

(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2015-517658

(P2015-517658A)

(43) 公表日 平成27年6月22日(2015.6.22)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>GO 1 N 33/569 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/569 F	4 B O 6 3
<b>GO 1 N 33/53 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/53 D	4 H O 4 5
<b>GO 1 N 33/543 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/53 N	
<b>C 1 2 Q 1/68 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/543 5 4 5 A	
<b>C O 7 K 16/12 (2006.01)</b>	C 1 2 Q 1/68 Z	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 10 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2015-511712 (P2015-511712)	(71) 出願人	513273030 テックラブ, インコーポレーテッド アメリカ合衆国バージニア州24060, ブラックスバーグ, クラフト・ドライブ 2001
(86) (22) 出願日	平成25年5月9日 (2013.5.9)	(74) 代理人	100140109 弁理士 小野 新次郎
(85) 翻訳文提出日	平成27年1月13日 (2015.1.13)	(74) 代理人	100075270 弁理士 小林 泰
(86) 国際出願番号	PCT/US2013/040399	(74) 代理人	100101373 弁理士 竹内 茂雄
(87) 国際公開番号	W02013/170065	(74) 代理人	100118902 弁理士 山本 修
(87) 国際公開日	平成25年11月14日 (2013.11.14)	(74) 代理人	100187540 弁理士 國枝 由紀子
(31) 優先権主張番号	61/645,964		
(32) 優先日	平成24年5月11日 (2012.5.11)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	13/889,670		
(32) 優先日	平成25年5月8日 (2013.5.8)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 クロストリジウム・ディフィシル (*Clostridium difficile*) ・リボタイプ 027 の診断マーカーとしての細胞壁タンパク質 CwpV (CDO514)

(57) 【要約】

糞便試料を用いて、大流行株リボタイプ027を、他のありうるクロストリジウム・ディフィシル (*Clostridium difficile*) (C.ディフィシル) 株から正確にそして迅速に区別すると、治療オプションに関する意志決定が容易になる。細胞壁タンパク質V (CwpV) は、C.ディフィシル株間で保存される細胞壁結合ドメインおよびC.ディフィシル株間で抗原性が異なる可変ドメインを含有する。態様において、CwpVにおける027特異的領域に対する抗体を診断試験で用いて、培養物または糞便試料において、リボタイプ027を検出する。

		PCR Ribotyping		
		N=72	027	non-027
Anti-CwpV ELISA	+		30	5
	-		5	32

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

リボタイプ 027 C . ディフィシル ( C . d i f f i c i l e ) 株に感染した患者の診断法であって：患者から糞便試料を得て；患者が C . ディフィシル感染を有することを決定し；そして糞便試料において、リボタイプ 027 特異的 C w p V 抗体の存在を決定することによって、患者がリボタイプ 027 C . ディフィシル株感染を有するかどうかを決定する、前記診断法。

## 【請求項 2】

C w p V 抗原の存在を決定する工程が、C w p V 抗原に対するイムノアッセイを用いて、C w p V 抗原の存在を決定する工程を含む、請求項 1 の方法。

10

## 【請求項 3】

イムノアッセイが酵素連結免疫吸着アッセイ ( E L I S A ) または膜上での免疫化学反応である、請求項 2 の方法。

## 【請求項 4】

イムノアッセイが、捕捉抗体として、モノクローナル、ポリクローナルまたは組換え抗リボタイプ 027 特異的 C w p V 抗体の 1 またはそれより多くを利用する、請求項 1 の方法。

## 【請求項 5】

イムノアッセイが、検出抗体として、HRP - コンジュゲート化ポリクローナルまたはモノクローナル抗リボタイプ 027 特異的 C w p V 抗体を利用する、請求項 1 の方法。

20

## 【請求項 6】

イムノアッセイが、C . ディフィシルによって産生される天然 C w p V または大腸菌 ( E . c o l i ) における組換え DNA 発現によって得られる C w p V に対して作製される、C w p V に対する 1 またはそれより多い抗体を含む、請求項 2 の方法。

## 【請求項 7】

リボタイプ 027 C . ディフィシルの存在を決定する工程が、核酸増幅アッセイを用いて、リボタイプ 027 特異的 C w p V をコードする DNA 断片の存在を同定する工程を含む、請求項 1 の方法。

## 【請求項 8】

リボタイプ 027 C . ディフィシル株感染の存在を決定する診断法であって：患者から糞便試料を得て；糞便試料から C . ディフィシル・コロニーを単離し；単離コロニーから C . ディフィシル培養を増殖させ；C . ディフィシル培養からバイオマーカの存在を決定する工程を含み、バイオマーカの存在が、リボタイプ 027 株に特異的な C w p V 抗原の存在を示し、リボタイプ 027 株に特異的な C w p V 抗原の存在が、糞便試料におけるリボタイプ 027 C . ディフィシル株の存在を示す、前記診断法。

30

## 【請求項 9】

バイオマーカの存在を決定する工程がイムノアッセイを用いる工程を含む、請求項 8 の方法。

## 【請求項 10】

イムノアッセイが、酵素連結免疫吸着アッセイ ( E L I S A ) または膜上の免疫化学反応である、請求項 9 の方法。

40

## 【請求項 11】

イムノアッセイが、捕捉抗体として、モノクローナル、ポリクローナルまたは組換え抗リボタイプ 027 特異的 C w p V 抗体の 1 またはそれより多くを利用する、請求項 10 の方法。

## 【請求項 12】

イムノアッセイが、検出抗体として、HRP - コンジュゲート化モノクローナルまたはポリクローナル抗リボタイプ 027 特異的 C w p V 抗体を利用する、請求項 10 の方法。

## 【請求項 13】

イムノアッセイが、C . ディフィシルによって産生される天然 C w p V または大腸菌に

50

において組換え的に発現される C w p V に対して作製される、C w p V に対する 1 またはそれより多い抗体を含む、請求項 10 の方法。

【請求項 14】

バイオマーカーの存在を決定する工程が、核酸増幅アッセイを用いて、リボタイプ 027 特異的 C w p V をコードする DNA 断片の存在を同定する工程を含む、請求項 9 の方法。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

クロストリジウム・ディフィシル (*Clostridium difficile*) (C. ディフィシル) は、米国において、院内下痢の最も一般的な既知の原因であり、そして年間約 300 万例の下痢の主要因である。C. ディフィシル感染 (CDI) のリスク要因には、抗生物質への曝露、高齢、および病院または長期ケア施設における居住が含まれる。CDI の症状は、軽度の下痢から、偽膜性大腸炎および中毒性巨大結腸の範囲に渡る。治療の平均コストは、症例あたり約 1 万ドルである。CDI の死亡率は、非常に病原性である (*hypervirulent*) 大流行株の出現によって、1999 年の 100 万人人口あたり 5.7 人の死亡から、2004 年の 100 万人人口あたり 23.7 人の死亡に増加した。リボタイプ 027 株は、CDI 発生率増加に有意に寄与した。大流行株リボタイプ 027 を C. ディフィシルの他の株と正確に区別すると、治療オプションに関する意志決定が容易になりうる。

10

20

【図面の簡単な説明】

【0002】

本発明の例示的な態様を、付随する図に関連して以下に詳細に記載する：

【図 1】図 1 は、本発明の態様にしたがった、抗 C w p V E L I S A および P C R リボタイプ決定法の間を比較を示す；

【図 2】図 2 は、本発明の態様にしたがって、C w p V の 027 特異的領域に対して生成された抗体が、C. ディフィシル・リボタイプ 027 しか認識しないことを示す；

【図 3】図 3 は、抗 C w p V Q U I K C H E K (登録商標) の結果の解釈を示す；そして

【図 4】図 4 は、本発明の態様にしたがった、抗 C w p V Q U I K C H E K (登録商標) および P C R リボタイプ決定法の間を比較を示す。

30

【発明を実施するための形態】

【0003】

本発明の態様は、リボタイプ特異的新規抗原マーカー、細胞壁タンパク質 V (C w p V) の存在に基づいて、患者における C. ディフィシル株を区別するための試験法に関する。リボタイプ特異的 C w p V を、C. ディフィシル・リボタイプ、特に大流行株 027 の検出のためのイムノアッセイにおいて用いてもよい。態様において、抗株特異的 C w p V 抗体を、C. ディフィシル株 027 の高感度同定のためのイムノアッセイにおいて用いる。

【0004】

C. ディフィシル株間の遺伝的関連性、ならびに C. ディフィシル株および疾患重症度の間を関連を研究するため、いくつかのタイプ決定法が開発されてきている。これらの方法には、血清型決定、毒素型決定 (*toxigenotyping*)、パルスフィールド電気泳動 (P F G E) および P C R リボタイプ決定が含まれる。P C R リボタイプ決定は、実行が比較的容易であり、再現性があり、そして C. ディフィシル株を区別する最も特徴的な方法の 1 つである。

40

【0005】

90 年代後半に始まって、CDI の 5 倍の増加が観察されてきており、そして非常に病原性である株の蔓延が大流行に寄与していることが推測されている。この大流行株は、毒性型 I I I、北米パルスフィールドゲル電気泳動型 1 (N A P 1)、制限エンドヌクレア

50

ーゼ分析群 I ( B I ) および P C R リボタイプ 0 2 7 として特徴付けられた。リボタイプ 0 2 7 のいくつかの特性は、リボタイプ 0 2 7 株の病原性増進に寄与する。毒素 A および B に加えて、0 2 7 株は、さらなる二成分毒素を発現し、これが疾患の重症度に寄与している可能性もある。0 2 7 株はまた、毒素産生のリプレッサーである t c d C 遺伝子において、1 8 塩基対欠失およびフレームシフト突然変異も含有する。該フレームシフト突然変異は、毒素産生増加を引き起こしうる。1 9 8 8 年、フランスで単離された歴史的な 0 2 7 株は、フルオロキノロンおよびエリスロマイシンに感受性であったが、最近の大流行におけるリボタイプ 0 2 7 は、g y r A / B および 2 3 s R N A 遺伝子における突然変異によって、どちらの抗生物質に対しても耐性になった。ヒト腸上皮細胞に対するより高いアフィニティを持つように改変された表面タンパク質もまた、病原性増進に寄与している可能性もある。

10

#### 【 0 0 0 6 】

0 2 7 株感染は、いくつかの研究において、より重症の転帰と関連付けられた。0 2 7 株による腸微生物叢の劇的な改変は、その高い病原性に寄与している可能性が高い。しかし、他の研究は、感染株のリボタイプおよび患者転帰の間には相関がないことを示した。この論争は、研究した集団および統計分析に用いた方法から生じている可能性もある。

#### 【 0 0 0 7 】

C D I 治療のために選択される伝統的な抗生物質は、メトロニダゾールおよびバンコマイシンである。軽度から中程度の C D I 患者に関しては、メトロニダゾールおよびバンコマイシンは同等に有効である。非 0 2 7 株によって引き起こされる重症 C D I の患者に関しては、バンコマイシンがより優れた転帰を生じた。メトロニダゾールまたはバンコマイシンのいずれかで治療された患者において、高い再発率が観察された。2 0 1 0 年 5 月、フィダキソマイシン ( ディフィシド ; O p t i m e r P h a r m a c e u t i c a l s ) と称される新規薬剤が、成人における C . ディフィシル関連下痢の治療のため、米国医薬品局によって認可された。フィダキソマイシンは、グラム陽性嫌気性菌に対する、狭域性抗生物質である。バクテロイデス属 ( B a c t e r o i d e s ) 種、好気性および通性グラム陰性桿菌ならびに嫌気性グラム陰性桿菌において、フィダキソマイシンに対する耐性が見出された。フィダキソマイシンは、C . ディフィシルの 0 2 7 および非 0 2 7 株に対して同等に有効である。広域性抗生物質の使用は、腸フローラを乱し、これは C . ディフィシル感染の再発に寄与する可能性もある。最近の研究によって、フィダキソマイシン治療は、バンコマイシン治療に比較して、非 0 2 7 株に感染した患者において、再発率低下を生じたことが示されている。したがって、0 2 7 および非 0 2 7 株の間の区別は、治療オプションに関して医師の意志決定を容易にする可能性もある。

20

30

#### 【 0 0 0 8 】

P C R リボタイプ決定法は、C . ディフィシル・コロニーの単離、純粋なコロニーから生じる培養からの D N A 単離、P C R による D N A 増幅およびゲル電気泳動を必要とする。複雑で、そして時間が掛かる方法は、臨床実験室では現実的でない。商業的に入手可能な分子試験は、t c d C 遺伝子における配列変動を利用する。P C R に基づく試験は高価であり、そして t c d C 遺伝子における突然変異は他のリボタイプにもまた存在するため、非特異的である。抗体に基づく試験、例えば酵素連結免疫吸着アッセイ ( E L I S A ) および側方流動アッセイは、病原体特異的抗原の検出のための、迅速であり、そして費用効率的な試験法である。態様において、イムノアッセイにおける 0 2 7 株の検出のため、0 2 7 株特異的抗原 ( 単数または複数 ) を診断マーカー ( 単数または複数 ) として用いる。

40

#### 【 0 0 0 9 】

C . ディフィシル細胞は、ペプチドグリカン層の外側に表面層 ( S 層 ) を所持する。S 層は、栄養細胞および C . ディフィシル胞子の両方に存在する。S 層内のタンパク質は、宿主 - 病原体相互作用を仲介する。いくつかの C . ディフィシル表面タンパク質は、胃腸組織に結合し、そして潜在的なコロニー形成因子である。S 層に関連するタンパク質は、2 つのドメイン : 保存された細胞壁結合ドメイン、およびその特定のタンパク質の機能を

50

特定する可変ドメインを含有する。配列決定された株630のゲノムにおいて、28の細胞壁タンパク質(CWP)が予測されている。特定のCWPの可変ドメインは、C.ディフィシル株同定のための潜在的な抗原マーカーと見なされる。

#### 【0010】

CwpV(CD0514)は、CWPのメンバーであり、そして推定上の細胞壁結合ドメインを含むN末端領域、および凝集を促進しうるC末端ドメインからなる。CwpVは、多様な027株によって培地内に分泌される。CwpVのC末端ドメインは、C.ディフィシル・リボタイプ間で非常に可変である。リボタイプ027において、CwpVタンパク質中に見られるC末端反復の特異的アミノ酸配列は、今日まで、いかなる他の配列決定された株のゲノムにも示されていない。態様において、CwpVのリボタイプ特異的領域は、027株の診断マーカーとして使用可能である。

10

#### 【0011】

以下は、本発明の態様にしたがって、好ましいアッセイを確立するために利用されてきている方法の例である。以下の例は単に例示であり、そして限定のために提示されていない。

#### 【実施例】

#### 【0012】

##### 実施例1

組換えDNA技術を用いて、CwpVのリボタイプ027特異的C末端ペプチドを大腸菌(E. coli)において発現させた。組換えCwpVに対するポリクローナル抗体をヤギ(goat)において生成した。捕捉抗体としてポリクローナル抗CwpV抗体を、そして検出抗体として西洋ワサビ(horseradish)・ペルオキシダーゼ(HRP)・コンジュゲート化ポリクローナル抗CwpV抗体を用いて、ELISAを発展させた。

20

#### 【0013】

この抗CwpV ELISAを用いて、C.ディフィシルに関して陽性である72の臨床的ヒト糞便試料を試験した。代表的な判断基準としてPCRリボタイプ決定法を用いて、C.ディフィシル027株の検出のための抗CwpV ELISAの感受性および特異性を計算した。このELISAのカットオフは、二重波長(OD450/620nm)上での0.080読み取り値の吸光度に設定された。

30

#### 【0014】

##### 結果

図1に関連して、72のヒト糞便試料に関する抗CwpV ELISAの結果を、PCRリボタイプ決定法の結果と比較した。抗CwpV ELISAは、PCRリボタイプ決定法によって決定された35の027陽性試料のうち、30において、C.ディフィシル027株の存在を検出した。抗CwpV ELISAの感受性および特異性は、各々86%である。

#### 【0015】

##### 実施例2

CwpVのリボタイプ027特異的C末端ペプチドを大腸菌において発現させた。組換えCwpVに対するポリクローナル抗体をヤギにおいて生成した。捕捉抗体としてポリクローナル抗CwpV抗体を、そして検出抗体として西洋ワサビ・ペルオキシダーゼ(HRP)・コンジュゲート化ポリクローナル抗CwpV抗体を用いて、ELISAを発展させた。

40

#### 【0016】

34のC.ディフィシル株を脳心臓注入ブロス(BHI; Oxoid)内に接種した。嫌気性条件下で、培養を37°Cで一晩増殖させた。BHI培養中のC.ディフィシル株を、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)中で1:20に希釈し、そして上述のELISA上で試験した。

#### 【0017】

50

## 結果

図2に示すように、34の異なるリボタイプに相当するC・ディフィシル培養を、抗027特異的抗体を用いた抗CwpV ELISA上で試験した。リボタイプ027株は、このELISA上で検出された唯一のリボタイプであった。33の非027C・ディフィシル培養は、このELISAによっては検出されなかった。このELISAのカットオフは、二重波長(OD450/620nm)上での0.080読み取り値の吸光度に設定された。

### 【0018】

#### 実施例3

CwpVのリボタイプ027特異的C末端ペプチドを大腸菌において発現させた。組換えCwpVに対するポリクローナル抗体をヤギにおいて生成した。捕捉抗体としてマイクロファイバーガラス膜上に試験ラインとして固定されたポリクローナル抗CwpV抗体、および検出抗体として西洋ワサビ・ペルオキシダーゼ(HRP)・コンジュゲート化ポリクローナル抗CwpV抗体を用いて、QUIK CHEK(登録商標)デバイスを発展させた。ウサギ(rabbit)抗HRPポリクローナル抗体をマイクロファイバーガラス膜上に固定して、陽性対照ラインを形成した。

10

### 【0019】

この抗CwpV QUIK CHEK(登録商標)を用いて、195の試料を試験した。臨床的糞便試料を試料希釈剤中で希釈し、HRPコンジュゲート化ポリクローナル抗CwpV抗体と混合し、そして試料ウェルを通じて、固定された捕捉抗体を含むマイクロファイバーガラス膜に適用した。毛細管現象を通じて、試料-コンジュゲート混合物を、マイクロファイバーガラス膜を渡って流動させた。デバイスを室温で15分間インキュベーションして、試料中のCwpV抗原が、試験ライン上に固定された抗CwpV抗体によって捕捉されることを可能にした。過剰なHRPコンジュゲート化ポリクローナル抗CwpV抗体は、対照ライン上に固定されたウサギ抗HRP抗体によって捕捉された。膜を簡単に洗浄し、そして反応ウィンドウを通じてHRP基質を添加した後、結果を記録する前に、デバイスを室温で10分間インキュベーションした。

20

### 【0020】

図3に関連して、2つの青いライン：対照ライン(「C」)および試験ライン(「T」)によって、抗CwpV QUIK CHEK(登録商標)上に陽性結果が示される。抗CwpV QUIK CHEK(登録商標)上の陰性結果は、反応ウィンドウの対照(「C」)側上に1つの青いラインがあり、反応ウィンドウの「T」側に試験ラインが見えないことによって示される。対照ライン(「C」)が見えない場合、結果は無効と解釈される。

30

### 【0021】

#### 結果

抗CwpV QUIK CHEK(登録商標)、組織培養細胞傷害性アッセイ上で、195の糞便試料を試験し、そして毒素産生性C・ディフィシルを含有する試料から単離したC・ディフィシルのリボタイプを、PCRリボタイプ決定法によって決定した。図4に示すように、試験した195の糞便試料の中で、173の試料が、組織培養細胞傷害性アッセイによって、毒素産生性C・ディフィシルを含有しないと決定された。組織培養法によって陰性であった試料はすべて、抗CwpV QUIK CHEK(登録商標)上で陰性であった。組織培養細胞傷害性法によってC・ディフィシルを含有すると決定された22の試料の中で、12は、PCRリボタイプ決定によってリボタイプ027と同定された。12の試料のうち10は、抗CwpV QUIK CHEK(登録商標)上では陽性反応を示した。抗CwpV QUIK CHEK(登録商標)によっては、非027C・ディフィシル試料はまったく検出されなかった。代表的な判断基準としてPCRリボタイプ決定法を用いると、抗CwpV QUIK CHEK(登録商標)の感受性および特異性は、それぞれ、83%および100%と計算された。

40

### 【0022】

50

要約すると、本発明の態様は、糞便試料において、そして培養において、C・ディフィシル・リボタイプ027を検出するための診断マーカーとして、CwpVを提供する。本発明は特定の態様に関連して記載され、これは、あらゆる点で、制限的であるよりも例示的であることを意図される。別の態様は、本発明の範囲から逸脱することなく、本発明が関連する技術分野の当業者に明らかとなるであろう。

【0023】

前述から、本発明が、明らかであり、そして方法に本質的である他の利点とともに、本明細書に上述するすべての目的および目標を達成するためによく適合したものであることがわかるであろう。本発明の特定の特徴およびサブコンビネーションは実用的であり、そして他の特徴およびサブコンビネーションと関係なく、使用可能であることが理解されるであろう。これは請求項によって予期され、そして請求項の範囲内にある。

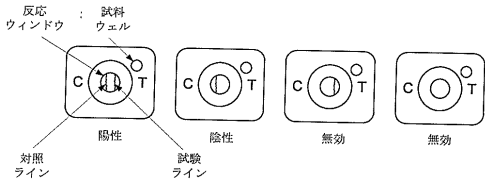
【図1】

		PCR リボタイプ決定	
		N=72	非 027
抗-CwpV ELISA	+	30	5
	-	5	32

【図2】

リボタイプ	抗CwpV ELISA上での反応
001	-
002	-
003	-
005	-
009	-
010	-
012	-
014	-
015	-
017	-
018	-
019	-
027	+
031	-
032	-
038	-
039	-
043	-
046	-
050	-
051	-
053	-
054	-
056	-
057	-
078	-
081	-
085	-
103	-
106	-
126	-
137	-
251	-
379	-

【 図 3 】



【 図 4 】

N=195 抗CmpV QUIK CHECK上で+ 抗CmpV QUIK CHECK上で-	組織培養 +		組織培養 -
	リポタイア決定による027	リポタイア決定による027	
	10	0	0
	2	10	173

## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT **PCT/US2013/040399 13.09.2013**

International application No.

PCT/US13/40399

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC(8) - G01N 33/569, 33/68, 33/53 (2013.01) USPC - 435/7.32, 7.92, 7.1 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC(8): G01N 33/569, 33/68, 33/53 (2013.01) USPC: 435/7.32, 7.92, 7.1  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 practicable, search terms used) MicroPatent (US-G, US-A, EP-A, EP-B, WO, JP-bib, DE-C,B, DE-A, DE-T, DE-U, GB-A, FR-A); Google; Google Scholar; DialogPRO; PubMed; difficile, ribotype, '027,' fecal, stool, 'CwpV,' 'ELISA,' immunoassay		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2011/0020845 A1 (BRAUN, V et al.) January 27, 2011; abstract; paragraphs: [0019], [0024], [0060], [0065], [0067], [0071], [0094]-[0098], [0110], [0111], [0127]-[0132], [0141]-[0145]	1-7
Y	REYNOLDS, CB. et al. The Clostridium Difficile Cell Wall Protein CwpV Is Antigenically Variable Between Strains, But Exhibits Conserved Aggregation-Promoting Function. PLoS Pathogens. 21 April 2011, Vol. 7, No. 4; pp 1-14. DOI: 10.1371/journal.ppat.1002024; entire document.	1-14
Y	DIPERSIO, JR et al. Development Of A Rapid Enzyme Immunoassay For Clostridium Difficile Toxin A And Its Use In The Diagnosis Of C. Difficile-Associated Disease. Journal of Clinical Microbiology. December 1991, Vol. 29, No. 12, pp 2724-2730; entire document.	8-14
E, Y	US 2013/0130281 A1 (DAVIS, M et al.) May 23, 2013; entire document	1-14
P, Y	US 2012/0276059 A1 (BOONE, JH et al.) November 1, 2012; entire document	1-14
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>		
* 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 application or patent 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	"&" 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	Date of mailing of the international search report	
10 September 2013 (10.09.2013)	13 SEP 2013	
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201	Authorized officer: Shane Thomas PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774	

## フロントページの続き

(51) Int. Cl.

F I

テーマコード (参考)

C 0 7 K 16/12

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, 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, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC

(72) 発明者 デイビス, マンリ・ワイ

アメリカ合衆国バージニア州 2 4 0 7 3 , クリスチャンズバーグ, スリーピー・ホロー・ロード  
1 6 5 0

(72) 発明者 ウィリアムズ, クリスタ・エイ

アメリカ合衆国バージニア州 2 4 0 6 0 , ブラックスバーグ, ウェークフィールド・ドライブ 3  
0 0 7

(72) 発明者 ブラウニング, ジョスリン・エヌ

アメリカ合衆国バージニア州 2 4 0 6 0 , ブラックスバーグ, トライアングル・ストリート 7 7  
7 , アpartment 3 1 6

(72) 発明者 リヤリー, デヴィッド・エム

アメリカ合衆国バージニア州 2 4 1 4 2 , ラドフォード, マック・アーサー・アベニュー 2 0 4

F ターム(参考) 4B063 QA01 QA19 QQ20 QQ42 QR32 QR35 QR62 QS25 QX02

4H045 AA30 BA10 DA76 EA52 FA74

专利名称(译)	细胞壁蛋白CwpV ( CD0514 ) 作为艰难梭菌的诊断标记·核糖体027		
公开(公告)号	<a href="#">JP2015517658A</a>	公开(公告)日	2015-06-22
申请号	JP2015511712	申请日	2013-05-09
申请(专利权)人(译)	Tekkurabu公司		
[标]发明人	デイビスマンリワイ ウィリアムズクリスタエイ ブラウニングジョスリンエヌ リヤリーデヴィッドエム		
发明人	デイビス,マンリ・ワイ ウィリアムズ,クリスタ・エイ ブラウニング,ジョスリン・エヌ リヤリー,デヴィッド・エム		
IPC分类号	G01N33/569 G01N33/53 G01N33/543 C12Q1/68 C07K16/12		
CPC分类号	C12Q1/689 G01N33/56911 G01N2333/33		
FI分类号	G01N33/569.F G01N33/53.D G01N33/53.N G01N33/543.545.A C12Q1/68.Z C07K16/12		
F-TERM分类号	4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ20 4B063/QQ42 4B063/QR32 4B063/QR35 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QX02 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/DA76 4H045/EA52 4H045/FA74		
代理人(译)	小林 泰 竹内茂雄 山本修 國枝 由紀子		
优先权	61/645964 2012-05-11 US 13/889670 2013-05-08 US		
其他公开文献	JP6165238B2 JP2015517658A5		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

使用粪便样本准确快速地将爆发菌株核糖型027与其他可能的艰难梭菌(艰难梭菌)菌株区分开来,有助于决定治疗方案。细胞壁蛋白V(CwpV)含有艰难梭菌菌株中保守的细胞壁结合结构域和艰难梭菌菌株中抗原性不同的可变结构域。在实施方案中,针对CwpV中的027特异性区域的抗体用于诊断测试以检测培养物或粪便样品中的核糖型027。

【 図 2 】

リボタイプ	抗CwpV ELISA上での反応
001	-
002	-
003	-
005	-
009	-
010	-
012	-
014	-
015	-
017	-
018	-
019	-
027	+
031	-
032	-
038	-
039	-
043	-
046	-
050	-
051	-
053	-
054	-
056	-
057	-
078	-
081	-
085	-
103	-
106	-
126	-
137	-
251	-
379	-