリーニングすること、次いで、安定したクローンを選択すること、当該安定したクローンを増殖させること、および所望のモノクローナル抗体を回収することを含む方法。

## 【請求項 14】

不活性化 F I V が F I V - S h i z または F I V - P e t a l u m a である、請求項 13 記載の方法。

## 【請求項 15】

10

20

30

40

50

F I V が F I V - S h i z である、請求項 1 3 または 1 4 記載の方法。

【請求項 1 6】

細胞株が A T C C 番号第 P T A - 4 8 3 7 号として寄託されている、請求項 1 3 ~ 1 5 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 1 7】

F I V がホルマリンでの処理により不活性化されたものである、請求項 1 3 ~ 1 6 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 1 8】

部分的に精製された、不活性化 F I V で適当な宿主を免疫化すること、当該宿主を高 F I V - 特異的抗体反応に関してスクリーニングすること、当該宿主からの脾細胞を適当な骨髓腫細胞株と融合すること、およびハイブリドーマを不活性化 F I V との特異的反応に関してスクリーニングすることにより調製される不活性化 F I V コード化糖タンパク質に独特なエピトープに特異的なモノクローナル抗体を得るのに適当なハイブリドーマ細胞株。

10

【請求項 1 9】

g p 9 5 および g p 1 3 0 から選択される不活性化 F I V コード化糖タンパク質に独特なエピトープに特異的なモノクローナル抗体を得るのに適した請求項 1 8 記載の細胞株。

【請求項 2 0】

アメリカタイプカルチャーコレクションに受入番号 P T A - 4 8 3 7 の下に寄託された細胞株。

【発明の詳細な説明】

20

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、不活性化ネコ免疫不全ウイルスコード化糖タンパク質に関する。

【背景技術】

【0 0 0 2】

ネコ免疫不全ウイルス (F I V)、最初は、ネコ T 細胞向性のレンチウイルスが、まず、Pederson et al., Scienceにより (1987) 235:790-793に報告され、飼育ネコおよびチーターにおいて同定された。該感染は世界中のネコに特有のものである。H I V 同様、F I V は国際的に関心を持たれている。アメリカネコ開業医協会 (American Association of Feline Practitioners) によれば、1 2 匹のネコの 1 匹までが F I V に関してテスト結果が陽性であり得る。感染後、熱、リンパ腺腫、および好中球減少症の一過性の期間がある。ほとんどのネコはこの段階から回復し、そして免疫不全を発症する前の数ヶ月または数年間は正常に見える。免疫不全のこの潜在的徴候のために、F I V の治療または予防のための生ウイルスワクチンを利用することは極めて危険である。F I V コード化抗原または抗原性タンパク質のエピトープに特異的なモノクローナル抗体は公知であるが (即ち、US5,177,014 および US5,219,725)、これらの抗体は不活性化 F I V の認識能を有していない。これは、現在通用している市販の F I V ワクチン (これらすべては不活性化 F I V を利用するものである) に関して、ワクチン組成物中のウイルス配合量または不活性化 F I V 成分の効能の決定に有用な公知のモノクローナル抗体はないことを意味する。

30

【発明の開示】

40

【発明が解決しようとする課題】

【0 0 0 3】

それゆえ、不活性化 F I V 糖タンパク質のエピトープに特異的なモノクローナル抗体を提供することが、本発明の目的である。

不活性化 F I V の量を決定するための方法を提供することが、本発明のさらなる目的である。

不活性化 F I V ワクチンの効能を決定するための方法を提供することが、本発明のさらなる目的である。

【0 0 0 4】

本発明のモノクローナル抗体が、不活性化 F I V 糖タンパク質のエピトープに特異的で

50

あり、そして生F I V糖タンパク質、タンパク質または抗原のエピトープを認識しないことが本発明の態様である。

本発明のさらなる目的および態様は、以下に示す詳細な記載からより明らかとなる。

【課題を解決するための手段】

【0005】

発明の概要

本発明により、不活性化ネコ免疫不全ウイルスコード化糖タンパク質に独特なエピトープに特異的なモノクローナル抗体が提供される。

本発明により、サンプル中の不活性化ネコ免疫不全ウイルスコード化糖タンパク質に独特なエピトープの検出のための方法であって、該サンプルを、不活性化ネコ免疫不全ウイルスコード化糖タンパク質に独特なエピトープに特異的なモノクローナル抗体と接触させて複合体を形成させること、および当該複合体を検出することを含む方法が提供される。

10

【0006】

発明の詳細な記載

ネコ免疫不全ウイルス(F I V)エンベロープ糖タンパク質は、細胞とのレセプター相互作用に関与しており、この相互作用により、該ウイルスに対する細胞の感受性が決定される。F I Vエンベロープ糖タンパク質は、ウイルスの侵入およびシンシチウムの形成にも関与しており、体液性および細胞性免疫反応の主要な標的である。(Bendinelli, M., et al., *Clinical Microbiology Review*, (1995) 8:87-112)。当該エンベロープ糖タンパク質は、その大部分がグルコシル化され、95,000 - 100,000の見かけの分子量を有する表面(S U)タンパク質、およびあまりグルコシル化されておらず、そして35,000 - 40,000の見かけの分子量を有する膜貫通(T M)タンパク質の、ピリオンにおける非共有結合している2つの成分から成る。(Pacino, G. et al., *Virology*, (1995) 206: 796-806)。種々の試験により、F I Vエンベロープタンパク質が、ネコにおいて予防F I V免疫化を誘導できることが示唆されている。それゆえ、F I Vエンベロープタンパク質の相対量または純度を測定する酵素結合免疫吸着アッセイ(E L I S A)は、F I Vワクチンの効能を決定するのに最も有用である。しかし、現在市販入手可能な全F I Vワクチンは、不活性化または死滅ウイルスを利用するものであり、F I VまたはF I V糖タンパク質と反応するか、もしくはそれらを認識することが公知のモノクローナル抗体は、不活性化F I VまたはF I V糖タンパク質と反応せず、またはそれらを認識しない。当該ウイルスの不活性化により、F I Vエンベロープタンパク質の構造が変化する可能性があることが提案される。

20

30

【0007】

意外にも、m A b 1 D 9と称されるモノクローナル抗体が、不活性化F I Vのみを特異的に認識し、生F I Vは認識しないことが今回見出された。さらに、E L I S Aおよび免疫沈降実験により、本発明のモノクローナル抗体がF I Vエンベロープ糖タンパク質の表面タンパク質成分と特異的に反応することが立証される。

【0008】

明細書および請求の範囲に用いられるように、モノクローナル抗体なる用語は、クローン化されて抗体産生細胞株を生じる単一抗体産生細胞から産生される抗体を示す。エピトープなる用語は、抗体により認識される特定のアミノ酸配列、修飾アミノ酸配列、またはタンパク質二次または三次構造を示す。不活性化ウイルスなる用語は、「生きていない」または「死滅」ウイルスを示す。

40

【0009】

本発明のモノクローナル抗体は、当該分野で公知の常套手段を用いて調製してよい。例えば、マウスを、F I V - S h i z、F I V - P e t a l u m aなど、好ましくはF I V - S h i zなどの、部分的に精製された、不活性化ウイルスで免疫化してもよく、マウスの尻尾からの採血を次いで抗体反応に関してスクリーニングし、融合のために選択する。クローン化したハイブリドーマ細胞を次いで選択し、そして、不活性化F I Vとの特異的反應に関してスクリーニングする。こうして得られた単一の安定なクローンのためのハイ

50

ブリードマはバイオリアクター中で増殖させてよく、そして抗体の多様な採取物をプールして、所望のモノクローナル抗体、mAb 1D9を作製してよい。

【0010】

当該抗体は、アメリカタイプカルチャーコレクション(American Type Culture Collection)に寄託され、その番号がATCC番号PTA-4837番に帰属する細胞株により産生されてよい。

ウイルスの不活性化は、常套の不活性化手段、例えば、バイナリーエチレンイミン、フェノール、 $\beta$ -ラクトプロピオネート、 $\beta$ -プロピオラクトン、ホルマリン、メルチオレート、グルテルアルデヒド、ナトリウムドデシルスルフェートなど、またはそれらの混合物、好ましくはホルマリンなどの化学的不活性化剤を用いる化学的不活性化により達成してよい。該ウイルスは、紫外線の存在下での加熱またはソラレンにより不活性化してもよい。

【0011】

本発明のモノクローナル抗体は、不活性化FIVに特異的であり、そして、不活性化ウイルスの量の測定または不活性化FIVワクチンの効能に関するアッセイに有用な、不活性化FIVエンベロープ糖タンパク質、gp95またはgp130などに独特なエピトープと十分強い相互作用を形成する。従って、本発明により、サンプル中の不活性化FIVコード化糖タンパク質に独特なエピトープの検出のための方法であって、当該サンプルを不活性化FIVコード化糖タンパク質に独特なエピトープに特異的なモノクローナル抗体と接触させて複合体を形成させること；および、当該複合体を検出することを含む方法が提供される。

【0012】

本発明の方法における使用に適したサンプルには、培地またはワクチン組成物中に不活性化ウイルスまたは不活性化ウイルス感染細胞を含むものが含まれる。

【0013】

本発明の方法における使用に適した複合体を検出する方法には、酵素-、蛍光色素-、またはビオチン標識化抗マウス抗体による検出、タンパク質Aによる検出などの、モノクローナル抗体タンパク質複合体を検出するのに一般に用いられるあらゆる常套手段が含まれる。実際の実施において、本発明の方法は、モノクローナル抗体、mAb 1D9を検出抗体として含むELISAまたは免疫沈降アッセイにおいて実行されてよい。

【0014】

本発明のより明確な理解のために、以下の実施例を以下に示す。これらの実施例は単なる例示であって、いずれにしても本発明の範囲または基本的な原理を制限するものと理解されるべきでない。実際、本明細書中に示すものおよび記載するものに加えて、本発明の種々の変更が、以下に示す実施例および前記の記載から当該分野の専門家に明らかとなる。そのような変更も、添付の請求の範囲の範囲内にあるものとする。

他を示さない限り、全部分は重量部である。

【実施例1】

【0015】

不活性化FIVコード化糖タンパク質のエピトープに特異的なモノクローナル抗体の調製細胞およびウイルス

FIV-シズオカ(FIV-Shiz、サブタイプDFIV)を、FIV-シズオカおよびFeT-J(ATCC受入番号CRL11967)由来の、Shizと称されるIL-2非依存細胞株である持続感染させたリンパ球細胞株にて増殖させた。FIV-シズオカ持続感染細胞株も、ATCCに受入番号CR011976の下に寄託されている。抗原ストックを作製するために、ウイルス流体を、ホルマリンを用いて不活性化し、そして限外濾過を用いて濃縮した。

【0016】

抗原ストックは、適当に感受性のある細胞株およびIL-2依存性または非依存性ネコT-細胞株、PMBC、CRFK、NYA-1(ATCC受入番号CRL-2417)、Fe

t-1M(ATCC受入番号CRL-10775)、FeT-2D(ATCC受入番号10774)、FeT-1C(ATCC受入番号CRL-11968)、FL-4(ATCC受入番号10772)、FL-6(ATCC受入番号10773)などにおいて増殖させた、または、それから誘導されるFIV持続感染細胞株、ATCC受入番号VR-1312を有するFIV-CRFK細胞株、ATCC受入番号11975下に寄託されているFIV-Bangston感染細胞株、および例えば米国特許第6,254,872号に開示されているものなどにおいて増殖させたフィールド単離物、FIV株NCSU1(ATCC受入番号VR-2333)、FIV株UC24818(ATCC受入番号VR-2619)、FIV-Petaluma(サブタイプA、ATCC受入番号VR-2186)、FIV-Dixon(サブタイプA)、FIV-UK8(サブタイプA)、FIV-Bangston(サブタイプB)、FIV-Amori-1(サブタイプB)、FIV-Amori-2(サブタイプB)などの種々の他のFIV株およびサブタイプからも同様に調製される。

10

#### 【0017】

#### モノクローナル抗体の作製

Balb/cマウスをグリセロール勾配法を用いて精製したホルマリン処理したFIV-Shizウイルスで2回免疫化した。注射部位は両注射に関して皮下におけるものであった。マウスの尻尾からの採血を、抗体反応に関してスクリーニングする。高FIV特異的抗体力価を示す1匹のマウスを融合のために選択した。これらのマウスから集めた脾細胞をSP2/0骨髓腫細胞へと融合した。ハイブリドーマ細胞を、Cold Spring Harbor PressのEd HarlowおよびDavid Laneによる「抗体：研究室マニュアル」に記載されているように選択した。一次ハイブリドーマクローンをホルマリン処理したFIV-Shizとの特異的反応に関してスクリーニングした。1の安定なクローン、mAb 1D9を得た。mAb 1D9に関するハイブリドーマを、Heraeus miniPERMバイオリアクター中で増殖させた。抗体の多数の採取物を得、そしてプールして、大量のmAb 1D9を作製した。

20

#### 【実施例2】

#### 【0018】

#### 酵素結合免疫吸着アッセイにおける検出抗体としてのモノクローナル抗体、mAb 1D9の使用

この評価では、ガラナス・ニバリス免疫凝集素(GNA)を用いて糖タンパク質を捕獲する。このGNA ELISAは、GNAの結合の高い選択性と、HIV-1、HIV-2、SIVおよびFIVの糖タンパク質とのその広範な反応性を合わせ持つ。まず、96穴のマイクロウェルプレートを、50mMの炭酸塩、pH9.6中10μg/mLのGNAで1時間37にてコートした。ウェルをPBS-10%FBSで2時間37でブロックした後、1%のエンピゲン(Empigen)BB(Calbiochem)にて1時間37にて処理したサンプルを添加し、そして2時間37にてインキュベートした。非結合抗原を3回、0.1%トウイン20を含んでいるPBSで洗浄することにより除去した。1:8,000に希釈した実施例1のモノクローナル抗体、mAb 1D9を各ウェルに添加し、そしてプレートを37にて1時間インキュベートした。洗浄後、1:1,000に希釈したペルオキシダーゼ標識化ヤギ抗マウスIgG、Kirkegaard & Perry Laboratories (KPL)を添加し、次いでプレートを37にて1時間インキュベートし、次いで洗浄して、TMBペルオキシダーゼ基質(KPL)を用いて展開した。プレートを5分間の反応期間後、650nmマイナス490nmにて記録した。

30

40

#### 【実施例3】

#### 【0019】

#### 免疫沈降アッセイにおける検出抗体としてのモノクローナル抗体、mAb 1D9の使用

本評価では、ホルマリンで不活性化FIV-Petalumaウイルス(5%未満がFIVタンパク質である0.38mgのトータルのタンパク質)に富むウイルスストックを、2mLのPBS中5mgのスルホ-NHS-LC-ビオチン(Pierce)と共に氷上で1時間インキュベートした。組み込まれていないビオチン試薬を透析により除去した後、ウイ

50

ルスを含んでいるサンプルを1時間、12 mLのPBS中1%のトライトンX-100で抽出し、そして100,000gにて2時間遠心分離した。上清を回収し、そして免疫沈降のために用いた。免疫沈降は、600 µLの抽出物を80 µLのmAb 1D9またはmAb H5332のいずれかと共に4 にて1時間インキュベートすることにより行った。ボレリアOspAタンパク質に対して特異性を有するmAb H5332を無関係な抗体対照として用いた。免疫複合体を免疫化タンパク質G (Pierce)上に回収し、4回冷PBS-1%NP-40で洗浄し、Laemlliバッファー中に再懸濁し、そしてSDS-PAGEおよびウェスタンブロッティングに供した。プロットを60分間スーパーブロック(Pierce)でブロックし、そして次いで45分間、1:400,000に希釈したペルオキシダーゼ標識化ストレプトアビジン(KPL)と共にインキュベートした。膜を4回PBS-0.05%トウイン-20で洗浄し、そしてビオチン-ストレプトアビジン複合体をスーパーシグナル化学ルミネセンス検出キット(Pierce)を用い、その後X線フィルムに曝すことにより検出した。

10

#### 【実施例4】

#### 【0020】

#### モノクローナル抗体、mAb 1D9の特異性の評価

#### 細胞およびウイルス

FIV-シズオカ(FIV-Shiz)およびFIV-Petalumaを、それぞれShizおよびFL-6と指定する持続感染させたリンパ球細胞株中で増殖させた。ネコ白血病ウイルス(FELV)を長期的に感染させた細胞株中で増殖させた。ネコカリシウイルス(FCV)、ネコウイルス性ライノ鼻気管炎ウイルス(FVR)およびネコ全白血病減少症ウイルス(FPV)を、Crandellネコ腎臓細胞において増殖させた。抗原ストックを作製するために、ウイルス流体をホルマリンで不活性化させ、そして超濾過を用いて遠心分離した。

20

#### 【0021】

#### 評価

この評価において、mAb 1D9の特異性を、前記実施例2および3に記載するELISAおよび免疫沈降法の両方を用いて測定した。

#### A-GNA ELISA

種々の抗原サンプルを、実施例2に記載するアッセイを用いて試験した。結果を以下の表Iに示す。

30

#### 【0022】

## 【表 1】

表 I

抗原サンプル	抗原サンプル濃度	光学密度 $A_{650}-A_{492}$ 値
不活性化FIV-Shizウイルス	1×	0.572
不活性化FIV-Petalumaウイルス	1×	0.385
生FIV-Shizウイルス	1×	<u>0.006</u>
生FIV-Petalumaウイルス	1×	<u>0.006</u>
不活性化FetJ TCS	1×	0.027
不活性化FeLV	1×	0.020
不活性化FCV	1×	0.027
不活性化FVR	1×	0.027
不活性化FPV	1×	0.026
生FeLV	$10^{6.63}$ TCID <sub>50</sub> /mL	0.039
生FCV	$10^{7.67}$ TCID <sub>50</sub> /mL	0.035
生FVR	$10^{7.48}$ TCID <sub>50</sub> /mL	0.039
生FPV	$10^{6.75}$ TCID <sub>50</sub> /mL	0.051
非抗原対照	0	0.033

10

20

## 【0023】

観察

1 : 8000 希釈で用いる場合、mAb 1D9 は、不活性化 F I V - S h i z および不活性化 P e t a l u m a サンプルの両方とよく反応した。これに対して、mAb 1D9 は、それを生 F e L V、F C V、F V R および F P V、またはこれら種々のウイルスのための不活性化抗原ストックのいずれかのサンプルを用いて試験した場合には、反応を示さなかった。都合よくは mAb 1D9 は、不活性化 F I V - S h i z および不活性化 F I V - S h i z の両方のサンプルとはよく反応するにも関わらず、生 F I V - P e t a l u m a または生 F I V - シズオカのサンプルとは反応しない。表 I の E L I S A データは、モノクローナル抗体 mAb 1D9 に基づく G N A E L I S A を用いて、F I V 糖タンパク質を特異的に検出し得ることを示した。mAb 1D9 が、生 F I V でなくホルマリンで不活性化 F I V と反応したという観察は、mAb 1D9 により認識されるエピトープが、F I V のホルマリン処置により生成する独特なエピトープであることを示す。

30

## 【0024】

B - 免疫沈降

不活性化 F I V エンベロープ糖タンパク質に関する mAb 1D9 の特異性をさらに確認するために、不活性化 F I V に富むストックをビオチン化し、次いで、mAb 1D9 または無関係のモノクローナル抗体である mAb H5332 を用いて実施例 3 に記載するように免疫沈降した。図 1 に示すように、mAb 1D9 は、広い 95 - 100 K d のバンドにより示されるように、S U タンパク質と特異的に反応した。高分子量(約 160 K d)を有するバンドは、ホルマリン処理により架橋した他のタンパク質との S U の複合体である可能性がある。

40

## 【0025】

結論

E L I S A および免疫沈降実験の結果は、モノクローナル抗体 mAb 1D9 が、F I V エンベロープ糖タンパク質の表面タンパク質成分と特異的に反応し、そして、不活性化 F I V ワクチンの効能試験または不活性化ウイルスサンプルまたは不活性化ウイルス感染細胞サンプルの量を決定するのに適していることを示した。

## 【図面の簡単な説明】

50

## 【 0 0 2 6 】

【 図 1 】 図 1 は、不活性化ネコ免疫不全ウイルスコード化糖タンパク質の独特なエピトープに特異的として同定されたモノクローナル抗体、m A b 1 D 9 のウェスタン免疫プロット分析の写真である。図 1 を、さらに以下のように説明する。モノクローナル抗体 1 D 9 での F I V エンベロープ糖タンパク質の免疫沈降。ホルマリンで不活性化 F I V に富むウイルスストックをスルホ - N H S - L C - ビオチンでビオチン化し、そしてトライトン X - 1 0 0 で抽出した。免疫沈降は、抽出物を M a b 1 D 9 または H 5 3 3 2 とインキュベートすることにより行った。免疫複合体を固定化したタンパク質 G 上に集め、洗浄し、そして S D S - P A G E およびウェスタンブローディングに供した。プロット上のタンパク質を、ペルオキシダーゼ標識化ストレプトアビジンを用いて検出した。レーン 1 および 5、ビオチン化された分子量マーカー；レーン 2、免疫沈殿のために用いた 2 0  $\mu$  L の M a b 1 D 9；レーン 3、免疫沈殿のために用いた 1 0 0  $\mu$  L の 1 D 9；レーン 4、免疫沈殿に用いた 1 0 0  $\mu$  L の無関係なモノクローナル抗体、H 5 3 3 2。抗体の H ( 5 0 K d ) および L 鎖 ( 2 5 K d ) およびいくつかの B S A ( 6 7 K d ) は、ペルオキシダーゼ - 標識化ストレプトアビジンにより非特異的に染色された。

10

## 【 図 1 】

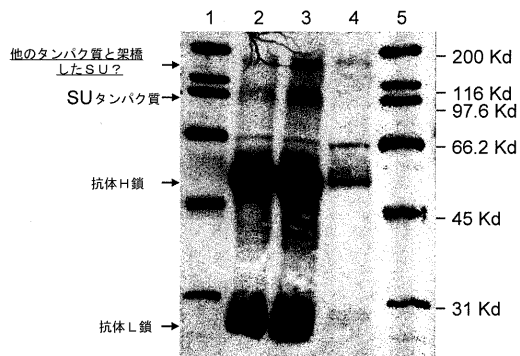


FIG.1

## フロントページの続き

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード(参考)
G 0 1 N 33/569	G 0 1 N 33/577	B
G 0 1 N 33/577	C 1 2 N 5/00	B

(72)発明者 チェンジン・マイケル・ファン

アメリカ合衆国 5 0 5 0 1 アイオワ州フォート・ドッジ、2 6 アベニュー・ノース 1 1 6 9 番

Fターム(参考) 4B024 AA11 BA51 DA02 GA03 GA18 HA15  
4B064 AG27 BA14 BA15 CA10 CA20 CC24 DA13  
4B065 AA91X AA97Y AB05 AC14 BA08 CA25 CA46  
4H045 AA11 AA20 AA30 BA53 CA01 DA76 EA50 FA72 HA05

专利名称(译)	对编码灭活的猫免疫缺陷病毒的糖蛋白的表位具有特异性的单克隆抗体		
公开(公告)号	<a href="#">JP2004097225A</a>	公开(公告)日	2004-04-02
申请号	JP2003318535	申请日	2003-09-10
[标]申请(专利权)人(译)	惠氏公司		
申请(专利权)人(译)	魏斯		
[标]发明人	チェンジンマイケルファン		
发明人	チェンジン・マイケル・ファン		
IPC分类号	G01N33/53 C07K16/00 C07K16/10 C12N5/10 C12N15/02 C12P21/08 G01N33/569 G01N33/577		
CPC分类号	C07K16/1063		
FI分类号	C12N15/00.C C07K16/10 C12P21/08 G01N33/53.D G01N33/569.H G01N33/577.B C12N5/00.B C12N5/00.102 C12N5/20		
F-TERM分类号	4B024/AA11 4B024/BA51 4B024/DA02 4B024/GA03 4B024/GA18 4B024/HA15 4B064/AG27 4B064/BA14 4B064/BA15 4B064/CA10 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/DA13 4B065/AA91X 4B065/AA97Y 4B065/AB05 4B065/AC14 4B065/BA08 4B065/CA25 4B065/CA46 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA53 4H045/CA01 4H045/DA76 4H045/EA50 4H045/FA72 4H045/HA05		
代理人(译)	田中，三夫 富田健二		
优先权	60/410246 2002-09-12 US		
其他公开文献	JP4472298B2		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

本发明提供了对表位特异的单克隆抗体，所述表位是灭活的猫免疫缺陷病毒(FIV)包膜糖蛋白的表面蛋白成分所特有的。该抗体可用于定量灭活的FIV或测量灭活的FIV疫苗的功效。没有已知的单克隆抗体可用于确定疫苗组合中灭活的FIV组分的病毒载量或功效。提供了对灭活的FIV糖蛋白的表位具有特异性的单克隆抗体。[选择图]无

【 図 1 】

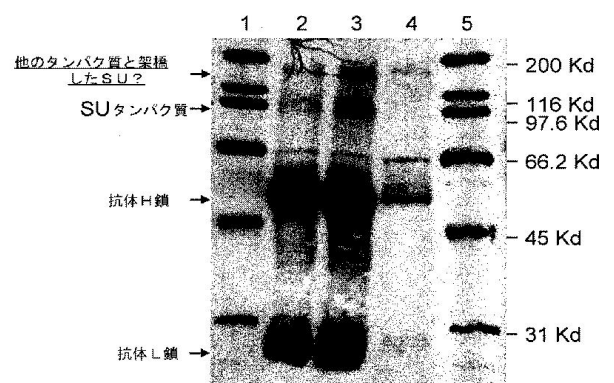


FIG. 1