

(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2017-511478

(P2017-511478A)

(43) 公表日 平成29年4月20日(2017.4.20)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 Q	4 H 0 4 5
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/53 N	
CO 7 K 7/08 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 2 1	
	GO 1 N 33/543 5 9 7	
	CO 7 K 7/08 Z N A	

審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 52 頁)

(21) 出願番号 特願2016-560429 (P2016-560429)
 (86) (22) 出願日 平成27年3月20日 (2015. 3. 20)
 (85) 翻訳文提出日 平成28年11月16日 (2016. 11. 16)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2015/021715
 (87) 国際公開番号 WO2015/153151
 (87) 国際公開日 平成27年10月8日 (2015. 10. 8)
 (31) 優先権主張番号 61/974, 675
 (32) 優先日 平成26年4月3日 (2014. 4. 3)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 510099866
 ジェニスフィア・エルエルシー
 アメリカ合衆国ペンシルバニア州 1 9 4 4
 O, ハットフィールド, スターリング・ド
 ライブ 2 8 0 1
 (71) 出願人 516291619
 アイカーン スクール オブ メディシン
 アット マウント サイナイ
 アメリカ合衆国, ニューヨーク州 1 0 0
 2 9, ニューヨーク, ワン ガステーブ
 エル. レビー プレイス
 (74) 代理人 100114775
 弁理士 高岡 亮一
 (74) 代理人 100121511
 弁理士 小田 直

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 食物アレルギーを検出するためのペプチド、試薬及び方法

(57) 【要約】

アレルギー診断のため、アレルギー個体における臨床耐性の発生の監視のため、及びアレルギー対象が時間の経過とともに臨床耐性又は自然耐性を発生する可能性があるかどうかを予測するためのペプチドバイオマーカーが提供される。本発明はまた、これらのペプチドバイオマーカーを用いた診断方法及び診断用キットに関する。

【選択図】 図 2

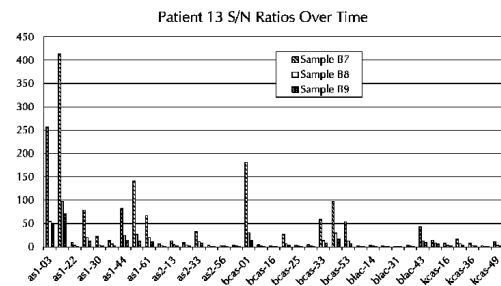


Fig. 2

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

対象における食物アレルギーを診断する方法であって、

a) 各ペプチドが別々に識別可能な固体支持体にコンジュゲートされた、前記食物中に見られる 1 種以上のアレルゲンタンパク質由来の選択された複数の前記ペプチドを提供すること；

b) 各固体支持体上の前記ペプチドへの血清中のアレルギー関連免疫グロブリン (A A I) の結合を可能にするのに十分な条件下で、ペプチド - I g E 複合体を形成するために、各固体支持体と前記対象から得た前記血清を接触させること；

c) 前記ペプチド - A A I 複合体に A A I - 特異的標識試薬を結合させること；及び

d) 前記対象の前記血清中の前記 A A I によって認識されるペプチドを特定するために、各ペプチド - A A I 複合体への前記標識試薬の結合を分析すること；

を含み、

前記対象の前記血清中の A A I による少なくとも 1 つのペプチドの認識は、前記対象が前記食物に対してアレルギーであることを示す、

方法。

【請求項 2】

前記アレルギーが、牛乳アレルギー、ピーナッツアレルギー、卵アレルギー又はエビアレルギーである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

I g G 及び / 又は I g E が検出される、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記 I g G が I g G 4 である、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記複数のペプチドが、配列番号 1 ~ 3 3 及び / 又は配列番号 3 7 ~ 6 8 の中から選択される、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 6】

前記複数のペプチドが、配列番号 1 ~ 9、配列番号 1 0 ~ 1 5、配列番号 1 6 ~ 2 3、配列番号 2 4 ~ 2 7、配列番号番 2 8 ~ 3 3、及びこれらの組み合わせによって表される、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記複数のペプチドが、配列番号 6 9 ~ 2 7 7 の中から選択される、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 8】

前記複数のペプチドが、配列番号 2 7 8 ~ 4 6 0 の中から選択される、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 9】

前記複数のペプチドが、配列番号 4 6 1 ~ 6 8 3 の中から選択される、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 1 0】

アレルゲン性食物に対する臨床耐性の発生を、前記食物にアレルギーを示す対象において検出する方法であって、

a) 前記食物中に見られる 1 種以上のアレルゲンタンパク質由来の複数のペプチドへの前記対象の血清のアレルギー関連免疫グロブリン (A A I) 反応性の初期プロファイルであって、前記対象の前記血清中の A A I によって認識されるペプチドの初期数又は各ペプチドを認識する前記対象の前記血清中の A A I の初期濃度を規定する初期プロファイルを提供すること；

b) それぞれが別々に識別可能な固体支持体にコンジュゲートされた前記複数のペプチドを提供すること；

b) 各固体支持体上の前記ペプチドへの血清中の A A I の結合を可能にするのに十分な条

10

20

30

40

50

件下で、ペプチド - A A I 複合体を形成するために、前記初期プロファイルに続く時点で各固体支持体と前記対象から得た前記血清を接触させること；

c) 前記ペプチド - A A I 複合体に A A I - 特異的標識試薬を結合させること；及び

d) 前記対象の前記血清中の A A I によって認識されるペプチドのその後の数又は各ペプチドを認識する前記対象の前記血清中の A A I のその後の濃度を特定するために、各ペプチド - A A I 複合体への前記標識試薬の結合を分析すること；

を含み、前記対象の前記血清中の A A I によって認識されるペプチドの前記その後の数が、前記対象の前記血清中の A A I によって認識されるペプチドの前記初期数よりも少ない場合、又は少なくとも 1 つのペプチドを認識する前記対象の前記血清中の A A I の前記その後の濃度が、前記少なくとも 1 つのペプチドを認識する前記対象の前記血清中の A A I 初期濃度よりも低い場合に、前記食物に対する臨床耐性の発生が示される、方法。

10

【請求項 1 1】

前記アレルギーが、牛乳アレルギー、ピーナッツアレルギー、卵アレルギー又はエビアレルギーである、請求項 1 0 に記載の方法。

【請求項 1 2】

前記複数のペプチドが、配列番号 1 ~ 3 3 及び / 又は配列番号 3 7 ~ 6 8 の中から選択される、請求項 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 3】

前記複数のペプチドが、配列番号 1 ~ 9、配列番号 1 0 ~ 1 5、配列番号 1 6 ~ 2 3、配列番号 2 4 ~ 2 7、配列番号番 2 8 ~ 3 3、及びこれらの組み合わせによって表される、請求項 1 2 に記載の方法。

20

【請求項 1 4】

前記複数のペプチドが、配列番号 6 9 ~ 2 7 7 の中から選択される、請求項 1 0 に記載の方法。

【請求項 1 5】

前記複数のペプチドが、配列番号 2 7 8 ~ 4 6 0 の中から選択される、請求項 1 0 に記載の方法。

【請求項 1 6】

前記複数のペプチドが、配列番号 4 6 1 ~ 6 8 3 の中から選択される、請求項 7 に記載の方法。

30

【請求項 1 7】

選択されるペプチドとの A A I 反応性の定量的減少パターンを用いて、前記対象における前記アレルギー性食物に対する臨床耐性の発生を予測する、請求項 1 0 に記載の方法。

【請求項 1 8】

経時的な食物アレルギー強度の増加を、前記食物にアレルギーを示す対象において検出する方法であって、

a) 前記食物中に見られる 1 種以上のアレルギータンパク質由来の複数のペプチドへの前記対象の血清のアレルギー関連免疫グロブリン (A A I) 反応性の初期プロファイルであって、前記対象の前記血清中の A A I によって認識されるペプチドの初期数又は各ペプチドを認識する前記対象の前記血清中の A A I の初期濃度を規定する初期プロファイルを提供すること；

40

b) それぞれが別々に識別可能な固体支持体にコンジュゲートされた前記複数のペプチドを提供すること；

b) 各固体支持体上の前記ペプチドへの血清中の A A I の結合を可能にするのに十分な条件下で、ペプチド - A A I 複合体を形成するために、前記初期プロファイルに続く時点で各固体支持体と前記対象から得た前記血清を接触させること；

c) 前記ペプチド - A A I 複合体に A A I - 特異的標識試薬を結合させること；及び

d) 前記対象の前記血清中の A A I によって認識されるペプチドのその後の数又は各ペプチドを認識する前記対象の前記血清中の A A I のその後の濃度を特定するために、各ペプチド - A A I 複合体への前記標識試薬の結合を分析すること；

50

を含み、前記対象の前記血清中の A A I によって認識されるペプチドの前記初期数と比較した場合の前記対象の前記血清中の A A I によって認識されるペプチドの前記その後の数の増加、又は少なくとも 1 つのペプチドを認識する前記対象の前記血清中の A A I の初期濃度と比較した場合の少なくとも 1 つのペプチドを認識する前記対象の前記血清中の A A I の前記その後の濃度の増加は、前記対象における前記食物に対するアレルギー反応の強度の増加を示す、方法。

【請求項 19】

前記アレルギーが、牛乳アレルギー、ピーナッツアレルギー、卵アレルギー又はエビアレルギーである、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 20】

前記複数のペプチドが、配列番号 1 ~ 33 及び / 又は配列番号 37 ~ 68 の中から選択される、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

前記複数のペプチドが、配列番号 1 ~ 9、配列番号 10 ~ 15、配列番号 16 ~ 23、配列番号 24 ~ 27、配列番号番 28 ~ 33、及びこれらの組み合わせによって表される、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】

前記複数のペプチドが、配列番号 69 ~ 277 の中から選択される、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 23】

前記複数のペプチドが、配列番号 278 ~ 460 の中から選択される、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 24】

前記複数のペプチドが、配列番号 461 ~ 683 の中から選択される、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 25】

選択されるペプチドとの A A I 反応性の定量的増加パターンを用いて、前記食物に対するアレルギーの強度の増加を予測する、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 26】

配列番号 1 ~ 33 によって表されるペプチドからなる群から選択される複数のペプチド及び / 又は配列番号 1 ~ 33 の 12 個以上の連続したアミノ酸によって表されるペプチドからなる群から選択される複数のペプチドを含む、牛乳アレルギーの検出のためのアレルゲンエピトープ含有ペプチドのセット。

【請求項 27】

配列番号 1 ~ 9、配列番号 10 ~ 15、配列番号 16 ~ 23、配列番号 24 ~ 27、配列番号番 28 ~ 33、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 19 に記載のアレルゲンエピトープ含有ペプチドのセット。

【請求項 28】

配列番号 69 ~ 277 によって表されるペプチドからなる群から選択される複数のペプチド及び / 又は配列番号 69 ~ 277 の 12 個以上の連続したアミノ酸によって表されるペプチドからなる群から選択される複数のペプチドを含む、ピーナッツアレルギーの検出のためのアレルゲンエピトープ含有ペプチドのセット。

【請求項 29】

配列番号 278 ~ 460 によって表されるペプチドからなる群から選択される複数のペプチド及び / 又は配列番号 278 ~ 460 の 12 個以上の連続したアミノ酸によって表されるペプチドからなる群から選択される複数のペプチドを含む、卵アレルギーの検出のためのアレルゲンエピトープ含有ペプチドのセット。

【請求項 30】

配列番号 461 ~ 683 によって表されるペプチドからなる群から選択される複数のペプチド及び / 又は配列番号 461 ~ 683 の 12 個以上の連続したアミノ酸によって表さ

10

20

30

40

50

れるペプチドからなる群から選択される複数のペプチドを含む、エピアレルギーの検出のためのアレルゲンエピトープ含有ペプチドのセット。

【請求項 3 1】

食物アレルギーの検出、食物アレルギーの強度の経時的な増減の検出、又は食物アレルゲンタンパク質に対する臨床耐性の発生の検出のためのキットであって、

a) 前記食物中に見られる 1 種以上のアレルゲンタンパク質由来の複数のアレルゲンエピトープ含有ペプチド；

b) 第 1 のレポーター部分にコンジュゲートされた抗アレルギー関連免疫グロブリン抗体 (抗 A A I) を含む標識試薬；及び

c) 必要に応じて、前記標識試薬に特異的に結合する第 2 のレポーター部分を含み、共に包装され、使用説明書を含む、キット。

10

【請求項 3 2】

前記使用説明書が、治療に対する患者の自然耐性、反応性を予測するか、又はアレルギー反応の増加を予測する前記キットの使用のためのものである、請求項 3 1 に記載のキット。

【請求項 3 3】

請求項 2 6 ~ 3 0 のいずれかに記載の前記アレルゲンエピトープ含有ペプチドのセットを含む、請求項 3 2 に記載のキット。

【請求項 3 4】

請求項 2 6 ~ 3 0 のいずれかに記載のアレルゲンエピトープ含有ペプチドのセット。

20

【請求項 3 5】

フローサイトメトリー分析又は側方流動アッセイ用の多重ペプチド - ビーズアッセイである、請求項 1 ~ 2 4 のいずれかに記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、アレルギーを診断し、かつアレルギーの対象がそのアレルギーを克服する可能性があるかどうかを決定するためのペプチドバイオマーカーに関する。本発明はまた、ペプチドバイオマーカーを用いた診断方法及び診断用キットに関する。

30

【背景技術】

【0 0 0 2】

配列表の相互参照

2 0 1 5 年 3 月 1 8 日に作成され、「D S C 0 0 5 6 - 0 0 W O _ _ S T 2 5 . t x t」(1 4 1 . 1 K B) と特定される配列表は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0 0 0 3】

食物アレルギーは大人と子供の間の共通の問題であり、症状は、軽度の経口そう痒症から潜在的に生命を脅かすアナフィラキシーショックに及び得る。食物アレルギーは、現在、皮膚プリック検査又は経口誘発、及び特異的 I g E の血清レベル、場合によっては、I g G 4 などの他の血清抗体の測定により診断されている。これらの検査は、臨床反応の可能性を示すが、食物アレルギーの異なる表現型を区別しないか、又は予後情報を提供しない。それらはまた、患者に対してある程度のレベルのリスクを伴う。現在の I g E 検査と患者の実際の臨床的感度との関係は、通常、反応の重症度と反応を引き起こすアレルゲンの量の組み合わせとして定義される弱いものである。現在の検査のもう 1 つの制限は、小児患者が小児期にアレルギーを克服するかどうかを判断することができないことである。この場合、特異的 I g E レベルと臨床アレルギーの期間との間に正の弱い相関がある。

40

【0 0 0 4】

さらに最近では、食物アレルゲンに対する臨床的反応性がエピトープ認識レベルでアレルゲン特異的 I g E とより良好に相関し得ることが示唆されている。持続的な又はより重度のアレルギー反応を有する患者は、より多数の I g E エピトープを認識することが報告されており、アレルギーの診断及び予測のための追加のツールとして、エピトープマッピ

50

ングが示唆されている。エピトープマッピング用のスポット膜ベースのイムノアッセイが使用されている。このシステムでは、ペプチドは、膜上で合成され、患者の血清とインキュベートされる。このプロセスは、多数のペプチドを必要とし、そのため、誤りがちで、時間がかかり、労働集約的で、かつ高価である。このフォーマットのイムノアッセイはまた、多量の患者の血清を必要とする。

【0005】

マイクロアレイなどの多重アッセイ技術の開発、及びペプチド合成技術の進歩は、食物アレルギーのエピトープマッピングを向上させた。マイクロアレイフォーマットのイムノアッセイは、少量の希釈した血清を用いて、平行して数千の標的ペプチドをアッセイし、大幅にコストを削減し、分析に対して良好な再現及び統計的なアプローチを可能にすることができる。残念ながら、マイクロアレイに基づく検査は、スループットは高くないが、再現性の制限を克服するために複数回の反復を頻繁に必要とする。

10

【0006】

ハイスループットアッセイフォーマットは、自動化された方法で複数の患者の検体を迅速に処理する利点を有し、多重化スクリーニング法への適用のために開発された。LUMINEX/xMAP技術などのビーズベースの多重化には、赤色蛍光体及び赤外蛍光体で染色した5.6 µmのポリスチレンビーズが使用される。それぞれ異なる量の2種類の蛍光体を使用して、最大500個の異なる特定のスペクトルシグネチャが生成され得、単一の反応容量で、理論的に500個までの検査が可能である。典型的なタンパク質アッセイでは、抗体は、ビーズの表面にコンジュゲートされ、目的の分析物を捕捉する。その後、目的の分析物に特異的なビオチン化検出抗体が結合し、抗体-抗原サンドイッチを形成する。フィコエリトリンにコンジュゲートされたストレプトアビジン(SA-PE)とビオチンの相互作用を用いて、複合体を標識する。分析物を検出するために、ビーズは、デュアルレーザーフローベースの検出器で読み取られる。1つのレーザーは、取り込まれた色素に応じてビーズを分類し、検出されている分析物を決定する。第2のレーザーは、結合した分析物の量に正比例するPE由来のシグナルの大きさを決定する。このようなアッセイは、ELISAプレートアッセイと比較して、必要な捕捉抗体及び試料の量を減らし、ひいては、コストを削減し、希少な又は取得困難な試料材料を節約する。一般的に、アッセイのダイナミックレンジ及び感度も改善される。

20

【0007】

牛乳アレルギー(CMA)は、子供たちの中で最も一般的な食物アレルギーの1つである。牛乳アレルギーは、典型的には、牛乳のいくつかの成分タンパク質に対する感受性を伴う。これらには、カゼイン画分中のタンパク質(s₁-カゼイン、 s₂-カゼイン、 -カゼイン、及び -カゼイン)、 -ラクトアルブミン及び -ラクトグロブリンが含まれる。エピトープの構造及び配列の両方が、抗体反応を惹起し得る。子どもたちの大半は最終的にはCMAを克服する(すなわち、彼らは臨床的に耐性になる)が、いく人かは、その後の人生において感受性を維持する。臨床耐性の発生に寄与するメカニズムは十分に理解されていないが、持続的なCMAを有する子どもたちのIgE抗体は、アレルギーを克服する可能性がある患者のIgE抗体によって認識されない牛乳タンパク質の特定のエピトープを認識することができるかと仮定されている。

30

40

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

エピトープ配列の認識などのエピトープ分析は、CMAの持続性に関する有用な情報を提供することができる。ペプチドマイクロアレイの結果は、牛乳アレルギーの臨床的特徴との相関を示し、すなわち、牛乳アレルギーを有する患者と牛乳耐性の患者は、異なるエピトープ認識パターンを証明した。牛乳ペプチドへのIgE及びIgG4の相対的結合の変化は、アレルギーの存在又は臨床的改善と相関することも実証された。

【0009】

しかしながら、CMAを診断し、CMAの臨床転帰を予測するのに有用である有益な工

50

ピトーブを特定する必要がある。マイクロアレイイムノアッセイの欠点を克服し、同様のワークフローで高スループット、柔軟性の向上、試料の量の低減、及び低コストを提供する新たなアッセイプラットフォームも必要である。本発明は、これらの必要性に取り組むものである。

【課題を解決するための手段】

【0010】

第一の実施形態において、本発明は、CMAの診断、牛乳タンパク質に対する臨床耐性の発生の検出、及びアレルギー反応の強度の増減の監視に有用である牛乳タンパク質のアレルゲンエピトーブを含有するペプチドに関する。

【0011】

第1の実施形態の具体的な態様において、アレルゲンエピトーブ含有ペプチドは、S1 - カゼイン、S2 - カゼイン、 - カゼイン、 - ラクトグロブリン及び - カゼインのアレルゲンペプチドエピトーブからなる群から選択される複数のペプチドである。さらなる特定の実施形態において、アレルゲンエピトーブ含有ペプチドは、配列番号1～3の中から選択される複数のペプチドである。

【0012】

10

20

【表 1】

アルファS-1カゼインペプチド:		
アルファS1-03	KHQGLPQEVLENENLLRFFVA	配列番号1
アルファS1-09	VAPFPEVFGKEKVNELSKDI	配列番号2
アルファS1-22	SISSEErVPNSVEQKHIQK	配列番号3
アルファS1-27	KHIQKEDVPSERYLGYLEQL	配列番号4
アルファS1-30	SERYLGYLEQLLRLKKYKVP	配列番号5
アルファS1-35	KYKVPQLEIVPNSAEERLHS	配列番号6
アルファS1-44	QQKEPMIGVNQELAYFYPEL	配列番号7
アルファS1-57	LGTQYTDAPSFSDIPNPIGS	配列番号8
アルファS1-61	SDIPNPIGSENSEKTTMPLW	配列番号9
アルファS-2カゼインペプチド:		
アルファS2-08	QEKNMAINPSKENLCSTFCK	配列番号10
アルファS2-13	STFCKEVVRNANEEYSIGS	配列番号11
アルファS2-26	KHYQKALNEINQFYQKFPQY	配列番号12
アルファS2-33	QYLYQGPIVLNPWDQVKRNA	配列番号13
アルファS2-56	KISQRYQKFALPQYLKTVYQ	配列番号14
アルファS2-60	QYLKTVYQHQAAMKPWIQPK	配列番号15
ベータ-カゼインペプチド:		
ベータcas-01	RELEELNVPGEIVESLSSSE	配列番号16
ベータcas-16	QDKIHPFAQTQSLVYFPFGP	配列番号17
ベータcas-18	FAQTQSLVYFPFGPIPNSLP	配列番号18
ベータcas-25	NIPPLTQTPVVVPPFLQPEV	配列番号19
ベータcas-33	KVKEAMAPKHKEMPFPKYPV	配列番号20
ベータcas-42	SLTLTDVENLHLPLPLLQSW	配列番号21
ベータcas-53	FPPQSVLSLSQSKVLPVPQK	配列番号22
ベータcas-58	PVPQKAVPYPQRDMP IQAFL	配列番号23
ベータ-ラクトグロブリンペプチド:		
ベータlac-14	RVYVEELKPTPEGDLEILLQ	配列番号24
ベータlac-22	DECAQKKIAEKTKIPAVFK	配列番号25
ベータlac-41	CLVRTPEVDDEALEKFDKAL	配列番号26
ベータlac-43	EVDDEALEKFDKALKALPMH	配列番号27
カッパカゼインペプチド:		
カッパcas-04	RCEKDERFFSDKIAKYIPIQ	配列番号28
カッパcas-16	KPVALINNQFLPYPHYAKPA	配列番号29
カッパcas-36	MAIPPKKNQDKTEIPTINTI	配列番号30
カッパcas-44	PTSTPTTEAVESTVATLEDS	配列番号31
カッパcas-49	TLEDSPSEVIESPPEINTVQV	配列番号32
カッパcas-21	YAKPAAVRSPAQILQWQVLS	配列番号33

【0013】

CMAの診断、牛乳タンパク質に対する臨床耐性の発生の検出、及びアレルギー強度の増減の検出のための方法に有用であるペプチドには、牛乳タンパク質の非反応性エピトープを含有するペプチドも含まれ得る。これらのペプチドは、陰性対照として有用である。特定の態様において、陰性対照エピトープを含有するペプチドは、S2-カゼイン、
-カゼイン、及び -ラクトグロブリンの非反応性ペプチドエピトープからなる群から選択される1以上のペプチドである。さらなる特定の実施形態において、非反応性エピトープ含有ペプチドは、以下からなる群から選択される1以上のペプチドである：

【0014】

10

20

30

40

50

【表 2】

アルファ S-2 ペプチド:		
アルファ 2-4 2	NREQLSTSEENSKKTVDMES	配列番号 3 4
ベータ-カゼインペプチド:		
ベータ cas-0 9	PINKKIEKFKQSEEQQQTEDE	配列番号 3 5
ベータ-ラクトグロブリンペプチド:		
ベータ lac-3 1	KVLVLDTDYKKYLLVCMENS	配列番号 3 6

【0015】

第 2 の実施形態において、本発明は、前述の複数（すなわち、2 種以上）のアレルゲンエピトープ含有ペプチドを用いて CMA を診断する方法に関する。特定の態様において、対象中の CMA は、

- a) 各ペプチドが別々に識別可能な固体支持体にコンジュゲートされた、配列番号 1 ~ 3 3 の中から選択される複数のペプチドを提供すること；
 - b) 各固体支持体上のペプチドへの血清中のアレルギー関連免疫グロブリン（AAI）の結合を可能にするのに十分な条件下で、ペプチド - AAI 複合体を形成するために、各固体支持体と対象から得た血清を接触させること；
 - c) 該ペプチド - AAI 複合体に AAI - 特異的標識試薬を結合させること；及び
 - d) 該対象の血清中の AAI によって認識されるペプチドを特定するために、各ペプチド - AAI 複合体への標識試薬の結合を分析すること；
- を含み、該対象の血清中の AAI による少なくとも 1 つのペプチドの認識は、該対象が牛乳に対してアレルギーであることを示す方法によって診断される。

【0016】

さらなる実施形態において、本発明は、前述の複数のアレルゲンエピトープ含有ペプチドを用いて、CMA を有する対象における臨床耐性の発生を検出する方法に関する。特定の態様において、CMA を有する対象における牛乳に対する臨床耐性の発生は、

- a) 配列番号 1 ~ 3 3 の中から選択される複数のペプチドへの該対象の血清中のアレルギー関連免疫グロブリン（AAI）の反応性の初期プロファイルであって、該対象の血清中の AAI によって認識されるペプチドの初期数又は各ペプチドを認識する該対象の血清中の AAI の初期濃度を規定する初期プロファイルを提供すること；
 - b) 各ペプチドが別々に識別可能な固体支持体にコンジュゲートされた、配列番号 1 ~ 3 3 の中から選択される複数のペプチドを提供すること；
 - b) 各固体支持体上のペプチドへの血清中の AAI の結合を可能にするのに十分な条件下で、ペプチド - AAI 複合体を形成するために、初期プロファイルに続く時点で各固体支持体と該対象から得た血清とを接触させること；
 - c) 該ペプチド - AAI 複合体に AAI - 特異的標識試薬を結合させること；及び
 - d) 該対象の血清中の AAI によって認識されるペプチドのその後の数又は各ペプチドを認識する該対象の血清中の AAI のその後の濃度を特定するために、各ペプチド - AAI 複合体への標識試薬の結合を分析すること；
- を含み、該対象の血清中の AAI によって認識されるペプチドのその後の数が、該対象の血清中の AAI によって認識されるペプチドの初期数よりも少ない場合、又は少なくとも 1 つのペプチドを認識する該対象の血清中の AAI のその後の濃度が、少なくとも 1 つのペプチドを認識する該対象の血清中の AAI 初期濃度よりも低い場合に、牛乳に対する臨床耐性の発生が示される方法によって検出される。

【0017】

別の実施形態において、臨床耐性の発生の最初の検出は、患者がアレルギーに対する自然耐性を発生させるか、又は治療に反応するかのいずれかを予測するために使用される。この実施形態において、アレルギーの対象は、初期プロファイルを分析する前に、免疫原（免疫療法）に暴露される。その後の時点で、初期プロファイル中のペプチドとの反応性が高い全ての AAI の血清濃度において少なくとも 2 倍の低下がある場合、該対象は、牛

乳に対する臨床耐性又は自然耐性のいずれかを発生する可能性がある。その後の時点で、初期プロファイル中のペプチドとの反応性が高い全てのAAIより少ないAAIの血清濃度において少なくとも2倍の低下がある場合、該対象は、牛乳に対するわずかな部分的臨床耐性又は自然耐性を発生する可能性がある。

【0018】

他の実施形態において、本発明の方法を用いて、ある期間にわたって、対象における牛乳に対するアレルギー反応の強度(CMA強度)の増加(又は減少)を検出することができる。特定の態様において、アレルギー反応の強度の増加の検出は、以前に牛乳耐性になった対象におけるCMAの発生に対応し得る。あるいは、アレルギー反応の強度の増加の検出は、以前からCMAを有することが知られている対象におけるアレルギー強度の増加に対応し得る。上記のように、牛乳に対するアレルギー反応の強度の減少の検出は、牛乳タンパク質に対する臨床耐性の発生の一態様である。

10

【0019】

具体的な態様において、対象における牛乳アレルギーの強度の経時的な増加は、

a) 配列番号1~33の中から選択される複数のペプチドへの該対象の血清中のアレルギー関連免疫グロブリン(AAI)反応性の初期プロファイルであって、該対象の血清中のAAIによって認識されるペプチドの初期数又は各ペプチドを認識する該対象の血清中のAAIの初期濃度を規定する初期プロファイルを提供すること；

b) 各ペプチドが別々に識別可能な固体支持体にコンジュゲートされた、配列番号1~33の中から選択される複数のペプチドを提供すること；

b) 各固体支持体上のペプチドへの血清中のAAIの結合を可能にするのに十分な条件下で、ペプチド-AAI複合体を形成するために、初期プロファイルに続く時点で各固体支持体と該対象から得た血清を接触させること；

c) 該ペプチド-AAI複合体にAAI-特異的標識試薬を結合させること；及び

d) 該対象の血清中のAAIによって認識されるペプチドのその後の数又は各ペプチドを認識する該対象の血清中のAAIのその後の濃度を特定するために、各ペプチド-AAI複合体への標識試薬の結合を分析すること；

を含み、該対象の血清中のAAIによって認識されるペプチドの初期数と比較した場合の該対象の血清中のAAIによって認識されるペプチドのその後の数の増加、又は少なくとも1つのペプチドを認識する該対象の血清中のAAI初期濃度と比較した場合の少なくとも1つのペプチドを認識する該対象の血清中のAAIのその後の濃度の増加は、該対象における牛乳に対するアレルギー反応の強度の増加を示す方法によって検出される。

20

30

【0020】

本発明の方法の前述の実施形態及び態様のいずれも、複数のアレルギーエピトープ含有ペプチドのそれぞれが、マイクロタイプレート上の別々のウェルに結合し、血清と反応して、AAIと結合するマイクロアレイムノアッセイの形態であってよい。結合したAAIは、AAI特異的標識試薬、例えば、蛍光標識などのレポーター部分にコンジュゲートされた抗AAI抗体の結合によって検出される。結合標識試薬の蛍光は、ウェルに結合したペプチドに含有されるアレルギーエピトープに対する抗体の血清中の存在を示す。複数のアレルギーエピトープ含有ペプチドは、各ペプチドが多孔性又はクロマトグラフィー支持体上の別々の領域内で固定され、AAIを該ペプチドに結合させるために、血清が支持体を通して流れ、該ペプチドと接触する側方流動免疫アッセイ形式で使用されてもよい。このアッセイでは、AAI特異的標識試薬は、抗AAI抗体にコンジュゲートされた発色団又は色素を含んでもよい。標識試薬の複合体への結合のために、標識試薬も、支持体を通して流れ、ペプチド-AAI複合体と接触し、この結合は、支持体のそれぞれ別々の位置で固定されたペプチド中に含有されるアレルギーエピトープに対する抗体の血清中の有無を示す。

40

【0021】

他の態様において、本発明の方法の前述の実施形態及び態様のいずれも、それぞれのアレルギーエピトープ含有ペプチドが、ビーズなどの、フローサイトメトリーによる分析に

50

適する別々に識別可能な固体支持体にコンジュゲートされているフローサイトメトリーアッセイの形態であってよい。典型的には、該ペプチドは、固体支持体上でのペプチド特異的捕捉抗体への結合によって又は固体支持体への化学結合によって固体支持体にコンジュゲートされる。この態様において、コンジュゲートされたアレルゲンエピトープ含有ペプチドを有するビーズは、対象の血清と接触して、ビーズに存在する任意のペプチド特異的 A A I と結合し、ビーズ上でペプチド - A A I 複合体を形成する。次いで、蛍光レポーター部分を含む A A I - 特異的標識試薬は、このペプチド - A A I 複合体に結合し、ビーズは、フローサイトメトリーにより定量的又は定性的に分析される。これは、アレルゲンエピトープ含有ペプチドがコンジュゲートする各ビーズに関連する結合標識試薬からの蛍光を検出し、それによって、ペプチド及びそれと反応する A A I の血清中の存在を特定する。配列番号 1 ~ 33 の中から選択される複数のアレルゲンエピトープ含有ペプチドの少なくとも 1 つに反応する A A I の存在は、対象が牛乳アレルギーであることを示し、反応性ペプチドの数の経時変化、又は 1 以上のペプチドに反応する A A I の濃度の経時変化は、その期間にわたるアレルギー強度の増加、アレルギー強度の減少、又は臨床耐性の発生を示す。

10

【0022】

さらなる態様において、フローサイトメトリーアッセイは、ペプチド及びタンパク質の定量並びに検出のためのマイクロスフィアアレイプラットフォームを使用する L U M I N E X x M A P 技術などの多重アッセイであってよい。複数のアレルゲンエピトープ含有ペプチドのそれぞれは、関連するアレルゲンエピトープ含有ペプチドをフローサイトメトリーによって特定するために使用することができる異なるスペクトル特性を有するビーズのセットに結合される。次いで、このビーズのセットは対象の血清と接触し、ペプチド認識 A A I と各ビーズが結合して、ビーズ上でペプチド - A A I 複合体を形成し、蛍光レポーター部分を含む A A I 特異的標識試薬がこの複合体の A A I に結合する。これらのビーズは、各ビーズのスペクトル特性及び結合標識試薬からの関連する蛍光量を監視することによって分析される。このプロセスは、ビーズ上のペプチド、及びそれに反応する血清 A A I の有無の特定を可能にする。このアッセイの結果は、上記のように解釈される。

20

【0023】

さらなる実施形態において、本発明は、C M A の検出、C M A 強度の増減の検出、又は牛乳タンパク質に対する臨床耐性の発生の検出のためのキットであって、

30

- a) 配列番号 1 ~ 33 の中から選択される複数のアレルゲンエピトープ含有ペプチド；
- b) 第 1 のレポーター部分にコンジュゲートされた抗アレルギー関連免疫グロブリン (A A I) 抗体を含む標識試薬；及び
- c) 必要に応じて、標識試薬に特異的に結合する第 2 のレポーター部分、を含み、共に包装され、使用説明書を含むキットに関する。

【0024】

標識試薬は、蛍光色素、放射性標識、又は着色色素などの、直接検出可能である第 1 のレポーター部分にコンジュゲートされてもよい。具体例として、フィコエリトリン (P E) 分子は、抗アレルギー関連免疫グロブリンに直接結合して、検出のために使用され得る。あるいは、第 1 レポーター部分は、間接的に検出可能なレポーター部分 (例えば、発色性色素の酵素標識) であり得、該キットは、必要に応じて、直接検出可能な標識にコンジュゲートされた第 1 のレポーター部分に特異的な結合パートナー (第 2 のレポーター部分) を含んでもよい。例えば、該キットは、ビオチンコンジュゲート抗 A A I 抗体及びビオチンコンジュゲート抗 A A I を検出するためのストレプトアビジンコンジュゲート蛍光色素を含んでもよい。

40

【図面の簡単な説明】

【0025】

【図 1】 C M A のための免疫療法を受けている牛乳耐性個体の、配列番号 1 ~ 33 のペプチドパネルへの経時的な血清反応性を示す。

【図 2】 C M A のための免疫療法に反応して脱感作になった C M A を有する個体の、配列

50

番号 1 ~ 33 のペプチドパネルへの経時的な血清反応性を示す。

【図 3】CMA のための免疫療法に部分的に反応した CMA を有する個体の、配列番号 1 ~ 33 のペプチドパネルへの経時的な血清反応性を示す。

【発明を実施するための形態】

【0026】

図面において、「a」で始まる特定されたペプチドは「アルファ」を表し、「b」で始まる特定されたペプチドは「ベータ」を表し、「c」で始まる特定されたペプチドは「カッパ」を表す。

【0027】

本発明のいくつかの例示的な実施形態を説明する前に、本発明は、以下の説明に記載された構成又はプロセスステップの詳細に限定されるものではないことを理解されたい。本発明は、他の実施形態が可能であり、かつ様々な方法で実施又は実行できる。

【0028】

本明細書を通して「一実施形態」、「特定の実施形態」、「1 以上の実施形態」又は「1 つの実施形態」への言及は、実施形態に関連して説明される特定の特徵、構造、材料、又は特性が本発明の少なくとも 1 つの実施形態に含まれることを意味する。したがって、本明細書全体を通して様々な箇所での「1 以上の実施形態様において」、「特定の実施形態において」、「一実施形態において」、又は「1 つの実施形態において」などの語句の出現は、必ずしも本発明の同じ実施形態を言及しているわけではない。さらに、特定の特徵、構造、材料、又は特性は、1 以上の実施形態において任意の適切な方法で組み合わせることができる。

【0029】

本明細書で使用される用語「アレルギー関連免疫グロブリン」及び「AAI」は、食物アレルギーに対する過敏症を媒介する血清中の免疫グロブリンを指す。これらは、IgE、IgA、及び IgG (IgG4 を含む) のうちの 1 以上を含む。

【0030】

本明細書で使用される「反応性の」、「反応性」、及び「認識する」などの用語は、アレルギーエピトープ含有ペプチドに結合するアレルギー関連免疫グロブリンの能力を指す。反応性のレベルは血清中の AAI の濃度を示し、高い反応性は高い AAI 濃度と関連し、低い反応性は低い AAI 濃度と関連する。相対 AAI 濃度 (すなわち、相対的血清反応性) は、アッセイで検出されたシグナルの量によって決定される。アレルギーエピトープ含有ペプチドに対する AAI の反応性のレベルもアレルギー反応の強度を示し、すなわち、より高い反応性は、より強いアレルギー反応と関連する。

【0031】

本明細書で使用される用語「臨床耐性」は、アレルギーに対する曝露の結果としてアレルギー対象で発生した食物アレルギーに対する免疫寛容、すなわち、免疫療法の結果として発生した耐性を指す。

【0032】

本明細書で使用される用語「自然耐性」は、生存期間中のアレルギーに対する自然曝露の結果として、又は曝露の非存在下で、生化学的プロセスとして経時的にアレルギー対象で発生した食物アレルギーに対する免疫寛容を指す。

【0033】

本明細書で開示されるアレルギーエピトープ含有ペプチドは、特定のアミノ酸配列を有する特定の実施形態として説明されるが、当業者なら、そのようなペプチドのそれぞれが、なおも関連エピトープを含有するが、関連エピトープが指定されたものとは異なるアミノ酸と隣接している関連ペプチド配列を得るために導き出されるタンパク質の N 末端又 C 末端方向のいずれかにシフトされ得ることを認識すると理解されたい。したがって、全ての実施形態及び態様において、本発明は、8 個以上連続するアミノ酸によって、開示されるペプチド配列と重複するアミノ酸配列を有するアレルギーエピトープ含有ペプチドを含む。

10

20

30

40

50

【0034】

配列番号1～33によって表されるアレルゲンエピトープ含有ペプチドは、10人を超える高アレルギー個体においてZ-スコアを有するものとして、S1-カゼイン、S2-カゼイン、 β -カゼイン、 α -ラクトグロブリン、及び β -カゼイン由来のペプチドライブラリー中で特定された。高アレルギー対象において、配列番号1～33の全33種のペプチドは血清と反応する。逆に、非アレルギー対象において、配列番号1～33の33種のペプチドはいずれも血清と反応しない。配列番号1～33の個々のペプチドは、個体におけるCMA強度を決定するのに、かつCMA強度の経時変化を監視するのに有用である反応性の連続も提供する。非反応性と最高の反応性の間に入る牛乳アレルギー強度を有する個体は、配列番号1～33の中のペプチドの全てではないがいくつかと反応する血清を有する。一般的に、これらの個体の血清と反応する配列番号1～33の中のペプチドの数は、アレルギー強度と正に相関しており、すなわち、アレルギー強度が高いほど、配列番号1～33の中のより多くのペプチドが血清と反応する。軽度のアレルギーを有する個体の血清は、より強いアレルギーを有する個体の血清よりも少ないペプチドと反応する。したがって、本発明は、CMAを診断する方法を提供するだけでなく、牛乳タンパク質に対する臨床耐性の発生の検出を含む、アレルギー強度を決定する方法、及びアレルギー強度の経時変化を決定する方法を提供する。

10

【0035】

本発明の特定の態様において、CMA対象の血清と反応する配列番号1～33のグループ内のアレルゲンエピトープ含有ペプチドの数は、アレルギー反応の強度と正の相関を有し、すなわち、より少ないペプチドとの反応性は、牛乳に対してより軽度のアレルギー反応を示し、より多くのペプチドとの反応性は、対象が牛乳に対してより高度にアレルギーであることを示す。本発明の別の態様において、配列番号1～33によって表されるペプチドへの血清IgEの結合強度(血清中のIgE濃度の測定)は、アレルギー反応の強度と相関し、すなわち、全33種のペプチド又は33種のペプチドのサブセットとのより弱い反応性は、全33種のペプチド又はペプチドのサブセットとのより強い反応性と比較してより中程度のアレルギー反応を示す。本明細書で使用される場合、アレルゲンエピトープ含有ペプチドとの「非反応性」又は「負」の反応性への言及は、約2未満のアッセイにおけるシグナル・ノイズ比(S/N)を意味する。典型的なバックグラウンドシグナル(N)は、非アレルギー性個体からの血清のプールによって生成されたシグナルである。あるいは、本発明は、バックグラウンドシグナルを確立するためのベースとして負のペプチドの使用を企図する。本明細書で使用される場合、アレルゲンエピトープ含有ペプチドとの「弱い」又は「中程度」「中程度」の反応性への言及は、約2～10のS/Nを意味するが、この値は、ペプチド及びアレルギーに応じて変化し得る。本明細書で使用される場合、アレルゲンエピトープ含有ペプチドとの「高い」又は「強い」反応性への言及は、約10より大きいS/Nを意味する。

20

30

【0036】

牛乳タンパク質中のペプチドエピトープの分析に基づくこれまでに知られているCMAのアッセイは、エピトープへのIgE及びIgG4の結合の相対的親和性の分析に依存する競合イムノアッセイである。抗体結合の親和性は、対象が牛乳に対する臨床耐性を発生するかどうかに関連していると考えられる。対照的に、一態様において、本発明は、CMAの診断、アレルギー反応の強度、及び耐性を発生するか、又は対象の血清中のIgEと結合したエピトープ(すなわち、ペプチド)の数に基づくアレルギー反応の増加を経験する患者の可能性と相関する、重要な牛乳タンパク質エピトープのセット内の各個々のペプチドへのAAI結合の有無の分析に基づく。第2の態様において、本発明は、アレルギー反応の強度とも相関する、アレルゲンエピトープ含有ペプチドのそれぞれと反応する血清中のAAIの濃度分析に基づく。

40

【0037】

本発明の一実施形態は、各ペプチドが別々に識別可能な固体支持体にコンジュゲートされた、配列番号1～33の中から選択される複数のペプチドを提供すること、各固体支

50

持体上のペプチドへの血清中の A A I の結合を可能にするのに十分な条件下で、ペプチド - A A I 複合体を形成するために、各固体支持体と対象から得た血清を接触させること、各ペプチド - A A I 複合体に A A I 特異的標識試薬を結合させること、及び該対象の血清中の A A I によって認識されるペプチドを特定するために、各ペプチド - A A I 複合体への標識試薬の結合を分析することを含む、対象における C M A を診断する方法に関する。牛乳アレルゲンへの曝露後に、少なくとも 1 つのペプチドが、中程度又は高度に血清 A A I (S / N > 2) と反応し、反応性ペプチドの 1 以上の反応性が、約 6 カ月以内に少なくとも 2 倍減少しない場合に、該対象は、C M A を有すると診断される。

【 0 0 3 8 】

C M A 免疫療法の投与後の牛乳耐性個体の血清反応性を図 1 に示す。この実験では、牛乳耐性個体が C M A のための免疫療法で治療され、血清試料を 6 ~ 1 2 カ月間隔をあけて採取した。免疫療法に対する初期反応は、約 1 1 種のペプチドとの中程度から高い反応性 (青いバー、S / N > 2) をもたらすことが分かる。6 カ月以内 (オレンジ色のバー) に、これらのペプチドの全てに対する反応性に少なくとも約 2 倍の減少があった。k c a s - 0 4 は、反応性にわずか 2 倍未満の範囲の減少があったが、最も反応性の高いペプチド (例えば、a s 1 - 0 9、a s 1 - 4 4) は、6 カ月以内に実質的に 2 倍より大きく、少なくとも 5 倍の範囲内で反応性の減少を示した。さらに、反応性ペプチドのいずれも (S / N > 2)、6 カ月の時点で反応性を減少しなかったものはない。

【 0 0 3 9 】

本方法の別の態様において、各ペプチド - A A I 複合体への標識試薬の結合の分析は、血清中の各ペプチド特異的 A A I の濃度を示す結合の程度の分析を含み得る。配列番号 1 ~ 3 3 のペプチドの全て、又はそのサブセットとの低い血清反応性から中程度の血清反応性は、血清中のペプチド特異的 A A I の濃度が低いこと、かつ C M A が軽度から中程度であることを示し、ペプチドの全て又はそのサブセットとの高い血清反応性は、血清中のペプチド特異的 A A I の濃度が高いこと、かつ C M A がより重篤であることを示す。C M A の診断のための結合分析には、血清と反応するペプチドの数、該ペプチドへの血清 A A I の結合の程度、又はその両方が使用され得る。

【 0 0 4 0 】

特定の態様において、本発明はさらに、対象が高度にアレルギーの表現型を示す場合であっても、牛乳アレルギーである対象の血清と反応しないエピトープを含有する牛乳タンパク質のペプチドに関する。非アレルギー対象の血清も、これらのペプチドと反応しない。これらのペプチドは、配列番号 3 4、3 5 及び 3 6 によって表され、C M A の診断のためのアッセイの具体的な実施形態において負の対照として有用である。この目的のために利用可能な信頼性の高い負の対照を有することは、偽陽性の診断の可能性及び反応性 A A I 濃度の偽の高い測定値を低下させる。

【 0 0 4 1 】

具体的な実施形態において、配列番号 1 ~ 3 3 の中から選択される複数 (2 以上) のペプチドを使用して対象における C M A を診断する方法には、固相アッセイが含まれる。固相アッセイで使用するために選択される複数のペプチドは、配列番号 1 ~ 3 3 の全 3 3 種のペプチド、5 ~ 1 0 種のペプチドのサブセット、1 0 ~ 1 5 種のペプチドのサブセット、又は 1 5 ~ 2 0 種のペプチドのサブセットを示し得る。本方法は、ペプチドの 2 種以上のそのようなサブセットを使用してもよい。配列番号 1 ~ 3 3 の中から選択される複数のペプチドのそれぞれは、ビーズ、マイクロタイタープレート、クロマトグラフィー材料 (例えば、フィルター)、又は任意の他の適切な固体支持体などの固体支持体にコンジュゲートされて提供される。クロマトグラフィー材料上の各ビーズ、マイクロタイタープレートウェル、又は別々の位置は、配列番号 1 ~ 3 3 の中から選択される単一のペプチドによって占められている。次いで、固体支持体は、各固体支持体又は固体支持体上の別々の場所にあるペプチドへの血清中の抗ペプチド A A I E 特異的結合 (存在する場合) に適する条件下で対象から得た血清と接触して、固体支持体上のペプチド - A A I 複合体を形成する。

10

20

30

40

50

【0042】

次いで、固体支持体上に形成された任意のペプチド - A A I 複合体は、各固体支持体又は固体支持体上の別々の場所にある複合体と、この複合体に特異的に結合する標識試薬とを接触させることによって、典型的には固定化された血清 A A I 抗体に結合することによって検出される。一般的に、単一標識試薬が全複合体の一般的検出に使用される。次いで、特異的ペプチド - A A I 複合体は、マイクロタイタープレート又はクロマトグラフィー支持体上の位置によって識別することができる。各ペプチドがコンジュゲートされた固体支持体が異なるスペクトル特性を有する場合、複合体の存在が複合体に結合した標識試薬からの検出可能なシグナルを介して特定された時点で、特異的ペプチド - A A I 複合体は、ペプチド - A A I 複合体に関連する固体支持体のスペクトル特性の分析によって特定することができる。一例として、マイクロタイタープレートの各ウェル中のペプチド - A A I 複合体の有無は、蛍光色素、発色性色素、酵素標識又は放射性標識などのレポーター部分にコンジュゲートされた抗ヒト A A I 抗体が複合体に結合することにより決定することができる。あるいは、標識試薬への第 2 の直接検出可能なレポーター部分の特異的結合が結合分析に必要であるので、抗ヒト A A I 抗体は、直接検出できないレポーター部分にコンジュゲートされてもよい。

10

【0043】

特定の態様において、C M A の診断方法は、定性的な方法、すなわち、選択される各ペプチドに反応する A A I の有無にのみ基づく。任意の選択されるペプチドと中程度又は高度に反応する A A I の存在は、ある程度の C M A を示すと考えることができるが、その反応性は、約 6 カ月などの短い期間内に実質的に減少しないことを条件とする。本方法は、半定量的であってもよく、すなわち、対象の血清と反応するペプチドの数が多いほど、アレルギーの強度が相対的に高く、逆に、反応性ペプチドの数が少ないほど、アレルギーの強度が相対的に低い。配列番号 1 ~ 33 のペプチドのうち 5 ~ 15 種との血清反応性は、軽度から中程度の C M A を示すことができ、この範囲の下端内の反応性は、一般的に、軽度の C M A として特徴づけられる。配列番号 1 ~ 33 の 16 ~ 33、16 ~ 30、16 ~ 25、16 ~ 20、16 ~ 18 又は全 33 種のペプチドとの血清反応性は、中程度から重度の C M A を示すことができ、この範囲の下端内の反応性は、一般的に、中程度の C M A として特徴づけられる。配列番号 1 ~ 33 のペプチドの 10 ~ 20、12 ~ 18 又は 14 ~ 16 種との血清反応性は、一般的に、中程度の C M A を示すと考えられ得る。一般的に、約 8 ~ 10 種以下は、非アレルギー性個体の血清との反応性が高く ($S/N > 10$)、したがって、診断アッセイの結果において従来のアッセイよりも高い信頼性レベルを提供することは、配列番号 1 ~ 33 のペプチドの特に有用な特徴である。

20

30

【0044】

他の態様において、C M A の診断方法は、定量的な方法、すなわち、選択される各ペプチドへの A A I の反応性レベルの定量に基づく。この例では、反応性のレベルは、ペプチド - A A I 複合体に結合した標識試薬の量と相関し、レポーター部分からのより高いレベルのシグナルは、血清中の特定のペプチド特異的 A A I の濃度がより高いことを示す。特定のペプチド - A A I 複合体に結合したレポーター部分の量又は濃度を得るために、蛍光色素からの蛍光量、着色色素もしくは発色色素もしくは酵素標識からの色の強度、又は放射性標識からの放射能の量は、複合体中の結合 A A I の量、ひいてはその濃度と正に相関する。これらのパラメータを測定する方法は、当技術分野で知られている。該ペプチドのいずれかと反応する A A I の相対量は、C M A の程度又は強度を示すものと考えることができる。すなわち、複数の選択されるペプチド又は選択されるペプチドの中の 1 種以上のペプチドの反応性のレベルが高いほど、アレルギー強度が高い。逆に、複数の選択されるペプチド又は選択されるペプチドの中の 1 種以上のペプチドの反応性のレベルが低いほど、アレルギー強度は低い。

40

【0045】

本発明の方法のいずれかにおいて使用するのに特に有用な定量アッセイは、E L I S A の代替である高スループットの L U M I N E X e x M A P 多重ビーズアッセイなどの、

50

フローサイトメトリー分析用の多重ペプチド - ビーズアッセイである。このアッセイでは、異なる割合の赤色蛍光体及び近赤外蛍光体で染色されたポリスチレンビーズ（マイクロスフェア）が、固体支持体として使用される。該ペプチドは、化学的にビーズに連結されるか、又はビーズ上にコーティングされたペプチド特異的捕捉抗体を介してそれに結合されてもよい。蛍光体の割合は、デジタルシグナル処理を用いてフローサイトメーターによって特定することができる各ビーズ集団について「スペクトルアドレス」を定義する。第三の蛍光色の検出は、ビーズに結合した標識試薬のレポーター部分の蛍光強度の測定に使用される。複数の分析物は、特異的な「スペクトルアドレス」を有するビーズへの、配列番号 1 ~ 33 の中から選択される各ペプチドの結合によって同時に検出することができる。ビーズとビーズに結合したペプチドに特異的な A A I を含有する血清を接触させた後、レポーター部分にコンジュゲされた抗ヒト A A I 抗体が添加される。一例では、抗ヒト A A I のレポーター部分はビオチンであり、フィコエリトリン（P E）コンジュゲートストレプトアビジンへの結合は、検出のための蛍光シグナルを提供する。標識試薬の結合後、これらのビーズは、L U M I N E X 200又はB i o - R a d社製B I O - P L E Xアナライザなどのデュアルレーザーフローベースの検出器で分析される。1つのレーザーは、ビーズを分類し、ビーズに結合したペプチドを特定する。第2のレーザーは、結合した血清 A A I の量に正比例するレポーター由来のシグナルの大きさを決定する。

10

【0046】

固体支持体上のペプチド - A A I 複合体への各ペプチド特異的 A A I の結合の程度を定量化することができるので、配列番号 1 ~ 33 によって表されるペプチドの中から選択される複数のペプチドは、C M A と診断された対象における経時的な C M A 強度の増加、又は最初はアレルギーではないと診断された対象における経時的な C M A の発生を検出する方法においても有用である。上記のように、反応性ペプチドの初期数又は各ペプチド特異的 A A I 初期濃度を提供するために、最初のアッセイは、配列番号 1 ~ 33 の中から選択される複数のペプチドで実行される。最初のアッセイに続く時点で、反応性ペプチドのその後の数又はペプチド特異的 A A I のその後の濃度を得るために、初期プロファイルと同じ、配列番号 1 ~ 33 の中から選択される複数のペプチドを用いて、分析が繰り返される。本方法は、次のように要約することができる：配列番号 1 ~ 33 の中から選択される複数のペプチドに対する対象の血清 A A I の反応性の初期プロファイルであって、対象の血清中の A A I によって認識される（に結合する）ペプチドの初期数、又は各ペプチドを認識する（に結合する）対象の血清中の A A I の初期濃度を示す初期プロファイルを提供すること；初期プロファイルに続く時点で、各固体支持体上のペプチドへの血清中の A A I の結合を可能にするのに十分な条件下で、別々に識別可能な固体支持体にコンジュゲートさせた同じ複数のペプチドの各ペプチドと対象の血清とを接触させ、ペプチド - A A I 複合体を形成すること；該複合体に A A I 特異的標識試薬を結合させること；及び、該対象の血清中の A A I によって認識されるペプチドのその後の数又は選択された各ペプチドと反応する対象の血清中の A A I のその後の濃度を特定するために、各ペプチド - A A I 複合体への標識試薬の結合を分析すること。

20

30

【0047】

本発明で有用な代替アッセイ形式は、側方流動アッセイ又は免疫クロマトグラフィーアッセイである。そのようなアッセイにおいて、選択されるアレルギーエピトープ含有ペプチド（複数可）が多孔性支持体上に固定化され、A A I を含有する血清を流し、該ペプチド（複数可）と接触して、免疫複合体を形成する。多孔性支持体を介して免疫複合体がさらに移行すると、適切な検出試薬を用いて免疫複合体を検出するための特異的捕捉試薬と接触することになる。

40

【0048】

アレルギー強度の増加を検出する方法は、上記のものを含む、任意の適切なアッセイ形式を利用することができる。標識試薬の結合を分析するのに利用可能な分析の種類は例も上記のとおりである。初期プロファイルと比較した場合のその後の時点での A A I と反応するペプチドの数の増加（初期プロファイル内の A A I と反応しないペプチドと比較した

50

増加を含む)、又は初期プロファイルと比較した場合のその後の時点でのペプチドのいずれかへの A A I の結合強度の増加(初期プロファイル内の特定のペプチドへの結合がない状態から、その後の時点での検出可能な結合への増加を含む)は、C M A と以前に診断された対象における C M A 強度の増加、又は以前はアレルギーではなかった対象における C M A の発生を示す。上記のように、対象の初期プロファイルとその後の時点のプロファイルの比較を用いて、対象における特定のアレルギーの重症度の増加又は低い耐性を予測するか、又はアレルギーに対する臨床耐性もしくは自然耐性の発生の可能性を予測することができる。

【0049】

配列番号 1 ~ 33 によって表されるペプチドの中から選択される複数のペプチドは、C M A と診断された対象における牛乳タンパク質に対する臨床耐性の発生を検出する方法にも有用である。これらの実施形態において、アレルギー強度の増加を検出するための上記の一般的アッセイは、配列番号 1 ~ 33 のの中から選択される複数のペプチドとの血清 A A I 反応性の初期プロファイルを確認するために最初の時点で最初に行われる。上記のように、初期プロファイルは、選択されるペプチドとの血清反応性の半定量的又は定量的な分析に基づく。次いで、固体支持体にコンジュゲートされた選択ペプチドは、初期プロファイルに続く時点で得られた対象からの血清と接触し、このアッセイは、その後の時点で C M A 強度の半定量又は定量により上記のように実施される。初期プロファイルと比較した場合のその後の時点で A A I と反応するペプチドの数の減少、又は初期プロファイルと比較した場合のその後の時点でのペプチドのいずれかへの A A I の結合強度の低下、特に少なくとも 2 倍の低下は、牛乳タンパク質に対する臨床耐性の発生を示す。以前に C M A と診断された対象における牛乳タンパク質に対する臨床耐性の発生は、初期プロファイルとその後の時点の間の期間にわたってアレルギー強度の減少も示し、アレルギー強度を検出し、アレルギー強度のそのような経時的な減少を予測することもできることが理解されるであろう。

【0050】

一例として、C M A アレルギー個体の血清反応性を図 2 に示す。この実験では、牛乳に対するアレルギーを有する個体を C M A のための免疫療法で治療し、血清試料を、6 カ月及び 12 カ月後に採取した。免疫療法に対する初期反応は、約 15 ~ 17 種のペプチドとの中程度から高い反応性(すなわち、 $S/N > 2$ 、青いバー)を伴ったことが分かる。6 ヶ月の時点で、血清反応性は、最も反応性のあるペプチドの全てについて 2 倍を超えて減少した(オレンジ色のバー)。特定のペプチドに対する反応の減少は、4 倍 ~ 7 倍の範囲内であった(例えば、 $as1-03$ 、 $as1-09$ 、 $as1-57$ 、 $as1-44$ 、 $bcas-01$)。反応性がほとんどなくなるか、又はさらなる低下がないことが、12 カ月の時点(灰色のバー)で観察され、最初の最も反応性のあるペプチドのいずれも、非反応レベルに戻らなかった($S/N < 2$)。この個体は、免疫療法の過程で牛乳に対して脱感作し、これは、本アッセイが、C M A と診断された対象における牛乳タンパク質に対する臨床耐性の発生の検出の成功を示す。

【0051】

パネル中のいくつかのペプチドは、図 2 に示す個体の血清と反応性が高かった($S/N > 10$)。同様に、図 3 で試験した個体の血清は、少なくとも約 15 種のペプチドとの反応性が中程度から高度であり、牛乳アレルギーを示す。しかし、対照的に、6 カ月の時点(オレンジ色のバー)で、最初に最も反応性のあるペプチドの全てよりも少ない数のペプチドが、少なくとも 2 倍の反応性の減少を示した。2 倍未満の反応性の最小減少の例は、例えば、 $as1-61$ 、 $bcas-25$ 、及び $bcas-53$ で見られる。図 3 に示す個体は、わずかに部分的に免疫療法に反応し、最も反応性の高いペプチドのいくつかとの反応性において 2 倍を超える減少があったものの、これらの反応性の高いペプチドのいくつかは反応性の同様の減少を示さなかったという知見は、免疫療法が完全な脱感作をもたらす可能性が低いこと、又は完全な脱感作が免疫療法によるより長い治療を必要とする可能性を示し得る。

10

20

30

40

50

【0052】

配列番号1～33によって表されるペプチドの全33種の分析は、本発明の前述の方法で有用な結果を得るのに必ずしも必要ではないことも認識されるであろう。統計的に信頼性のある結果を提供するために、配列番号1～33によって表されるペプチドの中から選択されるペプチドの十分な数を使用することが唯一必要である。例えば、対象のCMAの状態が不明である場合、配列番号1～33によって表されるペプチドのわずかな数種との反応性を伴い得る軽度から中程度のCMAが検出可能であることを保証するために、配列番号1～33によって表されるペプチドの中から選択されるアレルゲンエピトープ含有ペプチドの大多数を分析することが一般的に望ましい。逆に、対象が高い強度のCMAを有することが知られている場合には、配列番号1～33によって表されるペプチドの多数が、最初は反応性を示すので、配列番号1～33によって表されるペプチドの中から選択される少数のアレルギーエピトープ含有ペプチドは、アレルギー強度の変化又は臨床耐性の発生を検出するのに十分であり得る。しかし、アレルギー強度の変化及び臨床耐性の発生は、血清と反応するペプチドの数の変化だけでなく、特定のペプチドと反応する血清IgEの濃度の変化によって証明されるので、特定の対象についての診断であるペプチドに対する変化が見逃されないことを保証するために、配列番号1～33によって表されるペプチドの中から選択されるペプチドの十分に大きなセットをアッセイに含めることが特に望ましい。したがって、前述の方法のいずれかで使用するための、配列番号1～33によって表されるペプチドの中から選択される複数のアレルゲンエピトープ含有ペプチドは、配列番号1～33の全33種のペプチド、20～25種のペプチドのサブセット、15～20種のペプチドのサブセット、10～15種のペプチドのサブセット、5～10種のペプチドのサブセット又は2～5種のペプチドのサブセットを代表し得る。例として、多くの場合、ベータ1a c ペプチド(配列番号24～27)は、アレルギー性個体の血清との反応性が実質的に低いか、又は反応しないことが判明した。したがって、特定の用途のために、配列番号1～23(alpha S1、alpha S2、及びベータc a s ペプチド)を単独で又は配列番号28～33(カッパc a s ペプチド)と共に使用することが望ましい場合がある。所望であれば、これらのサブグループのそれぞれも本発明で単独で用いてもよい。

10

20

【0053】

ユーザの利便性のために、前述の方法のいずれかにおいて使用するための試薬は、配列番号1～33によって表されるペプチドの中から選択される複数のアレルゲンエピトープ含有ペプチド、又は有用なサブグループのいずれか、第1のレポーター部分にコンジュゲートされた抗ヒトIgE抗体を含む標識試薬、及び必要に応じて(間接的な検出のために必要な場合)、その標識試薬に特異的に結合する第2のレポーター部分を含むキットの形態で共に包装されてよい。このキットは、典型的には、上記の本発明の方法の1以上におけるこれらの試薬の使用説明書を含む。

30

【0054】

特定のキットの実施形態において、並びに本発明の方法において、抗ヒトAAI抗体は、直接検出することができるレポーター部分にコンジュゲートされて提供されてもよい。直接的に検出可能なレポーター部分は、特異的結合パートナーへの結合を必要とすることなく、特定するか、かつ/又は定量することができるものである。抗ヒトAAI抗体にコンジュゲートされ得る直接検出可能なレポーター部分の例としては、その後の化学反応によって検出することができる蛍光色素、着色色素、発色色素及び酵素標識、並びに放射性標識が挙げられる。他のキットの実施形態において、本発明の方法として、抗ヒトAAI抗体は、間接的に検出可能なレポーター部分、すなわち、それ自体は検出できないが、直接検出可能な標識にコンジュゲートされたレポーター部分に特異的な結合パートナーなどの、直接検出可能なレポーター部分を含む第2のレポーター部分と反応するか、又は相互作用するレポーター部分にコンジュゲートされて提供されてもよい。間接的に検出可能なレポーター部分の例としては、直接検出のために標識される二次抗体(例えば、抗ジゴキシゲニン)、又は他の結合パートナー(例えば、ストレプトアビジン)とのその後の結合

40

50

の際に検出可能なビオチン、ジゴキシゲニン、及び他のハプテンが挙げられる。これらの標識試薬及びレポーター部分のいずれも、本発明の前述の方法において、適切なアッセイフォーマットにおいて、かつキットの成分として有用であることが理解されるであろう。上記のフローサイトメトリ-多重アッセイを実行するためのキットの具体的な例において、キットの構成要素は、配列番号1～33によって表されるペプチドの中から選択される複数のアレルゲンエピトープ含有ペプチド、ビオチン化抗ヒトAAI抗体（第1レポーター部分を有する標識試薬）、PEにコンジュゲートされたストレプトアビジン（第2レポーター部分）を含み得る。

【0055】

前述のキットのいずれかに含めるための、配列番号1～33の中から選択される複数のアレルゲンエピトープ含有ペプチドは、配列番号1～33の全33種のペプチド、20～25種のペプチドのサブセット、15～20種のペプチドのサブセット、10～15種のペプチドのサブセット、5～10種のペプチドのサブセット又は2～5種のペプチドのサブセットを代表し得る。前述のキットのいずれかに含めるための、配列番号1～33の中から選択される複数のアレルゲンエピトープ含有ペプチドも、関連するペプチドサブグループ（すなわち、alpha S1、alpha S2、ベータcas、ベータlac及びカッパcasのペプチド）のうちの1以上を代表し得る。

10

【0056】

さらなる態様において、本発明は、前述の方法、ペプチドパネル及びキットで使用するための、牛乳タンパク質由来の追加のアレルゲンエピトープ含有ペプチドを提供する。これらのペプチド及びそのサブセットは、上記の任意の態様及び/又は実施形態において、配列番号1～33のいずれか又は全てと置換することができる。さらに、ペプチド及びそのサブセットは、配列番号1～33に加えて、上記の任意の態様及び/又は実施形態において使用することができる。牛乳タンパク質由来の追加のアレルゲンエピトープ含有ペプチドには、以下のものが含まれる：

20

【表 3】

alphas1-07	NLLRFFVAPFPEVFGKEKVN	配列番号 :37
alphas1-25	PNSVEQKHIQKEDVPSERYL	配列番号 :38
alphas1-28	QKEDVPSERYLGYLEQLLRL	配列番号 :39
alphas1-37	LEIVPNSAEERLHSMKEGIH	配列番号 :40
alphas1-40	ERLHSMKEGIHAQQKEPMIG	配列番号 :41
alphas1-43	IHAQQKEPMIGVNQELAYFY	配列番号 :42
alphas1-46	IGVNQELAYFYPELFRQFYQ	配列番号 :43
alphas1-54	PSGAWYYVPLGTQYTDAPSF	配列番号 :44
alphas1-55	AWYYVPLGTQYTDAPSFSDI	配列番号 :45

10

alphas2-05	SIISQETYKQEKMAINPSK	配列番号 :46
alphas2-10	INPSKENLCSTFCKEVVRNA	配列番号 :47
alphas2-21	SAEVATEEVKITVDDKHYQK	配列番号 :48
alphas2-44	TSEENSKKTVDMESTEVFTK	配列番号 :49
alphas2-51	TKLTEEEKNRLNFLKKISQR	配列番号 :50
alphas2-62	YQHQKAMKPWIQPKTKVIPY	配列番号 :51
betacas-21	PFPGPINSLPQNIPPLTQT	配列番号 :52
betacas-27	QTPVVVPPFLQPEVMGVSKV	配列番号 :53
betacas-44	VENLHLPLPLLQSWMHQPHQ	配列番号 :54
betacas-48	SWMHQPHQPLPPTVMFPPQS	配列番号 :55
betacas-56	SQSKVLPVPQKAVPYPQRDM	配列番号 :56
betalac-18	GDLEILLQKWENDECAQKKI	配列番号 :57
betalac-44	DEALEKFDKALKALPMHIRL	配列番号 :58
kappacas-06	RFFSDKIAKYIPIQYVLSRY	配列番号 :59
kappacas-16	KPVALINNQFLPYPPYAKPA	配列番号 :60
kappacas-21	YAKPAAVRSPAQILQWQVLS	配列番号 :61
kappacas-24	PAQILQWQVLSNTVPAKSCQ	配列番号 :62
kappacas-30	CQAQPTTMARHPHLSFMA	配列番号 :63
kappacas-33	RHPHLSFMAIPPKKNQDK	配列番号 :64
kappacas-41	TINTIASGEPTSTPTTEAVE	配列番号 :65
kappacas-50	DSPEVIESPPEINTVQVTST	配列番号 :66
kappacas-51	PEVIESPPEINTVQVTSTAV	配列番号 :67
betalac-39	QSLVCQCLVRTPEVDDEALE	配列番号 :68

20

30

40

50

【 0 0 5 7 】

実施例

血清を、CM耐性及びCMAの個体から入手し、LUMINEXアッセイでアッセイして、図1～3に示す代表的な結果を得た。洗浄緩衝液、血清、ビーズ及び抗体希釈物を、製造業者の指示に従って調製した。フィルタープレートを1分間、緩衝液で予め湿らせ、緩衝液を真空除去した。100 μ lのビーズカクテルを各ウェルに添加し、緩衝液を真空除去して、ビーズを100 μ lの緩衝液で2回洗浄した。100 μ lの血清希釈液を各ウェルに添加し、振盪しながら2時間インキュベートした。液体を除去するために、真空を適用した。再度、ビーズを緩衝液で2回洗浄した。50 μ lの抗体希釈液を各ウェルに添加し、振盪しながら30分間インキュベートした。真空をした後、ウェルを3回洗浄した。100 μ lの緩衝液をウェルに添加し、試料を固定プレートに移した。ウェルをLUMINEX装置で読み取った。結果を、上記の図1～3に示す。

10

【 0 0 5 8 】

方法の追加の適用

牛乳由来のアレルゲンエピトープ含有ペプチドに関する本発明の概念、並びにCMAの診断のため、牛乳タンパク質に対する臨床耐性の発生を検出するため、及びアレルギー強度の増減を検出するためのそれらの使用は、他のアレルゲンエピトープ含有ペプチドのパネルの開発、並びに診断、耐性の検出、及び他のアレルゲンタンパク質に対する耐性の増加及び発生の検出におけるそれらの使用に適用することもできる。

20

【 0 0 5 9 】

例えば、アレルギーピーナツタンパク質、特に、Ara hタンパク質ファミリーに由来するアレルゲンエピトープ含有ペプチドのパネルを、上記の方法と同様の方法で利用してもよい。このようなパネルは、以下のリスト(配列番号69～277)からの1以上のペプチドを含んでもよい：

【表4】

ara h 1.006	VLASVSATHAKSSPY	配列番号 :69
ara h 1.007	SVSATHAKSSPYQKK	配列番号 :70
ara h 1.008	ATHAKSSPYQKKTEN	配列番号 :71
ara h 1.012	TENPCAQRCLQSCQQ	配列番号 :72
ara h 1.013	PCAQRCLQSCQQEPD	配列番号 :73
ara h 1.015	LQSCQQEPDDLKQKA	配列番号 :74
ara h 1.016	CQQEPDDLKQKACES	配列番号 :75
ara h 1.017	EPDDLKQKACESRCT	配列番号 :76
ara h 1.019	QKACESRCTKLEYDP	配列番号 :77
ara h 1.020	CESRCTKLEYDPRCV	配列番号 :78
ara h 1.021	RCTKLEYDPRCVYDP	配列番号 :79
ara h 1.022	KLEYDPRCVYDPRGH	配列番号 :80
ara h 1.023	YDPRCVYDPRGHTGT	配列番号 :81

30

40

ara h 1.025	YDPRGHTGTTNQRSP	配列番号 :82
ara h 1.026	RGHTGTTNQRSPPE	配列番号 :83
ara h 1.028	TNQRSPPGERTRGRQ	配列番号 :84
ara h 1.029	RSPPGERTRGRQPGD	配列番号 :85
ara h 1.030	PGERTRGRQPGDYDD	配列番号 :86
ara h 1.031	RTRGRQPGDYDDRR	配列番号 :87
ara h 1.032	GRQPGDYDDRRQPR	配列番号 :88
ara h 1.033	PGDYDDRRQPRREE	配列番号 :89
ara h 1.034	YDDRRQPRREEGGR	配列番号 :90
ara h 1.035	DRRQPRREEGGRWGP	配列番号 :91
ara h 1.036	QPRREEGGRWGPAGP	配列番号 :92
ara h 1.037	REEGGRWGPAGPRER	配列番号 :93
ara h 1.038	GGRWGPAGPRERERE	配列番号 :94
ara h 1.039	WGPAGPREREREEDW	配列番号 :95
ara h 1.040	AGPREREREEDWRQP	配列番号 :96
ara h 1.041	REREREEDWRQPRED	配列番号 :97
ara h 1.042	EREEDWRQPREDWRR	配列番号 :98
ara h 1.043	EDWRQPREDWRRPSH	配列番号 :99
ara h 1.044	RQPREDWRRPSHQQP	配列番号 :100
ara h 1.045	REDWRRPSHQQPRKI	配列番号 :101
ara h 1.046	WRRPSHQQPRKIRPE	配列番号 :102
ara h 1.047	PSHQQPRKIRPEGRE	配列番号 :103
ara h 1.048	QQPRKIRPEGREGEQ	配列番号 :104
ara h 1.049	RKIRPEGREGEQEWG	配列番号 :105
ara h 1.050	RPEGREGEQEWGTPG	配列番号 :106
ara h 1.051	GREGEQEWGTPGSHV	配列番号 :107
ara h 1.052	GEQEWGTPGSHVREE	配列番号 :108
ara h 1.053	EWGTPGSHVREETS	配列番号 :109
ara h 1.056	REETSRRNNPFYFPSR	配列番号 :110
ara h 1.057	TSRRNNPFYFPSRRFS	配列番号 :111

10

20

30

40

ara h 1.058	NNPFYFPSRRFSTRY	配列番号 :112
ara h 1.089	RIPSGFISYILNRHD	配列番号 :113
ara h 1.090	SGFISYILNRHDNQN	配列番号 :114
ara h 1.094	NQNLRVAKISMPVNT	配列番号 :115
ara h 1.095	LRVAKISMPVNTPGQ	配列番号 :116
ara h 1.096	AKISMPVNTPGQFED	配列番号 :117
ara h 1.097	SMPVNTPGQFEDFFP	配列番号 :118
ara h 1.098	VNTPGQFEDFFPASS	配列番号 :119
ara h 1.099	PGQFEDFFPASSRDQ	配列番号 :120
ara h 1.100	FEDFFPASSRDQSSY	配列番号 :121
ara h 1.102	ASSRDQSSYLQGFSR	配列番号 :122
ara h 1.103	RDQSSYLQGFSRNTL	配列番号 :123
ara h 1.104	SSYLQGFSRNTLEAA	配列番号 :124
ara h 1.105	LQGFSRNTLEAAFNA	配列番号 :125
ara h 1.112	RVLLEENAGGEQEER	配列番号 :126
ara h 1.113	LEENAGGEQEERGQR	配列番号 :127
ara h 1.114	NAGGEQEERGQRRWS	配列番号 :128
ara h 1.115	GEQEERGQRRWSTRS	配列番号 :129
ara h 1.116	EERGQRRWSTRSEN	配列番号 :130
ara h 1.129	KKGSEEGDITNPIN	配列番号 :131
ara h 1.130	SEEGDITNPINLRE	配列番号 :132
ara h 1.131	EGDITNPINLREGEP	配列番号 :133
ara h 1.132	ITNPINLREGEPDLS	配列番号 :134
ara h 1.133	PINLREGEPDLSNNF	配列番号 :135
ara h 1.134	LREGEPDLSNNFGKL	配列番号 :136
ara h 1.135	GEPDLSNNFGKLFEV	配列番号 :137
ara h 1.136	DLSNNFGKLFEVKPD	配列番号 :138
ara h 1.137	NNFGKLFEVKPKKN	配列番号 :139
ara h 1.138	GKLFEVKPKKNPQL	配列番号 :140
ara h 1.141	KKNPQLQDLDMMLTC	配列番号 :141

10

20

30

40

ara h 1.142	PQLQDLDMMLTCVEI	配列番号 :142
ara h 1.143	QDLDMMLTCVEIKEG	配列番号 :143
ara h 1.144	DMMLTCVEIKEGALM	配列番号 :144
ara h 1.145	LTCVEIKEGALMLPH	配列番号 :145
ara h 1.146	VEIKEGALMLPHFNS	配列番号 :146
ara h 1.147	KEGALMLPHFNSKAM	配列番号 :147
ara h 1.165	SNREVERRYTARLKEG	配列番号 :148
ara h 1.166	EVRRYTARLKEGDVF	配列番号 :149
ara h 1.167	RYTARLKEGDVFIMP	配列番号 :150
ara h 1.168	ARLKEGDVFIMPAAH	配列番号 :151
ara h 1.169	KEGDVFIMPAAHPVA	配列番号 :152
ara h 1.170	DVFIMPAAHPVAINA	配列番号 :153
ara h 1.173	PVAINASSELHLLGF	配列番号 :154
ara h 1.174	INASSELHLLGFGIN	配列番号 :155
ara h 1.175	SSELHLLGFGINAEN	配列番号 :156
ara h 1.176	LHLLGFGINAENNHR	配列番号 :157
ara h 1.177	LGFGINAENNHRIFL	配列番号 :158
ara h 1.178	GINAENNHRIFLAGD	配列番号 :159
ara h 1.179	AENNHRIFLAGDKDN	配列番号 :160
ara h 1.180	NHRIFLAGDKDNVID	配列番号 :161
ara h 1.181	IFLAGDKDNVIDQIE	配列番号 :162
ara h 1.182	AGDKDNVIDQIEKQA	配列番号 :163
ara h 1.183	KDNVIDQIEKQAKDL	配列番号 :164
ara h 1.184	VIDQIEKQAKDLAFP	配列番号 :165
ara h 1.185	QIEKQAKDLAFPGSG	配列番号 :166
ara h 1.186	KQAKDLAFPGSGEQV	配列番号 :167
ara h 1.187	KDLAFPGSGEQVEKL	配列番号 :168
ara h 1.188	AFPGSGEQVEKLIKN	配列番号 :169
ara h 1.189	GSSEQVEKLIKNQKE	配列番号 :170
ara h 1.190	EQVEKLIKNQKESHF	配列番号 :171

10

20

30

40

ara h 1.191	EKLIKNQKESHFVSA	配列番号 :172
ara h 1.192	IKNQKESHFVSARPQ	配列番号 :173
ara h 1.193	QKESHFVSARPQSQS	配列番号 :174
ara h 1.194	SHFVSARPQSQSQSP	配列番号 :175
ara h 1.195	VSARPQSQSQSPSSP	配列番号 :176
ara h 1.196	RPQSQSQSPSSPEKE	配列番号 :177
ara h 1.197	SQSQSPSSPEKESPE	配列番号 :178
ara h 1.198	QSPSSPEKESPEKED	配列番号 :179
ara h 1.199	SSPEKESPEKEDQEE	配列番号 :180
ara h 1.200	EKESPEKEDQEEENQ	配列番号 :181
ara h 1.201	SPEKEDQEEENQGGK	配列番号 :182
ara h 1.202	KEDQEEENQGGKGPL	配列番号 :183
ara h 1.203	QEEENQGGKGPLLSI	配列番号 :184
ara h 2.005	AAHASARQQWELQGD	配列番号 :185
ara h 2.006	ASARQQWELQGDRC	配列番号 :186
ara h 2.007	RQQWELQGDRCQSQ	配列番号 :187
ara h 2.008	WELQGDRCQSQLER	配列番号 :188
ara h 2.009	QGDRRCQSQLERANL	配列番号 :189
ara h 2.010	RRCQSQLERANLRPC	配列番号 :190
ara h 2.011	QSQLERANLRPCEQH	配列番号 :191
ara h 2.012	LERANLRPCEQHLMQ	配列番号 :192
ara h 2.013	ANLRPCEQHLMQKIQ	配列番号 :193
ara h 2.014	RPCEQHLMQKIQRDE	配列番号 :194
ara h 2.015	EQHLMQKIQRDEDSY	配列番号 :195
ara h 2.016	LMQKIQRDEDSYERD	配列番号 :196
ara h 2.017	KIQRDEDSYERDPYS	配列番号 :197
ara h 2.018	RDEDSYERDPYSPSQ	配列番号 :198
ara h 2.019	DSYERDPYSPSQDPY	配列番号 :199
ara h 2.020	ERDPYSPSQDPYSPS	配列番号 :200
ara h 2.021	PYSPSQDPYSPSPYD	配列番号 :201

10

20

30

40

ara h 2.022	PSQDPYSPSPYDRRG	配列番号 :202
ara h 2.023	DPYSPSPYDRRGAGS	配列番号 :203
ara h 2.024	SPSPYDRRGAGSSQH	配列番号 :204
ara h 2.025	PYDRRGAGSSQHQER	配列番号 :205
ara h 2.029	QERCCNELNEFENNQ	配列番号 :206
ara h 2.030	CCNELNEFENNQRCM	配列番号 :207
ara h 2.031	ELNEFENNQRCMCEA	配列番号 :208
ara h 2.032	EFENNQRCMCEALQQ	配列番号 :209
ara h 2.034	RCMCEALQQIMENQS	配列番号 :210
ara h 2.035	CEALQQIMENQSDRL	配列番号 :211
ara h 2.036	LQQIMENQSDRLQGR	配列番号 :212
ara h 2.037	IMENQSDRLQGRQQE	配列番号 :213
ara h 2.038	NQSDRLQGRQQEQQF	配列番号 :214
ara h 2.039	DRLQGRQQEQQFKRE	配列番号 :215
ara h 2.040	QGRQQEQQFKRELRN	配列番号 :216
ara h 2.041	QQEQQFKRELRNLPQ	配列番号 :217
ara h 2.042	QQFKRELRNLPQQCG	配列番号 :218
ara h 2.043	KRELRNLPQQCGLRA	配列番号 :219
ara h 2.045	LPQQCGLRAPQRCDL	配列番号 :220
ara h 2.046	QCGLRAPQRCDLDVE	配列番号 :221
ara h 2.047	LRAPQRCDLDVESGG	配列番号 :222
ara h 3.008	RIESEGGYIETWNP	配列番号 :223
ara h 3.013	NQEFECAGVALSRLV	配列番号 :224
ara h 3.015	AGVALSRLVLRNAL	配列番号 :225
ara h 3.016	ALSRLVLRNALRRP	配列番号 :226
ara h 3.017	RLVLRNALRRPFYS	配列番号 :227
ara h 3.018	LRRNALRRPFYSNAP	配列番号 :228
ara h 3.019	NALRRPFYSNAPQEI	配列番号 :229
ara h 3.030	HYEETHTQGRRSQS	配列番号 :230
ara h 3.031	EPHTQGRRSQSQRPP	配列番号 :231

10

20

30

40

ara h 3.032	TQGRRSQSQRPPRRL	配列番号 :232
ara h 3.033	RRSQSQRPPRRLQGE	配列番号 :233
ara h 3.036	RRLQGEDQSQQORDS	配列番号 :234
ara h 3.037	QGEDQSQQORDSHQK	配列番号 :235
ara h 3.060	NTEQEFLRYQQQSRQ	配列番号 :236
ara h 3.061	QEFLRYQQQSRQSRR	配列番号 :237
ara h 3.068	PYSPQSQPRQEEREF	配列番号 :238
ara h 3.069	PQSQPRQEEREFSPR	配列番号 :239
ara h 3.070	QPRQEEREFSPRGQH	配列番号 :240
ara h 3.071	QEEREFSPRGQHSRR	配列番号 :241
ara h 3.073	SPRGQHSRRERAGQE	配列番号 :242
ara h 3.074	GQHSRRERAGQEEEN	配列番号 :243
ara h 3.075	SRRERAGQEEENEGG	配列番号 :244
ara h 3.077	GQEEENEGGNIFSGF	配列番号 :245
ara h 3.078	EENEGGNIFSGFTPE	配列番号 :246
ara h 3.079	EGGNIFSGFTPEFLE	配列番号 :247
ara h 3.080	NIFSGFTPEFLEQAF	配列番号 :248
ara h 3.081	SGFTPEFLEQAFQVD	配列番号 :249
ara h 3.082	TPEFLEQAFQVDDRQ	配列番号 :250
ara h 3.090	ESEEEGAIVTVRGGL	配列番号 :251
ara h 3.091	EEGAIVTVRGGLRIL	配列番号 :252
ara h 3.092	AIVTVRGGLRILSPD	配列番号 :253
ara h 3.093	TVRGGLRILSPDRKR	配列番号 :254
ara h 3.094	GGLRILSPDRKRRAD	配列番号 :255
ara h 3.095	RILSPDRKRRADEEE	配列番号 :256
ara h 3.097	RKRRADEEEYDEDE	配列番号 :257
ara h 3.098	RADEEEYDEDEYEY	配列番号 :258
ara h 3.099	EEEEYDEDEYDEE	配列番号 :259
ara h 3.100	EYDEDEYDEEDRR	配列番号 :260
ara h 3.101	EDEYDEEDRRRGR	配列番号 :261

10

20

30

40

ara h 3.102	YEYDEEDRRRGRGSR	配列番号 :262
ara h 3.103	DEEDRRRGRGSRGRG	配列番号 :263
ara h 3.104	DRRRGRGSRGRGNGI	配列番号 :264
ara h 3.105	RGRGSRGRGNGIEET	配列番号 :265
ara h 3.106	GSRGRGNGIEETICT	配列番号 :266
ara h 3.107	GRGNGIEETICTASA	配列番号 :267
ara h 3.108	NGIEETICTASAKKN	配列番号 :268
ara h 3.152	IANLAGENSVIDNLP	配列番号 :269
ara h 3.153	LAGENSVIDNLPEEV	配列番号 :270
ara h 3.154	ENSVIDNLPEEVVAN	配列番号 :271
ara h 3.155	VIDNLPEEVVANSYG	配列番号 :272
ara h 3.161	EQARQLKNNNPFKFF	配列番号 :273
ara h 3.162	RQLKNNNPFKFFVPP	配列番号 :274
ara h 3.163	KNNNPFKFFVPPSQQ	配列番号 :275
ara h 3.164	NPFKFFVPPSQQSPR	配列番号 :276
ara h 3.165	KFFVPPSQQSPRAVA	配列番号 :277

10

20

【 0 0 6 0 】

さらなる実施例において、卵アレルゲンタンパク質、特に、オボアルブミン (o v a) 及び / 又はオボムコイド (o v m) に由来するアレルゲンエピトープ含有ペプチドのパネルを、上記の方法と同様の方法で利用してよい。このようなパネルは、以下のリスト (配列番号 2 7 8 ~ 4 6 0) からの 1 以上のペプチドを含んでもよい :

30

【 表 5 】

ova-1	MGSIGAASMEFCFDV	配列番号 :278
ova-2	IGAASMEFCFDVFKE	配列番号 :279
ova-3	ASMEFCFDVFKELKV	配列番号 :280
ova-4	EFCFDVFKELKVHHA	配列番号 :281
ova-5	FDVFKELKVHHANEN	配列番号 :282
ova-6	FKELKVHHANENIFY	配列番号 :283
ova-7	LKVHHANENIFYCPI	配列番号 :284
ova-8	HHANENIFYCPIAIM	配列番号 :285
ova-9	NENIFYCPIAIMSAL	配列番号 :286

40

ova-10	IFYCPIAIMSALAMV	配列番号 :287
ova-11	CPIAIMSALAMVYLG	配列番号 :288
ova-12	AIMSALAMVYLGAKD	配列番号 :289
ova-13	SALAMVYLGAKDSTR	配列番号 :290
ova-14	AMVYLGAKDSTRTQI	配列番号 :291
ova-15	YLGAKDSTRTQINKV	配列番号 :292
ova-16	AKDSTRTQINKVVRF	配列番号 :293
ova-17	STRTQINKVVRFDKL	配列番号 :294
ova-18	TQINKVVRFDKLPGF	配列番号 :295
ova-19	NKVVRFDKLPFGDS	配列番号 :296
ova-20	VRFDKLPFGDSIEA	配列番号 :297
ova-21	DKLPFGDSIEAQCG	配列番号 :298
ova-22	PGFGDSIEAQCGTSV	配列番号 :299
ova-23	GDSIEAQCGTSVNVH	配列番号 :300
ova-24	IEAQCGTSVNVHSSL	配列番号 :301
ova-25	QCGTSVNVHSSLRDI	配列番号 :302
ova-26	TSVNVHSSLRDILNQ	配列番号 :303
ova-27	NVHSSLRDILNQITK	配列番号 :304
ova-28	SSLRDILNQITKPND	配列番号 :305
ova-29	RDILNQITKPNDVYS	配列番号 :306
ova-30	LNQITKPNDVYSFSL	配列番号 :307
ova-31	ITKPNDVYSFSLASR	配列番号 :308
ova-32	PNDVYSFSLASRLYA	配列番号 :309
ova-33	VYSFSLASRLYAEER	配列番号 :310
ova-34	FSLASRLYAEERYPI	配列番号 :311
ova-35	ASRLYAEERYPILPE	配列番号 :312
ova-36	LYAEERYPILPEYLQ	配列番号 :313
ova-37	EERYPILPEYLQCVK	配列番号 :314
ova-38	YPILPEYLQCVKELY	配列番号 :315
ova-39	LPEYLQCVKELYRGG	配列番号 :316

10

20

30

40

ova-40	YLQCVKELYRGGLEP	配列番号 :317
ova-41	CVKELYRGGLEPINF	配列番号 :318
ova-42	ELYRGGLEPINFQTA	配列番号 :319
ova-43	RGGLEPINFQTAADQ	配列番号 :320
ova-44	LEPINFQTAADQARE	配列番号 :321
ova-45	INFQTAADQARELIN	配列番号 :322
ova-46	QTAADQARELINSWV	配列番号 :323
ova-47	ADQARELINSWVESQ	配列番号 :324
ova-48	ARELINSWVESQTNG	配列番号 :325
ova-49	LINSWVESQTNGIIR	配列番号 :326
ova-50	SWVESQTNGIIRNVL	配列番号 :327
ova-51	ESQTNGIIRNVLQPS	配列番号 :328
ova-52	TNGIIRNVLQPSSVD	配列番号 :329
ova-53	IIRNVLQPSSVDSQT	配列番号 :330
ova-54	NVLQPSSVDSQTAMV	配列番号 :331
ova-55	QPSSVDSQTAMVLVN	配列番号 :332
ova-56	SVDSQTAMVLVNAIV	配列番号 :333
ova-57	SQTAMVLVNAIVFKG	配列番号 :334
ova-58	AMVLVNAIVFKGLWE	配列番号 :335
ova-59	LVNAIVFKGLWEKAF	配列番号 :336
ova-60	AIVFKGLWEKAFKDE	配列番号 :337
ova-61	FKGLWEKAFKDEDTQ	配列番号 :338
ova-62	LWEKAFKDEDTQAMP	配列番号 :339
ova-63	KAFKDEDTQAMPFRV	配列番号 :340
ova-64	KDEDTQAMPFRVTEQ	配列番号 :341
ova-65	DTQAMPFRVTEQESK	配列番号 :342
ova-66	AMPFRVTEQESKPVQ	配列番号 :343
ova-67	FRVTEQESKPVQMMY	配列番号 :344
ova-68	TEQESKPVQMMYQIG	配列番号 :345
ova-69	ESKPVQMMYQIGLFR	配列番号 :346

10

20

30

40

ova-70	PVQMMYQIGLFRVAS	配列番号 :347
ova-71	MMYQIGLFRVASMAS	配列番号 :348
ova-72	QIGLFRVASMASEKM	配列番号 :349
ova-73	LFRVASMASEKMKIL	配列番号 :350
ova-74	VASMASEKMKILELP	配列番号 :351
ova-75	MASEKMKILELPFAS	配列番号 :352
ova-76	EKMKILELPFASGTM	配列番号 :353
ova-77	KILELPFASGTMSML	配列番号 :354
ova-78	ELPFASGTMSMLVLL	配列番号 :355
ova-79	FASGTMSMLVLLPDE	配列番号 :356
ova-80	GTMSMLVLLPDEVSG	配列番号 :357
ova-81	SMLVLLPDEVSGLEQ	配列番号 :358
ova-82	VLLPDEVSGLEQLES	配列番号 :359
ova-83	PDEVSGLEQLESIIIN	配列番号 :360
ova-84	VSGLEQLESIIINFEK	配列番号 :361
ova-85	LEQLESIIINFEKLTE	配列番号 :362
ova-86	LESIINFEKLTWETS	配列番号 :363
ova-87	IINFEKLTWETSSNV	配列番号 :364
ova-88	FEKLTWETSSNVMEE	配列番号 :365
ova-89	LTEWTSSNVMEEERKI	配列番号 :366
ova-90	WTSSNVMEEERKIKVY	配列番号 :367
ova-91	SNVMEEERKIKVYLPR	配列番号 :368
ova-92	MEERKIKVYLPRMKM	配列番号 :369
ova-93	RKIKVYLPRMKMEEK	配列番号 :370
ova-94	KVYLPRMKMEEKYNL	配列番号 :371
ova-95	LPRMKMEEKYNLTSV	配列番号 :372
ova-96	MKMEEKYNLTSVLMMA	配列番号 :373
ova-97	EEKYNLTSVLMAMGI	配列番号 :374
ova-98	YNLTSVLMAMGITDV	配列番号 :375
ova-99	TSVLMAMGITDVFSS	配列番号 :376

10

20

30

40

ova-100	LMAMGITDVFSSSAN	配列番号 :377
ova-101	MGITDVFSSSANLSG	配列番号 :378
ova-102	TDVFSSSANLSGISS	配列番号 :379
ova-103	FSSSANLSGISSAES	配列番号 :380
ova-104	SANLSGISSAESLKI	配列番号 :381
ova-105	LSGISSAESLKISQA	配列番号 :382
ova-106	ISSAESLKISQAVHA	配列番号 :383
ova-107	AESLKISQAVHAAHA	配列番号 :384
ova-108	LKISQAVHAAHAEIN	配列番号 :385
ova-109	SQAVHAAHAEINEAG	配列番号 :386
ova-110	VHAAHAEINEAGREV	配列番号 :387
ova-111	AHAEINEAGREVVGS	配列番号 :388
ova-112	EINEAGREVVGSAEA	配列番号 :389
ova-113	EAGREVVGSAEAGVD	配列番号 :390
ova-114	REVVGSAEAGVDAAS	配列番号 :391
ova-115	VGSAEAGVDAASVSE	配列番号 :392
ova-116	AEAGVDAASVSEEFR	配列番号 :393
ova-117	GVDAASVSEEFRADH	配列番号 :394
ova-118	AASVSEEFRADHPFL	配列番号 :395
ova-119	VSEEFRADHPFLFCI	配列番号 :396
ova-120	EFRADHPFLFCIKHI	配列番号 :397
ova-121	ADHPFLFCIKHIATN	配列番号 :398
ova-122	PFLFCIKHIATNAVL	配列番号 :399
ova-123	FCIKHIATNAVLFFG	配列番号 :400
ova-124	KHIATNAVLFFGRCV	配列番号 :401
ova-125	ATNAVLFFGRCVSP	配列番号 :402
ovm-1	AEVDCSRFPNATDKE	配列番号 :403
ovm-2	DCSRFPNATDKEGKD	配列番号 :404
ovm-3	RFPNATDKEGKDVLV	配列番号 :405
ovm-4	NATDKEGKDVLCNK	配列番号 :406

10

20

30

40

ovm-5	DKEGKDVLCNKDLR	配列番号 :407
ovm-6	GKDVLCNKDLRPIC	配列番号 :408
ovm-7	VLCNKDLRPICGTD	配列番号 :409
ovm-8	CNKDLRPICGTDGVT	配列番号 :410
ovm-9	DLRPICGTDGVTYTN	配列番号 :411
ovm-10	PICGTDGVTYTNDCL	配列番号 :412
ovm-11	GTDGVTYTNDCLLCA	配列番号 :413
ovm-12	GVTYTNDCLLCAYSI	配列番号 :414
ovm-13	YTNDCLLCAYSIEFG	配列番号 :415
ovm-14	DCLLCAYSIEFGTNI	配列番号 :416
ovm-15	LCAYSIEFGTNISKE	配列番号 :417
ovm-16	YSIEFGTNISKEHDG	配列番号 :418
ovm-17	EFGTNISKEHDGECK	配列番号 :419
ovm-18	TNISKEHDGECKETV	配列番号 :420
ovm-19	SKEHDGECKETVPMN	配列番号 :421
ovm-20	HDGECKETVPMNCSS	配列番号 :422
ovm-21	ECKETVPMNCSSYAN	配列番号 :423
ovm-22	ETVPMNCSSYANTTS	配列番号 :424
ovm-23	PMNCSSYANTTSEDG	配列番号 :425
ovm-24	CSSYANTTSEDGKVM	配列番号 :426
ovm-25	YANTTSEDGKVMVLC	配列番号 :427
ovm-26	TTSEDGKVMVLCNRA	配列番号 :428
ovm-27	EDGKVMVLCNRAFNP	配列番号 :429
ovm-28	KVMVLCNRAFNPVCG	配列番号 :430
ovm-29	VLCNRAFNPVCGTDG	配列番号 :431
ovm-30	NRAFNPVCGTDGVTY	配列番号 :432
ovm-31	FPVCGTDGVTYDNE	配列番号 :433
ovm-32	VCGTDGVTYDNECLL	配列番号 :434
ovm-33	TDGVTYDNECLLCAH	配列番号 :435
ovm-34	VTYDNECLLCAHKVE	配列番号 :436

10

20

30

40

ovm-35	DNECLLCAHKVEQGA	配列番号 :437
ovm-36	CLLCAHKVEQGASVD	配列番号 :438
ovm-37	CAHKVEQGASVDKRH	配列番号 :439
ovm-38	KVEQGASVDKRHDGG	配列番号 :440
ovm-39	QGASVDKRHDGGCRK	配列番号 :441
ovm-40	SVDKRHDGGCRKELA	配列番号 :442
ovm-41	KRHDGGCRKELAAVS	配列番号 :443
ovm-42	DGGCRKELAAVSVDC	配列番号 :444
ovm-43	CRKELAAVSVDCSEY	配列番号 :445
ovm-44	ELAAVSVDCSEYPKP	配列番号 :446
ovm-45	AVSVDCSEYPKPDCT	配列番号 :447
ovm-46	VDCSEYPKPDCTAED	配列番号 :448
ovm-47	SEYPKPDCTAEDRPL	配列番号 :449
ovm-48	PKPDCTAEDRPLCGS	配列番号 :450
ovm-49	DCTAEDRPLCGSDNK	配列番号 :451
ovm-50	AEDRPLCGSDNKTYG	配列番号 :452
ovm-51	RPLCGSDNKTYGNKC	配列番号 :453
ovm-52	CGSDNKTYGNKCNFC	配列番号 :454
ovm-53	DNKTYGNKCNFCNAV	配列番号 :455
ovm-54	TYGNKCNFCNAVVES	配列番号 :456
ovm-55	NKCNFCNAVVESNGT	配列番号 :457
ovm-56	NFCNAVVESNGTLTL	配列番号 :458
ovm-57	NAVVESNGTLTLSHF	配列番号 :459
ovm-58	VESNGTLTLSHFGKC	配列番号 :460

10

20

30

【 0 0 6 1 】

さらなる実施例において、エピアレルゲンタンパク質、特に、アルギニンキナーゼ (a k)、ミオシン軽鎖 (m l c)、筋形質カルシウム結合タンパク質 (s c p)、トロポミオシン (t m) 及びトロポニン C (t p c) に由来するアレルギーエпитープ含有ペプチドのパネルを、上記の方法と同様の方法で利用してもよい。このようなパネルは、以下のリスト (配列番号 4 6 1 ~ 6 8 3) からの 1 以上のペプチドを含んでもよい :

40

【表 6】

ak-01	H-MADAAVIEKLEAGFK-OH	配列番号 :461
ak-02	H-VIEKLEAGFKKLEAA-OH	配列番号 :462
ak-03	H-EAGFKKLEAATDCKS-OH	配列番号 :463
ak-04	H-KLEAATDCKSLLKKY-OH	配列番号 :464
ak-05	H-TDCKSLLKKYLTKEV-OH	配列番号 :465
ak-06	H-LLKKYLTKEVFDKLIK-OH	配列番号 :466
ak-07	H-LTKEVFDKLIKDKKTS-OH	配列番号 :467
ak-08	H-FDKLIKDKKTSLGATL-OH	配列番号 :468
ak-09	H-DKKTSLGATLLDVIQ-OH	配列番号 :469
ak-10	H-LGATLLDVIQSGVEN-OH	配列番号 :470
ak-11	H-LDVIQSGVENLDSGV-OH	配列番号 :471
ak-12	H-SGVENLDSGVGIYAP-OH	配列番号 :472
ak-13	H-LDSGVGIYAPDAEAY-OH	配列番号 :473
ak-14	H-GIYAPDAEAYTLFAP-OH	配列番号 :474
ak-15	H-DAEAYTLFAPLFDPI-OH	配列番号 :475
ak-16	H-TLFAPLFDPIIEDYH-OH	配列番号 :476
ak-17	H-LFDPIIEDYHVGFKQ-OH	配列番号 :477
ak-18	H-IEDYHVGFKQTDKHP-OH	配列番号 :478
ak-19	H-VGFKQTDKHPNKDFG-OH	配列番号 :479
ak-20	H-TDKHPNKDFGDVNSF-OH	配列番号 :480
ak-21	H-NKDFGDVNSFVNVDP-OH	配列番号 :481
ak-22	H-DVNSFVNVDPEGKFV-OH	配列番号 :482
ak-23	H-VNVDPEGKFVISTRV-OH	配列番号 :483
ak-24	H-EGKFVISTRVRCGRS-OH	配列番号 :484
ak-25	H-ISTRVRCGRSMQGY-P-OH	配列番号 :485
ak-26	H-RCGRSMQGYFPNPCL-OH	配列番号 :486
ak-27	H-MQGYFPNPCLTESQY-OH	配列番号 :487
ak-28	H-FNPCLTESQYKEMEA-OH	配列番号 :488
ak-29	H-TESQYKEMEAKVSST-OH	配列番号 :489
ak-30	H-KEMEAKVSSTLSSLE-OH	配列番号 :490

10

20

30

40

ak-31	H-KVSSTLSSLEGELKG-OH	配列番号 :491
ak-32	H-LSSLEGELKGTYYPL-OH	配列番号 :492
ak-33	H-GELKGTYYPLTGMSK-OH	配列番号 :493
ak-34	H-TYYPLTGMSKEVQQK-OH	配列番号 :494
ak-35	H-TGMSKEVQQKLIDDH-OH	配列番号 :495
ak-36	H-EVQQKLIDDHFLFKE-OH	配列番号 :496
ak-37	H-LIDDHFLFKEGDRFL-OH	配列番号 :497
ak-38	H-FLFKEGDRFLQAANA-OH	配列番号 :498
ak-39	H-GDRFLQAANACRYWP-OH	配列番号 :499
ak-40	H-QAANACRYWPAGRGI-OH	配列番号 :500
ak-41	H-CRYWPAGRGIYHNDN-OH	配列番号 :501
ak-42	H-AGRGIYHNDNKTFLV-OH	配列番号 :502
ak-43	H-YHNDNKTFLVWVNEE-OH	配列番号 :503
ak-44	H-KTFLVWVNEEDHLRI-OH	配列番号 :504
ak-45	H-WVNEEDHLRIISMQM-OH	配列番号 :505
ak-46	H-DHLRIISMQMGGDLG-OH	配列番号 :506
ak-47	H-ISMQMGGDLGQVFRR-OH	配列番号 :507
ak-48	H-GGDLGQVFRRLTSAV-OH	配列番号 :508
ak-49	H-QVFRRLTSAVNEIEK-OH	配列番号 :509
ak-50	H-LTSAVNEIEKRIPFS-OH	配列番号 :510
ak-51	H-NEIEKRIPFSHHDRL-OH	配列番号 :511
ak-52	H-RIPFSHHDRLGFLTF-OH	配列番号 :512
ak-53	H-HHDRLGFLTFCPTNL-OH	配列番号 :513
ak-54	H-GFLTFCPTNLGTTVR-OH	配列番号 :514
ak-55	H-CP'INLGT'IVRASVHI-OH	配列番号 :515
ak-56	H-GTTVRASVHIKLPKL-OH	配列番号 :516
ak-57	H-ASVHIKLPKLAANRE-OH	配列番号 :517
ak-58	H-KLPKLAANREKLEEV-OH	配列番号 :518
ak-59	H-AANREKLEEVAGKYN-OH	配列番号 :519
ak-60	H-KLEEVAGKYNLQVRG-OH	配列番号 :520

10

20

30

40

ak-61	H-AGKYNLQVRGTRGEH-OH	配列番号 :521
ak-62	H-LQVRGTRGEHTEAEG-OH	配列番号 :522
ak-63	H-TRGEHTEAEGGIYDI-OH	配列番号 :523
ak-64	H-TEAEGGIYDISNKRR-OH	配列番号 :524
ak-65	H-GIYDISNKRRMGLTE-OH	配列番号 :525
ak-66	H-SNKRRMGLTEFQAVK-OH	配列番号 :526
ak-67	H-MGLTEFQAVKEMQDG-OH	配列番号 :527
ak-68	H-FQAVKEMQDGILELI-OH	配列番号 :528
ak-69	H-EMQDGILELIKIEKE-OH	配列番号 :529
m1c-01	H-MSRKSGSRSSSKRSK-OH	配列番号 :530
m1c-02	H-GSRSSSKRSKSGGG-OH	配列番号 :531
m1c-03	H-SKRSKSGGGSNVFD-OH	配列番号 :532
m1c-04	H-KSGGGSNVFDMFTQR-OH	配列番号 :533
m1c-05	H-SNVFDMFTQRQVAEF-OH	配列番号 :534
m1c-06	H-MFTQRQVAEFKEGFQ-OH	配列番号 :535
m1c-07	H-QVAEFKEGFQLMDRD-OH	配列番号 :536
m1c-08	H-KEGFQLMDRDKDGVIOH	配列番号 :537
m1c-09	H-LMDRDKDGVIGKTDL-OH	配列番号 :538
m1c-10	H-KDGVIGKTDLRGTFD-OH	配列番号 :539
m1c-11	H-GKTDLRGTFDEIGRI-OH	配列番号 :540
m1c-12	H-RGTFDEIGRIATDQE-OH	配列番号 :541
m1c-13	H-EIGRIATDQELDEML-OH	配列番号 :542
m1c-14	H-ATDQELDEMLADAPA-OH	配列番号 :543
m1c-15	H-LDEMLADAPAPINFT-OH	配列番号 :544
m1c-16	H-ADAPAPINFTMLLNM-OH	配列番号 :545
m1c-17	H-PINFTMLLNMFAERQ-OH	配列番号 :546
m1c-18	H-MLLNMFAERQTGESD-OH	配列番号 :547
m1c-19	H-FAERQTGESDDDDVV-OH	配列番号 :548
m1c-20	H-TGESDDDDVVAKAFL-OH	配列番号 :549
m1c-21	H-DDDDVVAKAFLAFADE-OH	配列番号 :550

10

20

30

40

mlc-22	H-AKAFLAFADEEGNID-OH	配列番号 :551
mlc-23	H-AFADEEGNIDCDTFR-OH	配列番号 :552
mlc-24	H-EGNIDCDTFRHALMT-OH	配列番号 :553
mlc-25	H-CDTFRHALMTWGDKF-OH	配列番号 :554
mlc-26	H-HALMTWGDKFSSQEA-OH	配列番号 :555
mlc-27	H-WGDKFSSQEADDALD-OH	配列番号 :556
mlc-28	H-SSQEADDALDQMDID-OH	配列番号 :557
mlc-29	H-DDALDQMDIDDGGKI-OH	配列番号 :558
mlc-30	H-QMDIDDGGKIDVQGV-OH	配列番号 :559
mlc-31	H-DGGKIDVQGVQMLT-OH	配列番号 :560
mlc-32	H-DVQGVQMLTAGGGD-OH	配列番号 :561
mlc-33	H-IQMLTAGGGDDAAAE-OH	配列番号 :562
mlc-34	H-AGGGDDAAAEAA-OH	配列番号 :563
scp-01	H-MAYSWDNRVKYVVRY-OH	配列番号 :564
scp-02	H-DNRVKYVVRYMYDID-OH	配列番号 :565
scp-03	H-YVVRYMYDIDNNGFL-OH	配列番号 :566
scp-04	H-MYDIDNNGFLDKNDF-OH	配列番号 :567
scp-05	H-NNGFLDKNDFECLAV-OH	配列番号 :568
scp-06	H-DKNDFECLAVRNTLI-OH	配列番号 :569
scp-07	H-ECLAVRNTLIEGRGE-OH	配列番号 :570
scp-08	H-RNTLIEGRGEFSADA-OH	配列番号 :571
scp-09	H-EGRGEFSADAYANNQ-OH	配列番号 :572
scp-10	H-FSADAYANNQKIMRN-OH	配列番号 :573
scp-11	H-YANNQKIMRNLWNEI-OH	配列番号 :574
scp-12	H-KIMRNLWNEIAELAD-OH	配列番号 :575
scp-13	H-LWNEIAELADFNKDG-OH	配列番号 :576
scp-14	H-AELADFNKDGEVTVD-OH	配列番号 :577
scp-15	H-FNKDGEVTVDEFKQA-OH	配列番号 :578
scp-16	H-EVTVDEFKQAVQKHC-OH	配列番号 :579
scp-17	H-EFKQAVQKHCQGGKY-OH	配列番号 :580

10

20

30

40

scp-18	H-VQKHCQGKKYGDFPG-OH	配列番号 :581
scp-19	H-QGKKYGDFFGAFKVF-OH	配列番号 :582
scp-20	H-GDFPGAFKVFIANQF-OH	配列番号 :583
scp-21	H-AFKVFIANQFKAIDV-OH	配列番号 :584
scp-22	H-IANQFKAIDVNGDGK-OH	配列番号 :585
scp-23	H-KAIDVNGDGKVGLDE-OH	配列番号 :586
scp-24	H-NGDGKVGLDEYRLDC-OH	配列番号 :587
scp-25	H-VGLDEYRLDCITRSA-OH	配列番号 :588
scp-26	H-YRLDCITRSFAFAEVK-OH	配列番号 :589
scp-27	H-ITRSFAFAEVKEIDDA-OH	配列番号 :590
scp-28	H-FAEVKEIDDAYNKLT-OH	配列番号 :591
scp-29	H-EIDDAYNKLTTEDDR-OH	配列番号 :592
scp-30	H-YNKLTTEDDRKAGGL-OH	配列番号 :593
scp-31	H-TEDDRKAGGLTLERY-OH	配列番号 :594
scp-32	H-KAGGLTLERYQDLYA-OH	配列番号 :595
scp-33	H-TLERYQDLYAQFISN-OH	配列番号 :596
scp-34	H-QDLYAQFISNPDESC-OH	配列番号 :597
scp-35	H-QFISNPDESCSACYL-OH	配列番号 :598
scp-36	H-PDESCSACYLFGPLK-OH	配列番号 :599
scp-37	H-SACYLFGPLKVVQ-OH	配列番号 :600
tm-01	H-MDAIKKKMQAMKLEK-OH	配列番号 :601
tm-02	H-KKMAMKLEKDNAMD-OH	配列番号 :602
tm-03	H-MKLEKDNAMDRADTL-OH	配列番号 :603
tm-04	H-DNAMDRADTLEQQNK-OH	配列番号 :604
tm-05	H-RADTLEQQNKEANNR-OH	配列番号 :605
tm-06	H-EQQNKEANNRAEKSE-OH	配列番号 :606
tm-07	H-EANNRAEKSEEVHN-OH	配列番号 :607
tm-08	H-AEKSEEVHNLQKRM-OH	配列番号 :608
tm-09	H-EEVHNLQKRMQQLN-OH	配列番号 :609
tm-10	H-LQKRMQQLNLDQV-OH	配列番号 :610

10

20

30

40

tm-11	H-QQLENDLDQVQESLL-OH	配列番号 :611
tm-12	H-DLDQVQESLLKANIQ-OH	配列番号 :612
tm-13	H-QESLLKANIQLVEKD-OH	配列番号 :613
tm-14	H-KANIQLVEKDKALSN-OH	配列番号 :614
tm-15	H-LVEKDKALSNAEGEV-OH	配列番号 :615
tm-16	H-KALSNAEGEVAALNR-OH	配列番号 :616
tm-17	H-AEGEVAALNRRIQLL-OH	配列番号 :617
tm-18	H-AALNRRIQLLEEDLE-OH	配列番号 :618
tm-19	H-RIQLLEEDLERSEER-OH	配列番号 :619
tm-20	H-EEDLERSEERLNTAT-OH	配列番号 :620
tm-21	H-RSEERLNTATTKLAE-OH	配列番号 :621
tm-22	H-LNTATTKLAEASQAA-OH	配列番号 :622
tm-23	H-TKLAEASQAADER-OH	配列番号 :623
tm-24	H-ASQAADERMRKVL-OH	配列番号 :624
tm-25	H-DESERMRKVLENRSL-OH	配列番号 :625
tm-26	H-MRKVLENRSLSDEER-OH	配列番号 :626
tm-27	H-ENRSLSDEERMDALE-OH	配列番号 :627
tm-28	H-SDEERMDALENQLKE-OH	配列番号 :628
tm-29	H-MDALENQLKEARFLA-OH	配列番号 :629
tm-30	H-NQLKEARFLAEEADR-OH	配列番号 :630
tm-31	H-ARFLAEEADRKYDEV-OH	配列番号 :631
tm-32	H-EEADRKYDEVARKLA-OH	配列番号 :632
tm-33	H-KYDEVARKLAMVEAD-OH	配列番号 :633
tm-34	H-ARKLAMVEADLERAE-OH	配列番号 :634
tm-35	H-MVEADLERAEERAET-OH	配列番号 :635
tm-36	H-LERAEERAETGESKI-OH	配列番号 :636
tm-37	H-ERAETGESKIVELEE-OH	配列番号 :637
tm-38	H-GESKIVELEEELRVV-OH	配列番号 :638
tm-39	H-VELEEELRVVGNNLK-OH	配列番号 :639
tm-40	H-ELRVVGNNLKSLEVS-OH	配列番号 :640

10

20

30

40

tm-41	H-GNNLKSLEVSEEKAN-OH	配列番号 :641
tm-42	H-SLEVSEEKANQREEA-OH	配列番号 :642
tm-43	H-EEKANQREEAYKEQI-OH	配列番号 :643
tm-44	H-QREEAYKEQIKTLTN-OH	配列番号 :644
tm-45	H-YKEQIKTLTNKLKAA-OH	配列番号 :645
tm-46	H-KTLTNKLKAAEARAE-OH	配列番号 :646
tm-47	H-KLKAAEARAEFAERS-OH	配列番号 :647
tm-48	H-EARAEFAERSVQKLQ-OH	配列番号 :648
tm-49	H-FAERSVQKLQKEVDR-OH	配列番号 :649
tm-50	H-VQKLQKEVDRLDEL-OH	配列番号 :650
tm-51	H-KEVDRLDELVNEKE-OH	配列番号 :651
tm-52	H-LEDELVNEKEKYKSI-OH	配列番号 :652
tm-53	H-VNEKEKYKSITDELD-OH	配列番号 :653
tm-54	H-KYKSITDELDTQTFSE-OH	配列番号 :654
tm-55	H-TDELDTQTFSELSGY-OH	配列番号 :655
tpc-01	H-MDSLDEEQIETLRKA-OH	配列番号 :656
tpc-02	H-EEQIETLRKAFDSFD-OH	配列番号 :657
tpc-03	H-TLRKAFDSFDTEKTG-OH	配列番号 :658
tpc-04	H-FDSFDTEKTGSITAE-OH	配列番号 :659
tpc-05	H-TEKTGSITAETIATI-OH	配列番号 :660
tpc-06	H-SITAETIATIMRMMG-OH	配列番号 :661
tpc-07	H-TIATIMRMMGVKISE-OH	配列番号 :662
tpc-08	H-MRMMGVKISEKNLQE-OH	配列番号 :663
tpc-09	H-VKISEKNLQEAIAET-OH	配列番号 :664
tpc-10	H-KNLQEAIAETDEDGS-OH	配列番号 :665
tpc-11	H-AIAETDEDGSGLLEF-OH	配列番号 :666
tpc-12	H-DEDGSGLLEFEEFVE-OH	配列番号 :667
tpc-13	H-GLLEFEEFVELSAKF-OH	配列番号 :668
tpc-14	H-EEFVELSAKFLIEED-OH	配列番号 :669
tpc-15	H-LSAKFLIEEDEEALK-OH	配列番号 :670

10

20

30

40

tpc-16	H-LIEEDEEALKAEALRE-OH	配列番号 :671
tpc-17	H-EEALKAEALREAFRIY-OH	配列番号 :672
tpc-18	H-AELREAFRIYDKEGN-OH	配列番号 :673
tpc-19	H-AFRIYDKEGNGFITT-OH	配列番号 :674
tpc-20	H-DKEGNGFITTDVLKE-OH	配列番号 :675
tpc-21	H-GFITTDVLKEILAEAL-OH	配列番号 :676
tpc-22	H-DVLKEILAEALDPRLT-OH	配列番号 :677
tpc-23	H-ILAEALDPRLTPADLE-OH	配列番号 :678
tpc-24	H-DPRLTPADLENIIEE-OH	配列番号 :679
tpc-25	H-PADLENIIEEVDEDG-OH	配列番号 :680
tpc-26	H-NIIEEVDEDGSGTLD-OH	配列番号 :681
tpc-27	H-VDEDGSGTLDFDEFM-OH	配列番号 :682
tpc-28	H-SGTLDFDEFMEMMNG-OH	配列番号 :683

10

【 0 0 6 2 】

20

したがって、本発明は、対象における食物アレルギーを診断する方法であって、

- a) 各ペプチドが別々に識別可能な固体支持体にコンジュゲートされた、食物中に見られる1種以上のアレルゲンタンパク質由来の複数のペプチドを提供すること；
 - b) 各固体支持体上のペプチドへの血清中のI g Eの結合を可能にするのに十分な条件下で、ペプチド - I g E複合体を形成するために、各固体支持体と対象から得た血清を接触させること；
 - c) 該ペプチド - I g E複合体にI g E特異的標識試薬を結合させること；及び
 - d) 該対象の血清中のI g Eによって認識されるペプチドを特定するために、各ペプチド - I g E複合体への標識試薬の結合を分析すること；
- を含み、該対象の血清中のI g Eによる少なくとも1つのペプチドの認識は、該対象がその食物にアレルギーであることを示す方法を包含する。

30

【 0 0 6 3 】

別の態様において、本発明は、最初は食物にアレルギーを示していた対象におけるその食物に対する臨床耐性の発生を検出する方法であって、

- a) 食物中に見られる1種以上のアレルゲンタンパク質由来の複数のペプチドへの対象の血清I g E反応性の初期プロファイルであって、該対象の血清中のI g Eによって認識されるペプチドの初期数又は各ペプチドを認識する該対象の血清中のI g Eの初期濃度を規定する初期プロファイルを提供すること；
 - b) それぞれが別々に識別可能な固体支持体にコンジュゲートされた複数のペプチドを提供すること；
 - c) 各固体支持体上のペプチドへの血清中のI g Eの結合を可能にするのに十分な条件下で、ペプチド - I g E複合体を形成するために、初期プロファイルに続く時点で各固体支持体と該対象から得た血清を接触させること；
 - d) 該ペプチド - I g E複合体にI g E特異的標識試薬を結合させること；及び
 - e) 該対象の血清中のI g Eによって認識されるペプチドのその後の数又は各ペプチドを認識する該対象の血清中のI g Eのその後の濃度を特定するために、各ペプチド - I g E複合体への標識試薬の結合を分析すること；
- を含み、該対象の血清中のI g Eによって認識されるペプチドのその後の数が、該対象の血清中のI g Eによって認識されるペプチドの初期数よりも少ない場合、又は少なくとも1つのペプチドを認識する該対象の血清中のI g Eのその後の濃度が、少なくとも1つの

40

50

ペプチドを認識する該対象の血清中の I g E の初期濃度よりも低い場合に、その食物に対する臨床耐性の発生が示される方法を提供する。

【 0 0 6 4 】

さらなる態様において、本発明は、対象における牛乳アレルギー強度の経時的な増加を検出する方法であって、

a) 食物中に見られる 1 種以上のアレルゲンタンパク質由来の複数のペプチドへの対象の血清 I g E 反応性の初期プロファイルであって、該対象の血清中の I g E によって認識されるペプチドの初期数又は各ペプチドを認識する該対象の血清中の I g E 初期濃度を規定する初期プロファイルを提供すること；

b) それぞれが別々に識別可能な固体支持体にコンジュゲートされた複数のペプチドを提供すること；

c) 各固体支持体上のペプチドへの血清中の I g E の結合を可能にするのに十分な条件下で、ペプチド - I g E 複合体を形成するために、初期プロファイルに続く時点で各固体支持体と該対象から得た血清を接触させること；

d) 該ペプチド - I g E 複合体に I g E 特異的標識試薬を結合させること；及び

e) 該対象の血清中の I g E によって認識されるペプチドのその後の数又は各ペプチドを認識する該対象の血清中の I g E のその後の濃度を特定するために、各ペプチド - I g E 複合体への標識試薬の結合を分析すること；

を含み、該対象の血清中の I g E によって認識されるペプチドの初期数と比較した場合の該対象の血清中の I g E によって認識されるペプチドのその後の数の増加、又は少なくとも 1 つのペプチドを認識する該対象の血清中の I g E の初期濃度と比較した場合の少なくとも 1 つのペプチドを認識する該対象の血清中の I g E のその後の濃度の増加は、該対象におけるその食物に対するアレルギー反応の強度の増加を示す方法を提供する。

【 0 0 6 5 】

前述の方法のうちのいずれかにおいて使用される試薬及び材料は、複数のアレルゲンエピトープ含有ペプチド、第 1 のレポーター部分にコンジュゲートされた抗ヒト I g E 抗体を含む標識試薬、及び必要に応じて、その標識試薬に特異的に結合する第 2 のレポーター部分が共に包装されるキットの形態で包装されてもよい。

【 0 0 6 6 】

本発明の方法において有用である、本明細書に開示されるペプチドパネル及びそのサブセットのいずれも、本発明の一態様であることも理解されるであろう。

【 0 0 6 7 】

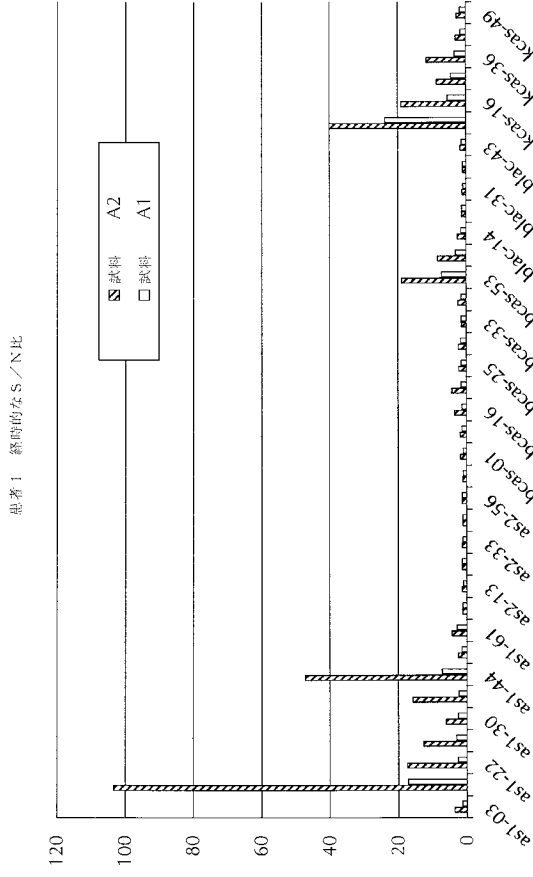
本発明を本明細書で特定の実施形態を参照して説明してきたが、これらの実施形態は、本発明の原理及び用途の単なる例示であることを理解されたい。様々な修正及び変形を本発明の精神及び範囲から逸脱することなく、本発明の方法及び装置に対して行うことができることは当業者には明らかであろう。したがって、本発明は、添付の特許請求の範囲及びその均等物の範囲内にある修正及び変形を含むことが意図される。

10

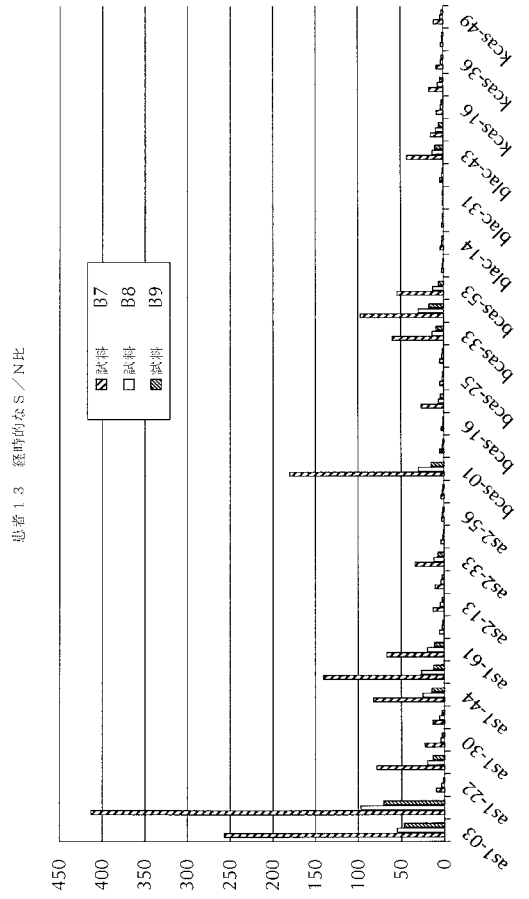
20

30

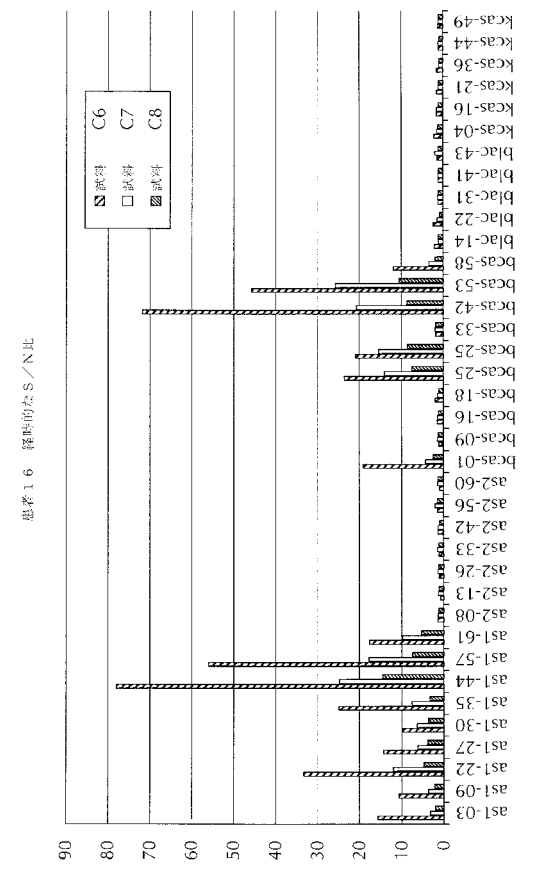
【 図 1 】



【 図 2 】



【 図 3 】



【配列表】

2017511478000001.app

【手続補正書】

【提出日】平成29年3月2日(2017.3.2)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

対象における食物アレルギーを診断する方法であって、

- a) 各ペプチドが別々に識別可能な固体支持体にコンジュゲートされた、前記食物中に見られる1種以上のアレルゲンタンパク質由来の選択された複数の前記ペプチドを提供すること；
- b) 各固体支持体上の前記ペプチドへの血清中のアレルギー関連免疫グロブリン(AAI)の結合を可能にするのに十分な条件下で、ペプチド-IgE複合体を形成するために、各固体支持体と前記対象から得た前記血清を接触させること；
- c) 前記ペプチド-AAI複合体にAAI-特異的標識試薬を結合させること；及び
- d) 前記対象の前記血清中の前記AAIによって認識されるペプチドを特定するために、各ペプチド-AAI複合体への前記標識試薬の結合を分析すること；

を含み、

前記対象の前記血清中のAAIによる少なくとも1つのペプチドの認識は、前記対象が前記食物に対してアレルギーであることを示す、

方法。

【請求項2】

前記アレルギーが、牛乳アレルギー、ピーナッツアレルギー、卵アレルギー又はエビアレルギーである、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

IgG及び/又はIgEが検出される、請求項2に記載の方法。

【請求項4】

前記IgGがIgG4である、請求項3に記載の方法。

【請求項5】

前記複数のペプチドが、配列番号1~33及び/又は配列番号37~68の中から選択される、請求項2に記載の方法。

【請求項6】

前記複数のペプチドが、配列番号1~9、配列番号10~15、配列番号16~23、配列番号24~27、配列番号番28~33、及びこれらの組み合わせによって表される、請求項5に記載の方法。

【請求項7】

前記複数のペプチドが、配列番号69~277の中から選択される、請求項2に記載の方法。

【請求項8】

前記複数のペプチドが、配列番号278~460の中から選択される、請求項2に記載の方法。

【請求項9】

前記複数のペプチドが、配列番号461~683の中から選択される、請求項2に記載の方法。

【請求項10】

アレルゲン性食物に対する臨床耐性の発生を、前記食物にアレルギーを示す対象におい

て検出する方法であって、

a) 前記食物中に見られる1種以上のアレルゲンタンパク質由来の複数のペプチドへの前記対象の血清のアレルギー関連免疫グロブリン(AAI)反応性の初期プロファイルであって、前記対象の前記血清中のAAIによって認識されるペプチドの初期数又は各ペプチドを認識する前記対象の前記血清中のAAIの初期濃度を規定する初期プロファイルを提供すること；

b) それぞれが別々に識別可能な固体支持体にコンジュゲートされた前記複数のペプチドを提供すること；

b) 各固体支持体上の前記ペプチドへの血清中のAAIの結合を可能にするのに十分な条件下で、ペプチド-AAI複合体を形成するために、前記初期プロファイルに続く時点で各固体支持体と前記対象から得た前記血清を接触させること；

c) 前記ペプチド-AAI複合体にAAI-特異的標識試薬を結合させること；及び

d) 前記対象の前記血清中のAAIによって認識されるペプチドのその後の数又は各ペプチドを認識する前記対象の前記血清中のAAIのその後の濃度を特定するために、各ペプチド-AAI複合体への前記標識試薬の結合を分析すること；

を含み、前記対象の前記血清中のAAIによって認識されるペプチドの前記その後の数が、前記対象の前記血清中のAAIによって認識されるペプチドの前記初期数よりも少ない場合、又は少なくとも1つのペプチドを認識する前記対象の前記血清中のAAIの前記その後の濃度が、前記少なくとも1つのペプチドを認識する前記対象の前記血清中のAAI初期濃度よりも低い場合に、前記食物に対する臨床耐性の発生が示される、方法。

【請求項11】

前記アレルギーが、牛乳アレルギー、ピーナッツアレルギー、卵アレルギー又はエビアレルギーである、請求項10に記載の方法。

【請求項12】

前記複数のペプチドが、配列番号1~33及び/又は配列番号37~68の中から選択される、請求項11に記載の方法。

【請求項13】

前記複数のペプチドが、配列番号1~9、配列番号10~15、配列番号16~23、配列番号24~27、配列番号番28~33、及びこれらの組み合わせによって表される、請求項12に記載の方法。

【請求項14】

前記複数のペプチドが、配列番号69~277の中から選択される、請求項10に記載の方法。

【請求項15】

前記複数のペプチドが、配列番号278~460の中から選択される、請求項10に記載の方法。

【請求項16】

前記複数のペプチドが、配列番号461~683の中から選択される、請求項7に記載の方法。

【請求項17】

選択されるペプチドとのAAI反応性の定量的減少パターンを用いて、前記対象における前記アレルゲン性食物に対する臨床耐性の発生を予測する、請求項10に記載の方法。

【請求項18】

経時的な食物アレルギー強度の増加を、前記食物にアレルギーを示す対象において検出する方法であって、

a) 前記食物中に見られる1種以上のアレルゲンタンパク質由来の複数のペプチドへの前記対象の血清のアレルギー関連免疫グロブリン(AAI)反応性の初期プロファイルであって、前記対象の前記血清中のAAIによって認識されるペプチドの初期数又は各ペプチドを認識する前記対象の前記血清中のAAIの初期濃度を規定する初期プロファイルを提供すること；

b) それぞれが別々に識別可能な固体支持体にコンジュゲートされた前記複数のペプチドを提供すること；

b) 各固体支持体上の前記ペプチドへの血清中の A A I の結合を可能にするのに十分な条件下で、ペプチド - A A I 複合体を形成するために、前記初期プロファイルに続く時点で各固体支持体と前記対象から得た前記血清を接触させること；

c) 前記ペプチド - A A I 複合体に A A I - 特異的標識試薬を結合させること；及び

d) 前記対象の前記血清中の A A I によって認識されるペプチドのその後の数又は各ペプチドを認識する前記対象の前記血清中の A A I のその後の濃度を特定するために、各ペプチド - A A I 複合体への前記標識試薬の結合を分析すること；

を含み、前記対象の前記血清中の A A I によって認識されるペプチドの前記初期数と比較した場合の前記対象の前記血清中の A A I によって認識されるペプチドの前記その後の数の増加、又は少なくとも 1 つのペプチドを認識する前記対象の前記血清中の A A I の初期濃度と比較した場合の少なくとも 1 つのペプチドを認識する前記対象の前記血清中の A A I の前記その後の濃度の増加は、前記対象における前記食物に対するアレルギー反応の強度の増加を示す、方法。

【請求項 19】

前記アレルギーが、牛乳アレルギー、ピーナッツアレルギー、卵アレルギー又はエビアレルギーである、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 20】

前記複数のペプチドが、配列番号 1 ~ 33 及び / 又は配列番号 37 ~ 68 の中から選択される、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

前記複数のペプチドが、配列番号 1 ~ 9、配列番号 10 ~ 15、配列番号 16 ~ 23、配列番号 24 ~ 27、配列番号 28 ~ 33、及びこれらの組み合わせによって表される、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】

前記複数のペプチドが、配列番号 69 ~ 277 の中から選択される、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 23】

前記複数のペプチドが、配列番号 278 ~ 460 の中から選択される、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 24】

前記複数のペプチドが、配列番号 461 ~ 683 の中から選択される、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 25】

選択されるペプチドとの A A I 反応性の定量的増加パターンを用いて、前記食物に対するアレルギーの強度の増加を予測する、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 26】

配列番号 1 ~ 33 によって表されるペプチドからなる群から選択される複数のペプチド及び / 又は配列番号 1 ~ 33 の 12 個以上の連続したアミノ酸によって表されるペプチドからなる群から選択される複数のペプチドを含む、牛乳アレルギーの検出のためのアレルギーエピトープ含有ペプチドのセット。

【請求項 27】

配列番号 1 ~ 9、配列番号 10 ~ 15、配列番号 16 ~ 23、配列番号 24 ~ 27、配列番号 28 ~ 33、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 26 に記載のアレルギーエピトープ含有ペプチドのセット。

【請求項 28】

配列番号 69 ~ 277 によって表されるペプチドからなる群から選択される複数のペプチド及び / 又は配列番号 69 ~ 277 の 12 個以上の連続したアミノ酸によって表されるペプチドからなる群から選択される複数のペプチドを含む、ピーナッツアレルギーの検出

のためのアレルゲンエピトープ含有ペプチドのセット。

【請求項 29】

配列番号 278 ~ 460 によって表されるペプチドからなる群から選択される複数のペプチド及び / 又は配列番号 278 ~ 460 の 12 個以上の連続したアミノ酸によって表されるペプチドからなる群から選択される複数のペプチドを含む、卵アレルギーの検出のためのアレルゲンエピトープ含有ペプチドのセット。

【請求項 30】

配列番号 461 ~ 683 によって表されるペプチドからなる群から選択される複数のペプチド及び / 又は配列番号 461 ~ 683 の 12 個以上の連続したアミノ酸によって表されるペプチドからなる群から選択される複数のペプチドを含む、エビアレルギーの検出のためのアレルゲンエピトープ含有ペプチドのセット。

【請求項 31】

食物アレルギーの検出、食物アレルギーの強度の経時的な増減の検出、又は食物アレルゲンタンパク質に対する臨床耐性の発生の検出のためのキットであって、

- a) 前記食物中に見られる 1 種以上のアレルゲンタンパク質由来の複数のアレルゲンエピトープ含有ペプチド；
- b) 第 1 のレポーター部分にコンジュゲートされた抗アレルギー関連免疫グロブリン抗体 (抗 A A I) を含む標識試薬；及び
- c) 必要に応じて、前記標識試薬に特異的に結合する第 2 のレポーター部分を含み、共に包装され、使用説明書を含む、キット。

【請求項 32】

前記使用説明書が、治療に対する患者の自然耐性、反応性を予測するか、又はアレルギー反応の増加を予測する前記キットの使用のためのものである、請求項 31 に記載のキット。

【請求項 33】

請求項 26 ~ 30 のいずれかに記載の前記アレルゲンエピトープ含有ペプチドのセットを含む、請求項 32 に記載のキット。



【請求項 34】

請求項 26 ~ 30 のいずれかに記載のアレルゲンエピトープ含有ペプチドのセット。

【請求項 35】

フローサイトメトリー分析又は側方流動アッセイ用の多重ペプチド - ビーズアッセイである、請求項 1 ~ 24 のいずれかに記載の方法。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2015/021715
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
G01N 33/53(2006.01)i, G01N 33/02(2006.01)i		
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 33/53; C40B 40/10; C40B 30/04; G01N 33/02		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models Japanese utility models and applications for utility models		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: food allergy, IgE, IgG4, multiplex peptide-bead assay, flow cytometric analysis, lateral flow assay		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	MATSUMOTO et al., 'Peptide array-based analysis of the specific IgE and IgG4 in cow's milk allergens and its use in allergy evaluation', Peptides, 2009, Vol.30, No.10, pp.1840-1847 See abstract; page 1841; Materials and methods.	1-34
Y		35
Y	POMPONI et al., 'Allergen micro-bead array for IgE detection: a feasibility study using allergenic molecules tested on a flexible multiplex flow cytometric immunoassay', PloS One, 2012, Vol.7, Issue No.4, Article No.e35697 (internal pp.1-16) See abstract.	35
A	US 2011-0071043 A1 (SAMPSON et al.) 24 March 2011 See abstract; claims 1-52.	1-35
A	LIN et al., 'Development of a novel peptide microarray for large-scale epitope mapping of food allergens', Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2009, Vol.124, No.2, pp.315-322.e3. See the whole document.	1-35
<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 application or patent 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 "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 26 June 2015 (26.06.2015)		Date of mailing of the international search report 29 June 2015 (29.06.2015)
Name and mailing address of the ISA/KR  International Application Division Korean Intellectual Property Office 189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon Metropolitan City, 302-701, Republic of Korea Facsimile No. +82-42-472-7140		Authorized officer HEO, Joo Hyung  Telephone No. +82-42-481-8150

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2015/021715

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>WANG et al., 'Correlation of IgE/IgG4 milk epitopes and affinity of milk-specific IgE antibodies with different phenotypes of clinical milk allergy', Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2010, Vol.125, No.3, pp.695-702.e6. See the whole document.</p>	1-35

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/US2015/021715

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2011-0071043 A1	24/03/2011	EP 2478373 A1 US 8802375 B2 WO 2011-032097 A1	25/07/2012 12/08/2014 17/03/2011

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, 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, KM, 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, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, 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, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(74)代理人 100202751

弁理士 岩堀 明代

(74)代理人 100191086

弁理士 高橋 香元

(72)発明者 ゲッツ, ロバート シー .

アメリカ合衆国, ペンシルベニア州 19426, カレッジビル, 218 ウインターベリー
レーン

(72)発明者 カドゥシン, ジェームス

アメリカ合衆国, ペンシルベニア州 19525, ギルバースビル, 2358 ターンベリー
ロード

(72)発明者 サンプソン, ヒュー, エー .

アメリカ合衆国, コネチカット州 06831, グリニッジ, 409 ウェスト リヨン
ファーム ドライブ

(72)発明者 バルディナ, リュダ

アメリカ合衆国, ニューヨーク州 12571, レッド フック, 67 ホファー
ロード

(72)発明者 グリシナ, ガリーナ

アメリカ合衆国, ニューヨーク州 10591, タリータウン, 222 マートリング
アベニュー, アパートメント 5ジェー

(72)発明者 ヒメネス, グスターヴォ

アメリカ合衆国, ニューヨーク州 10009, ニューヨーク, 361 イー10
ストリート, アパートメント 51

(72)発明者 リン, ジン

中華人民共和国, 510275, コアンチョウ, チョンシャン ユニバーシティ
ルーム 408
ナンバー 655

Fターム(参考) 4H045 AA11 AA20 AA30 BA17 BA60 CA30 CA40 DA86 EA50

专利名称(译)	用于检测食物过敏的肽，试剂和方法		
公开(公告)号	JP2017511478A	公开(公告)日	2017-04-20
申请号	JP2016560429	申请日	2015-03-20
[标]申请(专利权)人(译)	GENISPHERE 西奈山伊坎医学院		
申请(专利权)人(译)	格尼斯球，LLC 西奈山伊坎医学院		
[标]发明人	ゲッツロバートシー カドゥシンジェームス サンプルソンヒューイー バルディナリュダ リンジン		
发明人	ゲッツ,ロバート シー. カドゥシン,ジェームス サンプルソン,ヒュー,イー. バルディナ,リュダ グリシナ,ガリーナ ヒメネス,グスターヴォ リン,ジン		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/543 C07K7/08		
CPC分类号	G01N33/564 G01N33/6854 G01N2800/24		
FI分类号	G01N33/53.Q G01N33/53.N G01N33/543.521 G01N33/543.597 C07K7/08.ZNA		
F-TERM分类号	4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA17 4H045/BA60 4H045/CA30 4H045/CA40 4H045/DA86 4H045/EA50		
代理人(译)	Iwahori明代		
优先权	61/974675 2014-04-03 US		
其他公开文献	JP6452718B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

提供肽生物标志物用于过敏诊断，监测过敏个体中临床抵抗力发展以及预测过敏受试者是否会随时间发展临床抵抗力或自然抵抗力。R. 本发明还涉及使用这些肽生物标志物的诊断方法和诊断试剂盒。[选择图]图2

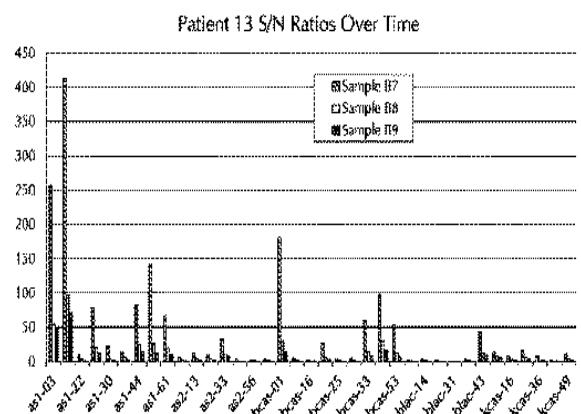


Fig. 2

