

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4980516号
(P4980516)

(45) 発行日 平成24年7月18日 (2012.7.18)

(24) 登録日 平成24年4月27日 (2012.4.27)

| (51) Int.Cl. | F I |
|------------------------------|---------------|
| CO7K 16/18 (2006.01) | CO7K 16/18 |
| C12N 5/10 (2006.01) | C12N 5/00 102 |
| GO1N 33/53 (2006.01) | GO1N 33/53 D |
| GO1N 33/574 (2006.01) | GO1N 33/574 Z |
| GO1N 33/577 (2006.01) | GO1N 33/577 B |

請求項の数 21 (全 15 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2000-609452 (P2000-609452)
(86) (22) 出願日 平成12年3月31日 (2000.3.31)
(65) 公表番号 特表2002-541157 (P2002-541157A)
(43) 公表日 平成14年12月3日 (2002.12.3)
(86) 国際出願番号 PCT/EP2000/002910
(87) 国際公開番号 W02000/059943
(87) 国際公開日 平成12年10月12日 (2000.10.12)
審査請求日 平成18年12月11日 (2006.12.11)
(31) 優先権主張番号 199 15 057.5
(32) 優先日 平成11年4月1日 (1999.4.1)
(33) 優先権主張国 ドイツ (DE)

微生物の受託番号 DSMZ DSM ACC2388

(73) 特許権者 399126008
ダコ・デンマーク・エー/エス
デンマーク国 グロストループ プロドゥ
クチオンスヴァイ 42
Produktionsvej 42 D
K-2600 Glostrup Den
mark
(74) 代理人 100095832
弁理士 細田 芳徳
(72) 発明者 ゲルデス, ヨハネス
ドイツ連邦共和国 フェルトホースト デ
ー-23858 シュタインフェルト 7
9

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ヒトタンパク質Mcm3に対するモノクローナル抗体、その製造方法、およびその使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

ヒトMcm3に特異的に結合し得るモノクローナル抗体であって、受託番号DSMA
CC2388を有するハイブリドーマ細胞株から得られ得るモノクローナル抗体と同じヒ
トMcm3のエピトープと反応する、モノクローナル抗体。

【請求項2】

免疫組織学的かつ免疫生化学的の両方で、ヒトMcm3に結合し得る、請求項1記載の
モノクローナル抗体。

【請求項3】

組換え抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、合成抗体、または遺伝的に改変された抗体であ
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】

検出可能な物質で標識された、請求項1、2または3記載のモノクローナル抗体。

【請求項5】

検出可能な物質が、蛍光標識、放射性標識、酵素標識、または発光標識を含む、請求項
4記載のモノクローナル抗体。

【請求項6】

受託番号DSMA CC2388を有するハイブリドーマ細胞株により産生されるモノ
クローナル抗体。

【請求項7】

10

20

受託番号 D S M A C C 2 3 8 8 を有するハイブリドーマ細胞株。

【請求項 8】

ヒト M c m 3 タンパク質のインビトロ検出のための、請求項 1 ~ 6 いずれか記載のモノクローナル抗体の使用。

【請求項 9】

試料中のヒト M c m 3 の免疫組織学的、免疫細胞学的または免疫生化学的なインビトロ検出のための請求項 8 記載の使用。

【請求項 10】

試料が、血清、血液試料、痰、尿、組織、生検材料、婦人科学的試料、および細針吸引試料からなる群より選ばれることを特徴とする、請求項 8 または 9 記載の使用。

10

【請求項 11】

ヒト M c m 3 が、E L I S A、R I A、ウエスタンブロット法、ファーウエスタンブロット法、免疫沈降法、アフィニティークロマトグラフィー、F A C S、および磁気ビーズへの結合からなる群より選ばれる方法により検出される、請求項 8、9、または 10 記載の使用。

【請求項 12】

試料中の増殖細胞のインビトロ検出のための請求項 1 ~ 6 いずれか記載のモノクローナル抗体の使用であって、該抗体がヒト M c m 3 を検出し、それによって、試料中の増殖細胞を検出し、該検出が、K i - 6 7 および p 2 7 を検出する工程をさらに含む、使用。

【請求項 13】

癌細胞または新生物細胞のインビトロ検出におけるパラメータを提供するための請求項 1 ~ 6 いずれか記載のモノクローナル抗体の使用。

20

【請求項 14】

(i) 試料が、血清、血液試料、痰、尿、組織、生検材料、婦人科学的試料、および細針吸引試料からなる群より選ばれることを特徴とするか、または

(ii) ヒト M c m 3 が、E L I S A、R I A、ウエスタンブロット法、ファーウエスタンブロット法、免疫沈降法、アフィニティークロマトグラフィー、F A C S、および磁気ビーズへの結合からなる群より選ばれる方法により検出される、請求項 12 または 13 記載の使用。

【請求項 15】

ヒト M c m 3 タンパク質の精製のための請求項 1 ~ 6 いずれか記載のモノクローナル抗体の使用。

30

【請求項 16】

該モノクローナル抗体を用いるアフィニティークロマトグラフィーまたは免疫沈降法を含む、請求項 15 記載の使用。

【請求項 17】

請求項 1 ~ 6 いずれか記載のモノクローナル抗体を含有してなる、M c m 3 検出用組成物。

【請求項 18】

薬学的に許容しうる担体、アジュバントまたは添加剤と共に、請求項 1 ~ 6 いずれか記載のモノクローナル抗体を含有してなる、腫瘍を治療するための医薬組成物。

40

【請求項 19】

疾患の診断方法または腫瘍の治療方法に使用するための、請求項 1 ~ 6 いずれか記載のモノクローナル抗体。

【請求項 20】

腫瘍の治療のための医薬組成物の調製における請求項 1 ~ 6 いずれか記載のモノクローナル抗体の使用。

【請求項 21】

請求項 1 ~ 6 いずれか記載のモノクローナル抗体に細胞を曝露する工程を含む、細胞周期、D N A 複製または細胞増殖のいずれかを中断または阻害するためのインビトロ方法。

50

【発明の詳細な説明】

【0001】

技術分野

本発明は、ヒトタンパク質Mcm3に対するモノクローナル抗体、その製造方法およびその使用に関する。

【0002】

従来技術

Mcmは、最初にパン種の*S. cerevisiae* (S. cerevisiae)において記載された。これらのタンパク質は、DNA複製開始に重要な役割を演じることが知られており、このことは、余剰染色体DNAセグメントであるミニクロモソームの伝達率(transmittance)におけるその決定的な役割により、パン種で示された(Maineら、Genetics、1984、106:365-385)。この特徴は、これらのタンパク質をミニクロモソーム維持、Mcmと命名することの根拠となった。Mcmファミリーのタンパク質は、進化に関して高度に保持されている。

10

【0003】

現在6個のタンパク質(Mcm2、Mcm3、Mcm4、Mcm5、Mcm6、Mcm7)がヒト系統で記載されており、これらは、DNA複製に必要なタンパク質複合体を形成し他の細胞周期に依存した構造とともに、1988年にJ. J. BlowとR. A. Laskey (Nature、332:546-548)によりDNA複製許可(license)因子としてすでに仮定されている。Mcm3タンパク質は、Mcm5と生化学的に強固な結合を形成することにより、重要な役割を演じる(A. Richter、R. Knippers、Eur. J. Biochem.、1997、247:136-141)。Mcm3とMcmファミリーの他のメンバーは、細胞周期においてこのような根本的な機能をもっているため、検出システム、好ましくは免疫生化学的かつ免疫組織学的な検出が望まれている。かかる検出は、その方法で医療診断、好ましくは癌診断の新しいパラメーターが達成することができるため必要である。

20

【0004】

ヒトMcmタンパク質はウサギにおいて免疫原性であることが知られている(Thommersら、Nucleic Acid Res.、1992、20:1069-1074)。しかしながら、公知のポリクローナル抗血清は、免疫生化学的な解析(ウエスタンブロット)で単一特異的に反応しないかおよび/またはすぐにかつ常套的な免疫組織学における問題なしに適用できないかのいずれかである(Hu、B.ら、Nucleic Acid Res.、1993、21:5289-5293)。したがって、医療診断においてMcm3の検出方法として役に立ち得る手近な手段はない。

30

【0005】

発明の要約

したがって、本発明の目的は、単独でまたは互いに組み合わせて行われる生化学的なシステムや組織学的なシステムでもMcm3タンパク質をすばやく、かつ単一特異的に検出する手段を提供することにある。この検出は、単独でまたは他の公知のマーカールと組み合わせて行われ得る。

40

【0006】

本発明によれば、これは、Mcm3タンパク質に対する、免疫生化学的および免疫組織学的な検出システムの両方に適用でき、それにより、これらの検出が単独でまたは組み合わせて行われ得るモノクローナル抗体により達成される。

【0007】

さらに、本発明のモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマが開示される。

【0008】

本発明の他の局面は、本発明のモノクローナル抗体を含有してなる、診断用組成物および検出キットの提供である。

【0009】

50

さらに他の局面は、試料中におけるM c m 3の検出のため本発明のモノクローナル抗体の使用である。

【0010】

さらに、本発明のモノクローナル抗体およびハイブリドーマのそれぞれの産生に関する方法が開示されている。

【0011】

最後に、本発明は、該モノクローナル抗体を含有してなる医薬調製物および薬物ならびにある種の疾患の治療用薬剤の調製へのモノクローナル抗体の使用に関する。

【0012】

また、異常型M c M 3のレベルもしくは活性に関連する、またはM c M 3の活性もしくはレベルの調節から利益を得ることができる疾患または障害の治療方法は、本発明の範囲内である。前記方法は、例えば、被験体に局所的または全身的のいずれかで、本発明のM c m 3抗体を含有する組成物の薬学上有効量を投与することを含む。

10

【0013】

発明の詳細な説明

本発明によれば、M c m 3タンパク質に対する、免疫生化学的および免疫組織化学的な検出システムに適用でき、それにより、これらの検出が単独でまたは組み合わせて処理され得るモノクローナル抗体が提供される。

【0014】

本発明のモノクローナル抗体は、あらゆる動物またはヒトから得ることができ、それによりマウスのモノクローナル抗体が好ましい。

20

【0015】

さらに、前記モノクローナル抗体は、遺伝子操作により生化学的に改変され得る、即ち、それは、M c m 3の認識に必要であり、前記抗体にさらなる有利な特性を与える他の部位と置換される部位を、完全にまたは部分的におそらく欠損している抗体で合成され得る。

【0016】

前記検出を伴う本発明の好ましいモノクローナル抗体、即ち、モノクローナルマウス抗体を産生するハイブリドーマ細胞株は、1999年2月16日に番号D S M A C C 2 3 8 8下でブラウンシュバイクのドイツ微生物・細胞培養収蔵有限責任会社(Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH)(D S M Z)に寄託された。

30

【0017】

「抗体」という用語は、本明細書に用いられるように、免疫グロブリン分子および免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分、即ち、M c m 3に特異的に結合する(免疫反応する)抗原結合部位を含有する分子をいう。免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分の例には、ペプシンなどの酵素で前記抗体を処理することで生成され得るF(a b)フラグメントおよびF(a b')₂フラグメントが含まれる。本発明は、M c m 3に結合するモノクローナル抗体を提供する。「モノクローナル抗体」または「モノクローナル抗体組成物」という用語は、本発明に用いられるように、M c m 3の特定のエピトープと免疫反応することができる唯一の種類抗原結合部位を含む抗体分子の集団をいう。したがって、典型的にはモノクローナル抗体組成物は、免疫反応するM c m 3に対する単独の結合親和性を示す。

40

【0018】

異常型M c M 3活性に「関連する」または「特徴づけられる」疾患、障害または状態は、異常型M c m 3活性により引き起こされるまたはこれが一因となっている被験体における疾患、障害または状態をいう。

【0019】

「処置する」という用語は、本明細書に用いられるように、前記状態または疾患の少なくとも1つの症状を治療する並びに改善することを包含することが意図される。

【0020】

モノクローナル抗M c m 3抗体は、M c m 3免疫原で適当な被験体を免疫化することによ

50

り調製することができる。適切な免疫原性調製物は、例えば、組み換え的に発現されたMcm3タンパク質または化学的に合成されたMcm3ポリペプチドを含有し得る。さらに該調製物は、フロイント完全もしくは不完全アジュバントなどのアジュバント、または類似の免疫刺激剤を含有し得る。免疫原性Mcm3調製物での適当な被験体の免疫化は、抗Mcm3抗体応答を誘導する。

【0021】

免疫処理した被験体における抗Mcm3抗体力価は、固定化Mcm3を使用する固定酵素免疫測定法(ELISA)などを用いる標準的な技術により経時的にモニターされ得る。所望であれば、Mcm3に対する抗体分子を、哺乳動物から(例えば、血液から)単離し、さらにプロテインAクロマトグラフィーなどの周知の技術により精製してIgG画分を得ることができる。免疫後の適当な時間に、例えば、抗体力価が最高である場合、抗体産生細胞を被験体から得ることができ、そしてKoehlerとMilstein(1975)Nature 256:495-497)により初めて記載されたハイブリドーマ技術(Brownら、(1981)J. Immunol. 127:539-46; Brownら、(1980)J. Biol. Chem. 255:4980-83; Yehら、(1976)Proc. Natl. Acad. Sci. US. 476:2997-31; およびYehら(1982)Int. J. Cancer 29:269-75も参照のこと)、さらに最近のヒトB細胞ハイブリドーマ技術(Kozborら(1983)Immunol Today 4:72)、EBVハイブリドーマ技術(Coleら(1985) Monoclonal Antibody and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc., 77-96頁)またはトリオマ(trioma)技術などの標準的な技術によりモノクローナル抗体を調製するのに使用することができる。モノクローナル抗体ハイブリドーマを製造する技術は、周知である(一般に、R. H. Kenneth, in Monoclonal Antibodies: A New Dimension in Biological Analyses, Plenum Publishing Corp., New York, New York(1980); E. A. Lerner(1981)Yale J: Biol. Med., 54:387402; M. L. Gefterら、(1977)Somatic Cell Genet. 3:23136)。簡単には、不死化細胞株(典型的には、骨髄腫)を、前記のようにMcm3免疫原で免疫化された哺乳動物由来のリンパ球(典型的には脾細胞)に融合し、そして得られるハイブリドーマ細胞の培養上清をスクリーニングしてMcm3に結合するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマを同定する。

【0022】

リンパ球と不死化細胞株とを融合するのに使用される、多くの周知のプロトコールのいずれかを、抗Mcm3モノクローナル抗体を発生させる目的に利用することができる(例えば、G. Galfreら、(1977)Nature 266:55052; Gefterら、Somatic Cell Genet.、上述; Lerner, Yale J. Biol. Med、上述; Kenneth, Monoclonal Antibodies、上述、を参照のこと)。さらに、当業者は、このような方法に多くのバリエーションがあり、同様に有用であり得ることを認識するだろう。典型的には、不死化細胞株(例えば、骨髄腫細胞株)は、リンパ球と同じ哺乳類種に由来する。たとえば、本発明の免疫原性調製物で免疫されたマウス由来のリンパ球を不死化マウス細胞株と融合することにより、マウスハイブリドーマを作製することができる。不死化細胞株は、ヒポキサンチン、アミノプテリンおよびチミジンを含有する培地(「HAT培地」)に感受性のあるマウス骨髄腫細胞株である。標準的な技術に従い、融合パートナーとして任意の多くの骨髄腫細胞株、例えば、P3-NS1/1-Ag4-1; P3x63-Ag8.653またはSp2/O-Ag14骨髄腫株、を用いることができる。典型的には、HAT感受性のマウス骨髄腫細胞を、ポリエチレングリコール(「PEG」)を用いてマウス脾細胞に融合する。次いで、融合から得られるハイブリドーマ細胞を、未融合の骨髄腫細胞を殺す(未融合の脾細胞は形質転換されないので数日後に死ぬ)HAT培地を用いて選択する。本発明の

10

20

30

40

50

モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ細胞は、例えば、標準E L I S Aアッセイを用いて、M c m 3に結合する抗体についてハイブリドーマ培地上清をスクリーニングすることにより検出される。

【0023】

モノクローナル抗体を分泌するハイブリドーマを調製するかわりに、M c m 3で組み換えコンビナトリアル (combinatorial)免疫グロブリンライブラリー (例えば、抗体ファージディスプレイライブラリー) をスクリーニングすることによりモノクローナル抗M c m 3抗体を同定し、単離することができ、それによりM c m 3に結合する免疫グロブリンライブラリーのメンバーを単離する。ファージディスプレイライブラリーをつくり、スクリーニングするためのキットは、市販されている (例えば、ファルマシアの組み換えファージ抗体システム、カタログ番号27-9400-01; およびストラタジーンSurfZAP (登録商標)ファージディスプレイキット、カタログ番号240612)。さらに、抗体ディスプレイライブラリーを生み出し、スクリーニングする際の使用に特に影響を受けやすい方法や試薬の例は、例えば、Ladnerら、米国特許第5,223,409号; Kangら、PCT国際公開第WO92/18619号; Dowerら、PCT国際公開第WO91/17271号; Winterら、PCT国際公開第WO92/20791号; Marklandら、PCT国際公開第WO92/15679号; Breitlingら、PCT国際公開第WO93/01288号; McCaffertyら、PCT国際公開第WO92/01047号; Garrardら、PCT国際公開第WO92/09690号; Ladnerら、PCT国際公開第WO90/02809号; Fuchsら (1991) Bio/Technology 9:1370-1372; Hayら (1992) Hum. Antibod. Hybridomas 3:81-85; Huseら (1989) Science 246:1275-1281; Griffithsら (1993) EMBO J 12:725-734; Hawkinsら (1992) J. Mol. Biol. 226:889-896; Clarksonら (1991) Nature 352:624-628; Gramら (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:3576-3580; Garradら (1991) Bio/Technology 9:1373-1377; Hoogenboomら (1991) J. Mol. Biol. 226:4133-4137; Barbasら (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:7978-7982; およびMcCaffertyら、Nature (1990) 348:552-554に見られうる。

【0024】

さらに、標準的な組み換えDNA技術を用いて作製することができる、ヒトおよび非ヒト部位の両方を含有するキメラおよびヒト化モノクローナル抗体などの組み換え抗M c m 3抗体は、本発明の範囲内である。かかるキメラおよびヒト化モノクローナル抗体は、当該技術分野で公知の組み換えDNA技術により、例えば、Robinsonら、国際出願第PCT/US86/02269号; Akiraら、欧州特許出願第184,187号; Taniguchi, M., 欧州特許出願第171,496号; Morrisonら、欧州特許出願第173,494号; Neubergerら、PCT国際公開第WO86/01533号; Cabillyら、米国特許第4,816,567号; Cabillyら、欧州特許出願第12,502,302号; Betterら (1988) Science 240:1041-1043; Liuら (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:3439-3443; Liuら (1987) J. Immunol. 139:3521-3526; Sunら (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:214-218; Nishimuraら (1987) Canc. Res. 47:999-1005; Woodら (1985) Nature 314:446-449; およびShawら (1988) J. Natl. Cancer Inst. 80:1553-1559; Morrison, S. L. (1985) Science 229:1202-1207; Oiら (1986) Bio Techniques 4:214; Winter、米国特許第5,225,539号; Jonesら (1986) Natur

10

20

30

40

50

e 321:552-525; Verhoeyanら(1988) Science 239:1534; および Seidlerら(1988) J. Immunol. 141:4053-4060に記載の方法を用いて製造され得る。抗Mcm3モノクローナル抗体は、アフィニティークロマトグラフィーまたは免疫沈降などの標準的な技術によりMcm3を単離するのに使用され得る。抗Mcm3抗体は、Mcm3の発現の存在量およびパターンを評価するためにMcm3タンパク質を(例えば、細胞溶解物または細胞上清において)検出するのに使用され得る。抗Mcm3抗体は、臨床試験の手順の一部として、例えば、所定の治療プログラムの効力を決定するために、組織のタンパク質レベルをモニターするのに、診断的に使用することができる。検出は、検出可能な物質に抗体を結合すること(即ち、物理的に連結すること)により、促進され得る。検出可能な物質の例には、様々な酵素、置換基、蛍光物質、発光物質、生物発光物質、および放射性物質が含まれる。好適な酵素の例には、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリ性ホスファターゼ、(-ガラクトシダーゼ、またはアセチルコリンエステラーゼ)が含まれる;好適な置換基複合体の例には、ストレプトアビジン/ビオチンおよびアビジン/ビオチンが含まれる;好適な蛍光物質の例には、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、ダンシルクロリド、Cy色素、アレキサ色素またはフィコエリトリンが含まれる;発光物質の例にはルミノールが含まれる;生物発光物質の例には、ルシフェラーゼ、ルシフェリン、およびエクオリンが含まれ、そして好適な放射性物質の例には¹²⁵I、¹³¹I、³⁵Sまたは³Hが含まれる。

10

【0025】

20

好ましくは、本発明のモノクローナル抗体は、更に後述する一次スクリーニングストラテジーで製造することができる。多数の調製されるハイブリドーマは、Mcm3タンパク質に対して単一特異的ではないか、または免疫生化学的検出システムにのみ適用できるが、免疫組織学的システムでは適用できない(またはその逆)かのいずれかであるため、生成されるハイブリドーマ細胞の初期試験では、両方の特性を有する本発明のモノクローナル抗体を製造するためにこのストラテジーを必要とする。

【0026】

本発明の特性を有する遺伝学的に改変された抗体および/または合成抗体の作製について、例えば、前記のようにして得られるモノクローナル抗体から開始することができる。これについて、モノクローナル抗体のMcm3結合領域を解析し、前記の検出に必要な部分および不必要な部分を同定するのに好適である。次いで、前記必要な部分は修飾することができ、前記不必要な部分は完全にまたは部分的に除去することができ、そして、それぞれ、抗体にさらに有利な特性を与える部分と置換することができる。また、抗体の結合領域以外の部分は、修飾、除去、または置換され得る。特にDNA組み換え技術は前記測定に好適であることは当業者に公知である。

30

【0027】

本発明のモノクローナル抗体は、生化学的検出システムおよび組織学的検出システムの両方において単一特異的にMcm3を検出することが特徴である。したがって、該抗体は、非常に異なる試料におけるMcm3発現の迅速な検出に好適である。

【0028】

40

本明細書の文脈において、「試料」という用語は、本発明の目的に適するすべての種類の試料を包含することが意図される。かかる試料の例は、血清、痰(sputum)、尿、液、組織および生検材料である。特に、該試料は血液試料または婦人科学的試料でありうる。

【0029】

これらの特徴のため、本発明の抗体は、例えばウエスタンブロットまたは免疫沈降により得られる定量的発現パラメータを用い、例えば免疫組織化学により測定される組織トポロジー分散解析が比較に基づいて解析される、診断的課題への適用に非常に好適である。

【0030】

本発明の抗体を用い、Mcm3発現の単一特異的検出が、ELISA、ウエスタンブロットおよび免疫沈降などの逐一行う免疫生化学的検出法において(本発明ではウエスタンブ

50

ロットが好ましい)、または免疫組織化学的組織、好ましくは常套手段により固定化およびパラフィン包埋した組織において高い信頼度で行われうる。このため、本発明の抗体は、適切であれば上述のように標識してもよく、あるいは自身もしくは他の試薬に対する標識抗体と組み合わせて使用してもよい。

【0031】

本発明のモノクローナル抗体は、DNA前駆体の集合(assembly)をインビボで阻害し得、それゆえ、細胞増殖を阻害し得る。したがって、これらの抗体またはその上記誘導体は、増加した細胞増殖を伴う疾患状態の治療に好適である。かかる疾患の例は、腫瘍(tumour)、アレルギー、自己免疫疾患、癒痕形成、炎症およびリウマチ病ならびに移植の防御反応の抑制である。

10

【0032】

医薬組成物または薬の製造のため、本発明のモノクローナル抗体を単独で、または一般的な担体、アジュバントおよび/または添加剤と組み合わせて使用しうる。該抗体は、全身、局部、皮下、鞘内および局所の適用ならびに注腸による適用に好適である。このため、それらは、適切な溶媒中に溶解して、好ましくは水溶液として、リポソームの形態で、エマルジョンとして、または固体状態で、例えば粉末として、もしくはマイクロカプセルの形態で適用され得る。

【0033】

あるいはまた、本発明のモノクローナル抗体は、異なる医薬的活性剤を用いる併用療法において投与しうる。本発明のモノクローナル抗体を配合しうるか、あるいはまた併用療法において投与しうる医薬的活性剤は、例えば、他の抗原に対する抗体、特にモノクローナル抗体であり得、したがって、本発明のモノクローナル抗体と、関連する疾患状態の病因に關与する他の抗原に対する1種以上の(モノクローナル)抗体とを含有する「カクテル」を提供する。

20

【0034】

特に治療上有益な効果を生み出すための、本発明のモノクローナル抗体を配合しうるか、あるいはまた併用療法において投与しうるさらなる活性剤は、治療する疾患状態に依存し、例えば、市販品として入手可能な - グロブリンおよび免疫グロブリン製剤、抗生物質、殺菌製品、抗菌剤および抗腫瘍剤またはそれらの2種以上の混合物である。

【0035】

本発明のモノクローナル抗体は、腫瘍の治療において特に有利に使用しうる。すなわち、そのまま、または放線などの、従来の腫瘍治療法を妨害する他の治療法(therapeutic)および治療形態のそれぞれと組み合わせて使用しうる。かかる妨害は、ビンブラスチン(vinblastin)もしくはシスプラチンなどの非特異的細胞分裂抑制因子(cytostatic)において、いずれも副次的に、すなわち反復適用後に生じるか、または腎臓癌腫などの特定の腫瘍に初発的に存在する。

30

【0036】

かかる抗体の投与量は、治療している症状および治療のレシピエントにより変わるが、成人患者に対して1~約100mgの範囲であり、好ましくは1~10mgを、通常、ある一定期間、毎日投与する。1~5mgを投与する二部投与(two part dosing)治療プログラム(regime)が好ましい。

40

【0037】

別の好ましい態様では、Mc m3の検出は、タンパク質Ki-67およびp27の検出と組み合わせて行われる。

【0038】

過去16年間で組織病理学的診断に使用された細胞周期関連タンパク質のうち、最も言及されたものの1つはKi-67タンパク質である(Scholzen T および Gerdes J (2000) J Cell Physiol 182: 311-322; Gerdes J, Schwab U, Lemke H および Stein H (1983). Int. J. Cancer 31, 13-20)。Ki-67タンパク質は、増殖中の細胞において発現されるが、細胞が休止状態に入ると速やかに消失する(Baisch, H および Gerdes, J (1987

50

). Cell Tissue Kinet. 20 (4), 387-391)。臨床研究により、Ki-67 抗原は、多くの異なるヒト新生物、例えば、乳癌 (Jansen RL, Hupperets PS, Arends JW, Joosten-Achjanie SR, Volovics A, Schouten HC および Hillen HF (1998). Br. J. Cancer, 78:460-465)、軟組織肉腫、髄膜腫(meningeoma) (Perry A, Stafford SL, Scheithauer BW, Suman VJ および Lohse CM (1998). Cancer 82: 2262-2269)、前立腺癌 (Mashal RD, Lester S, Corless C, Richie JP, Chandra R, Propert KJ および Dutta A (1996) Cancer Res 56(18):4159-63) および非ホジキンリンパ腫 (Gerdesら (1984), J. Immunol. 133:1710-1715) における独立した予後マーカーであることが示されている。

【0039】

タンパク質 p27 は、細胞周期中の規定のチェックポイントでサイクリン依存性キナーゼ複合体に結合し、不活化することにより細胞周期の進行を調節するサイクリン依存性キナーゼインヒビター (CDKI) ファミリーに属する (Toyoshima H および Hunter T (1994) Cell 78(1):67-74)。p27 の発現は、正常発達組織における、また無調節化 (deregulated) 成長を示す腫瘍における分化の強力なマーカーとしての役割を果たす (Lloyd RV, Jin L, Qian X および Kulig E (1997) Am J Path 150: 401-407., Zhang P, Wong C, DePinho RA, Harper JW および Elledge SJ (1998) Genes Dev 12(20):3162-3167)。

10

【0040】

3種のタンパク質を同時に検出する、組織の組み合わせ染色を行うことは、個々の腫瘍成長を決定する細胞の増殖プロセスおよび分化プロセスのより詳細な評価を可能にする。MCM3 タンパク質は、増殖を停止したが、p27 タンパク質発現の非存在により最終的に分化していない細胞において発現されるが、Ki-67 は増殖中の細胞のみで発現される。p27 は、休止細胞において見出され得るが、増殖中の細胞では見られない。Ki-67、MCM3 および p27 は、障害性細胞成長および腫瘍形成 (tumorigenesis) の詳細な特徴付けに適する相補的生物学的特性を規定する一組のパラメータを提供する。腫瘍診断はまた、これらのマーカーの組み合わせ評価から利益を得ることもあり、これは、個々の患者にとって最も適切な治療概念を選択するのに役立つ。

20

【0041】

本発明を以下の実施例により説明する。

【0042】

実施例

30

実施例 1

本発明のモノクローナル抗体の産生

マウスを免疫処置 (immunisation) に用いた。組換えヒト MCM3 タンパク質を抗原として用いた。

【0043】

免疫処置および融合の説明

1日目: 100 μ l の PBS (リン酸緩衝生理食塩水) 中 100 μ g の MCM3 タンパク質を、100 μ l のフロイントアジュバントと完全かつ十分に混合し、続いてマウスに注射した。

【0044】

14日目: 100 μ l の PBS 中 50 μ g の MCM3 タンパク質を、100 μ l のフロイントアジュバントと完全かつ十分に混合し、続いてマウスに注射した。

40

【0045】

21日目: 100 μ l の PBS 中 50 μ g の MCM3 タンパク質を、100 μ l のフロイントアジュバントと完全かつ十分に混合し、続いてマウスに注射した。

【0046】

37日目: 100 μ l の PBS 中 50 μ g の MCM3 タンパク質を、100 μ l のフロイントアジュバントと完全かつ十分に混合し、続いてマウスに注射した。

【0047】

39日目にマウスを無痛的に屠殺した。脾臓細胞を取り出し、骨髓腫細胞と融合した。完

50

全成長に達したハイブリドーマを得た。

【0048】

ハイブリドーマ上清みのスクリーニングとクローン化

まず、完全成長に達したハイブリドーマの上清みをスポット・プロット (spot-blot) ・アッセイにおいて試験した。このため、1 ml の組換えヒト M c m 3 含有 (2 ng / ml) P B S を、1 c m × 0 . 5 c m の大きさのニトロセルロース膜片に置いた。これらの小片を 48 穴プレートに置き、15 分間室温で乾燥した。続いて、ブロッキングバッファー (puffer) (P B S、0 . 0 0 5 T w e e n 2 0、4 % ゼラチン) とともに 45 分間室温でインキュベートした。P B S (0 . 0 5 % T w e e n 2 0、0 . 5 % ゼラチン) での数回の洗浄工程後、ハイブリドーマ上清みとともに 60 分間室温でインキュベートした。P B S (0 . 0 5 % T w e e n 2 0、0 . 5 % ゼラチン) での数回の洗浄工程後、市販品として入手可能なホスファターゼ結合ヤギ抗マウス抗体 (Dianova、ハンブルク) (製造業者の指示書に従って 1 : 1 0 0 0 0 に希釈) を添加した。P B S (0 . 0 5 % T w e e n 2 0、0 . 5 % ゼラチン) とともに室温で 1 時間インキュベートした後、アルカリホスファターゼ検出反応を、顕色溶液 (36 mM 5 ' ブロモ - 4 - クロロ - 3 - インドリルホスフェート; 400 mM ニトロブルーテトラゾリウム、100 mM T r i s - H C l、p H 9 . 5、100 mM N a C l、5 mM M g C l₂) を用い、10 分間室温で行った。

10

【0049】

スポット・プロット試験において陽性であったハイブリドーマ上清みを、続いて免疫組織学的に試験した。このため、パラフィン切片、例えば扁桃を標準的な手法 (2 × 100 % キシレン、2 × 100 % E t O H、2 × 70 % E t O H、2 × 40 % E t O H) に従って脱水した後、水中で手短かに洗浄した。次いで、加圧炉 (pressure cooker) 内で 1 ~ 5 分間、クエン酸バッファー p H 6 (1 l に対して 2 . 1 g クエン酸一水和物を p H 6 に 2 N N a O H で調整する) 中で切片を加熱 (cook) した。炉を開口した後、切片を直ちに冷 (R T) T B S 中で洗浄し、続いて加湿チャンバ内で 30 分間、ハイブリドーマ上清みとともにインキュベートした。T B S 中で数回洗浄した後、切片に結合した抗体を間接イムノペルオキシダーゼ法により検出し、ヘマラムで染色し、包埋し、鏡検にて評価した。

20

【0050】

本発明の抗体は以下の染色パターンを示す。該抗体は、増殖領域の細胞の核と主に反応し、これは、ヒト扁桃の胚中心内の暗いゾーンの細胞が M c m 3 に対して陽性に染色されるという事実により示される。同様に、正常粘膜の基底層付近の細胞は M c m 3 特異的抗体と反応する。M c m 3 染色はまた、口腔粘膜の非増殖細胞コンパートメントに属する中間層および上層にも見られたということは注目に値する。

30

【0051】

スポット・プロットおよび免疫組織学の両方において陽性であったハイブリドーマをクローン化し、それらがモノクローナルとなるまで再クローン化した。独立したモノクローナル抗体を得た。本発明のモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ細胞株を、ブラウンシュヴァイクの Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ) に、1999年2月16日に番号 D S M A C C 2 3 8 8 で寄託した。

40

【0052】

実施例 2

ポリクローナルウサギ抗 M c m 3 抗体および本発明のモノクローナル抗体を用いた細胞溶解物のウエスタンブロット解析

細胞株 H E L A (H) および C H O (C) の細胞溶解物を、ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動 (S D S P A G E) に供した。ゲル中で分離したタンパク質を、wet - プロットティングチャンバ内のニトロセルロース膜に一晩で移した。次いで、希釈したウサギ抗 M c m 3 抗血清 (Hu, B.ら、Nucleic Acid Res., 1993, 21: 5289-5293) (0 . 1 5 μ g / m l) とともに 1 時間室温でこの膜をインキュベートした。P B S (0 . 0 5 % T w e e n 2 0、0 . 5 % ゼラチン) での数回の洗浄工程後、市販品とし

50

て入手可能なホスファターゼ結合ヤギ - ウサギ抗体（製造業者（Dianova、ハンブルク）の指示書に従って1：10000に希釈）を添加した。1時間室温でインキュベートし、もう一度TNT - バッファー（150mM NaCl、10mM Tris pH7.5、0.05% Tween 20）中で洗浄した後、製造業者の指示書に従って、ECLシステム（Amersham Life Science、ブラウンシュヴァイク）を用いる化学蛍光法により検出を行った。

【0053】

図1において確認できるように、ポリクローナル抗Mcm3ウサギ抗体は、見かけ分子量105kDaの予期した明白な主タンパク質のバンドに加えて、分子量が50kDa~90kDaの範囲のさらなるタンパク質を示すことが判明した。

10

【0054】

本発明のモノクローナル抗Mcm3抗体は、見かけ分子量105kDaの予期したタンパク質のバンドのみを示した。

【0055】

さらに、免疫組織化学的研究において、本発明のモノクローナル抗体は、Mcm3の検出に対する有用性を示す。

【0056】

実施例3

本発明の抗Mcm3抗体を用いる免疫沈降

1μgの抗Mcm3一次抗体を10μlのDynaビーズ（Dyna M280ヒツジ抗マウス、Dyna、ハンブルク）に添加し、回転下4で30分間インキュベートする。

20

【0057】

細胞調製物（ 1×10^6 細胞）を、プロテアーゼインヒビターを含有する免疫沈降バッファー（18mM Tris/HCl、150mM NaCl、0.3%ヘキサデシルメチル - アンモニウムブロミド、5mM EDTAおよび1mM DTT）中に入れ、5分間加熱し、氷上で冷却し、遠心分離（5分間、14000rpm）する。過剰の液体をDyna M280ビーズ/一次抗体複合体に添加し、ローラー上で30分間4でインキュベートする。

【0058】

次いで、Dyna M280磁気濃縮器内にチューブを20秒間入れ、過剰の液体を除去する。磁気ビーズを500μlのNET（Tris/HCl 18mM、NaCl 150mM、EDTA 5mM、DTT 1mM）中に再懸濁し、再度磁気濃縮器内に入れ、20秒後に上清みを除去する。このようにして、ビーズを数回洗浄する。

30

【0059】

こうして精製したMcm3を、次いでSDS - PAGEにより解析しうる。

【0060】

実施例4

永久細胞株細胞の核における本発明の抗Mcm3抗体のマイクロインジェクション

マイクロインジェクションのためにCELLocate（登録商標）カバーガラス上でHEp-2を培養し、対数増殖期間において使用した。本発明の抗Mcm3抗体および関連性のない対照抗体のそれぞれを、光学顕微鏡の制御（control）下（インジェクション圧130hPa；インジェクション時間0.3~0.5秒）、トランスジェクター（transjector）およびマイクロマニピュレータ（micro manipulator）で核内にマイクロインジェクトした。次いで、インジェクトされた細胞を、プロモデソキシウリジン（BrdU）含有（0.1mM）培地とともに6時間培養した。固定化（5分間、4%パラホルムアルデヒド、室温）後、カバーガラスをTris緩衝生理食塩水（TBS）中で3回洗浄し、100%EtOH中で10分間 - 20でインキュベートした後、直接0.1%Triton X-100 TBS中に10分間室温で移すことにより接着性細胞の透過を行った。次いで、市販品として入手可能なCy3結合ヤギ抗マウス抗体（Dianova、ハンブルク）（製造業者の指示書に従ってPBS/10%ウシ血清アルブミン中で希釈）を用いてイ

40

50

ンジェクトされた抗体を検出した。細胞内に固定化された B r d U の検出のために 2 M H C l 中で 6 0 分間 3 7 ° で調製物をまずインキュベートした。続いて、調製物をまず蒸留水で数回洗浄し、次いで P B S で 2 回洗浄した。次に、加湿チャンバ内で一晚 4 ° で、市販品として入手可能な F I T C 標識抗 B r d U 抗体 (Boehringer Mannheim, Mannheim) (製造業者の指示書に従って希釈) とともにインキュベートを行った。次いで、調製物を十分に 5 回 P B S 中で 1 0 分間洗浄し、9 0 % グリセロール中 D A B C O (1 , 4 - ジアザピシクロ [2 , 2 , 2] オクタン) で覆い、蛍光顕微鏡で評価した。

【 0 0 6 1 】

対照抗体をインジェクトされたほとんどすべての細胞が、B r d U もまた取り込み、したがって、実験中、正常な細胞周期を経過したことがわかった。対照的に、本発明の抗 M c m 3 抗体をインジェクトした細胞の 2 0 % ~ 5 0 % のみが B r d U を取り込んだ。したがって、これらの細胞の増殖は本発明の抗体により阻害された。

【 0 0 6 2 】

参照文献

1. Maine ら, Genetics, 1984, 106:365-385
2. J.J. Blow および R.A. Laskey, Nature, 1988, 332:546-548
3. A. Richter, R. Knippers, Eur. J. Biochem., 1997, 247:136-141
4. Thommes ら, Nucleic Acid Res., 1992, 20:1069-1074
5. Hu, B. ら, Nucleic Acid Res., 1993, 21:5289-5293
6. Koehler および Milstein, Nature, 1975, 256:495-497
7. Brown ら, J. Immunol., 1981, 127:539-46 (1981)
8. Brown ら, J. Biol. Chem., 1980, 255:4980-83
9. Yeh ら, Proc. Natl. Acad. Sci. US. 4 76:2997-3 1 (1976)
10. Yeh ら, Int. J. Cancer, 1982, 29:269-75
11. Kozbor ら, Immunol Today, 1983, 4:72
12. Cole ら, (1985), Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc., 77-96 頁
13. R. H. Kenneth, in Monoclonal Antibodies: A new Dimension in Biological Analyses, Plenum Publishing Corp., New York, New York (1980)
14. E. A. Lerner, Yale J: Biol. Med., 1981, 54:387402
15. M. L. Geftter ら, Somatic Cell Genet., 1977, 3
16. G. Galfre ら, Nature, 1977, 266:55052
17. Ladner ら, 米国特許第 5,223,409 号
18. Kang ら, PCT 国際公開第 WO 92/18619 号
19. Dower ら, PCT 国際公開第 WO 91/17271 号
20. Winter ら, PCT 国際公開第 WO 92/20791 号
21. Markland ら, PCT 国際公開第 WO 92/15679 号
22. Breitling ら, PCT 国際公開第 WO 93/01288 号
23. McCafferty ら, PCT 国際公開第 WO 92/01047 号
24. Garrard ら, PCT 国際公開第 WO 92/09690 号
25. Ladner ら, PCT 国際公開第 WO 90/02809 号
26. Fuchs ら, Bio/Technology, 1991, 9:1370-1372
27. Hay ら, Hum. Antibod. Hybridomas, 1992, 3:81-85
28. Huse ら, Science, 1989, 246:1275-1281
29. Griffiths ら, EMBO J, 1993, 12:725-734
30. Hawkins ら, J. Mol. Biol., 1992, 226:889-896
31. Clarkson ら, Nature, 1991, 352:624-628
33. Gram ら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1992, 89:35763580
34. Garrard ら, Bio/Technology, 1991, 9:1373-1377
35. Hoogenboom ら, J. Mol. Biol., 1991, 19:4133-4137

36. Barbasら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1991, 88:7978-7982
37. McCaffertyら, Nature, 1990, 348:552-554
38. Robinsonら, 国際特許出願第 PCT/US86/02269 号
39. Akira ら, 欧州特許出願第 184,187号
40. Taniguchi, M., 欧州特許出願第 171,496号
41. Morrisonら, 欧州特許出願第 173,494号
42. Neuberger ら, PCT 国際公開第 WO 86/01533号
43. Cabilly ら, 米国特許第4,816,S67 号
44. Cabilly ら, 欧州特許出願第 12 S,023 号
45. Betterら, Science, 1988, 240:1041-1043 10
46. Liu ら, Proc. Natl Acad. Sci. USA, 1987, 84:3439-3443
47. Liu ら, J. Immunol., 1987, 139:3521-3526
48. Sun ら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1987, 84:214-218
49. Nishimura ら, Canc. Res., 1987, 47:999-1005
50. Woodら, Nature, 1985, 314:446-449
51. Shawら, J. Natl. Cancer Inst., 1988, 80:1553-1559)
52. Morrison, S. L., Science, 1985, 229:1202-1207
53. Oiら, Bio Techniques 1986, 4:214
54. Winter, 米国特許第5,225,539 号
55. Jones ら, Nature, 1986, 321:552-525 20
56. Verhoeyan ら, Science, 1988, 239:1534
57. Seidler ら, J. Immunol., 1988, 141:4053-4060
58. Scholzen T および Gerdes J, J Cell Physiol, 2000, 182:311-322
59. Gerdes J, Schwab U, Lemke H および Stein H, Int. J. Cancer, 1983, 31, 13-20
60. Baisch, H および Gerdes, J, Cell Tissue Kinet., 1987, 20(4), 387-391
61. Mashal RD, Lester S, Corless C, Richie JP, Chandra R, Propert KJ, および Dut ta A, Cancer Res, 1996, 56(18):4159-63
62. Toyoshima H, および Hunter T, Cell, 1994, 78(1):67-74
63. Lloyd RV, Jin L, Qian X,および Kulig E, Am J Path 1997, 150:401-407
64. Zhang P, Wong C, DePinho RA, Harper JW, および Elledge SJ, Genes Dev. 1998, 12(20):3162-3167. 30

【図面の簡単な説明】

【図 1】 図 1 は、本発明のモノクローナル抗体（右側）および当該技術分野で公知のポリクローナル抗体（左側）を用いるウエスタンブロットを示す。本発明の抗体は、1つのバンドのみを認識し、一方ポリクローナル抗体は50～90kDaの範囲のさらなるバンドを検出することが明確に示されている。HはHeLa細胞およびCはCHO細胞を示す。

【 1】

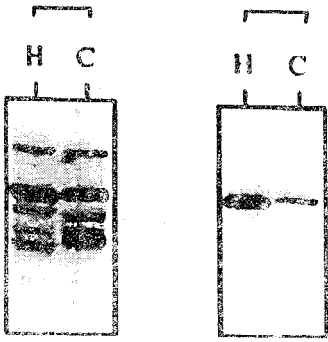


Fig.1

フロントページの続き

- | | | | |
|----------------|-----------|----------------|---|
| (51) Int.Cl. | | F I | |
| C 0 7 K 1/22 | (2006.01) | C 0 7 K 1/22 | |
| C 0 7 K 1/32 | (2006.01) | C 0 7 K 1/32 | |
| A 6 1 K 39/395 | (2006.01) | A 6 1 K 39/395 | T |
| A 6 1 P 35/00 | (2006.01) | A 6 1 P 35/00 | |
| C 1 2 P 21/08 | (2006.01) | C 1 2 P 21/08 | |
- (72)発明者 ショルツェン, トーマス
ドイツ連邦共和国 ネーリッツ デー - 2 3 8 4 3 ヘレンヴェーク 3
- (72)発明者 エンドル, エルマー
ドイツ連邦共和国 ハンブルク デー - 2 2 3 9 9 クプフェルタイヒヴェーク 2 2
- (72)発明者 ヴォーレンベルク, クラウディア
ドイツ連邦共和国 ハンブルク デー - 2 2 3 9 9 クプフェルタイヒヴェーク 2 2
- (72)発明者 バローン - ルーア, ベッティーナ
ドイツ連邦共和国 ヴェステラーデ デー - 2 3 8 1 5 エーラース 1 3
- (72)発明者 ハーン, マルグリット
ドイツ連邦共和国 ボルステール デー - 2 3 8 4 5 パルカレー 4 0アー
- (72)発明者 プリラ, パトリシア
ドイツ連邦共和国 ハンブルク デー - 2 2 7 6 9 シュトレゼマンシュトラッセ 1 2 8
- (72)発明者 ズツヴィンスキ, ヨハンナ
ドイツ連邦共和国 ヴィーマースドルフ デー - 2 4 6 4 9 ベッカートヴィーテ 1
- (72)発明者 クニッパース, ロルフ
ドイツ連邦共和国 コンスタンツ デー - 7 8 4 6 4 コーバーレヴェーク 1 7

審査官 北村 悠美子

- (56)参考文献 Journal of Cell Science, 1 9 9 5年, Vol.108, p.1381-1389
Genes to Cells, 1 9 9 7年, Vol.2, p.381-399

- (58)調査した分野(Int.Cl., D B名)
C07K 16/00-16/46
WPI
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)
CA/BIOSIS/MEDLINE(STN)

| | | | |
|----------------|--|---------|------------|
| 专利名称(译) | 抗人蛋白质Mcm3的单克隆抗体，其制备方法及其用途 | | |
| 公开(公告)号 | JP4980516B2 | 公开(公告)日 | 2012-07-18 |
| 申请号 | JP2000609452 | 申请日 | 2000-03-31 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 丹麦达科有限公司 | | |
| 申请(专利权)人(译) | Dako公司ER ES | | |
| 当前申请(专利权)人(译) | Dako公司，丹麦，ER / ES | | |
| [标]发明人 | ゲルデスヨハネス ショルツェントーマス エンドルエルマー ヴォーレンベルククラウディア バローンルーアベッティーナ ハーンマルグリット プリラパトリシア ズツヴィンスキヨハンナ クニッパースロルフ | | |
| 发明人 | ゲルデス,ヨハネス ショルツェン,トーマス エンドル,エルマー ヴォーレンベルク,クラウディア バローン-ルーア,ベッティーナ ハーン,マルグリット プリラ,パトリシア ズツヴィンスキ,ヨハンナ クニッパース,ロルフ | | |
| IPC分类号 | C07K16/18 C12N5/10 G01N33/53 G01N33/574 G01N33/577 C07K1/22 C07K1/32 A61K39/395 A61P35/00 C12P21/08 A61P17/02 A61P29/00 A61P37/06 A61P37/08 A61P43/00 C07K16/14 C12N5/18 C12N5/20 C12R1/91 | | |
| CPC分类号 | A61K2039/505 A61P17/02 A61P29/00 A61P35/00 A61P37/06 A61P37/08 A61P43/00 C07K16/14 Y10S435/975 | | |
| FI分类号 | C07K16/18 C12N5/00.102 G01N33/53.D G01N33/574.Z G01N33/577.B C07K1/22 C07K1/32 A61K39/395.T A61P35/00 C12P21/08 | | |
| 优先权 | 19915057 1999-04-01 DE | | |
| 其他公开文献 | JP2002541157A | | |
| 外部链接 | Espacenet | | |

摘要(译)

本发明涉及抗人Mcm3蛋白的单克隆抗体，产生这种抗体的杂交瘤细胞系，制备方法及其用途，含有本发明单克隆抗体的药物组合，它们用于预防和治疗用途。某些疾病以及与预防和治疗与Mcm3表达相关的疾病有关的方法。根据本发明的单克隆抗体在免疫组织学和免疫生物化学检测系统中单一地特异性地检测和结合人Mcm3。制备这些单克隆抗体的方法包括用免疫生物化学方法初步筛选过量的杂交瘤上清液，然后通过免疫组织化学方法进行第二次阳性杂交瘤筛选。

