

(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2021-525378

(P2021-525378A)

(43) 公表日 令和3年9月24日 (2021.9.24)

(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 Z N A Q	4 B O 2 9
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/53 N	4 C O 8 4
CO 7 K 14/415 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 O 1 A	4 H O 4 5
CO 7 K 17/00 (2006.01)	GO 1 N 33/53 U	
CO 7 K 17/14 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 2 1	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 74 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2021-516525 (P2021-516525)
 (86) (22) 出願日 令和1年5月21日 (2019.5.21)
 (85) 翻訳文提出日 令和2年11月20日 (2020.11.20)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2019/033227
 (87) 国際公開番号 W02019/226600
 (87) 国際公開日 令和1年11月28日 (2019.11.28)
 (31) 優先権主張番号 62/674, 656
 (32) 優先日 平成30年5月22日 (2018.5.22)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)

(71) 出願人 520457982
 アラージェニス エルエルシー
 ALLERGENIS LLC
 アメリカ合衆国 19440 ペンシルバ
 ニア州 ハットフィールド スターリング
 ドライブ 2801
 (71) 出願人 513321467
 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 ニュー
 ヨーク ワン グスタフ エル. レビー
 プレイス
 (74) 代理人 100105957
 弁理士 恩田 誠

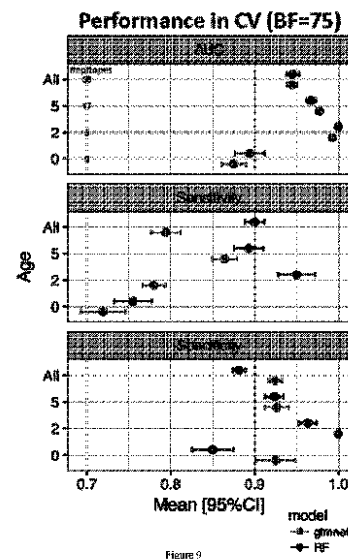
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ピーナッツアレルギーを検出するためのペプチド及び方法

(57) 【要約】

本開示は、ピーナッツアレルギー及びそれに対する耐性の診断のための、ならびにアレルギー性対象がアレルギーを寛解する見込みがあるかどうかを判定するためのペプチドバイオマーカーを、それを用いた方法及びキットも含めて提供する。

【選択図】なし



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ピーナッツに対してアレルギーを有する対象におけるピーナッツに対する臨床的耐性の獲得の検出法であって、以下：

前記対象から得られた血清または血漿中の 1 種または複数のアレルギー関連免疫グロブリン (A A I) が、1 種または複数のピーナッツペプチドと結合することを可能にするのに十分な条件下、前記 1 種または複数のピーナッツペプチドと前記血清または血漿とを接触させることであって、前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、固相担体にカップリングされており、1 種または複数の A A I ペプチド固相担体複合体を形成している、前記接触させること、

10

A A I 特異的標識化試薬を前記 A A I ペプチド固相担体複合体に結合させること、

各 A A I ペプチド固相担体複合体に対する前記 A A I 特異的標識化試薬の結合を検出して、前記対象の前記血清または血漿中の前記 A A I と結合した 1 種または複数のピーナッツペプチドを同定すること、ならびに

前記対象の前記血清または血漿中の前記 A A I と結合した 1 種または複数のピーナッツペプチドで前記同定されたもの、または前記対象の前記血清または血漿中の前記 A A I の前記濃度を、前記対象の前記血清または血漿中の前記 A A I と結合した 1 種または複数のピーナッツペプチドの先行して同定されたパネル、または前記対象の前記血清または血漿中の前記 A A I の先行する濃度と比較すること、

を含み、

20

ピーナッツに対する臨床的耐性の獲得は、以下：

前記対象の前記血清または血漿中の I g E A A I により認識されるピーナッツペプチドの前記後続の数、及び / または前記対象の前記血清または血漿中の A A I I g E の前記後続の濃度が、前記対象の前記血清または血漿中の A A I I g E により認識されるピーナッツペプチドの前記先行して同定された数より少ない、及び / または前記対象の前記血清または血漿中の A A I I g E の前記先行する濃度より低い場合、及び / または

前記対象の前記血清または血漿中の I g G 4 A A I により認識されるピーナッツペプチドの前記後続の数、及び / または前記対象の前記血清または血漿中の A A I I g G 4 の前記後続の濃度が、前記対象の前記血清または血漿中の A A I I g G 4 により認識されるピーナッツペプチドの前記先行して同定された数より多い、及び / または前記対象の前記血清または血漿中の A A I I g G 4 の前記先行する濃度より高い場合、

30

に示されているものである、前記方法。

【請求項 2】

前記複数のピーナッツペプチドは、a r a h 1 アレルゲン (配列番号 1)、a r a h 2 アレルゲン (配列番号 2)、及び / または a r a h 3 アレルゲン (配列番号 3) に由来する少なくとも 2 種のペプチドを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、以下：

a r a h 1 アレルゲンの 8 位から 6 6 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、

40

a r a h 1 アレルゲンの 1 0 3 位から 1 5 2 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、

a r a h 1 アレルゲンの 1 7 6 位から 1 9 5 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、

a r a h 2 アレルゲンの 5 位から 4 0 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、

a r a h 3 アレルゲンの 9 3 位から 1 1 5 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、

a r a h 3 アレルゲンの 3 0 位から 7 5 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、及び / または

50

ara h 3 アレルゲンの 1 5 2 位から 1 6 7 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチドから選択される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 4 ~ 6 7 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 7、1 3、1 6、1 7、2 5、2 7、3 0、3 6、3 9、4 5、6 5、及び 6 6 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 6】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 3 9、4 5、及び 6 6 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 5、6、1 0、1 3、1 4、3 4、3 6、3 9、4 0、4 2、4 9、6 1、6 5、及び 6 6 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 5、6、9、3 4、3 6、3 9、及び 4 0 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 9】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 2 9、3 9、4 2、4 4、4 5、5 1、及び 6 3 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 0】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 7、8、2 9、3 1、3 9、4 5、及び 6 1 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 1】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 3 9 及び 4 0 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

30

【請求項 1 2】

各ピーナッツペプチドは、約 3 つのアミノ酸 ~ 約 6 0 のアミノ酸、約 4 つのアミノ酸 ~ 約 6 0 のアミノ酸、約 6 つのアミノ酸 ~ 約 3 0 のアミノ酸、約 7 つのアミノ酸 ~ 約 2 0 のアミノ酸、約 1 0 のアミノ酸 ~ 約 1 6 のアミノ酸、または約 1 0 のアミノ酸 ~ 約 1 5 のアミノ酸を含む、請求項 1 から 1 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 3】

各ピーナッツペプチドは、1 5 のアミノ酸を含む、請求項 1 から 1 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 1 4】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、少なくとも 2 種のピーナッツペプチド、少なくとも 3 種のピーナッツペプチド、少なくとも 5 種のピーナッツペプチド、少なくとも 1 0 種のピーナッツペプチド、少なくとも 1 5 種のピーナッツペプチド、少なくとも 2 0 種のピーナッツペプチド、少なくとも 2 5 種のピーナッツペプチド、少なくとも 3 0 種のピーナッツペプチド、少なくとも 3 5 種のピーナッツペプチド、少なくとも 4 0 種のピーナッツペプチド、少なくとも 4 5 種のピーナッツペプチド、少なくとも 5 0 種のピーナッツペプチド、少なくとも 5 5 種のピーナッツペプチド、少なくとも 6 0 種のピーナッツペプチド、または少なくとも 6 4 種のピーナッツペプチドを含む、請求項 1 から 1 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

50

【請求項 15】

対象がピーナッツに対してアレルギーを有するという判定は、さらに、以下：全ピーナッツ特異的 I g E (s I g E)、ピーナッツ構成要素 a r a h 1 に対する I g E、ピーナッツ構成要素 a r a h 2 に対する I g E、ピーナッツ構成要素 a r a h 3 に対する I g E、皮膚ブリックテスト結果、臨床歴もしくは家族歴、及び / または患者もしくは臨床医質問票からのデータ

の 1 つまたは複数の結果を考慮に入れる、請求項 1 から 14 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 16】

前記ピーナッツペプチドはそれぞれ、前記固相担体とカップリングするためのリンカーを有する、請求項 1 から 15 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 17】

前記リンカーは、 - P E G 1 2 - ビオチンである、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

前記固相担体は、微粒子ビーズ、ガラスアレイ、シリコンアレイ、膜、またはマイクロタイタープレートである、請求項 1 から 17 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 19】

前記 A A I は、I g G、I g M、I g A、及び / または I g E である、請求項 1 から 18 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 20】

前記 I g G は、I g G 4 である、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

前記 A A I 特異的標識化試薬は、検出可能に標識された抗ヒト I g G 4 抗体、検出可能に標識された抗ヒト I g M 抗体、検出可能に標識された抗ヒト I g A 抗体、及び / または検出可能に標識された抗ヒト I g E 抗体である、請求項 1 から 20 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 22】

前記検出可能な標識は、フィコエリトリン、蛍光色素、西洋ワサビペルオキシダーゼ (H R P)、及びアルカリホスファターゼから選択される、請求項 21 に記載の方法。

【請求項 23】

各 A A I ペプチド固相担体複合体に対する前記 A A I 特異的標識化試薬の前記結合の前記検出は、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またはラテラルフローアッセイにより行われる、請求項 1 から 22 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 24】

対象におけるピーナッツアレルギー、及び / またはピーナッツアレルギーの重篤度の診断法であって、以下：

前記対象から得られた血清または血漿中の 1 種または複数のアレルギー関連免疫グロブリン (A A I) が、1 種または複数のピーナッツペプチドと結合することを可能にするのに十分な条件下、前記 1 種または複数のピーナッツペプチドと前記血清または血漿とを接触させることであって、前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、固相担体にカップリングされており、1 種または複数の A A I ペプチド固相担体複合体を形成している、前記接触させること、

A A I 特異的標識化試薬を前記 A A I ペプチド固相担体複合体に結合させること、及び各 A A I ペプチド固相担体複合体に対する前記 A A I 特異的標識化試薬の結合を検出して、前記対象の前記血清または血漿中の前記 A A I と結合した 1 種または複数のピーナッツペプチドを同定すること、
を含み、

前記対象の前記血清または血漿中の A A I が少なくとも 1 種のピーナッツペプチドを認識するということは、前記対象がピーナッツに対してアレルギーを有することを示す、前記方法。

10

20

30

40

50

【請求項 25】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、a r a h 1 アレルゲン（配列番号 1）、a r a h 2 アレルゲン（配列番号 2）、及び / または a r a h 3 アレルゲン（配列番号 3）に由来する、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、以下：

a r a h 1 アレルゲンの 8 位から 66 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、

a r a h 1 アレルゲンの 103 位から 152 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、

a r a h 1 アレルゲンの 176 位から 195 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、

a r a h 2 アレルゲンの 5 位から 40 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、

a r a h 3 アレルゲンの 93 位から 115 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、

a r a h 3 アレルゲンの 30 位から 75 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、及び / または

a r a h 3 アレルゲンの 152 位から 167 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド

から選択される、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 27】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 4 ~ 67 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 28】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 7、13、16、17、25、27、30、36、39、45、65、及び 66 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 29】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 39、45、及び 66 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 30】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 5、6、10、13、14、34、36、39、40、42、49、61、65、及び 66 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 31】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 5、6、9、34、36、39、及び 40 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 32】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 29、39、42、44、45、51、及び 63 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 33】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 7、8、29、31、39、45、及び 61 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 34】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 39 及び 40 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 24 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 35】

各ピーナッツペプチドは、約 3 つのアミノ酸～約 60 のアミノ酸、約 4 つのアミノ酸～約 60 のアミノ酸、約 6 つのアミノ酸～約 30 のアミノ酸、約 7 つのアミノ酸～約 20 のアミノ酸、約 10 のアミノ酸～約 16 のアミノ酸、または約 10 のアミノ酸～約 15 のアミノ酸を含む、請求項 24 から 34 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 36】

各ピーナッツペプチドは、15 のアミノ酸を含む、請求項 24 から 34 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 37】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、少なくとも 2 種のピーナッツペプチド、少なくとも 3 種のピーナッツペプチド、少なくとも 5 種のピーナッツペプチド、少なくとも 10 種のピーナッツペプチド、少なくとも 15 種のピーナッツペプチド、少なくとも 20 種のピーナッツペプチド、少なくとも 25 種のピーナッツペプチド、少なくとも 30 種のピーナッツペプチド、少なくとも 35 種のピーナッツペプチド、少なくとも 40 種のピーナッツペプチド、少なくとも 45 種のピーナッツペプチド、少なくとも 50 種のピーナッツペプチド、少なくとも 55 種のピーナッツペプチド、少なくとも 60 種のピーナッツペプチド、または少なくとも 64 種のピーナッツペプチドを含む、請求項 24 から 36 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

【請求項 38】

対象がピーナッツに対してアレルギーを有するという判定は、さらに、以下：全ピーナッツ特異的 I g E (s I g E)、ピーナッツ構成要素 a r a h 1 に対する I g E、ピーナッツ構成要素 a r a h 2 に対する I g E、ピーナッツ構成要素 a r a h 3 に対する I g E、全ピーナッツ特異的 I g G 4 (s I g G 4)、ピーナッツ構成要素 a r a h 1 に対する I g G 4、ピーナッツ構成要素 a r a h 2 に対する I g G 4、ピーナッツ構成要素 a r a h 3 に対する I g G 4、皮膚ブリックテスト結果、臨床歴もしくは家族歴、及び/または患者もしくは臨床医質問票からのデータの 1 つまたは複数の結果を考慮に入れる、請求項 24 から 37 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 39】

対象がピーナッツに対してアレルギーを有するという判定は、さらに、以下：ピーナッツ構成要素 a r a h 1 に対する I g E、ピーナッツ構成要素 a r a h 2 に対する I g E、及び/またはピーナッツ構成要素 a r a h 3 に対する I g E の 1 つまたは複数の結果を考慮に入れる、請求項 38 に記載の方法。

30

【請求項 40】

前記ピーナッツ構成要素 a r a h 1 に対する I g E の結果は、配列番号 7、13、16、17、25、27、30、及び 36 から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 5、6、10、13、14、34、及び 36 から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 5、6、9、34、及び 36 から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 7、8、29、及び 31 から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 29 であるアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドでの結果を含み、

40

前記ピーナッツ構成要素 a r a h 2 に対する I g E の結果は、配列番号 39 から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 39、40、42、及び 49 から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 39 及び 40 から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 39、42、44、45、及び 51 から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 39 及び 45 から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 39 及び 40 から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 40 から選択されるアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドでの結果を含み、ならびに

前記ピーナッツ構成要素 a r a h 3 に対する I g E の結果は、配列番号 65 から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 61、65、及び 66 から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 63 から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 61 から選択される

50

アミノ酸配列を含むピーナッツペプチドでの結果を含む、
請求項 39 に記載の方法。

【請求項 41】

対象がピーナッツに対してアレルギーを有するという判定は、さらに、以下：

配列番号 39 のアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドに対する I g E、配列番号 45 のアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドに対する I g G 4、及び配列番号 66 のアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドに対する I g G 4、

配列番号 39 のアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドに対する I g E、配列番号 45 のアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドに対する I g G 4、及び皮膚プリックテスト、

配列番号 39 のアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドに対する I g E、配列番号 45 のアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドに対する I g G 4、配列番号 66 のアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドに対する I g G 4、及び s I g E、ならびに

配列番号 39 のアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドに対する I g E、配列番号 45 のアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドに対する I g G 4、配列番号 66 のアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドに対する I g G 4、及びピーナッツ構成要素 a r a h 2、
のうちの 1 つまたは複数の結果を考慮に入れる、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 42】

対象がピーナッツに対してアレルギーを有するという判定は、以下：

前記対象の s I g E が $0.03 \text{ k U}_A / \text{L}$ であるか、それとも $< 0.03 \text{ k U}_A / \text{L}$ であるかを特定することであって、 $0.03 \text{ k U}_A / \text{L}$ は、前記対象がピーナッツに対してアレルギーを有する可能性があることを示し、 $< 0.03 \text{ k U}_A / \text{L}$ は、前記対象がピーナッツに対してアレルギーを有さないことを示す、前記特定すること、及び、

前記対象の s I g E が $0.03 \text{ k U}_A / \text{L}$ である場合に、配列番号 39 のアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドに対する I g E、配列番号 45 のアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドに対する I g G 4、及び配列番号 66 のアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドに対する I g G 4 の組み合わせが < 0.20 であるか、それとも 0.20 であるかを特定することであって、 < 0.20 は、前記対象がピーナッツに対してアレルギーを有さないことを示し、 0.20 は、前記対象がピーナッツに対してアレルギーを有することを示す、前記特定すること、

を含む、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 43】

前記ピーナッツペプチドはそれぞれ、前記固相担体とカップリングするためのリンカーを有する、請求項 24 から 42 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 44】

前記リンカーは、- P E G 1 2 - ビオチンである、請求項 43 に記載の方法。

【請求項 45】

前記固相担体は、微粒子ビーズ、ガラスアレイ、シリコンアレイ、膜、またはマイクロタイタープレートである、請求項 24 から 44 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 46】

前記 A A I は、I g G、I g M、I g A、及び / または I g E である、請求項 24 から 45 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 47】

前記 I g G は、I g G 4 である、請求項 46 に記載の方法。

【請求項 48】

前記 A A I 特異的標識化試薬は、検出可能に標識された抗ヒト I g G 4 抗体、検出可能に標識された抗ヒト I g M 抗体、検出可能に標識された抗ヒト I g A 抗体、及び / または検出可能に標識された抗ヒト I g E 抗体である、請求項 24 から 47 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 49】

前記検出可能な標識は、フィコエリトリン、蛍光色素、西洋ワサビペルオキシダーゼ (

H R P)、及びアルカリホスファターゼから選択される、請求項 4 8 に記載の方法。

【請求項 5 0】

各 A A I ペプチド固相担体複合体に対する前記 A A I 特異的標識化試薬の前記結合の前記検出は、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またはラテラルフローアッセイにより行われる、請求項 2 4 から 4 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5 1】

ピーナッツに対してアレルギーを有する対象におけるピーナッツアレルギーの治療中のアレルギーまたは有害事象の強度の上昇の経時的検出法であって、以下：

前記対象から得られた血清または血漿中の 1 種または複数のアレルギー関連免疫グロブリン (A A I) が、1 種または複数のピーナッツペプチドと結合することを可能にするのに十分な条件下、前記 1 種または複数のピーナッツペプチドと前記血清または血漿とを接触させることであって、前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、固相担体にカップリングされていて 1 種または複数の A A I ペプチド固相担体複合体を形成しており、前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、a r a h 1 アレルゲンの 8 位から 6 6 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 1 アレルゲンの 1 0 3 位から 1 5 2 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 1 アレルゲンの 1 7 6 位から 1 9 5 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 2 アレルゲンの 5 位から 4 0 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 3 アレルゲンの 9 3 位から 1 1 5 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 3 アレルゲンの 3 0 位から 7 5 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、及び / または a r a h 3 アレルゲンの 1 5 2 位から 1 6 7 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチドから選択される、前記接触させること、

A A I 特異的標識化試薬を前記 A A I ペプチド固相担体複合体に結合させること、

各 A A I ペプチド固相担体複合体に対する前記 A A I 特異的標識化試薬の結合を検出して、前記対象の前記血清または血漿中の前記 A A I と結合した 1 種または複数のピーナッツペプチドを同定すること、ならびに

前記対象の前記血清または血漿中の前記 A A I と結合した 1 種または複数のピーナッツペプチドで前記同定されたもの、または前記対象の前記血清または血漿中の前記 A A I の前記濃度を、前記対象の前記血清中の前記 A A I と結合した 1 種または複数のピーナッツペプチドの先行して同定されたパネル、または前記対象の前記血清または血漿中の前記 A A I の先行する濃度と比較すること、を含み、

ピーナッツに対する前記アレルギー反応の強度の上昇は、前記対象の前記血清または血漿中の A A I により認識されるピーナッツペプチドの前記後続の数もしくは反応性パターン、または前記対象の前記血清または血漿中の A A I の前記後続の濃度が、前記対象の前記血清または血漿中の A A I により認識されるピーナッツペプチドの前記先行して同定された数もしくは反応性パターンより大きい、または前記対象の前記血清または血漿中の A A I の前記先行する濃度より高いことにより示されているものである、前記検出法。

【請求項 5 2】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 4 ~ 6 7 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 5 1 に記載の方法。

【請求項 5 3】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 7、1 3、1 6、1 7、2 5、2 7、3 0、3 6、3 9、4 5、6 5、及び 6 6 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 5 1 に記載の方法。

【請求項 5 4】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 3 9、4 5、及び 6 6 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 5 1 に記載の方法。

【請求項 5 5】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 5、6、1 0、1 3、1 4、3

10

20

30

40

50

4、36、39、40、42、49、61、65、及び66のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項51に記載の方法。

【請求項56】

前記1種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号5、6、9、34、36、39、及び40のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項51に記載の方法。

【請求項57】

前記1種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号29、39、42、44、45、51、及び63のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項51に記載の方法。

【請求項58】

前記1種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号7、8、29、31、39、45、及び61のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項51に記載の方法。

【請求項59】

前記1種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号39及び40のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項51に記載の方法。

【請求項60】

各ピーナッツペプチドは、約3つのアミノ酸～約60のアミノ酸、約4つのアミノ酸～約60のアミノ酸、約6つのアミノ酸～約30のアミノ酸、約7つのアミノ酸～約20のアミノ酸、約10のアミノ酸～約16のアミノ酸、または約10のアミノ酸～約15のアミノ酸を含む、請求項51から59のいずれか1項に記載の方法。

【請求項61】

各ピーナッツペプチドは、15のアミノ酸を含む、請求項51から60のいずれか1項に記載の方法。

【請求項62】

前記1種または複数のピーナッツペプチドは、少なくとも2種のピーナッツペプチド、少なくとも3種のピーナッツペプチド、少なくとも5種のピーナッツペプチド、少なくとも10種のピーナッツペプチド、少なくとも15種のピーナッツペプチド、少なくとも20種のピーナッツペプチド、少なくとも25種のピーナッツペプチド、少なくとも30種のピーナッツペプチド、少なくとも35種のピーナッツペプチド、少なくとも40種のピーナッツペプチド、少なくとも45種のピーナッツペプチド、少なくとも50種のピーナッツペプチド、少なくとも55種のピーナッツペプチド、少なくとも60種のピーナッツペプチド、または少なくとも64種のピーナッツペプチドを含む、請求項51から61のいずれか1項に記載の方法。

【請求項63】

対象がピーナッツに対してアレルギーを有するという判定は、さらに、以下：全ピーナッツ特異的IgE(sIgE)、ピーナッツ構成要素a r a h 1に対するIgE、ピーナッツ構成要素a r a h 2に対するIgE、ピーナッツ構成要素a r a h 3に対するIgE、皮膚プリックテスト結果、臨床歴もしくは家族歴、及び/または患者もしくは臨床医質問票からのデータ

のうち1つまたは複数の結果を考慮に入れる、請求項51から62のいずれか1項に記載の方法。

【請求項64】

前記ピーナッツペプチドはそれぞれ、前記固相担体とカップリングするためのリンカーを有する、請求項51から63のいずれか1項に記載の方法。

【請求項65】

前記リンカーは、-PEG12-ビオチンである、請求項64に記載の方法。

【請求項66】

前記固相担体は、微粒子ビーズ、ガラスアレイ、シリコンアレイ、膜、またはマイク

10

20

30

40

50

ロタイタープレートである、請求項 5 1 から 6 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6 7】

前記 A A I は、I g G、I g M、I g A、及び / または I g E である、請求項 5 1 から 6 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6 8】

前記 I g G は、I g G 4 である、請求項 6 7 に記載の方法。

【請求項 6 9】

前記 A A I 特異的標識化試薬は、検出可能に標識された抗ヒト I g G 4 抗体、検出可能に標識された抗ヒト I g M 抗体、検出可能に標識された抗ヒト I g A 抗体、及び / または検出可能に標識された抗ヒト I g E 抗体である、請求項 5 1 から 6 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

【請求項 7 0】

前記検出可能な標識は、フィコエリトリン、蛍光色素、西洋ワサビペルオキシダーゼ (H R P)、及びアルカリホスファターゼから選択される、請求項 6 9 に記載の方法。

【請求項 7 1】

各 A A I ペプチド固相担体複合体に対する前記 A A I 特異的標識化試薬の前記結合の前記検出は、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またはラテラルフローアッセイにより行われる、請求項 5 1 から 6 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7 2】

乳幼児を 1 種または複数のピーナッツアレルゲンに対して感作させることによるピーナッツに対する耐性または非アレルギー性の誘導法であって、前記乳幼児に 1 種または複数のピーナッツペプチドを投与することを含み、前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、a r a h 1 アレルゲン (配列番号 1)、a r a h 2 アレルゲン (配列番号 2)、及び / または a r a h 3 アレルゲン (配列番号 3) に由来するものである、前記誘導法。

20

【請求項 7 3】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、以下：

a r a h 1 アレルゲンの 8 位から 6 6 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、

a r a h 1 アレルゲンの 1 0 3 位から 1 5 2 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、

30

a r a h 1 アレルゲンの 1 7 6 位から 1 9 5 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、

a r a h 2 アレルゲンの 5 位から 4 0 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、

a r a h 3 アレルゲンの 9 3 位から 1 1 5 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、

a r a h 3 アレルゲンの 3 0 位から 7 5 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、及び / または

a r a h 3 アレルゲンの 1 5 2 位から 1 6 7 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド

40

から選択される、請求項 7 2 に記載の方法。

【請求項 7 4】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 4 ~ 6 7 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 7 2 に記載の方法。

【請求項 7 5】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 7、1 3、1 6、1 7、2 5、2 7、3 0、3 6、3 9、4 5、6 5、及び 6 6 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 7 2 に記載の方法。

【請求項 7 6】

50

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 3 9、4 5、及び 6 6 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 7 2 に記載の方法。

【請求項 7 7】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 5、6、1 0、1 3、1 4、3 4、3 6、3 9、4 0、4 2、4 9、6 1、6 5、及び 6 6 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 7 2 に記載の方法。

【請求項 7 8】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 5、6、9、3 4、3 6、3 9、及び 4 0 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 7 2 に記載の方法。

10

【請求項 7 9】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 2 9、3 9、4 2、4 4、4 5、5 1、及び 6 3 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 7 2 に記載の方法。

【請求項 8 0】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 7、8、2 9、3 1、3 9、4 5、及び 6 1 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 7 2 に記載の方法。

【請求項 8 1】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 3 9 及び 4 0 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 7 2 に記載の方法。

20

【請求項 8 2】

各ピーナッツペプチドは、約 3 つのアミノ酸～約 6 0 のアミノ酸、約 4 つのアミノ酸～約 6 0 のアミノ酸、約 6 つのアミノ酸～約 3 0 のアミノ酸、約 7 つのアミノ酸～約 2 0 のアミノ酸、約 1 0 のアミノ酸～約 1 6 のアミノ酸、または約 1 0 のアミノ酸～約 1 5 のアミノ酸を含む、請求項 7 2 から 8 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8 3】

各ピーナッツペプチドは、1 5 のアミノ酸を含む、請求項 7 2 から 8 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8 4】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、少なくとも 2 種のピーナッツペプチド、少なくとも 3 種のピーナッツペプチド、少なくとも 5 種のピーナッツペプチド、少なくとも 1 0 種のピーナッツペプチド、少なくとも 1 5 種のピーナッツペプチド、少なくとも 2 0 種のピーナッツペプチド、少なくとも 2 5 種のピーナッツペプチド、少なくとも 3 0 種のピーナッツペプチド、少なくとも 3 5 種のピーナッツペプチド、少なくとも 4 0 種のピーナッツペプチド、少なくとも 4 5 種のピーナッツペプチド、少なくとも 5 0 種のピーナッツペプチド、少なくとも 5 5 種のピーナッツペプチド、少なくとも 6 0 種のピーナッツペプチド、または少なくとも 6 4 種のピーナッツペプチドを含む、請求項 7 2 から 8 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

【請求項 8 5】

ar a h 1 アレルゲン（配列番号 1）、ar a h 2 アレルゲン（配列番号 2）、及び / または ar a h 3 アレルゲン（配列番号 3）に由来する少なくとも 2 種のペプチドを含む複数のピーナッツペプチドを含む、アレルゲンエпитーブ含有ピーナッツペプチドのセット。

40

【請求項 8 6】

前記複数のピーナッツペプチドは、以下：

ar a h 1 アレルゲンの 8 位から 6 6 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、

ar a h 1 アレルゲンの 1 0 3 位から 1 5 2 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、

50

ara h 1 アレルゲンの 176 位から 195 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、

ara h 2 アレルゲンの 5 位から 40 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、

ara h 3 アレルゲンの 93 位から 115 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、

ara h 3 アレルゲンの 30 位から 75 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、及び / または

ara h 3 アレルゲンの 152 位から 167 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド

から選択される、請求項 85 に記載のピーナッツペプチドのセット。

【請求項 87】

前記複数のピーナッツペプチドは、配列番号 4 ~ 67 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドを含む、請求項 85 に記載のピーナッツペプチドのセット。

【請求項 88】

前記複数のピーナッツペプチドは、配列番号 7、13、16、17、25、27、30、36、39、45、65、及び 66 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドを含む、請求項 85 に記載のピーナッツペプチドのセット。

【請求項 89】

前記複数のピーナッツペプチドは、配列番号 39、45、及び 66 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドを含む、請求項 85 に記載のピーナッツペプチドのセット。

【請求項 90】

前記複数のピーナッツペプチドは、配列番号 5、6、10、13、14、34、36、39、40、42、49、61、65、及び 66 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドを含む、請求項 85 に記載のピーナッツペプチドのセット。

【請求項 91】

前記複数のピーナッツペプチドは、配列番号 5、6、9、34、36、39、及び 40 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドを含む、請求項 85 に記載のピーナッツペプチドのセット。

【請求項 92】

前記複数のピーナッツペプチドは、配列番号 29、39、42、44、45、51、及び 63 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドを含む、請求項 85 に記載のピーナッツペプチドのセット。

【請求項 93】

前記複数のピーナッツペプチドは、配列番号 7、8、29、31、39、45、及び 61 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドを含む、請求項 85 に記載のピーナッツペプチドのセット。

【請求項 94】

前記複数のピーナッツペプチドは、配列番号 39 及び 40 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドを含む、請求項 85 に記載のピーナッツペプチドのセット。

【請求項 95】

各ピーナッツペプチドは、約 3 つのアミノ酸 ~ 約 60 のアミノ酸、約 4 つのアミノ酸 ~ 約 60 のアミノ酸、約 6 つのアミノ酸 ~ 約 30 のアミノ酸、約 7 つのアミノ酸 ~ 約 20 のアミノ酸、約 10 のアミノ酸 ~ 約 16 のアミノ酸、または約 10 のアミノ酸 ~ 約 15 のアミノ酸を含む、請求項 85 から 94 のいずれか 1 項に記載のピーナッツペプチドのセット。

。

10

20

30

40

50

【請求項 9 6】

各ピーナッツペプチドは、15のアミノ酸を含む、請求項85から95のいずれか1項に記載のピーナッツペプチドのセット。

【請求項 9 7】

前記複数のピーナッツペプチドは、少なくとも2種のピーナッツペプチド、少なくとも3種のピーナッツペプチド、少なくとも5種のピーナッツペプチド、少なくとも10種のピーナッツペプチド、少なくとも15種のピーナッツペプチド、少なくとも20種のピーナッツペプチド、少なくとも25種のピーナッツペプチド、少なくとも30種のピーナッツペプチド、少なくとも35種のピーナッツペプチド、少なくとも40種のピーナッツペプチド、少なくとも45種のピーナッツペプチド、少なくとも50種のピーナッツペプチド、少なくとも55種のピーナッツペプチド、少なくとも60種のピーナッツペプチド、または少なくとも64種のピーナッツペプチドを含む、請求項85から96のいずれか1項に記載のピーナッツペプチドのセット。

10

【請求項 9 8】

a) ara h 1 アレルゲン (配列番号 1)、ara h 2 アレルゲン (配列番号 2)、及び/または ara h 3 アレルゲン (配列番号 3) に由来する1種または複数のアレルゲンエピトープ含有ピーナッツペプチドであって、各ピーナッツペプチドは、固相担体にカップリングされている、前記1種または複数のアレルゲンエピトープ含有ピーナッツペプチド、ならびに

b) アレルギー関連免疫グロブリン (AAI) 特異的標識化試薬、
を含み、まとめてパッケージ化されていて、使用説明書も含む、キット。

20

【請求項 9 9】

さらに、結合緩衝液、洗浄緩衝液、及び検出緩衝液のうち1種または複数を含む、請求項98に記載のキット。

【請求項 1 0 0】

さらに、前記 AAI 特異的標識化試薬と特異的に結合するレポーター部分を含む、請求項98に記載のキット。

【請求項 1 0 1】

前記1種または複数のピーナッツペプチドは、以下：

ara h 1 アレルゲンの8位から66位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチド、

30

ara h 1 アレルゲンの103位から152位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチド、

ara h 1 アレルゲンの176位から195位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチド、

ara h 2 アレルゲンの5位から40位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチド、

ara h 3 アレルゲンの93位から115位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチド、

ara h 3 アレルゲンの30位から75位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチド、及び/または

40

ara h 3 アレルゲンの152位から167位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチド

から選択される、請求項98に記載のキット。

【請求項 1 0 2】

前記1種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号4～67のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項98に記載のキット。

【請求項 1 0 3】

前記1種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号7、13、16、17、25、27、30、36、39、45、65、及び66のうちの任意の1種または複数から選択

50

されるアミノ酸配列を含む、請求項 98 に記載のキット。

【請求項 104】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 39、45、及び 66 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 98 に記載のキット。

【請求項 105】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 5、6、10、13、14、34、36、39、40、42、49、61、65、及び 66 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 98 に記載のキット。

【請求項 106】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 5、6、9、34、36、39、及び 40 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 98 に記載のキット。

【請求項 107】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 29、39、42、44、45、51、及び 63 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 98 に記載のキット。

【請求項 108】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 7、8、29、31、39、45、及び 61 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 98 に記載のキット。

【請求項 109】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 39 及び 40 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 98 に記載のキット。

【請求項 110】

各ピーナッツペプチドは、約 3 つのアミノ酸～約 60 のアミノ酸、約 4 つのアミノ酸～約 60 のアミノ酸、約 6 つのアミノ酸～約 30 のアミノ酸、約 7 つのアミノ酸～約 20 のアミノ酸、約 10 のアミノ酸～約 16 のアミノ酸、または約 10 のアミノ酸～約 15 のアミノ酸を含む、請求項 98 から 109 のいずれか 1 項に記載のキット。

【請求項 111】

各ピーナッツペプチドは、15 のアミノ酸を含む、請求項 98 から 109 のいずれか 1 項に記載のキット。

【請求項 112】

前記 1 種または複数のピーナッツペプチドは、少なくとも 2 種のピーナッツペプチド、少なくとも 3 種のピーナッツペプチド、少なくとも 5 種のピーナッツペプチド、少なくとも 10 種のピーナッツペプチド、少なくとも 15 種のピーナッツペプチド、少なくとも 20 種のピーナッツペプチド、少なくとも 25 種のピーナッツペプチド、少なくとも 30 種のピーナッツペプチド、少なくとも 35 種のピーナッツペプチド、少なくとも 40 種のピーナッツペプチド、少なくとも 45 種のピーナッツペプチド、少なくとも 50 種のピーナッツペプチド、少なくとも 55 種のピーナッツペプチド、少なくとも 60 種のピーナッツペプチド、または少なくとも 64 種のピーナッツペプチドを含む、請求項 98 から 111 のいずれか 1 項に記載のキット。

【請求項 113】

前記ピーナッツペプチドはそれぞれ、前記固相担体とカップリングするためのリンカーを有する、請求項 98 から 112 のいずれか 1 項に記載のキット。

【請求項 114】

前記リンカーは、-PEG12-ビオチンである、請求項 113 に記載のキット。

【請求項 115】

前記固相担体は、微粒子ビーズ、ガラスアレイ、シリコンアレイ、膜、またはマイクロタイタープレートである、請求項 98 から 114 のいずれか 1 項に記載のキット。

【請求項 116】

10

20

30

40

50

前記 A A I 特異的標識化試薬は、検出可能に標識された抗ヒト I g G 4 抗体、検出可能に標識された抗ヒト I g M 抗体、検出可能に標識された抗ヒト I g A 抗体、及び / または検出可能に標識された抗ヒト I g E 抗体である、請求項 9 8 から 1 1 5 のいずれか 1 項に記載のキット。

【請求項 1 1 7】

前記検出可能な標識は、フィコエリトリン、蛍光色素、西洋ワサビペルオキシダーゼ (H R P)、及びアルカリホスファターゼから選択される、請求項 1 1 6 に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

10

本開示は、部分的に、ピーナッツアレルギーの診断のための、及びアレルギー性対象がアレルギーを寛解する見込みがあるかどうかを判定するためのペプチドバイオマーカーに関し、それを用いた方法及びキットも含む。

【背景技術】

【0 0 0 2】

食物アレルギーは、成人及び小児の間で共通する問題であり、症候は、軽度の口腔そう痒から生死に関わる可能性のあるアナフィラキシーショックにまで及ぶ場合がある。食物アレルギーは、現在、皮膚プリックテストまたは口腔誘発、ならびに特定 I g E、及び場合によっては I g G 4 など他の血清抗体の血清レベルの測定により診断されている。これらの試験は、臨床反応の見込みを示すものの、食物アレルギーの表現型の違いを区別することもなければ、予後の情報を提供することもない。現在のアレルギー検査は、患者にとってあるレベルのリスクとも関係する。現在の I g E 検査と患者の実際の臨床感度との間の関係性は、通常、反応重篤度と反応を誘発するアレルゲンの量との組み合わせとして定義される弱いものである。現在の検査の別の限界は、小児患者が小児期中にアレルギーを寛解するかもしれないかを判定できないことである。この場合、特定 I g E レベルと臨床アレルギーの持続期間との間に陽性であるが弱い相関が存在する。

20

【0 0 0 3】

さらに最近では、食物アレルゲンに対する臨床反応は、エпитープ認識レベルでアレルゲン特異的 I g E とより良く相関する可能性があることが示唆されてきている。持続性またはより重度のアレルギー反応を持つ患者は、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、このことは、エピトープマッピングが、アレルギー診断及び予測のさらなる道具となることを示唆している。スポット膜利用免疫アッセイ (s p o t m e m b r a n e - b a s e d i m m u n o a s s a y s) が、エピトープマッピングに使用されてきている。このシステムでは、ペプチドを膜上で合成し、患者の血清とともにインキュベートする。このプロセスは、多数のペプチドを必要とし、したがって、エラーが起こりやすく、時間がかかり、労力を必要とし、しかも費用がかかる。この形式の免疫アッセイは、大量の患者血清も必要とする。

30

【0 0 0 4】

食物アレルギーの臨床像の著しい多様性は、管理及び治療の成功の障害となっており、したがって、食物アレルギーにおいて、予防の改善、現行症例の管理、及び新規治療の開始に、精密医療戦略が大いに関連する。食物アレルギーエンドタイプ、アレルギー発症のリスク、反応重篤度、及び治療の予後を特定するための敏感かつ特異的バイオマーカーは、精密医療に向かう道筋において必須の構成要素である (非特許文献 1)。過去 1 0 年間、持続性食物アレルギー治療のための経口免疫療法 (O I T) の有効性を評価する研究が多数行われてきた (非特許文献 2)。ピーナッツアレルギーでは、O I T は、許容できる安全性プロファイルを有することが示されており、臨床効果が実証されている (非特許文献 3)。臨床反応における改善にも関わらず、O I T は、顕著な有害効果と関連していて、アナフィラキシーが出た場合があり、1 5 % ~ 2 0 % は有害反応を理由に治療を中止しなければならなかった (非特許文献 3、非特許文献 4、非特許文献 5、非特許文献 6、非特許文献 7、非特許文献 8)。有害反応に加えて、O I T に対する反応は、典型的には、

40

50

いったん治療を中止すると継続しない、すなわち患者は、一時的にアレルゲンから脱感作しているだけで、耐性を獲得していない（非特許文献2、非特許文献9、非特許文献10、非特許文献11、非特許文献12、及び非特許文献13）。しかしながら、進歩が見られていること、及び新たな食物アレルギー療法がFDA承認間近であることは明白である。こうした治療アプローチは、診断及び予後判定検査の恩恵を受けるもので、検査は、患者及び担当医が、治療に参加するにあたり疾患の重篤度を把握すること、治療中に患者をモニタリングして有害反応が生じる前にその進行または発生を評価すること、ならびにいったん治療が中止された後に患者の状態を追跡することを助けるだろう。

【0005】

ピーナッツタンパク質に対するIgE抗体の産生は、ピーナッツアレルギーの病理発生の中心にある。臨床反応の95%予測区間であるピーナッツ特異的IgE濃度を同定する予測曲線が作成されたものの、ピーナッツIgEは、IgEレベルが低いと予測能が低く、レベルが高いと、読み取りが2値のみになり、したがって、治療の安全性または有効性を評価する補助として使用するのが困難である。これは、臨床的に関連のないピーナッツ構成要素に対するIgE抗体の測定による可能性がある。Ara h2に対するIgEは、ピーナッツに対する臨床反応を予測する（非特許文献14）が、同様なAra h2レベルを持つ個体間で膨大な臨床的多様性が存在する。主要アレルゲンの完全連続エピトープレパートリーを包含する重複ペプチドで構成されたペプチドマイクロアレイが開発されて、エピトープ特異的免疫グロブリン反応が測定されている（非特許文献15、及び非特許文献16）。Ara h1、2、及び3中のIgEと結合するピーナッツエピトープ数は、反応重篤度を予測する（非特許文献17）。要素分解型診断方法（ImmunoCAP）として、ピーナッツ、Ara h1、Ara h2、及びAra h3に対するsIgEの存在は、「真の」ピーナッツアレルギー及び重度反応のリスクが高いことの指標である（例えば、アレルギー診断において、sIgEレベル $0.35 \text{ kU}_A / \text{L}$ は、75~95% PPV、90% NPVを示す。非特許文献18。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0006】

- 【非特許文献1】Sicherer et al., J. Allergy Clin. Immunol., 2015, 135, 357 - 67
- 【非特許文献2】Wood et al., J. Allergy Clin. Immunol., 2016, 137, 1103 - 1110
- 【非特許文献3】Bird et al., J. Allergy Clin. Immunol. Pract., 2017, 5, 335 - 344
- 【非特許文献4】Keet et al., J. Allergy Clin. Immunol., 2012, 129, 448 - 455
- 【非特許文献5】Longo et al., J. Allergy Clin. Immunol., 2008, 121, 343 - 7
- 【非特許文献6】Meglio et al., Pediatr. Allergy Immunol., 2008, 19, 412 - 419
- 【非特許文献7】Skripak et al., J. Allergy Clin. Immunol., 2008, 122, 1154 - 60
- 【非特許文献8】Staden et al., Allergy, 2007, 62, 1261 - 1269
- 【非特許文献9】Burks et al., N. Engl. J. Med., 2012, 367, 233 - 243
- 【非特許文献10】Burks et al., J. Allergy Clin. Immunol., 2008, 121, 1344 - 1350
- 【非特許文献11】Burks, Arb. Paul Ehrlich Inst. Bundesinstitut Impfstoffe Biomed Arzneim La

ngen Hess, 2013, 97, 122 - 123

【非特許文献12】Gorelik et al., J. Allergy Clin. Immunol., 2015, 135, 1283 - 1292

【非特許文献13】Keet et al., J. Allergy Clin. Immunol., 2013, 132, 737 - 739

【非特許文献14】Lieberman et al., J. Allergy Clin. Immunol. Pract., 2013, 1, 75 - 82

【非特許文献15】Lin et al., J. Allergy Clin. Immunol., 2009, 124, 315 - 22

【非特許文献16】Lin et al., J. Allergy Clin. Immunol., 2012, 129, 1321 - 1328

【非特許文献17】Flinterman et al., J. Allergy Clin. Immunol., 2008, 121, 737 - 743

【非特許文献18】Klemans et al., J. Allergy Clin. Immunol., 2013, 131, 157 - 163)

【発明の概要】

【0007】

歴史的には、人々は特定タンパク質に対してアレルギーを発症すると考えられていたが、その化学反応及び免疫応答は、はるかに詳細である。全ピーナッツ抽出物でも構成要素に分けてさえも、それらに対するIgEの研究は、分子レベルでの真の反応の特異性を提供しない。タンパク質は、その構造に沿って種々のエпитープを有し、これらエпитープは、アレルギー反応中に抗体が結合する特異的標的である。したがって、より高い分解能のアレルギー検査パネルなら、患者のアレルギー反応の原因となるタンパク質内の特異的エпитープを同定することができる。本明細書に記載される方法は、ピーナッツで見られるタンパク質を、そのタンパク質全体を形成しているより短い構成要素（エпитープ）に細かく分けることにより、各エпитープに対して抗体がどのように結合するかに基づいて抗体反応性を階層化することができ、それにより各患者のエпитープ結合パターンを確立し、及びより正確かつ予測的診断が可能になるという前提に、一部基づいている。

【0008】

本明細書に記載されるとおり、本方法は、ピーナッツで見られるタンパク質を、より小さなペプチド、すなわち2つ以上のアミノ酸からなる化合物へと細かく分ける。次いで、マッピングされたペプチドを、個別に、ビーズにカップリングさせて、高処理分析及びエпитープ結合評価を可能にする。患者のIgE反応の反応性、すなわち、血流中の、アレルギー性免疫応答で「火を灯すマッチ」として作用する抗体を、試験する。反応では、抗体は、ペプチドがカップリングしたビーズに結合し、本方法は、ペプチドあたりの個別化された反応を分離し特定するように設計されているので、臨床医は、患者のアレルギープロフィールのより正確で完全な実像を得ることができる。結果は、個別のペプチドの結果で「マッピング」され、患者の分類に使用される治療反応プロフィールを形成する。

【0009】

本開示は、対象において、ピーナッツアレルギー、及び/またはピーナッツアレルギーの重篤度を診断する方法を提供し、本方法は、以下を含む：対象から得られた血清または血漿中の1種または複数のアレルギー関連免疫グロブリン（AAI）が、1種または複数のピーナッツペプチドと結合することを可能にするのに十分な条件下、1種または複数のピーナッツペプチドと血清または血漿とを接触させること（ただし、1種または複数のピーナッツペプチドは、固相担体にカップリングされており、1種または複数のAAIペプチド固相担体複合体を形成している）、AAI特異的標識化試薬をAAIペプチド固相担体複合体に結合させること、及び、各AAIペプチド固相担体複合体に対するAAI特異的標識化試薬の結合を検出して、対象の血清または血漿中のAAIと結合した1種または複数のピーナッツペプチドを同定すること、対象の血清または血漿中のAAIが少なくとも1種のピーナッツペプチドを認識するということは、その対象がピーナッツに対してア

レルギーを有することを示す。

【0010】

本開示は、ピーナッツに対してアレルギーを有する対象において、ピーナッツに対する臨床的耐性の獲得を検出する方法も提供し、本方法は、以下を含む：対象から得られた血清または血漿中の1種または複数のアレルギー関連免疫グロブリン(AAI)が、1種または複数のピーナッツペプチドと結合することを可能にするのに十分な条件下、1種または複数のピーナッツペプチドと血清または血漿とを接触させること(ただし、1種または複数のピーナッツペプチドは、固相担体にカップリングされており、1種または複数のAAIペプチド固相担体複合体を形成している)、AAI特異的標識化試薬をAAIペプチド固相担体複合体に結合させること、各AAIペプチド固相担体複合体に対するAAI特異的標識化試薬の結合を検出して、対象の血清または血漿中のAAIと結合した1種または複数のピーナッツペプチドを同定すること、及び、対象の血清または血漿中のAAIと結合した1種または複数のピーナッツペプチドで同定されたもの、または対象の血清または血漿中のAAIの濃度を、対象の血清または血漿中のAAIと結合した1種または複数のピーナッツペプチドの先行して同定されたパネル、または対象の血清または血漿中のAAIの先行する濃度と比較すること(以下の場合に、ピーナッツに対する臨床的耐性の獲得が、示されている：対象の血清または血漿中のIgE AAIにより認識されるピーナッツペプチドの後続の数、及び/または対象の血清または血漿中のAAI IgEの後続の濃度が、対象の血清または血漿中のAAI IgEにより認識されるピーナッツペプチドの先行して同定された数より少ない、及び/または対象の血清または血漿中のAAI IgEの先行する濃度より低い場合、及び/または対象の血清または血漿中のIgG4 AAIにより認識されるピーナッツペプチドの後続の数、及び/または対象の血清または血漿中のAAI IgG4の後続の濃度が、対象の血清または血漿中のAAI IgG4により認識されるピーナッツペプチドの先行して同定された数より多い、及び/または対象の血清または血漿中のAAI IgG4の先行する濃度より高い場合)。

10

20

【0011】

本開示は、ピーナッツに対してアレルギーを有する対象において、ピーナッツに対するアレルギーの治療中、経時的に、アレルギー強度の上昇または有害事象を検出する方法も提供し、本方法は、以下を含む：対象から得られた血清または血漿中の1種または複数のアレルギー関連免疫グロブリン(AAI)が、1種または複数のピーナッツペプチドと結合することを可能にするのに十分な条件下、1種または複数のピーナッツペプチドと血清または血漿とを接触させること(ただし、1種または複数のピーナッツペプチドは、固相担体にカップリングされており、1種または複数のAAIペプチド固相担体複合体を形成しており、及びただし、1種または複数のピーナッツペプチドは、ar a h 1アレルギーの8位から66位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチド、ar a h 1アレルギーの103位から152位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチド、ar a h 1アレルギーの176位から195位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチド、ar a h 2アレルギーの5位から40位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチド、ar a h 3アレルギーの93位から115位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチド、及び/またはar a h 3アレルギーの152位から167位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチドから選択される)、AAI特異的標識化試薬をAAIペプチド固相担体複合体に結合させること、各AAIペプチド固相担体複合体に対するAAI特異的標識化試薬の結合を検出して、対象の血清または血漿中のAAIと結合した1種または複数のピーナッツペプチドを同定すること、ならびに、対象の血清または血漿中のAAIと結合した1種または複数のピーナッツペプチドで同定されたもの、または対象の血清または血漿中のAAIの濃度を、対象の血清中のAAIと結合した1種または複数のピーナッツペプチドの先行して同定されたパネル、または対象の血清または血漿中のAAIの先行する濃度と比較すること(対象の血清または血漿中のAAIにより認識されるピーナッツペプチドの後続の数

30

40

50

もしくは反応性パターン、または対象の血清または血漿中の A A I の後続の濃度が、対象の血清または血漿中の A A I により認識されるピーナッツペプチドの先行して同定された数または反応性パターンより大きい、及び / または対象の血清または血漿中の A A I の先行する濃度より高い場合に、ピーナッツに対するアレルギー反応の強度の上昇が示されている)。

【 0 0 1 2 】

本開示は、ピーナッツに対する耐性を誘導するまたはアレルギーをなくすために、乳幼児を 1 種または複数のピーナッツアレルギーに感作させる方法も提供し、本方法は、1 種または複数のピーナッツペプチドを乳幼児に投与することを含み、ただし、1 種または複数のピーナッツペプチドは、a r a h 1 アレルゲン (配列番号 1)、a r a h 2 アレルゲン (配列番号 2)、及び / または a r a h 3 アレルゲン (配列番号 3) に由来するものである。

10

【 0 0 1 3 】

本開示は、アレルゲンエпитープ含有ピーナッツペプチドのセットも提供し、本セットは、a r a h 1 アレルゲン (配列番号 1)、a r a h 2 アレルゲン (配列番号 2)、及び / または a r a h 3 アレルゲン (配列番号 3) に由来する少なくとも 2 種のペプチドを含む複数のピーナッツペプチドを含む。

【 0 0 1 4 】

本開示は、キットも提供し、本キットは、以下：a r a h 1 アレルゲン (配列番号 1)、a r a h 2 アレルゲン (配列番号 2)、及び / または a r a h 3 アレルゲン (配列番号 3) に由来する 1 種または複数のアレルゲンエпитープ含有ピーナッツペプチド (各ピーナッツペプチドは固相担体にカップリングされている)、及びアレルギー関連免疫グロブリン (A A I) 特異的標識化試薬、を含み、これらはまとめてパッケージ化されており、使用説明書も含んでいる。

20

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 1 5 】

【 図 1 - 1 】回避者と摂取者の間の I g E エピトープに対する I g E 反応の代表的な違いを、試験来院時にわたり臨床試験開始時のベースライン来院との比較で示す (V 1 2 - V 1、V 3 0 - V 1、及び V 6 0 - V 1)。

30

【 図 1 - 2 】同上。

【 図 1 - 3 】同上。

【 図 1 - 4 】同上。

【 図 2 - 1 】回避者と摂取者の間の I g G 4 エピトープに対する I g G 4 反応の代表的な違いを、試験来院時にわたり臨床試験開始時のベースライン来院との比較で示す (V 1 2 - V 1、V 3 0 - V 1、及び V 6 0 - V 1)。

【 図 2 - 2 】同上。

【 図 2 - 3 】同上。

【 図 2 - 4 】同上。

【 図 3 - 1 】群間の代表的な I g E 反応を基に来院あたりの変化を示す。

40

【 図 3 - 2 】同上。

【 図 3 - 3 】同上。

【 図 4 - 1 】来院 6 0 での代表的な I g G 4 反応の変化を示す。

【 図 4 - 2 】同上。

【 図 4 - 3 】同上。

【 図 4 - 4 】同上。

【 図 5 - 1 】V 6 0 での回避者における代表的な I g G 4 反応を示す。

【 図 5 - 2 】同上。

【 図 6 - 1 】感作された摂取者における代表的な I g G 4 エピトープ拡大を回避者と比較して示す。

【 図 6 - 2 】同上。

50

【図 6 - 3】同上。

【図 6 - 4】同上。

【図 6 - 5】同上。

【図 7 - 1】64 のピーナッツアレルギー性エピトープアッセイ及び E B スコアの代表的結果を、年齢 1、2、5、及び 5 歳の時点で、それぞれのベースライン来院時と比較して示す。

【図 7 - 2】同上。

【図 8 - 1】エピトーププロファイルの代表的結果を示す。

【図 8 - 2】同上。

【図 9】代表的なエピトープモデルを訓練結果で示す。

10

【図 10】代表的なエピトープモデルを訓練結果で示す。

【図 11】エピトープモデルと ImmunoCAP の比較の代表的な結果を示す。

【図 12】エピトープ及びエピトープ + s I g E の C V における代表的な A U C を示す。

【図 13】試験におけるエピトープモデルの精度の代表的結果を示す。

【図 14】C o F a r 2 における成績の R O C プロットを示す。

【発明を実施するための形態】

【0016】

本明細書中使用される用語は、特定の実施形態を説明することのみを目的とし、限定することを意図しない。

複数の例示実施形態を説明する前に、当然のことながら、実施形態は、以下の説明に記載される詳細な構成またはプロセス工程に限定されない。本明細書に記載される実施形態は、修飾可能であり、様々なやり方で実施または実行することができる。

20

【0017】

本開示全体を通じて「いくつかの実施形態」という言及、またはその派生表現は、その実施形態に関連して記載される特定の特徴、構造、材料、または特質が、少なくとも 1 つの実施形態に含まれていることを意味する。したがって、本開示全体を通じて各所に出現する「実施形態によっては」などの語句は、必ずしも同一実施形態を示すとは限らず、むしろ、概して、任意の他の実施形態によるものとして行うことができる。そのうえさらに、特定の特徴、構造、材料、または特質は、1 つまたは複数の実施形態において、任意の適切な様式で組み合わせることができる。

30

【0018】

本明細書中使用される場合、「アレルギー関連免疫グロブリン」及び「A A I」という用語は、ピーナッツアレルギーに対する過敏症に介在する血清中の免疫グロブリンを示す。そのような免疫グロブリンとして、I g E、I g A、I g M、及び I g G (I g G 4 を含む) のうち 1 種または複数が挙げられる。

【0019】

本明細書中使用される場合、「反応性の (r e a c t i v e)」、「反応性 (r e a c t i v i t y)」、「認識する」などの用語は、アレルギー関連免疫グロブリンの、アレルギーエピトープ含有ペプチドと結合する能力を示す。反応性のレベルは、血清または血漿中の A A I 濃度を示し、高い反応性は、A A I 濃度がより高いことと関連し、低い反応性は、A A I 濃度がより低いことと関連する。相対的 A A I 濃度 (すなわち、相対的血清または血漿反応性) は、アッセイで検出されるシグナルの量により決定される。アレルギーエピトープ含有ペプチドに対する A A I の反応性のレベルは、アレルギー反応の強度を示す (すなわち、反応性が高いほど、アレルギー反応がより強いことと関連する) 。

40

【0020】

本明細書中使用される場合、「臨床的耐性」という用語は、アレルギー性対象が、ピーナッツアレルギーへの曝露の結果として獲得する、ピーナッツアレルギーに対する免疫学的耐性 (すなわち、免疫療法の結果として獲得した耐性) を示す。

【0021】

本明細書中使用される場合、「自然耐性」という用語は、生存期間中のアレルギーへの

50

自然曝露の結果として、または曝露不在下でのいずれかにより、アレルギー性対象が、経時的な生化学過程として獲得する、ピーナッツアレルゲンに対する免疫学的耐性を示す。

【0022】

本開示は、a r a h 1 アレルゲン（配列番号1）、a r a h 2 アレルゲン（配列番号2）、及び/またはa r a h 3 アレルゲン（配列番号3）に由来する少なくとも2種のペプチドを含む複数のピーナッツペプチドを含むアレルゲンエピトープ含有ピーナッツペプチドのセットを提供する。

【0023】

実施形態によっては、複数のピーナッツペプチドは、以下から選択される：a r a h 1 アレルゲンの8位から66位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 1 アレルゲンの103位から152位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 1 アレルゲンの176位から195位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 2 アレルゲンの5位から40位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 3 アレルゲンの93位から115位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 3 アレルゲンの30位から75位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチド、及び/またはa r a h 3 アレルゲンの152位から167位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチド。

10

【0024】

実施形態によっては、複数のピーナッツペプチドは、配列番号4～67のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドを含む。実施形態によっては、複数のピーナッツペプチドは、配列番号7、13、16、17、25、27、30、36、39、45、65、及び66のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドを含む。実施形態によっては、複数のピーナッツペプチドは、配列番号39、45、及び66のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドを含む。実施形態によっては、複数のピーナッツペプチドは、配列番号5、6、10、13、14、34、36、39、40、42、49、61、65、及び66のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドを含む。実施形態によっては、複数のピーナッツペプチドは、配列番号5、6、9、34、36、39、及び40のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドを含む。実施形態によっては、複数のピーナッツペプチドは、配列番号29、39、42、44、45、51、及び63のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドを含む。実施形態によっては、複数のピーナッツペプチドは、配列番号7、8、29、31、39、45、及び61のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドを含む。実施形態によっては、複数のピーナッツペプチドは、配列番号39及び40のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を有するペプチドを含む。実施形態によっては、複数のピーナッツペプチドは、配列番号39のアミノ酸配列を有するペプチドを含む。実施形態によっては、複数のピーナッツペプチドは、配列番号40のアミノ酸配列を有するペプチドを含む。

20

30

【0025】

実施形態によっては、各ピーナッツペプチドは、約3つのアミノ酸～約60のアミノ酸、約4つのアミノ酸～約60のアミノ酸、約6つのアミノ酸～約30のアミノ酸、約7つのアミノ酸～約20のアミノ酸、約10のアミノ酸～約16のアミノ酸、または約10のアミノ酸～約15のアミノ酸を含む。実施形態によっては、各ピーナッツペプチドは、15のアミノ酸を含む。

40

【0026】

実施形態によっては、複数のピーナッツペプチドは、少なくとも2種のピーナッツペプチド、少なくとも3種のピーナッツペプチド、少なくとも5種のピーナッツペプチド、少なくとも10種のピーナッツペプチド、少なくとも15種のピーナッツペプチド、少なくとも20種のピーナッツペプチド、少なくとも25種のピーナッツペプチド、少なくとも

50

30種のピーナッツペプチド、少なくとも35種のピーナッツペプチド、少なくとも40種のピーナッツペプチド、少なくとも45種のピーナッツペプチド、少なくとも50種のピーナッツペプチド、少なくとも55種のピーナッツペプチド、少なくとも60種のピーナッツペプチド、または少なくとも64種のピーナッツペプチドを含む。実施形態によっては、複数のピーナッツペプチドは、約2～約64種のピーナッツペプチド、約2～約60種のピーナッツペプチド、約2～約55種のピーナッツペプチド、約2～約50種のピーナッツペプチド、約2～約45種のピーナッツペプチド、約2～約40種のピーナッツペプチド、約2～約35種のピーナッツペプチド、約2～約30種のピーナッツペプチド、約2～約25種のピーナッツペプチド、約2～約20種のピーナッツペプチド、約2～約15種のピーナッツペプチド、または約2～約10種のピーナッツペプチドを含む。実施形態によっては、複数のピーナッツペプチドは、約2～約64種のピーナッツペプチド、約5～約64種のピーナッツペプチド、約10～約64種のピーナッツペプチド、約15～約64種のピーナッツペプチド、約20～約64種のピーナッツペプチド、約25～約64種のピーナッツペプチド、約30～約64種のピーナッツペプチド、約35～約64種のピーナッツペプチド、約40～約64種のピーナッツペプチド、約45～約64種のピーナッツペプチド、約50～約64種のピーナッツペプチド、または約55～約64種のピーナッツペプチドを含む。

10

20

30

40

50

【0027】

当然のことながら、本明細書中開示されるアレルゲン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ているものの、当業者なら、そのようなペプチドのそれぞれを、そのペプチドの由来するタンパク質のN末端またはC末端方向のいずれかに移動させることにより、関連エピトープを依然として含有しながらも、指定されるものとは異なるアミノ酸がその関連エピトープの横に配置されている関連ペプチド配列を得られることがわかるだろう。したがって、全ての実施形態において、アレルゲンエピトープ含有ペプチドは、開示されるペプチド配列と、2、4、6、または8以上の連続するアミノ酸が重複しているアミノ酸配列を有することができる。

【0028】

同じくわかるだろうが、配列番号4～67に表されるペプチド全64種の分析は、本明細書中記載される方法で有用な結果を得るためには必ずしも常に必要ではない。配列番号4～67に表されるペプチドの中から選択された十分な数のペプチドを用いて、統計上信頼できる結果を得ることが可能である。例えば、対象のピーナッツアレルギー状態が不明である場合、配列番号4～67に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数を増やして分析することが一般に望ましく、その結果、配列番号4～67に表されるペプチドのごく少数との反応性が関与する可能性がある軽度～中等度のピーナッツアレルギーの検出が確実になる。反対に、対象が高強度のピーナッツアレルギーを有することが既知である場合、配列番号4～67に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を少なくしても、アレルギー強度の変化または臨床的耐性の獲得を検出するには十分である可能性がある。なぜなら、配列番号4～67に表されるペプチドの多数が、最初から反応性であるだろうからである。しかしながら、アレルギー強度の変化または臨床的耐性の獲得は、血清と反応するペプチドの数の変化、ならびに特定ペプチドと反応する血清IgEの濃度の変化により裏付けられるため、アッセイには、配列番号4～67に表されるペプチドの中から選択される十分に大きなペプチドセットを含めることで、特定の対象について診断を与えるペプチドに関する変化を見逃さないことを確実にすることが、特に望ましい。したがって、本明細書中記載される方法のいずれかで使用するために配列番号4～67に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4～67の64種のペプチド全部、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、または2～5種のペプチドのサブセットである場合がある。

【0029】

本開示は、対象におけるピーナッツアレルギー、及び/またはピーナッツアレルギーの重篤度を診断する方法も提供し、本方法は、以下を含む：対象から得られた血清または血漿中の１種または複数のアレルギー関連免疫グロブリン（ＡＡＩ）が、１種または複数のピーナッツペプチドと結合することを可能にするのに十分な条件下、１種または複数のピーナッツペプチドと血清または血漿とを接触させること（ただし、１種または複数のピーナッツペプチドは、固相担体にカップリングされており、１種または複数のＡＡＩペプチド固相担体複合体を形成している）、ＡＡＩ特異的標識化試薬をＡＡＩペプチド固相担体複合体に結合させること、及び、各ＡＡＩペプチド固相担体複合体に対するＡＡＩ特異的標識化試薬の結合を検出して、対象の血清または血漿中のＡＡＩと結合した１種または複数のピーナッツペプチドを同定すること、対象の血清または血漿中のＡＡＩが少なくとも１種のピーナッツペプチドを認識するということは、その対象がピーナッツに対してアレルギーを有することを示す。

10

【００３０】

実施形態によっては、１種または複数のピーナッツペプチドは、a r a h 1 アレルゲン（配列番号１）、a r a h 2 アレルゲン（配列番号２）、及び/またはa r a h 3 アレルゲン（配列番号３）に由来する。

【００３１】

実施形態によっては、１種または複数のピーナッツペプチドは、以下から選択される：a r a h 1 アレルゲンの８位から６６位の中の少なくとも３連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 1 アレルゲンの１０３位から１５２位の中の少なくとも３連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 1 アレルゲンの１７６位から１９５位の中の少なくとも３連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 2 アレルゲンの５位から４０位の中の少なくとも３連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 3 アレルゲンの９３位から１１５位の中の少なくとも３連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 3 アレルゲンの３０位から７５位の中の少なくとも３連続するアミノ酸を有するペプチド、及び/またはa r a h 3 アレルゲンの１５２位から１６７位の中の少なくとも３連続するアミノ酸を有するペプチド。

20

【００３２】

実施形態によっては、１種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号４～６７のうちの任意の１種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、１種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号７、１３、１６、１７、２５、２７、３０、３６、３９、４５、６５、及び６６のうちの任意の１種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、１種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号３９、４５、及び６６のうちの任意の１種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、１種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号５、６、１０、１３、１４、３４、３６、３９、４０、４２、４９、６１、６５、及び６６のうちの任意の１種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、１種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号５、６、９、３４、３６、３９、及び４０のうちの任意の１種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、１種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号２９、３９、４２、４４、４５、５１、及び６３のうちの任意の１種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、１種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号７、８、２９、３１、３９、４５、及び６１のうちの任意の１種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、１種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号３９及び４０のうちの任意の１種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、１種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号４０のアミノ酸配列を含む。

30

40

【００３３】

実施形態によっては、各ピーナッツペプチドは、約３つのアミノ酸～約６０のアミノ酸

50

、約 4 つのアミノ酸～約 60 のアミノ酸、約 6 つのアミノ酸～約 30 のアミノ酸、約 7 つのアミノ酸～約 20 のアミノ酸、約 10 のアミノ酸～約 16 のアミノ酸、または約 10 のアミノ酸～約 15 のアミノ酸を含む。実施形態によっては、各ピーナッツペプチドは、15 のアミノ酸を含む。

【0034】

実施形態によっては、1 種または複数のピーナッツペプチドは、少なくとも 2 種のピーナッツペプチド、少なくとも 3 種のピーナッツペプチド、少なくとも 5 種のピーナッツペプチド、少なくとも 10 種のピーナッツペプチド、少なくとも 15 種のピーナッツペプチド、少なくとも 20 種のピーナッツペプチド、少なくとも 25 種のピーナッツペプチド、少なくとも 30 種のピーナッツペプチド、少なくとも 35 種のピーナッツペプチド、少なくとも 40 種のピーナッツペプチド、少なくとも 45 種のピーナッツペプチド、少なくとも 50 種のピーナッツペプチド、少なくとも 55 種のピーナッツペプチド、少なくとも 60 種のピーナッツペプチド、または少なくとも 64 種のピーナッツペプチドを含む。実施形態によっては、1 種または複数のピーナッツペプチドは、約 2～約 64 種のピーナッツペプチド、約 2～約 60 種のピーナッツペプチド、約 2～約 55 種のピーナッツペプチド、約 2～約 50 種のピーナッツペプチド、約 2～約 45 種のピーナッツペプチド、約 2～約 40 種のピーナッツペプチド、約 2～約 35 種のピーナッツペプチド、約 2～約 30 種のピーナッツペプチド、約 2～約 25 種のピーナッツペプチド、約 2～約 20 種のピーナッツペプチド、約 2～約 15 種のピーナッツペプチド、または約 2～約 10 種のピーナッツペプチドを含む。実施形態によっては、1 種または複数のピーナッツペプチドは、約 2～約 64 種のピーナッツペプチド、約 5～約 64 種のピーナッツペプチド、約 10～約 64 種のピーナッツペプチド、約 15～約 64 種のピーナッツペプチド、約 20～約 64 種のピーナッツペプチド、約 25～約 64 種のピーナッツペプチド、約 30～約 64 種のピーナッツペプチド、約 35～約 64 種のピーナッツペプチド、約 40～約 64 種のピーナッツペプチド、約 45～約 64 種のピーナッツペプチド、約 50～約 64 種のピーナッツペプチド、または約 55～約 64 種のピーナッツペプチドを含む。

【0035】

実施形態によっては、対象がピーナッツに対してアレルギーを有するという判定は、さらに、以下の 1 つまたは複数の結果を考慮に入れる：全ピーナッツ特異的 IgE (sIgE)、ピーナッツ構成要素 ara h 1 に対する IgE、ピーナッツ構成要素 ara h 2 に対する IgE、ピーナッツ構成要素 ara h 3 に対する IgE、全ピーナッツ特異的 IgG 4 (sIgG 4)、ピーナッツ構成要素 ara h 1 に対する IgG 4、ピーナッツ構成要素 ara h 2 に対する IgG 4、ピーナッツ構成要素 ara h 3 に対する IgG 4、皮膚プリックテスト結果、臨床歴もしくは家族歴、及び/または患者もしくは臨床医質問票からのデータ。実施形態によっては、対象がピーナッツに対してアレルギーを有するという判定は、さらに、以下の 1 つまたは複数の結果を考慮に入れる：ピーナッツ構成要素 ara h 1 に対する IgE、ピーナッツ構成要素 ara h 2 に対する IgE、及び/またはピーナッツ構成要素 ara h 3 に対する IgE。

【0036】

実施形態によっては、ピーナッツ構成要素 ara h 1 に対する IgE の結果は、配列番号 7、13、16、17、25、27、30、及び 36 から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 5、6、10、13、14、34、及び 36 から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 5、6、9、34、及び 36 から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 7、8、29、及び 31 から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 29 から選択されるアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドでの結果を含み、ピーナッツ構成要素 ara h 2 に対する IgE の結果は、配列番号 39 から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 39、40、42、及び 49 から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 39 及び 40 から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 39、42、44、45、及び 51 から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 39 及び 45 から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 39 及び 40 から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 40 から選

択されるアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドでの結果を含み、及び／またはピーナッツ構成要素 $ar a h 3$ に対する $I g E$ の結果は、配列番号 65 から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 61、65、及び 66 から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 63 から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 61 から選択されるアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドでの結果を含む。

【0037】

実施形態によっては、対象がピーナッツに対してアレルギーを有するという判定は、さらに、以下の1つまたは複数の結果を考慮に入れる：配列番号 39 のアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドに対する $I g E$ 、配列番号 45 のアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドに対する $I g G 4$ 、及び配列番号 66 のアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドに対する $I g G 4$ 、配列番号 39 のアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドに対する $I g E$ 、配列番号 45 のアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドに対する $I g G 4$ 、及び皮膚ブリックテスト、配列番号 39 のアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドに対する $I g E$ 、配列番号 45 のアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドに対する $I g G 4$ 、配列番号 66 のアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドに対する $I g G 4$ 、及び $s I g E$ 、ならびに配列番号 39 のアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドに対する $I g E$ 、配列番号 45 のアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドに対する $I g G 4$ 、配列番号 66 のアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドに対する $I g G 4$ 、及びピーナッツ構成要素 $ar a h 2$ 。

【0038】

実施形態によっては、対象がピーナッツに対してアレルギーを有するという判定は、以下を含む：対象の $s I g E$ が $0.03 k U_A / L$ であるか、それとも $< 0.03 k U_A / L$ であるかを特定すること（ $0.03 k U_A / L$ は、対象がピーナッツに対してアレルギーを有する可能性があることを示し、 $< 0.03 k U_A / L$ は、対象がピーナッツに対してアレルギーを有さないことを示す）、及び、対象の $s I g E$ が $0.03 k U_A / L$ である場合に、配列番号 39 のアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドに対する $I g E$ 、配列番号 45 のアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドに対する $I g G 4$ 、及び配列番号 66 のアミノ酸配列を含むピーナッツペプチドに対する $I g G 4$ の組み合わせが < 0.20 であるか、それとも 0.20 であるかを特定すること（ < 0.20 は、対象がピーナッツに対してアレルギーを有さないことを示し、 0.20 は、対象がピーナッツに対してアレルギーを有することを示す）。

【0039】

実施形態によっては、対象がピーナッツに対してアレルギーを有するかどうかを判定するときに、皮膚ブリックテスト（SPT）も考慮に入れる。例えば、単一閾値テストにおいて、 $s I g E$ 0.10 、または SPT $T 1$ 、または $h 2.008$ 0.8 、または $h 2.010$ $T 2$ ならば、対象はアレルギーを有さない、そうでなければ、対象はアレルギーを有する。二重閾値テストにおいて、 $s I g E$ 0.10 、または SPT $T 1$ 、または $h 2.008$ 0.8 、または $h 2.010$ $T 2$ ならば、対象はアレルギーを有さない、そうでない場合、 $h 2.010$ $T 3$ ならば、対象はアレルギーを有する。 $T 1$ 、 $T 2$ 、及び $T 3$ は、様々な閾値である。これらの閾値は、アルゴリズムの一部として利用者が選択するものであり、AUC、NPV、及びPPVなどの測定基準が最良の成績を与える場合に基づいて評価される。

【0040】

実施形態によっては、ピーナッツペプチドはそれぞれ、固相担体とカップリングするためのリンカーを有する。実施形態によっては、リンカーは、-PEG12-ビオチンである。実施形態によっては、リンカーは、3、6、9、または12個の炭素を含むことができる。実施形態によっては、ビオチンは、クリックケミストリーリンカー（例えば、アジド-DBCO、アミン-NHSエステル、チオール-マレイミド、ヒドラゾンなど）で置き換えることができる。

【0041】

実施形態によっては、固相担体は、微粒子ビーズ、ガラスアレイ、シリコンアレイ、

10

20

30

40

50

膜、またはマイクロタイタープレートである。実施形態によっては、ビーズ、マイクロタイタープレート壁、またはクロマトグラフィー材料の離散した位置など、各固相担体は、単一ペプチドにより占有されている。次いで、対象から得られた血清または血漿中の抗ペプチド A A I（もし存在するならば）と各固相担体上または固相担体の離散した位置上のペプチドとの特異的結合に適切な条件下、固相担体を、血清または血漿と接触させて、固相担体上でペプチド A A I 複合体を形成させる。次いで、各固相担体上または固相担体の離散した位置上の複合体を、複合体と特異的に、典型的には固定された血清または血漿 A A I 抗体と結合することにより、結合する標識化試薬と接触させて、固相担体上で形成されたあらゆるペプチド A A I 複合体を検出する。全ての複合体を普遍的に検出する単一標識試薬が、一般的に、使用されることになる。そうすると、特定のペプチド A A I 複合体を、その複合体のマイクロタイタープレート上またはクロマトグラフィー担体上の位置により同定することができる。各ペプチドが結合した固相担体が異なるスペクトル特性を有する場合、特定のペプチド A A I 複合体は、いったん複合体と結合した標識化試薬の検出可能なシグナルを介して複合体の存在が同定されてしまうと、ペプチド A A I 複合体を伴う固相担体のスペクトル特性を分析することによっても同定することができる。例として、マイクロタイタープレートの各ウェルにおけるペプチド A A I 複合体の有無は、複合体が、レポーター部分、例えば、蛍光色素、発色性色素、酵素標識、または放射性標識などと結合した抗ヒト A A I 抗体と結合することにより特定可能である。あるいは、抗ヒト A A I 抗体は、直接には検出可能ではないレポーター部分と結合している場合があり、そのため第二の直接検出可能なレポーター部分が標識化試薬と特異的に結合することが、結合分析に必要である。

10

20

【0042】

実施形態によっては、A A I は、I g G、I g M、I g A、及び / または I g E である。実施形態によっては、I g G は、I g G 4 である。

実施形態によっては、A A I 特異的標識化試薬は、検出可能に標識された抗ヒト I g G 4 抗体、検出可能に標識された抗ヒト I g M 抗体、検出可能に標識された抗ヒト I g A 抗体、及び / または検出可能に標識された抗ヒト I g E 抗体である。実施形態によっては、検出可能な標識は、フィコエリトリン、蛍光色素、西洋ワサビペルオキシダーゼ（H R P）、及びアルカリホスファターゼから選択される。実施形態によっては、標識化試薬は、直接検出可能な第一レポーター部分、例えば、蛍光色素、放射標識、または有色色素と結合している場合がある。実施形態によっては、フィコエリトリン（P E）分子を、抗アレルギー関連免疫グロブリンに直接カップリングさせて、検出に使用することができる。あるいは、第一レポーター部分は、間接的に検出可能（例えば、発色性色素の酵素標識）なレポーター部分の場合があり、第一レポーター部分に特異的な結合パートナーを、直接検出可能な標識に結合させることができる（第二レポーター部分）。例えば、ビオチン結合抗 A A I 抗体を、ビオチン結合抗 A A I 検出のためのストレプトアビジン結合蛍光色素と組み合わせて使用することができる。実施形態によっては、検出可能な標識は、銀染色、量子ドット、または屈折手法を介して観察することができる。

30

【0043】

実施形態によっては、各 A A I ペプチド固相担体複合体に対する A A I 特異的標識化試薬の結合の検出は、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またはラテラルフローアッセイにより行われる。上述の実施形態のどれでも、マイクロアレイ免疫アッセイの形式であることができ、この場合、複数のアレルゲンエピトープ含有ペプチドのそれぞれが、マイクロタイタープレートの別個のウェルに結合されていて、血清と反応して A A I と結合する。結合した A A I は、A A I 特異的標識化試薬、例えば、蛍光標識などのレポーター部分と結合した抗 A A I 抗体などとの結合により検出される。結合した標識化試薬の蛍光は、血清または血漿中に、ウェルと結合したペプチドに含まれるアレルゲンエピトープに対する抗体が存在することを示す。複数のアレルゲンエピトープ含有ペプチドを、ラテラルフロー免疫アッセイフォーマットで使用することもでき、この場合、各ペプチドは、多孔性またはクロマトグラフィー担体の離散した領域に固定されていて、

40

50

AAIをペプチドと結合させるために、血清または血漿を、担体を通過させることにより、ペプチドと接触させる。このアッセイでは、AAI特異的標識化試薬は、抗AAI抗体と結合した発色団または色素を含むことができる。標識化試薬を複合体に結合させるため、標識化試薬も、担体を通過させることにより、ペプチドAAI複合体と接触させ、これにより、血清または血漿中に、担体の各離散場所に固定されたペプチドに含まれるアレルゲンエピトープに対する抗体が存在するかどうかを示される。

【0044】

上述の実施形態のどれでも、フローサイトメトリーアッセイの形式であることもでき、この場合、各アレルゲンエピトープ含有ペプチドは、フローサイトメトリーによる分析に適切な別個に同定可能な固相担体、例えばビーズと結合している。典型的には、ペプチドは、固相担体上のペプチド特異的捕捉抗体に結合することにより、または固相担体との化学結合により、固相担体と結合している。実施形態によっては、アレルゲンエピトープ含有ペプチドが結合したビーズを、対象の血清または血漿と接触させて、ペプチドを介してビーズに結合するあらゆるペプチド特異的AAIを結合させ、そうして、ビーズ上にペプチドAAI複合体を形成させる。例えば、蛍光レポーター部分を有するAAI特異的標識化試薬を、次いで、ペプチドAAI複合体と結合させ、フローサイトメトリーによりビーズを定量または定性分析する。これにより、アレルゲンエピトープ含有ペプチドが結合した各ビーズに付随する結合した標識化試薬からの蛍光が検出され、それにより、ペプチド及びそれに対して反応するAAIが血清中に存在することが同定される。複数のアレルゲンエピトープ含有ペプチドのうち少なくとも1種に対して反応するAAIの存在は、対象がピーナッツに対してアレルギーを有することを示し、反応性ペプチドの数の経時的変化または1種または複数のペプチドに対して反応するAAIの濃度の経時的変化は、その期間にわたる、アレルギー強度の上昇、アレルギー強度の低下、または臨床的耐性の獲得を示す。

【0045】

実施形態によっては、フローサイトメトリーアッセイは、LUMINEX[®] xMAP技術など、ペプチド及びタンパク質の定量及び検出に微粒子アレイプラットフォームを使用する多重アッセイの場合がある。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、異なるスペクトル特性を持つビーズのセットに結合されていて、このセットを用いて、フローサイトメトリーにより、付随するアレルゲンエピトープ含有ペプチドを同定することができる。次いで、ビーズのセットを、対象の血清または血漿と接触させて、ペプチド認識AAIを各ビーズと結合させ、ビーズ上にペプチドAAI複合体を形成させ、そして、例えば、蛍光レポーター部分を有するAAI特異的標識化試薬を、複合体のAAIに結合させる。各ビーズのスペクトル特性及び結合した標識化試薬から出る付随する蛍光量をモニタリングすることにより、ビーズを分析する。このプロセスにより、ビーズ上のペプチドの同定、及びそれに対して反応する血清または血漿AAIの有無の同定が可能になる。アッセイ結果は、本明細書中記載されるとおりに解釈される。

【0046】

本明細書中記載される方法のどれにおいても使用するのに特に有用な定量アッセイは、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、例えば、LUMINEX[®] e x M A P多重ビーズアッセイであり、これは、ELISAの代替高処理アッセイである。このアッセイでは、識別可能な割合の赤色及び近赤外フルオロフォアで染色されたポリスチレンビーズ（微粒子）が、固相担体として使用される。ペプチドは、ビーズと化学結合している、またはビーズにコーティングされたペプチド特異的捕捉抗体を通じてそこに結合していることができる。フルオロフォアの割合は、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り同定可能な各ビーズ集団の「スペクトル上のアドレス」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化試薬のレポーター部分の蛍光強度の測定に使用される。特定の「スペクトル上のアドレス」を有するビーズに各ペプチドが結合することにより、複数の分析物を同時に検出することができる。ビーズを、ビーズに結合したペプチドに対して特異的なAAIを含有する血清または血漿と接触させた後、レ

ポーター部分を結合させた抗ヒトA A I抗体を加える。実施形態によっては、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)結合ストレプトアビジンとの結合により、検出用の蛍光シグナルがもたらされる。標識化試薬の結合後、ビーズは、デュアルレーザー流動系検出装置、例えば、L U M I N E X 2 0 0またはB i o - R a d B I O - P L E X分析器で分析する。第一のレーザーは、ビーズを分類し、それに結合したペプチドを同定する。第二のレーザーは、レポーター由来シグナルの大きさを特定し、この大きさは、結合した血清または血漿A A Iの量に正比例する。

【0047】

代替アッセイフォーマットは、ラテラルフローまたは免疫クロマトグラフィーアッセイである。そうしたアッセイでは、選択されたアレルゲンエピトープ含有ペプチド(複数可)が、多孔性担体に固定され、A A Iを含有する血清または血漿は、通り抜けによりペプチド(複数可)と接触して、免疫複合体を形成する。免疫複合体は、多孔性担体を通してさらに移動することにより、適切な検出試薬を用いた免疫複合体検出用の特異的捕捉試薬と接触する。

10

【0048】

実施形態によっては、ピーナッツアレルゲンへの曝露後、少なくとも1種のペプチドが、血清または血漿A A Iと中等度または高度に反応性であり($S/N > 2$)、反応性ペプチドのうち1種または複数の反応性が、約6ヶ月の間少なくとも2倍より減少しない場合、対象は、ピーナッツアレルギーを有すると診断される。

【0049】

実施形態によっては、ピーナッツアレルギーの診断法は、定性的方法である(すなわち、選択されたペプチドそれぞれに対して反応するA A Iの有無にのみ基づく)。選択されたペプチドのいずれかに対して中等度または高度に反応するA A Iの存在は、ある度合いのピーナッツアレルギーを示すと見なすことができるが、ただし、その反応性は、短期間、例えば約6ヶ月の間に実質的に減少しないものである。本方法は、半定量的である場合もある(すなわち、対象の血清または血漿に反応するペプチドの数が多いほど、相対的にアレルギー強度も高くなり、その反対に、反応性ペプチドの数が少ないほど、相対的にアレルギー強度が低くなる)。5~15種のペプチドに対する血清または血漿反応性は、軽度~中等度のピーナッツアレルギーを示す可能性があり、この範囲内で下限にある反応性は、一般に、軽度ピーナッツアレルギーと特性決定される。16~30、16~25、16~20、16~18、または64種全てのペプチドに対する血清反応性は、中等度~重度ピーナッツアレルギーを示す可能性があり、この範囲内で下限にある反応性は、一般に、中等度ピーナッツアレルギーと特性決定される。中間範囲で、10~20、12~18、または14~16種のペプチドに対する血清反応性は、一般に、中等度ピーナッツアレルギーを示すと見なすことができる。これらのペプチドの特に有用な特性として、非アレルギー性個体の血清または血漿に対しては、一般に約8~10種以下のペプチドしか反応性が高くなく($S/N > 10$)、したがって、本診断アッセイの結果に従来のアッセイよりも高い信頼性をもたらす。

20

30

【0050】

実施形態によっては、個別のピーナッツペプチドとの結合を分析するため、血清または血漿中のA A Iによるペプチドの認識は、結合の値が0.1、0.2、または0.3であるならば有意であるとする。

40

【0051】

実施形態によっては、ピーナッツアレルギーの診断法は、定量的方法である(選択されたペプチドそれぞれに対するA A Iの反応性のレベルの定量に基づく)。実施形態によっては、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化試薬の量と相関し、レポーター部分からのシグナルレベルが高いほど、血清または血漿中の特定ペプチド特異的A A I濃度が高いことを示す。特定ペプチドA A I複合体に結合したレポーター部分の量または濃度を得るにあたり、蛍光色素から出る蛍光の量、有色もしくは発色性色素から出るまたは酵素標識から出る呈色の強度、あるいは放射性標識から出る放射能の量は、複合

50

体中の結合した A A I の量、したがって、その濃度と正の相関にある。これらのパラメータを測定する方法は、当該分野で既知である。ペプチドのいずれかと反応する A A I の相対量は、ピーナッツアレルギーの程度または強度を示すと見なすことができる。すなわち、複数の選択されたペプチド、または選択されたペプチド内の 1 種または複数のペプチドの反応性のレベルが高いほど、アレルギーは強くなる。逆に、複数の選択されたペプチド、または選択されたペプチド内の 1 種または複数のペプチドの反応性のレベルが低いほど、アレルギーは弱くなる。

【 0 0 5 2 】

軽度アレルギーを有する個体の血清または血漿は、より強いアレルギーを有する個体の血清または血漿よりも少ないペプチドと反応する。したがって、本開示は、ピーナッツアレルギーを診断する方法を提供するだけでなく、アレルギー強度を特定する方法、及びピーナッツに対する臨床的耐性の獲得の検出も含めて経時的なアレルギー強度の変化を特定する方法も提供する。

10

【 0 0 5 3 】

実施形態によっては、アレルギー性対象の血清または血漿と反応する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する、すなわち、反応するペプチドの数が少ないほどピーナッツに対するアレルギー反応は軽くなり、反応するペプチドの数が多いほどピーナッツに対するアレルギーはより高くなる。実施形態によっては、ペプチドに対する血清 I g E の結合の強度（例えば、血清または血漿中の I g E 濃度の測定）は、アレルギー反応の強度と相関する（すなわち、全ペプチドに対して、または全ペプチドの中のサブセットに対して反応性が弱いほど、全ペプチドに対する、またはペプチドのサブセットに対する反応性が強い場合に比べて、アレルギー反応がより中等度であることを示す）。

20

【 0 0 5 4 】

これまで知られていた、ピーナッツタンパク質中のペプチドエピトープの分析に基づくピーナッツアレルギーのアッセイは、エピトープに対する I g E 及び I g G 4 の結合の相対的親和性の分析に依存する競合免疫アッセイである。抗体結合の親和性は、対象がピーナッツに対する臨床的耐性を獲得するかどうかと関係すると考えられている。対照的に、実施形態によっては、本明細書に記載される方法は、ピーナッツタンパク質エピトープのセット中の個別ペプチドそれぞれに対する A A I 結合の有無を分析することに、部分的に基づいており、この A A I 結合は、対象の血清または血漿中の I g E が結合するエピトープ（すなわち、ペプチド）の数に基づく、ピーナッツアレルギーの診断、アレルギー反応の強度、及び患者が耐性を獲得するかアレルギー反応の上昇を経験するかどうかの可能性と相関する。実施形態によっては、本明細書に記載される方法は、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 A A I の血清または血漿中の濃度の分析に、部分的に基づいており、この A A I の濃度も、アレルギー反応の強度と相関する。

30

【 0 0 5 5 】

本明細書中使用される場合、アレルゲンエピトープ含有ペプチドに対して「非反応性」または「陰性の」反応性という言葉は、アッセイにおける信号対雑音比（S / N）が約 2 未満であることを意味する。典型的なバックグラウンドシグナル（N）は、非アレルゲン性個体由来の血清または血漿のプールにより作成される。あるいは、陰性ペプチドを、バックグラウンドシグナルを確立する基準として使用することができる。本明細書中使用される場合、アレルゲンエピトープ含有ペプチドに対して「弱い」または「中等度の」反応性という言葉は、S / N が約 2 ~ 10 であることを意味するが、この値は、ペプチド及びアレルギーに応じて変わる可能性がある。本明細書中使用される場合、アレルゲンエピトープ含有ペプチドに対して「高い」または「強い」反応性という言葉は、S / N が約 10 超であることを意味する。

40

【 0 0 5 6 】

ピーナッツアレルギーまたはそれに対する耐性の診断法に有用な、及びアレルギーの強度の増減の検出法に有用なペプチドには、ピーナッツタンパク質の非反応性エピトープを

50

含むペプチドも含まれる。これらのペプチドは、陰性対照として有用である。

【0057】

実施形態によっては、各ペプチド A A I 複合体に対する標識化試薬の結合の分析は、結合の程度の分析を含む場合があり、結合の程度は、血清または血漿中の各ペプチド特異的 A A I の濃度を示す。全てのペプチド、またはそのサブセットに対する血清または血漿の反応性が低～中程度であることは、血清中のペプチド特異的 A A I の濃度がより低く、軽度～中等度のピーナッツアレルギーであることを示し、全てのペプチド、またはそのサブセットに対する血清または血漿の反応性が高いことは、血清中のペプチド特異的 A A I の濃度がより高く、ピーナッツアレルギーがより重度であることを示す。ピーナッツアレルギーを診断するための結合分析は、血清または血漿と反応するペプチドの数と、ペプチドとの血清または血漿 A A I の結合の程度の、一方または両方を用いる場合がある。

10

【0058】

本開示は、ピーナッツに対してアレルギーを有する対象において、ピーナッツに対する臨床的耐性の獲得を検出する方法も提供し、本方法は、以下を含む：対象から得られた血清または血漿中の 1 種または複数のアレルギー関連免疫グロブリン (A A I) が、1 種または複数のピーナッツペプチドと結合することを可能にするのに十分な条件下、1 種または複数のピーナッツペプチドと血清または血漿とを接触させること (ただし、1 種または複数のピーナッツペプチドは、固相担体にカップリングされており、1 種または複数の A A I ペプチド固相担体複合体を形成している)、A A I 特異的標識化試薬を A A I ペプチド固相担体複合体に結合させること、各 A A I ペプチド固相担体複合体に対する A A I 特異的標識化試薬の結合を検出して、対象の血清または血漿中の A A I と結合した 1 種または複数のピーナッツペプチドを同定すること、及び、対象の血清または血漿中の A A I と結合した 1 種または複数のピーナッツペプチドで同定されたもの、または対象の血清または血漿中の A A I の濃度を、対象の血清または血漿中の A A I と結合した 1 種または複数のピーナッツペプチドの先行して同定されたパネル、または対象の血清または血漿中の A A I の先行する濃度と比較すること (以下の場合に、ピーナッツに対する臨床的耐性の獲得が、示されている：対象の血清または血漿中の I g E A A I により認識されるピーナッツペプチドの後続の数、及び / または対象の血清または血漿中の A A I I g E の後続の濃度が、対象の血清または血漿中の A A I I g E により認識されるピーナッツペプチドの先行して同定された数より少ない、及び / または対象の血清または血漿中の A A I I g E の先行する濃度より低い場合、及び / または対象の血清または血漿中の I g G 4 A A I により認識されるピーナッツペプチドの後続の数、及び / または対象の血清または血漿中の A A I I g G 4 の後続の濃度が、対象の血清または血漿中の A A I I g G 4 により認識されるピーナッツペプチドの先行して同定された数より多い、及び / または対象の血清または血漿中の A A I I g G 4 の先行する濃度より高い場合)。

20

30

【0059】

実施形態によっては、パネル同定を受ける対象の年齢 (例えば、初期、その後の任意の時点、及び / または最終時) は、約 2 歳～約 50 歳が可能である。

実施形態によっては、1 種または複数のピーナッツペプチドは、本明細書中記載されるとおりである。実施形態によっては、1 種または複数のピーナッツペプチドは、a r a h 1 アレルゲン (配列番号 1)、a r a h 2 アレルゲン (配列番号 2)、及び / または a r a h 3 アレルゲン (配列番号 3) に由来する少なくとも 2 種のペプチドを含む。

40

【0060】

実施形態によっては、1 種または複数のピーナッツペプチドは、以下から選択される：a r a h 1 アレルゲンの 8 位から 66 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 1 アレルゲンの 103 位から 152 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 1 アレルゲンの 176 位から 195 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 2 アレルゲンの 5 位から 40 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 3 アレルゲンの 93 位から 115 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 3 ア

50

レルゲンの30位から75位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチド、及び/またはアラハ3アレルゲンの152位から167位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチド。

【0061】

実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号4～67のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号7、13、16、17、25、27、30、36、39、45、65、及び66のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号39、45、及び66のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号5、6、10、13、14、34、36、39、40、42、49、61、65、及び66のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号5、6、9、34、36、39、及び40のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号29、39、42、44、45、51、及び63のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号7、8、29、31、39、45、及び61のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号39及び40のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号39のアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号40のアミノ酸配列を含む。

10

20

【0062】

実施形態によっては、各ピーナッツペプチドは、約3つのアミノ酸～約60のアミノ酸、約4つのアミノ酸～約60のアミノ酸、約6つのアミノ酸～約30のアミノ酸、約7つのアミノ酸～約20のアミノ酸、約10のアミノ酸～約16のアミノ酸、または約10のアミノ酸～約15のアミノ酸を含む。実施形態によっては、各ピーナッツペプチドは、15のアミノ酸を含む。

30

【0063】

実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、少なくとも2種のピーナッツペプチド、少なくとも3種のピーナッツペプチド、少なくとも5種のピーナッツペプチド、少なくとも10種のピーナッツペプチド、少なくとも15種のピーナッツペプチド、少なくとも20種のピーナッツペプチド、少なくとも25種のピーナッツペプチド、少なくとも30種のピーナッツペプチド、少なくとも35種のピーナッツペプチド、少なくとも40種のピーナッツペプチド、少なくとも45種のピーナッツペプチド、少なくとも50種のピーナッツペプチド、少なくとも55種のピーナッツペプチド、少なくとも60種のピーナッツペプチド、または少なくとも64種のピーナッツペプチドを含む。実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、約2～約64種のピーナッツペプチド、約2～約60種のピーナッツペプチド、約2～約55種のピーナッツペプチド、約2～約50種のピーナッツペプチド、約2～約45種のピーナッツペプチド、約2～約40種のピーナッツペプチド、約2～約35種のピーナッツペプチド、約2～約30種のピーナッツペプチド、約2～約25種のピーナッツペプチド、約2～約20種のピーナッツペプチド、約2～約15種のピーナッツペプチド、または約2～約10種のピーナッツペプチドを含む。実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、約2～約64種のピーナッツペプチド、約5～約64種のピーナッツペプチド、約10～約64種のピーナッツペプチド、約15～約64種のピーナッツペプチド、約20～約64種のピーナッツペプチド、約25～約64種のピーナッツペプチド、約30～約64種のピーナッツペプチド、約35～約64種のピーナッツペプチド、約40～約64種のピーナ

40

50

ツツペプチド、約 45 ~ 約 64 種のピーナツツペプチド、約 50 ~ 約 64 種のピーナツツペプチド、または約 55 ~ 約 64 種のピーナツツペプチドを含む。

【0064】

実施形態によっては、対象がピーナツツに対してアレルギーを有するという判定は、さらに、以下の 1 つまたは複数の結果を考慮に入れる：全ピーナツツ特異的 IgE (sIgE)、ピーナツツ構成要素 a r a h 1 に対する IgE、ピーナツツ構成要素 a r a h 2 に対する IgE、ピーナツツ構成要素 a r a h 3 に対する IgE、皮膚プリックテスト結果、臨床歴もしくは家族歴、及び / または患者もしくは臨床医質問票からのデータ。

【0065】

実施形態によっては、ピーナツツペプチドはそれぞれ、固相担体とカップリングするためのリンカーを有する。実施形態によっては、リンカーは、- P E G 1 2 - ビオチンである。実施形態によっては、リンカーは、3、6、9、または 12 個の炭素を含むことができる。実施形態によっては、ビオチンは、クリックケミストリーリンカー（例えば、アジド - D B C O、アミン - N H S エステル、チオール - マレイミド、ヒドラゾンなど）で置き換えることができる。実施形態によっては、固相担体は、微粒子ビーズ、ガラスアレイ、シリコンアレイ、膜、またはマイクロタイタープレートである。実施形態によっては、固相担体は、本明細書中記載されるとおりである。

【0066】

実施形態によっては、A A I は、IgG、IgM、IgA、及び / または IgE である。実施形態によっては、IgG は、IgG4 である。

実施形態によっては、A A I 特異的標識化試薬は、検出可能に標識された抗ヒト IgG 4 抗体、検出可能に標識された抗ヒト IgM 抗体、検出可能に標識された抗ヒト IgA 抗体、及び / または検出可能に標識された抗ヒト IgE 抗体である。実施形態によっては、検出可能な標識は、フィコエリトリン、蛍光色素、西洋ワサビペルオキシダーゼ (H R P)、及びアルカリホスファターゼから選択される。実施形態によっては、検出可能な標識は、銀染色、量子ドット、または屈折手法を介して観察することができる。実施形態によっては、検出可能な標識は、本明細書中記載されるとおりである。

【0067】

実施形態によっては、各 A A I ペプチド固相担体複合体に対する A A I 特異的標識化試薬の結合の検出は、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またはラテラルフローアッセイにより行われる。実施形態によっては、検出アッセイは、本明細書中記載されるとおりである。

【0068】

本開示は、ピーナツツに対してアレルギーを有する対象において、ピーナツツに対するアレルギーの治療中、経時的に、アレルギーまたは有害事象の強度の上昇を検出する方法も提供し、本方法は、以下を含む：対象から得られた血清または血漿中の 1 種または複数のアレルギー関連免疫グロブリン (A A I) が、1 種または複数のピーナツツペプチドと結合することを可能にするのに十分な条件下、1 種または複数のピーナツツペプチドと血清または血漿とを接触させること（ただし、1 種または複数のピーナツツペプチドは、固相担体にカップリングされており、1 種または複数の A A I ペプチド固相担体複合体を形成しており、及びただし、1 種または複数のピーナツツペプチドは、a r a h 1 アレルゲンの 8 位から 66 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 1 アレルゲンの 103 位から 152 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 1 アレルゲンの 176 位から 195 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 2 アレルゲンの 5 位から 40 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 3 アレルゲンの 93 位から 115 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 3 アレルゲンの 30 位から 75 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、及び / または a r a h 3 アレルゲンの 152 位から 167 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチドから選択される）、A A I 特異的標識化試薬を A A I ペプチド固相担体複合体に結

合させること、各 A A I ペプチド固相担体複合体に対する A A I 特異的標識化試薬の結合を検出して、対象の血清または血漿中の A A I と結合した 1 種または複数のピーナッツペプチドを同定すること、ならびに、対象の血清中の A A I と結合した 1 種または複数のピーナッツペプチドで同定されたもの、または対象の血清または血漿中の A A I の濃度を、対象の血清または血漿中の A A I と結合した 1 種または複数のピーナッツペプチドの先行して同定されたパネル、または対象の血清または血漿中の A A I の先行する濃度と比較すること（対象の血清または血漿中の A A I により認識されるピーナッツペプチドの後続の数もしくは反応性パターン、または対象の血清または血漿中の A A I の後続の濃度が、対象の血清または血漿中の A A I により認識されるピーナッツペプチドの先行して同定された数もしくは反応性パターンより大きい、または対象の血清または血漿中の A A I の先行する濃度より高い場合に、ピーナッツに対するアレルギー反応の強度の上昇が、示されている）。

10

【0069】

実施形態によっては、対象は 1 種のピーナッツペプチドまたは 1 つのピーナッツペプチドサブセットから異なるピーナッツペプチドまたはピーナッツペプチドサブセットへと、アレルギー性ピーナッツペプチドの正体の移行（「ホットスポット」への移行 - 本明細書中記載されるピーナッツエピトープの具体的なサブセットを参照）を起こしている場合があり、これは、治療中にピーナッツアレルギーの強度が上昇するまたは有害事象が存在することを示す場合がある。

【0070】

20

実施形態によっては、1 種または複数のピーナッツペプチドは、本明細書中記載されるとおりである。実施形態によっては、1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 4 ~ 67 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 7、13、16、17、25、27、30、36、39、45、65、及び 66 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 39、45、及び 66 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 5、6、10、13、14、34、36、39、40、42、49、61、65、及び 66 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 5、6、9、34、36、39、及び 40 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 29、39、42、44、45、51、及び 63 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 7、8、29、31、39、45、及び 61 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 39 及び 40 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 40 のアミノ酸配列を含む。

30

40

【0071】

実施形態によっては、各ピーナッツペプチドは、約 3 つのアミノ酸 ~ 約 60 のアミノ酸、約 4 つのアミノ酸 ~ 約 60 のアミノ酸、約 6 つのアミノ酸 ~ 約 30 のアミノ酸、約 7 つのアミノ酸 ~ 約 20 のアミノ酸、約 10 のアミノ酸 ~ 約 16 のアミノ酸、または約 10 のアミノ酸 ~ 約 15 のアミノ酸を含む。実施形態によっては、各ピーナッツペプチドは、15 のアミノ酸を含む。

【0072】

実施形態によっては、1 種または複数のピーナッツペプチドは、少なくとも 2 種のピーナッツペプチド、少なくとも 3 種のピーナッツペプチド、少なくとも 5 種のピーナッツペ

50

プチド、少なくとも10種のピーナッツペプチド、少なくとも15種のピーナッツペプチド、少なくとも20種のピーナッツペプチド、少なくとも25種のピーナッツペプチド、少なくとも30種のピーナッツペプチド、少なくとも35種のピーナッツペプチド、少なくとも40種のピーナッツペプチド、少なくとも45種のピーナッツペプチド、少なくとも50種のピーナッツペプチド、少なくとも55種のピーナッツペプチド、少なくとも60種のピーナッツペプチド、または少なくとも64種のピーナッツペプチドを含む。実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、約2～約64種のピーナッツペプチド、約2～約60種のピーナッツペプチド、約2～約55種のピーナッツペプチド、約2～約50種のピーナッツペプチド、約2～約45種のピーナッツペプチド、約2～約40種のピーナッツペプチド、約2～約35種のピーナッツペプチド、約2～約30種のピーナッツペプチド、約2～約25種のピーナッツペプチド、約2～約20種のピーナッツペプチド、約2～約15種のピーナッツペプチド、または約2～約10種のピーナッツペプチドを含む。実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、約2～約64種のピーナッツペプチド、約5～約64種のピーナッツペプチド、約10～約64種のピーナッツペプチド、約15～約64種のピーナッツペプチド、約20～約64種のピーナッツペプチド、約25～約64種のピーナッツペプチド、約30～約64種のピーナッツペプチド、約35～約64種のピーナッツペプチド、約40～約64種のピーナッツペプチド、約45～約64種のピーナッツペプチド、約50～約64種のピーナッツペプチド、または約55～約64種のピーナッツペプチドを含む。

【0073】

実施形態によっては、対象がピーナッツに対してアレルギーを有するという判定は、さらに、以下の1つまたは複数の結果を考慮に入れる：全ピーナッツ特異的IgE(sIgE)、ピーナッツ構成要素ara h1に対するIgE、ピーナッツ構成要素ara h2に対するIgE、ピーナッツ構成要素ara h3に対するIgE、皮膚プリックテスト結果、臨床歴もしくは家族歴、及び/または患者もしくは臨床医質問票からのデータ。

【0074】

実施形態によっては、ピーナッツペプチドはそれぞれ、固相担体とカップリングするためのリンカーを有する。実施形態によっては、リンカーは、-PEG12-ビオチンである。実施形態によっては、リンカーは、3、6、9、または12個の炭素を含むことができる。実施形態によっては、ビオチンは、クリックケミストリーリンカー（例えば、アジド-DBCO、アミン-NHSエステル、チオール-マレイミド、ヒドラゾンなど）で置き換えることができる。実施形態によっては、固相担体は、微粒子ビーズ、ガラスアレイ、シリコンアレイ、膜、またはマイクロタイタープレートである。実施形態によっては、固相担体は、本明細書中記載されるとおりである。

【0075】

実施形態によっては、AAIは、IgG、IgM、IgA、及び/またはIgEである。実施形態によっては、IgGは、IgG4である。

実施形態によっては、AAI特異的標識化試薬は、検出可能に標識された抗ヒトIgG4抗体、検出可能に標識された抗ヒトIgM抗体、検出可能に標識された抗ヒトIgA抗体、及び/または検出可能に標識された抗ヒトIgE抗体である。実施形態によっては、検出可能な標識は、フィコエリトリン、蛍光色素、西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)、及びアルカリホスファターゼから選択される。実施形態によっては、検出可能な標識は、銀染色、量子ドット、または屈折手法を介して観察することができる。実施形態によっては、検出可能な標識は、本明細書中記載されるとおりである。

【0076】

実施形態によっては、各AAIペプチド固相担体複合体に対するAAI特異的標識化試薬の結合の検出は、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またはラテラルフローアッセイにより行われる。実施形態によっては、検出アッセイは、本明細書中記載されるとおりである。

【0077】

固相担体上のペプチド A A I 複合体に対する各ペプチド特異的 A A I の結合度は定量可能であるため、配列番号 4 ~ 6 7 で表されるペプチドの中から選択された複数のペプチドは、ピーナッツアレルギーであると診断された対象において経時的にピーナッツアレルギー強度の上昇を検出する方法または最初に非アレルギー性と診断された対象において経時的にピーナッツアレルギー発症を検出する方法においても有用である。初期アッセイを、本明細書中記載されるとおりの配列番号 4 ~ 6 7 の中から選択された複数のペプチドで行い、反応性ペプチドの初期数または各ペプチド特異的 A A I の初期濃度を得る。初期アッセイの後続の時点で、配列番号 4 ~ 6 7 の中から選択された、初期プロファイルと同一の複数のペプチドで分析を繰り返し、反応性ペプチドの後続の数またはペプチド特異的 A A I の後続の濃度を得る。この方法は、以下のとおり要約することができる：配列番号 4 ~ 6 7 の中から選択された複数のペプチドに対する対象の血清または血漿 A A I 反応性の初期プロファイルを提供すること（この初期プロファイルは、対象の血清または血漿中の A A I により認識される（A A I が結合する）ペプチドの初期数または各ペプチドを認識する（各ペプチドと結合する）対象の血清または血漿中の A A I の初期濃度を示す）、初期プロファイルの後続の時点で、血清または血漿中の A A I が各固相担体上のペプチドと結合することを可能にするのに十分な条件下、個別に同定可能な固相担体と結合した同一の複数のペプチドの各ペプチドを、対象由来の血清または血漿と接触させ、ペプチド A A I 複合体を形成させること、A A I 特異的標識化試薬を複合体に結合させること、及び、各ペプチド A A I 複合体に対する標識化試薬の結合を分析して、対象の血清または血漿中の A A I により認識されるペプチドの後続の数または選択されたペプチドそれぞれと反応する対象の血清または血漿中の A A I の後続の濃度を同定すること。

10

20

【0078】

アレルギー強度の上昇を検出する方法は、本明細書中記載されるものも含めて、任意の適切なアッセイフォーマットを利用することができる。標識化試薬の結合を分析するのに利用可能な分析の種類の例も、本明細書中記載されるとおりである。初期プロファイルに比べて後続の時点で A A I と反応するペプチドの数が増加すること（初期プロファイルでは A A I と反応するペプチドがない状態と比較しての増加も含む）、または初期プロファイルに比べて後続の時点でペプチドのいずれかに対する A A I の結合強度が上昇すること（初期プロファイルでは特定ペプチドに対する結合がない状態から後続の時点では検出可能な結合がある状態への上昇を含む）は、以前にピーナッツアレルギーであると診断された対象におけるピーナッツアレルギー強度の上昇、または以前に非アレルギー性だった対象におけるピーナッツアレルギー発症を示す。本明細書中記載されるとおり、対象の初期プロファイルと後続の時点でのプロファイルの比較を用いて、特定アレルギーにおける対象の重篤度の上昇もしくは耐性の低下を予測する、またはアレルギーに対する臨床的耐性もしくは自然耐性の獲得の見込みを予測することができる。

30

【0079】

本開示は、ピーナッツに対する耐性を誘導するまたはアレルギーをなくすために、乳幼児を 1 種または複数のピーナッツアレルギーに感作させる方法も提供し、本方法は、1 種または複数のピーナッツペプチドを乳幼児に投与することを含み、ただし、1 種または複数のピーナッツペプチドは、a r a h 1 アレルゲン（配列番号 1）、a r a h 2 アレルゲン（配列番号 2）、及び / または a r a h 3 アレルゲン（配列番号 3）に由来するものである。

40

【0080】

実施形態によっては、投与（例えば、初期投与、任意の後続投与、及び / または最終投与）を受ける対象の年齢は、約 1 歳未満、約 2 歳未満、約 3 歳未満、約 4 歳未満、約 5 歳未満、または約 6 歳未満が可能である。全ペプチドまたは個別ペプチドの量は、投与 1 回あたり約 1 グラム以下が可能である。投与は、経口、舌下、皮内、皮下、吸入、または経皮によることが可能である。

【0081】

実施形態によっては、1 種または複数のピーナッツペプチドは、本明細書中記載される

50

とおりである。実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、以下から選択される：a r a h 1 アレルゲンの8位から66位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 1 アレルゲンの103位から152位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 1 アレルゲンの176位から195位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 2 アレルゲンの5位から40位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 3 アレルゲンの93位から115位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 3 アレルゲンの30位から75位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチド、及び/またはa r a h 3 アレルゲンの152位から167位の中の少なくとも3連続するアミノ酸を有するペプチド。

10

【0082】

実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号4～67のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号7、13、16、17、25、27、30、36、39、45、65、及び66のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号39、45、及び66のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号5、6、10、13、14、34、36、39、40、42、49、61、65、及び66のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号5、6、9、34、36、39、及び40のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号29、39、42、44、45、51、及び63のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号7、8、29、31、39、45、及び61のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号39及び40のうちの任意の1種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号39のアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号40のアミノ酸配列を含む。

20

30

【0083】

実施形態によっては、各ピーナッツペプチドは、約3つのアミノ酸～約60のアミノ酸、約4つのアミノ酸～約60のアミノ酸、約6つのアミノ酸～約30のアミノ酸、約7つのアミノ酸～約20のアミノ酸、約10のアミノ酸～約16のアミノ酸、または約10のアミノ酸～約15のアミノ酸を含む。実施形態によっては、各ピーナッツペプチドは、15のアミノ酸を含む。

【0084】

実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、少なくとも2種のピーナッツペプチド、少なくとも3種のピーナッツペプチド、少なくとも5種のピーナッツペプチド、少なくとも10種のピーナッツペプチド、少なくとも15種のピーナッツペプチド、少なくとも20種のピーナッツペプチド、少なくとも25種のピーナッツペプチド、少なくとも30種のピーナッツペプチド、少なくとも35種のピーナッツペプチド、少なくとも40種のピーナッツペプチド、少なくとも45種のピーナッツペプチド、少なくとも50種のピーナッツペプチド、少なくとも55種のピーナッツペプチド、少なくとも60種のピーナッツペプチド、または少なくとも64種のピーナッツペプチドを含む。実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、約2～約64種のピーナッツペプチド、約2～約60種のピーナッツペプチド、約2～約55種のピーナッツペプチド、約2～約50種のピーナッツペプチド、約2～約45種のピーナッツペプチド、約2～約40種のピーナッツペプチド、約2～約35種のピーナッツペプチド、約2～約30種

40

50

のピーナッツペプチド、約 2 ～ 約 25 種のピーナッツペプチド、約 2 ～ 約 20 種のピーナッツペプチド、約 2 ～ 約 15 種のピーナッツペプチド、または約 2 ～ 約 10 種のピーナッツペプチドを含む。実施形態によっては、1 種または複数のピーナッツペプチドは、約 2 ～ 約 64 種のピーナッツペプチド、約 5 ～ 約 64 種のピーナッツペプチド、約 10 ～ 約 64 種のピーナッツペプチド、約 15 ～ 約 64 種のピーナッツペプチド、約 20 ～ 約 64 種のピーナッツペプチド、約 25 ～ 約 64 種のピーナッツペプチド、約 30 ～ 約 64 種のピーナッツペプチド、約 35 ～ 約 64 種のピーナッツペプチド、約 40 ～ 約 64 種のピーナッツペプチド、約 45 ～ 約 64 種のピーナッツペプチド、約 50 ～ 約 64 種のピーナッツペプチド、または約 55 ～ 約 64 種のピーナッツペプチドを含む。

【0085】

10

実施形態によっては、臨床的耐性の獲得の初期検出を用いて、患者がアレルギーに対して自然耐性を獲得する、または治療に反応するのいずれかであるかどうかを予測することができる。実施形態によっては、アレルギー性対象を、免疫原と接触させて（免疫療法）から、初期プロファイルが分析される。後続の時点で、初期プロファイルにおいてペプチドと高い反応性であった全 A A I の血清濃度に少なくとも 2 倍の低下が存在するならば、対象は、ピーナッツに対して臨床的または自然耐性のいずれかを獲得する見込みがある。後続の時点で、初期プロファイルにおいてペプチドと高い反応性であった全 A A I よりも少ない A A I の血清濃度に少なくとも 2 倍の低下が存在するならば、対象は、ピーナッツに対して部分的な臨床的または自然耐性のみを獲得する見込みがある。

【0086】

20

配列番号 4 ～ 67 で表されるペプチドの中から選択された複数のペプチドは、ピーナッツアレルギーであると診断された対象において、ピーナッツタンパク質に対する臨床的耐性の獲得を検出する方法においても有用である。実施形態によっては、アッセイは、概して、アレルギー強度の上昇の検出について本明細書に記載されるとおりであり、初期の時点で、最初に、配列番号 4 ～ 67 のの中から選択された複数のペプチドに対する血清または血漿 A A I 反応性の初期プロファイルを確認するために行われる。初期プロファイルは、本明細書に記載されるとおり、選択されたペプチドに対する血清または血漿の反応性の半定量的または定量的分析に基づく。次いで、固相担体に結合させた選択されたペプチドを、初期プロファイルの後続の時点で得られた、対象由来の血清または血漿と接触させ、アッセイを本明細書に記載されるとおりに行い、後続の時点でのピーナッツアレルギー強度を半定量または定量する。初期プロファイルと比較して後続の時点で A A I と反応するペプチドの数が減少、または初期プロファイルと比較して後続の時点でペプチドのいずれかに対する A A I の結合強度が低下、特に少なくとも 2 倍、減少または低下することは、ピーナッツタンパク質に対する臨床的耐性の獲得を示す。当然のことながら、以前にピーナッツアレルギーであると診断された対象におけるピーナッツタンパク質に対する臨床的耐性の獲得は、初期プロファイルと後続の時点の間の期間にわたる経時的なアレルギー強度の低下も示し、また本方法は、そのような経時的なアレルギー強度の低下の検出及び予測にも使用可能である。

30

【0087】

アレルギーを治療するための免疫療法アプローチは、患者を治療及び脱感作するために全タンパク質またはピーナッツ抽出物を使用することに主に焦点を置いてきた。ペプチドは、ピーナッツアレルギーの治療において、よりの絞った、及びより安全なアプローチとなる可能性がある魅力的な代替物である。A r a h 1、A r a h 2、及び A r a h 3 の重要な I g E 反応領域由来の特定のペプチド（例えば、A r a h 1 : 8 - 66、A r a h 2 : 5 - 40、及び A r a h 3 : 93 - 115）は、個別に、併用して、または他の治療アプローチと併用してのいずれかで、ピーナッツアレルギーの治療にある種の有用性を有する可能性がある。特定のペプチドは、アレルギーを治療するために、経口、舌下、皮内、皮下、吸入、または経皮経路を介して投与することができる。

40

【0088】

本開示は、キットも提供し、本キットは、以下：a r a h 1 アレルゲン（配列番号 1

50

)、a r a h 2 アレルゲン (配列番号 2)、及び / または a r a h 3 アレルゲン (配列番号 3) に由来する 1 種または複数のアレルゲンエピトープ含有ピーナッツペプチド (各ピーナッツペプチドは固相担体にカップリングされている)、及びアレルギー関連免疫グロブリン (A A I) 特異的標識化試薬、を含み、これらはまとめてパッケージ化されており、使用説明書も含んでいる。

【 0 0 8 9 】

実施形態によっては、キットは、さらに、結合用緩衝液、洗浄用緩衝液、及び検出用緩衝液のうち 1 種または複数を含む。実施形態によっては、キットは、さらに、A A I 特異的標識化試薬に特異的に結合するレポーター部分を含む。

【 0 0 9 0 】

実施形態によっては、キット中の 1 種または複数のピーナッツペプチドは、以下から選択される : a r a h 1 アレルゲンの 8 位から 6 6 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 1 アレルゲンの 1 0 3 位から 1 5 2 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 1 アレルゲンの 1 7 6 位から 1 9 5 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 2 アレルゲンの 5 位から 4 0 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 3 アレルゲンの 9 3 位から 1 1 5 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、a r a h 3 アレルゲンの 3 0 位から 7 5 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド、及び / または a r a h 3 アレルゲンの 1 5 2 位から 1 6 7 位の中の少なくとも 3 連続するアミノ酸を有するペプチド。

【 0 0 9 1 】

実施形態によっては、キット中の 1 種または複数のピーナッツペプチドは、本明細書に記載されるとおりである。実施形態によっては、キット中の 1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 4 ~ 6 7 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 7、1 3、1 6、1 7、2 5、2 7、3 0、3 6、3 9、4 5、6 5、及び 6 6 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 3 9、4 5、及び 6 6 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 5、6、1 0、1 3、1 4、3 4、3 6、3 9、4 0、4 2、4 9、6 1、6 5、及び 6 6 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 5、6、9、3 4、3 6、3 9、及び 4 0 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 2 9、3 9、4 2、4 4、4 5、5 1、及び 6 3 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 7、8、2 9、3 1、3 9、4 5、及び 6 1 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 3 9 及び 4 0 のうちの任意の 1 種または複数から選択されるアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 3 9 のアミノ酸配列を含む。実施形態によっては、1 種または複数のピーナッツペプチドは、配列番号 4 0 のアミノ酸配列を含む。

【 0 0 9 2 】

実施形態によっては、キット中の各ピーナッツペプチドは、約 3 つのアミノ酸 ~ 約 6 0 のアミノ酸、約 4 つのアミノ酸 ~ 約 6 0 のアミノ酸、約 6 つのアミノ酸 ~ 約 3 0 のアミノ酸、約 7 つのアミノ酸 ~ 約 2 0 のアミノ酸、約 1 0 のアミノ酸 ~ 約 1 6 のアミノ酸、約 1 0 のアミノ酸 ~ 約 1 5 のアミノ酸を含む。実施形態によっては、各ピーナッツペプチドは、1 5 のアミノ酸を含む。

【 0 0 9 3 】

実施形態によっては、キット中の 1 種または複数のピーナッツペプチドは、少なくとも

10

20

30

40

50

2種のピーナッツペプチド、少なくとも3種のピーナッツペプチド、少なくとも5種のピーナッツペプチド、少なくとも10種のピーナッツペプチド、少なくとも15種のピーナッツペプチド、少なくとも20種のピーナッツペプチド、少なくとも25種のピーナッツペプチド、少なくとも30種のピーナッツペプチド、少なくとも35種のピーナッツペプチド、少なくとも40種のピーナッツペプチド、少なくとも45種のピーナッツペプチド、少なくとも50種のピーナッツペプチド、少なくとも55種のピーナッツペプチド、少なくとも60種のピーナッツペプチド、または少なくとも64種のピーナッツペプチドを含む。実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、約2～約64種のピーナッツペプチド、約2～約60種のピーナッツペプチド、約2～約55種のピーナッツペプチド、約2～約50種のピーナッツペプチド、約2～約45種のピーナッツペプチド、約2～約40種のピーナッツペプチド、約2～約35種のピーナッツペプチド、約2～約30種のピーナッツペプチド、約2～約25種のピーナッツペプチド、約2～約20種のピーナッツペプチド、約2～約15種のピーナッツペプチド、または約2～約10種のピーナッツペプチドを含む。実施形態によっては、1種または複数のピーナッツペプチドは、約2～約64種のピーナッツペプチド、約5～約64種のピーナッツペプチド、約10～約64種のピーナッツペプチド、約15～約64種のピーナッツペプチド、約20～約64種のピーナッツペプチド、約25～約64種のピーナッツペプチド、約30～約64種のピーナッツペプチド、約35～約64種のピーナッツペプチド、約40～約64種のピーナッツペプチド、約45～約64種のピーナッツペプチド、約50～約64種のピーナッツペプチド、または約55～約64種のピーナッツペプチドを含む。

10

20

【0094】

実施形態によっては、キット中のピーナッツペプチドはそれぞれ、固相担体とカップリングするためのリンカーを有する。実施形態によっては、リンカーは、-PEG12-ピオチンである。実施形態によっては、リンカーは、3、6、9、または12個の炭素を含むことができる。実施形態によっては、ピオチンは、クリックケミストリーリンカー（例えば、アジド-DBCO、アミン-NHSエステル、チオール-マレイミド、ヒドラゾンなど）で置き換えることができる。実施形態によっては、固相担体は、微粒子ビーズ、ガラスアレイ、シリコンアレイ、膜、またはマイクロタイタープレートである。実施形態によっては、固相担体は、本明細書中記載されるとおりである。

【0095】

30

実施形態によっては、AAI特異的標識化試薬は、検出可能に標識された抗ヒトIgG4抗体、検出可能に標識された抗ヒトIgM抗体、検出可能に標識された抗ヒトIgA抗体、及び/または検出可能に標識された抗ヒトIgE抗体である。実施形態によっては、検出可能な標識は、フィコエリトリン、蛍光色素、西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）、及びアルカリホスファターゼから選択される。実施形態によっては、検出可能な標識は、銀染色、量子ドット、または屈折手法を介して観察することができる。実施形態によっては、標識化試薬は、本明細書中記載されるとおりである。

【0096】

40

使用者の利便性のため、本明細書中記載される方法のいずれかで使用するための試薬も一緒にキットの形態にパッケージ化することができ、キットは、配列番号4～67で表されるペプチドの中から選択された複数のアレルゲンエピトープ含有ペプチドまたは任意のその有用なサブグループ、第一レポーター部分、及び任意選択で（もし間接的検出に必要であれば）標識化試薬と特異的に結合する第二レポーター部分と結合した抗ヒトIgE抗体を含む標識化試薬を含む。キットは、典型的には、本明細書中記載される方法の1つまたは複数でこれらの試薬を使用するための説明書を含むことになる。

【0097】

50

実施形態によっては、キットは、直接検出可能なレポーター部分と結合させて提供することが可能な抗ヒトAAI抗体を含む場合がある。直接検出可能なレポーター部分とは、特異的結合パートナーとの結合を必要とせずに、同定及び/または定量が可能なものである。抗ヒトAAI抗体と結合させることが可能な直接検出可能なレポーター部分の

例として、蛍光色素、有色色素、発色性色素、及び後続の化学反応により検出可能な酵素標識、及び放射性標識が挙げられる。実施形態によっては、抗ヒトA A I抗体は、間接的に検出可能なレポーター部分、すなわち、それ自身は検出可能ではないが、直接検出可能なレポーター部分を含む第二レポーター部分と反応するまたは相互作用するレポーター部分、例えば、直接検出可能な標識と結合したレポーター部分の特異的結合パートナーなどと結合させて提供することが可能である。間接的に検出可能なレポーター部分の例として、ビオチン、ジゴキシゲニン、及び他のハプテンが挙げられ、これらは、直接検出するために標識化された二次抗体（例えば、抗ジゴキシゲニン）または他の結合パートナー（例えば、ストレプトアビジン）が続いて結合することにより検出可能になる。当然のことながら、これらの標識化試薬及びレポーター部分のどれでも、本明細書に記載される方法における適切なアッセイフォーマットで、及びキットの構成要素として、有用である。実施形態によっては、本明細書に記載されるフローサイトメトリー多重アッセイを行うためのキットにおいて、キットの構成要素は、配列番号4～67で表されるペプチドの中から選択された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A A I抗体（第一レポーター部分を持つ標識化試薬）、及びPEと結合したストレプトアビジン（第二レポーター部分）を含む場合がある。

10

【0098】

上記キットのいずれかに含まれる配列番号4～67の中から選択された複数のアレルゲンエピトープ含有ペプチドは、配列番号4～67の全ての64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、または2～5種のペプチドのサブセットである場合がある。上記キットのいずれかに含まれる配列番号4～67の中から選択された複数のアレルゲンエピトープ含有ペプチドは、関連するペプチドサブグループの1つまたは複数である場合もある。

20

【0099】

本明細書に記載される方法は、以下のものとして使用することができる：1）スクリーニングアッセイ（例えば、ピーナッツアレルギーの家族歴のため高リスクである患者に治療アプローチ/介入を説明するため（患者は、アレルゲンに接触する場合がある、または重症反応の可能性のため接触を回避する場合がある）、ピーナッツに対するアレルギーまたは感受性を示す患者に患者の食事及び/または寛解の見込みについて指導するため（A I Tを介した脱感作療法の開始））、2）診断アッセイ（例えば、ピーナッツアレルギーが疑われる患者の診断のため、患者のアレルギー反応の重篤度に基づき、曝露レベルに基づき、アレルゲンの提示に基づき（アレルゲンタンパク質変性のレベルに基づき）患者を階層化するため、反応性がピーナッツ内の特定タンパク質によるものであって交差反応応答によるものではないことを確認する（構成要素に基づき反応性を報告）、3）予測アッセイ（例えば、治療アウトカムを予測する、患者が治療に反応するかどうかを判定する、最適な治療アプローチを予測する、有効な開始用量及び/または治療期間（例えば、1年対3年）を予測する、4）予後診断アッセイ（例えば、患者がアレルギーを寛解するかどうかを判定する、アレルギーが治療とは無関係に経時的に重症化するかどうかを判定する、疾患の特性決定を支援して、治療の決定に影響を与え、患者を指導し、及び薬物/用量選択に影響を与える）、4）モニタリングアッセイ（例えば、A I Tの結果としての有害事象、及び特定アウトカムの判定（例えば、脱感作、持続性不反応、耐性レベル、及び後退））。

30

40

【0100】

ピーナッツペプチド配列として、以下が挙げられる：A T H A K S S P Y Q K K T E N（a r a h 1 . 0 0 8、配列番号4）、L Q S C Q Q E P D D L K Q K A（a r a h 1 . 0 1 5、配列番号5）、R C T K L E Y D P R C V Y D P（a r a h 1 . 0 2 1、配列番号6）、K L E Y D P R C V Y D P R G H（a r a h 1 . 0 2 2、配列番号7）、Y D P R G H T G T T N Q R S P（a r a h 1 . 0 2 5、配列番号8）、R S P P G E R T R G R Q P G D（a r a h 1 . 0 2 9、配列番号9）、P G E R T R G R Q P G

50

DYDD (ara h 1 . 0 3 0 、配列番号 1 0) 、 PGDYDDDRRQPRREE (ara h 1 . 0 3 3 、配列番号 1 1) 、 DRRQPRREEEGGRWGP (ara h 1 . 0 3 5 、配列番号 1 2) 、 AGPREREREEDWRQP (ara h 1 . 0 4 0 、配列番号 1 3) 、 REREREEDWRQPREDE (ara h 1 . 0 4 1 、配列番号 1 4) 、 RQPREDWRRPSHQQP (ara h 1 . 0 4 4 、配列番号 1 5) 、 REDWRRPSHQQPRKI (ara h 1 . 0 4 5 、配列番号 1 6) 、 PSHQQPRKIRPEGRE (ara h 1 . 0 4 7 、配列番号 1 7) 、 RPEGREGEQEWGTPG (ara h 1 . 0 5 0 、配列番号 1 8) 、 REETSRNNPFYFPSR (ara h 1 . 0 5 6 、配列番号 1 9) 、 NNPYFYSRRFSTRY (ara h 1 . 0 5 8 、配列番号 2 0) 、 SGFISYILNRHDNQN (ara h 1 . 0 9 0 、配列番号 2 1) 、 SMPVNTPGQFEDFFP (ara h 1 . 0 9 7 、配列番号 2 2) 、 RDQSSYLQGFSRNTL (ara h 1 . 1 0 3 、配列番号 2 3) 、 SEEEGDITNPINLRE (ara h 1 . 1 3 0 、配列番号 2 4) 、 EGDITNPINLREGEP (ara h 1 . 1 3 1 、配列番号 2 5) 、 NNFGKLFVVKPDKKN (ara h 1 . 1 3 7 、配列番号 2 6) 、 RYTARLKEGDVFIMP (ara h 1 . 1 6 7 、配列番号 2 7) 、 DVFIMPAAHPVAINA (ara h 1 . 1 7 0 、配列番号 2 8) 、 PVAINASSELHLLGF (ara h 1 . 1 7 3 、配列番号 2 9) 、 LHL LGFGINAENNRH (ara h 1 . 1 7 6 、配列番号 3 0) 、 AENNRHRIFLAGDKDN (ara h 1 . 1 7 9 、配列番号 3 1) 、 NHRIFLAGDKDNVID (ara h 1 . 1 8 0 、配列番号 3 2) 、 VIDQIEKQAKDLAFP (ara h 1 . 1 8 4 、配列番号 3 3) 、 KQAKDLAFPGSGEQV (ara h 1 . 1 8 6 、配列番号 3 4) 、 KDLAFPGSGEQVEKL (ara h 1 . 1 8 7 、配列番号 3 5) 、 SHFVSARPQSQSQSP (ara h 1 . 1 9 4 、配列番号 3 6) 、 QEEENQGGKGPLLSI (ara h 1 . 2 0 3 、配列番号 3 7) 、 AAHASARQQWELQGD (ara h 2 . 0 0 5 、配列番号 3 8) 、 WELQGDRRCQSQLER (ara h 2 . 0 0 8 、配列番号 3 9) 、 RRCQSQLERANLRPC (ara h 2 . 0 1 0 、配列番号 4 0) 、 RPCEQHLMQKIQRDE (ara h 2 . 0 1 4 、配列番号 4 1) 、 KIQRDEDSYERDPYS (ara h 2 . 0 1 7 、配列番号 4 2) 、 RDEDSYERDPYSPSQ (ara h 2 . 0 1 8 、配列番号 4 3) 、 DSYERDPYSPSQDPY (ara h 2 . 0 1 9 、配列番号 4 4) 、 PYSPSQDPYSPSPYD (ara h 2 . 0 2 1 、配列番号 4 5) 、 CCNELNEFENNQRRCM (ara h 2 . 0 3 0 、配列番号 4 6) 、 ELNEFENNQRRCMCEA (ara h 2 . 0 3 1 、配列番号 4 7) 、 LQQIMENQSDRLQGR (ara h 2 . 0 3 6 、配列番号 4 8) 、 IMENQSDRLQGRQQE (ara h 2 . 0 3 7 、配列番号 4 9) 、 NQSDRLQGRQQEQQF (ara h 2 . 0 3 8 、配列番号 5 0) 、 QGRQQEQQFKRELNRN (ara h 2 . 0 4 0 、配列番号 5 1) 、 KRELNRNLPPQCGLRA (ara h 2 . 0 4 3 、配列番号 5 2) 、 LPQQCGLRAPQRCDL (ara h 2 . 0 4 5 、配列番号 5 3) 、 LRRNALRRPFYSNAP (ara h 3 . 0 1 8 、配列番号 5 4) 、 HYEETPHTQGRRSQSQ (ara h 3 . 0 3 0 、配列番号 5 5) 、 EPHHTQGRRSQSQRP (ara h 3 . 0 3 1 、配列番号 5 6) 、 QGEDQSQQQRDSSHQK (ara h 3 . 0 3 7 、配列番号 5 7) 、 NTEQEFLRYQQQSRQ (ara h 3 . 0 6 0 、配列番号 5 8) 、 PYSPQSQPRQEEREF (ara h 3 . 0 6 8 、配列番号 5 9) 、 EGGNIFSGFTPEFLE (ara h 3 . 0 7 9 、配列番号 6 0) 、 NIFSGFTPEFLEQAF (ara h 3 . 0 8 0 、配列番号 6 1) 、 AIVTVRGGGLRILSPD (ara h 3 . 0 9 2 、配列番号 6 2) 、 TVRGGGLRILSPDRKR (ara h 3 . 0 9 3 、配列番号 6 3) 、 EYDEDEYDYDEEDRR (ara h 3 . 1 0 0 、配列番号 6 4) 、 YDYDEEDRRRGRGSR (ara h 3 . 1 0 2 、配列番号 6 5) 、 IANLAGENSVINDNLP (ara h 3 . 1 5 2 、配列番号 6 6) 、 及び RQLKNNNPFFKFFVP

P (a r a h 3 . 1 6 2 、 配列番号 6 7) 。

【 0 1 0 1 】

これらのペプチドの 1 種または複数のどれでも、そのカルボキシ末端で、例えば、 - P E G 1 2 - ピオチンと結合することができる。

本明細書中開示される発明の対象をより効率的に理解できるようにするため、実施例を以下に提供する。当然ながら、これらの実施例は、例示のみを目的とし、どのような形でも特許請求される対象を限定するものとして解釈されるべきではない。

【実施例】

【 0 1 0 2 】

実施例 1：エピトープアッセイを用いた L E A P コホートの分析

背景として、幼い小児でピーナッツアレルギーを予防する最良の戦略を決定するために無作為化比較試験 (R C T) (例えば、ピーナッツアレルギーについての早期学習 (L e a r n i n g E a r l y A b o u t P e a n u t A l l e r g y 、 L E A P)) が過去に行われた。L E A P 試験は、年齢が 4 ヶ月 ~ 1 1 ヶ月の 6 4 0 人の小児からなり、彼らは、ピーナッツアレルギーのリスクが高いと同定されていた。小児は 2 つの群に分けられた：回避群及び摂取群 (1 週間あたり、ピーナッツを含有する軽食を 3 食超、ピーナッツタンパク質 6 g) である。この試験の結果は、経口負荷試験 (O F C) により判定したところ、5 歳までにピーナッツアレルギーを発症した小児の割合が、摂取群に比べて回避群で 4 倍 ~ 6 倍高かったことを示した。L E A P 試験の結果は、例えば、T o i t e t a l . , N . E n g l . J . M e d . , 2 0 1 5 , 3 7 2 , 8 0 3 - 8 1 3 に開示されている。こうして、試験は、米国におけるピーナッツアレルギー予防のためのガイドラインに変化をもたらした。

【 0 1 0 3 】

方法：

個別エピトープ、エピトープ併用、及びエピトープと他の臨床もしくは診断法 (例えば、皮膚プリックテスト、ピーナッツ特異的 I g E 、患者歴、及びピーナッツ構成要素 I g E) との併用の重要性を評価するため、L E A P 患者コホートのサブセットを、本明細書中記載されるエピトープ試験を用いて、さらに評価した。詳細には、L E A P 試験中の時点で、血漿のアリコートを手くなくとも 2 つ追加で有する、プロトコルあたりの L E A P (L E A P P e r P r o t o c o l) 対象 3 4 1 人のサブセットを選択した。3 4 1 人の対象の診断分類 (すなわち、5 歳 - 来院 6 0 時点のアレルギー状態) を表 1 に示す。

【 0 1 0 4 】

【表 1】

表1

	回避者	摂取者
アウトカム n (%)	n=172	n=169
アレルギー性	38 (22. 1%)	0 (0. 0%)
感作	84 (48. 8%)	119 (70. 4%)
非アレルギー性	50 (29. 1%)	50 (29. 6%)

診断分類は、以下のとおり決定した。「アレルギー性」対象は、来院 6 0 時点のピーナッツ O F C 後に臨床アレルギー症候を示した。「感作」対象は、I g E 感作されていたが、アレルギーではなく、最初の来院 3 回の間少なくとも 1 種のピーナッツ特異的 I g E が $> 0. 1 \text{ k U}_A / \text{L}$ であり、来院 6 0 時点の O F C をパスした。「非アレルギー性」対象 (回避者及び摂取者から、1 : 1 の比で無作為に選択した 1 0 0 人の対象) は、感作されておらず、アレルギーでもなく、皮膚プリックテスト (S P T) で陰性であり、最初の来

院 3 回の間ピーナッツ特異的 I g E が 0.1 kU/L^* であり、来院 60 時点の O F C をパスした。

【0105】

64 種の特定エピトープでの対象の I g E 及び I g G 4 反応性を評価するためのアッセイは、エピトープの選択から開始して、ビーズカップリング、試料アッセイ、データ取得、及び統計分析を、以下に示すとおりに行った。手短に述べると、C 末端ビオチン / P E G 12 リンカーを有する化学修飾された合成ピーナッツペプチド (15 アミノ酸長、3 種の主要ピーナッツタンパク質由来の直鎖エピトープ 50 種 - A r a h 1 の 27 種のエピトープ、A r a h 2 の 13 種のエピトープ、及び A r a h 3 の 10 種のエピトープである) を、L u m i n e x L u m A v i d i n 微粒子と、P B S / 1 % B S A の緩衝液中 $4,000 \text{ nM}$ の濃度で、遮光し、穏やかに一定回転させながら、室温で 30 分間、カップリングさせた。カップリングの前に、貯蔵微粒子を、 $10,000 \times g$ で 2 分間遠心し、水浴超音波処理器中で超音波処理し、中速でボルテックスして、微粒子を再懸濁させた。調製した微粒子を入れた複数のバイアルを、引き続き 1 つにまとめて再度ペレット化し、それから上清を除去して、カップリングのため P B S / 1 % B S A に再懸濁させた。カップリングさせた微粒子を、P B S - T B N / アジド緩衝液 (P B S / 0.1 % B S A / 0.02 % T w e e n - 20 / 0.05 % アジ化ナトリウム) を用いて遠心し、P B S - T B N に再懸濁させることにより 2 回洗い、ガラス血球計算器で計数した。

10

【0106】

64 種の異なるピーナッツペプチドがカップリングしたビーズ領域を 1 つにまとめて、 $1,000$ ビーズ / 種の濃度で「64 重体」を形成し、L u m i n e x アッセイを行った。ヒト血漿試料のウェルを 3 つ組で、P B S - T B N (P B S / 0.1 % B S A / 0.02 % T w e e n - 20) 緩衝液で 1 : 10 に希釈し、ペプチドがカップリングした微粒子多重体とともに、遮光し振盪しながら室温で 2 時間インキュベートした。プレートを引き続き P B S - T B N で 2 回洗い、フィコエリトリンと直接カップリングしたマウス抗ヒト I g E または I g G 4 からなる二次検出抗体をウェルに加え、遮光し振盪しながら室温で 30 分間インキュベートした。プレートを P B S - T B N で 3 回洗い、 $100 \mu\text{L}$ の P B S - T B N で再懸濁させ、二次プレートに移してから、高 R P 1 及び最小カウントを 1 領域あたり 50 ビーズに設定した L u m i n e x - 100 で読んだ。各プレートには、3 つ組で測定される無作為に選択した患者 150 人の試料由来の血漿の混合物を含むプレート間対照試料 (I P C)、ならびに 3 つ組で測定される緩衝液のみ (陰性) の対照が含まれていた。エピトープアッセイから得られる生データは、蛍光強度中央値 (M F I) で記録された。全てのデータを、以下の式を用いて $\log_2$ 変換した：エピトープ値 = $\log_2 (M F I + 0.05) - \text{平均} (\log_2 (\text{緩衝液} + 0.05))$ 。

20

30

【0107】

経時的エピトープ変化の評価：回避者対摂取者の比較：

試験群 (回避者及び摂取者) の間での I g E エピトープの差異を評価するため、試験開始時のベースライン来院と比較した各試験来院 (V 12 - V 1、V 30 - V 1、及び V 60 - V 1) 間で、各エピトープ値が何倍変化したかを求めた。結果をエピトープごとにプロットし、図 1 にまとめる。19 種のエピトープで、回避者における変化が摂取者よりも大きかったことが観察された。これらの結果は、I g E 系列エピトープ特異的抗体が、5 歳 (来院 60 時点) までにピーナッツアレルギーを発症した回避者群の小児で早期に発生したことを示す。系列エピトープ特異的 I g E 抗体は、主に 2 つの領域で発生した：A r a h 1 : 008 ~ 066 及び A r a h 2 : 005 ~ 040。また、A r a h 3 : 93 ~ 115 に対して遅発反応があるようである。I g E 特異的結合の遅発変化は、主にピーナッツ回避者群におけるものである、それらは、2 つの領域に対して特異的であり、またそれらは、持続して経時的に結合を増強させる。摂取者に早期 (V 12) の I g E のわずかな上昇が観察されたが、アレルギーを発症した対象で見られたものと同じエピトープに対してではなかった。要するに、I g E は、摂取者群で早期に発生することが観察されたが、アレルギーを発症した患者と重複する領域においてではなかった。これらのデータ

40

50

は、ある特定のピーナッツエпитーブに対する I g E 反応が、天然及び一過性両方の可能性があることを示唆する。まとめると、データは、これらのピーナッツ特異的タンパク質におけるある特定のエпитーブが、I g E アレルギー反応を意味している可能性があることを示唆する。

【0108】

試験群（回避者及び摂取者）の間での I g G 4 エピトープの差異を評価するため、試験開始時のベースライン来院と比較した各試験来院（V 1 2 - V 1、V 3 0 - V 1、及び V 6 0 - V 1）間で各エピトープ値が何倍変化したかを求めた。結果をエピトープごとにプロットし、図 2 にまとめる。V 3 0 では、I g G 4 は、両群において全てのエピトープで存在したが、摂取者の方でより多かった。摂取者は、非常に早期に、関連するアレルギーエピトープに対して I g G 4 を I g E の代わりに生成し、一方で回避者は、最終的に I g G 4 を生成するものの、I g E の後であった。回避者は、非経口曝露、例えば環境曝露に関連したもの（例えば、ほこり中のアレルゲン及び患者の質問票）による I g G 4 も生成した。要するに、これらの結果は、V 3 0 時に I g G 4 は全てのエピトープで存在するが、全体的には摂取者群でより大きな結合を実証することを示す。さらに、摂取者群は、非常に早期（V 1 2）に、重要な I g E エピトープで I g G 4 を生成し、一方で回避者は、これらの同一エピトープで I g G 4 を生成するものの、I g E がすでに生成された後のみだった。

10

【0109】

全ての回避者がアレルギー性になったのではなかったことから、エピトープ反応性を、これらのアレルギー性回避者と非アレルギー性回避者の間で比較した。結果を図 3 にまとめる。いずれの来院時でも、非アレルギー群と感作群との間に治療差は観察されなかった。感作対象者で結合したエピトープは、アレルギー性になったものとは主に異なっていた。経時的な治療変化で有意差があったペプチドは少数であり、それも感作対象についてのみであった。要するに、これらの結果は、I g E エピトープ特異的反応性は全て、アレルギー性回避者によるものであって非アレルギー性回避者によるものではなかったことを示す。さらに、図 3 にまとめるとおり、感作患者で V 6 0 までに変化していた I g E エピトープはほんのわずかであり、これらの変化はアレルギー群で観察されたものと異なっている。

20

【0110】

I g G 4 エピトープ結合についてのさらなる検討を、図 4 にまとめる。ピーナッツ摂取を回避した非アレルギー性対象は、アレルギー性または感作性どちらの対象よりも早く（V 1 2 及び V 3 0）、より多くの I g G 4 を生成した。感作群とアレルギー群の間に有意差はなく、I g G 4 が防御性ではないことを示唆する。V 6 0 時に感作していた患者の間では、ピーナッツ摂取は、エピトープ特異的 I g G 4 の早期発生を招き、特にアレルギー性対象が I g E を発生させる 2 つの領域においてそうであった。要するに、深刻な変化は V 6 0 時に全ての群で生じているものの、非アレルギー性回避者は、アレルギー性または感作患者よりも早く（V 1 2、V 3 0）、より多くの I g G 4 を生成した。しかしながら、感作患者の I g G 4 反応とアレルギー性患者の I g G 4 反応の間に全体的な差異はなく、I g G 4 が防御性である見込みは低いことを示唆する。

30

40

【0111】

V 6 0 時の I g G 4 反応は、年齢 5 歳後に保護性であるようには思われなかったものの、回避者群の非アレルギー性患者は、アレルギー性または感作患者に比べて早く（V 1 2、V 3 0）により多くの I g G 4 を生成した。また、感作患者の I g G 4 反応とアレルギー性患者の I g G 4 反応の間に有意差はなく、I g G 4 が全体的なアレルギー反応において防御性ではないことを示唆する。結果を図 5 にまとめる。

【0112】

しかしながら、図 6 にまとめるとおり、摂取は、回避者に比べて、感作した摂取者において早期（V 1 2 及び V 3 0）の I g G 4 エピトープ増大を招いた。I g G 4 のこの早期増大は、特に、アレルギー性患者で I g E 反応性が最も強く観察された領域で観察された

50

。要するに、V 6 0 時に感作されていた患者の間では、ピーナッツ摂取は、エピトープ特異的 I g G 4 のより早い発生を、特に、アレルギー性患者が I g E 抗体を発生させる 2 つの領域で招いた。これらの結果は、アレルギー反応の相殺における I g G 4 の早期役割の可能性を示唆する。

【 0 1 1 3 】

これらのデータをまとめると、特定ペプチドでの I g E 反応及び恐らくは I g G 4 反応が、有用な診断道具となる、または 1 種または複数の免疫療法アプローチ、例えば、経口、舌下、皮内、皮下、吸入、経皮、またはそれら方法の組み合わせにより治療されている患者の治療反応モニタリングにおいて、適切な用量、治療の進行、有害反応、及び成功したアウトカムを評価するための有用な道具となる可能性が示唆される。このデータは、治療後の患者を追跡して、食物耐性が維持されているかどうか、それとも治療を再開する必要があるかどうかを判定することが可能である可能性も示唆する。

10

【 0 1 1 4 】

本明細書中使用される分析は、アレルギー分野の当業者が一般的に採用する線形回帰分析である。簡単に述べると、線形回帰は、観測値（例えば、アレルギー症例及び非アレルギー例）を変数（例えば、エピトープ及び I g E 測定値）に当てはめる線形モデルを構築する標準的な統計アプローチである。例えば、M a t l a b バージョン R 2 0 1 5 b を用いて線形回帰法を適用すると、結果として以下のモデルが構築され、式中、 x_1 、 x_2 、及び x_3 は、I g E 及び I g G 4 エピトープ変数を表す。

20

【 0 1 1 5 】

一般化された線形回帰モデル：

$$\logit(y) \sim 1 + x_1 + x_2 + x_3$$

分布 = 二項

【 0 1 1 6 】

【 表 2 】

係数推定値：

	推定	SE	t S t a t	p 値
(定数項)	-1.6413	0.46258	.5482	0.00038789
x_1	2.8755	0.84212	3.4146	0.00063878
x_2	-0.33228	0.23678	-1.4033	0.16053
x_3	0.21082	0.35729	0.59005	0.55516

30

観測数 1 3 3、自由度の誤差数 1 2 9

分散：1

回帰モデルに対する χ^2 検定：2 5 . 2、P 値 = 1 . 4 2 e - 0 5

閾値は、得られる線形回帰モデルの陰性的中率を最適化するように選択される。I g E 閾値の単位は、(K U / L) である。1 種を超えるエピトープに関する線形回帰モデルの閾値は無次元である。

40

【 0 1 1 7 】

実施例 2：ピーナッツアレルギー予測のためのエピトープ分類器の評価

この同一 (L E A P) コホートを用いて I g E 及び I g G 4 エピトープ反応性の診断応用可能性を評価するため、O F C により最終診断が確定した患者を選択して、アレルギー予測のためのアルゴリズムを開発し、分類器を同定した。

【 0 1 1 8 】

L E A P 試験に登録されたピーナッツアレルギーリスクの高い小児 3 4 1 人由来の試料を用い、I g E / I g G 4 エピトープ特異的結合を 5 年にわたり評価した (図 7)。I g E エピトープ特異的抗体は、回避者群の患者で発生し、5 歳時にピーナッツアレルギーを

50

有する患者について特異的であり、2つの領域で優勢である（図7、左パネルの緑色矢印を参照）。I g G 4 エピトープ特異的抗体は、全ての患者で増加しており、ピーナッツ回避者でも非経口経路を介してピーナッツ曝露が生じていることを示唆する。詳細には、ピーナッツ摂取者は、I g G 4 を早期に発生させ（図7、右パネルを参照）、特に関連領域でそうであり（緑色矢印を参照）、I g E の代わりに「防御性」I g G 4 反応へと方向転換したが、ピーナッツ回避者は、最終的に、I g E に加えてI g G 4 抗体を発生させた。このアッセイは、ピーナッツに関して確証されており、P A 患者の以前のC O F A R コホートにおいて及びこのL E A P コホートにおいて全てのピーナッツ特異的エピトープに関して > 0.90 （大部分で > 0.95 ）という同様な優れたI C C 値であることが明らかとなった。これらの結果は、ピーナッツを早期に摂取するか回避するかにより、介入アウトカムと関連したI g E エピトープレパートリーの変化が誘導されることを示す。

【0119】

A U C 成績が上位のエピトープ：

症例及び対照を、それぞれ、O F C 確認済みアレルギー性及び非アレルギー性患者と定義した。次いで、全てのI g E エピトープを、アレルギー性であるか非アレルギー性であるかの予測の分類器として個別に評価した。A U C を、成績計量として用いた。成績が上位10位までのエピトープ（アレルギー性エピトープ）を表2に示す。

【0120】

【表3】

表2

I g E 分析物	AUC	エピトープ
58	0.73	Ara h2.008
27	0.68	Ara h1.047
41	0.67	Ara h1.167
10	0.65	Ara h1.022
21	0.65	Ara h1.040
45	0.64	Ara h1.176
92	0.64	Ara h3.102
25	0.64	Ara h1.045
52	0.64	Ara h1.194
38	0.64	Ara h1.131

上位のA U C 成績での統合試験：

症例及び対照を、それぞれ、O F C 確認済みアレルギー性及び非アレルギー性患者と定義した。I g E 及び/またはI g G 4 エピトープのパネルを、アレルギー性であるか非アレルギー性であるかの予測の分類器として評価した。A U C を、成績計量として用いた。また、他の臨床測定、例えば、S P T 結果、特異的ピーナッツI g E (s I g E) 測定値、及びピーナッツ全タンパク質構成要素(Ara h2)なども組み込んだパネルの例も含めた。パネルは、標準線形回帰方法を用いることにより形成した。[A B C]という表記を用いて、エピトープのパネル及び/または臨床測定A、B、及びCを線形回帰により1つのパネルに統合したことを示す。因子（ピーナッツペプチド及び/または本明細書に記載される他の因子）の組み合わせを評価するために線形回帰を使用することは、当業者に周知である。そのような組み合わせの代表例として、以下が挙げられるが、それらに限定されない：

[I g E __ A r a h 2 . 0 0 8、I g G 4 __ A r a h 2 . 0 2 1、I g G 4 __ a r a h 3 . 1 5 2] は、A U C = 7 7 % である

[I g E __ A r a h 2 . 0 0 8、I g G 4 __ A r a h 2 . 0 2 1、S P T] は、A U C = 8 1 % である

[I g E __ A r a h 2 . 0 0 8、I g G 4 __ A r a h 2 . 0 2 1、I g G 4 __ a r a h 3 . 1 5 2、s I g E] は、A U C = 8 1 % である

[I g E __ A r a h 2 . 0 0 8、I g G 4 __ A r a h 2 . 0 2 1、I g G 4 __ a r a h 3 . 1 5 2、A r a h 2] は、A U C = 7 5 % である

一般に、ピーナッツペプチドの任意の組み合わせと任意の他の因子の併用について A U C が 5 0 % 未満である場合は、非アレルギー状態を示し、A U C が 5 0 % 以上である場合は、アレルギー状態を示す。実施形態によっては、ピーナッツペプチドの任意の組み合わせと任意の他の因子の併用について A U C が 5 5 % 未満である場合は、非アレルギー状態を示し、A U C が 5 5 % 以上である場合は、アレルギー状態を示す。実施形態によっては、ピーナッツペプチドの任意の組み合わせと任意の他の因子の併用について A U C が 6 0 % 未満である場合は、非アレルギー状態を示し、A U C が 6 0 % 以上である場合は、アレルギー状態を示す。実施形態によっては、ピーナッツペプチドの任意の組み合わせと任意の他の因子の併用について A U C が 6 5 % 未満である場合は、非アレルギー状態を示し、A U C が 6 5 % 以上である場合は、アレルギー状態を示す。実施形態によっては、ピーナッツペプチドの任意の組み合わせと任意の他の因子の併用について A U C が 7 0 % 未満である場合は、非アレルギー状態を示し、A U C が 7 0 % 以上である場合は、アレルギー状態を示す。

10

20

【 0 1 2 1 】

階層的統合試験（理論予測）

この実施例で使用される方法は、上記のものと同じであるが、ただし、分類が階層的様式で行われることが異なる。最初に、s I g E 測定を用いて、非アレルギー性症例を同定する。次いで、s I g E により分類されない患者について、ロジスティック回帰パネル [I g E __ A r a h 2 . 0 0 8、I g G 4 __ A r a h 2 . 0 2 1、I g G 4 __ a r a h 3 . 1 5 2] を用いて、残りの患者をアレルギー性または非アレルギー性いずれかであると分類する。s I g E 0 . 0 3 k U_A / L ならば、対象を「非アレルギー性」とする。[I g E __ A r a h 2 . 0 0 8、I g G 4 __ A r a h 2 . 0 2 1、I g G 4 __ a r a h 3 . 1 5 2] 0 . 2 0 ならば、対象を「非アレルギー性」とする。それ以外は、対象を「アレルギー性」とする。この階層的分類器の閾値は、分類の決定を下すために使用される。因子のこの組み合わせは、本明細書中、例えば、偽陽性を排除するために使用される。これらの組み合わせは、異なる分類結果を得るために変更することができる。提示される実施例において、階層的分類器の感度及び特異性は、それぞれ、9 0 % 及び 5 4 % である。

30

【 0 1 2 2 】

実施例 3：臨床試験

本明細書中提示される強力なデータに基づき、ピーナッツエпитープに対する I g E / I g G 4 の結合パターンが、非常に有益な情報を与えるものであり、患者のアレルギー疾患の重篤度を特性決定する、患者を長期間評価して臨床試験初期及び臨床試験中の投薬を指導する、臨床試験中の有害事象を追跡または予測する（安全性を改善するため）、臨床試験の臨床的終了点において患者のアレルギー状態を確認する、及び患者の治療後をモニタリングして治療反応性を維持するために追加治療が必要であるか / いつ必要になるかを判定するのに有用となることが予想される。

40

【 0 1 2 3 】

患者の試料のサブセットを同定することになる。最低でも、試料は、A r 1 0 1 処置群及び偽薬群の両方を含むことになり、これらの群は、以下の患者を含む：1) 臨床的終了点まで臨床試験に残る患者、2) 臨床的終了点後もモニタリングを継続し、不反応性の持続を評価する患者、3) 有害反応を理由に臨床試験から離脱する患者、4) 有害反応がな

50

く臨床試験から離脱する患者、5) 臨床試験中、長期にわたり複数の時点で血清成分及び OFC データが利用可能な患者、ならびに 6) 異なる投薬スケジュール群に分けられた、または臨床試験中に異なる速度で増量された患者。

【0124】

臨床試験に登録された患者から OIT の開始後に様々な時点で採取された血漿または血清試料は、臨床試験に関する臨床情報を盲検化して評価されることになる。試料は、本明細書中記載される方法（例えば、64 重体ビーナッツ (ara h1、h2、及び h3) エピトープ試験) を用いて、IgE、IgG4、及び IgA エピトープ結合について評価されることになる。

【0125】

10

エピトーププロファイリング (ビーズ系エピトープアッセイ (BBEA) : エピトープマッピングのため、本方法は、特定の食物で見られるタンパク質を、それより小さなペプチド、すなわち 2 つ以上のアミノ酸からなる化合物に細分する。エピトープを区別するため、マッピングされたペプチドを、別々にビーズに結合させて、高処理分析及びエピトープ結合評価ができるようにする。エピトープパターン決定のため、患者の IgE 反応の反応性を特定する。反応では、抗体はペプチドビーズに結合し、試験は、ペプチドあたりの個別の反応を単離して特定するように設計されているので、臨床医は、患者のアレルギープロファイルをより正確かつ完全な図式で得ることができる。結果は、個別のペプチド結果で「マッピング」され、これにより患者を分類するのに用いられる治療反応プロファイルが形成される。

20

【0126】

簡単に述べると、エピトープアッセイのため、ビーナッツペプチド (CS Bio、Menlo Park、CA、USA) を Lumavidin ビーズ (Luminex Corporation、Austin、TX) とカップリングさせ、PBS-TBN 緩衝液 (1 × PBS + 0.02 % Tween 20 + 0.1 % BSA) 中で貯蔵した。ペプチドがカップリングしたビーズのマスター混合物を、PBS-TBN 緩衝液で用意し、ビーズマスター混合物 100 µL をフィルタープレートに加えた。ビーズを洗浄後、対象の血漿の 1 : 10 希釈液 100 µL を三つ組のウェルに加えた。プレートを、シェーカー上室温で 300 rpm で 2 時間インキュベートした。過剰な血漿を除去し、プレートを洗った。マウス抗ヒト IgE-PE (Thermo-Pierce Antibodies、Clone BE5、PBS-TBN に 1 : 50 で希釈) またはマウス抗ヒト IgG4-Fc-PE (Southern Biotech、Clone HP6025、PBS-TBN に 1 : 400 で希釈) 二次抗体を 50 µL / ウェルで加え、プレートを 30 分間インキュベートした。最終洗浄後、PBS-TBN 緩衝液 100 µL を各ウェルに加えてビーズを再懸濁させ、次いでこれを固定底 96 ウェル読み取りプレートに移し、Luminex 200 装置 (Luminex (登録商標) 100 / 200 (商標) System、Luminex Corporation、Austin、TX) で定量した。

30

【0127】

全ての試料は 3 つ組で処理した。バックグラウンド強度を除外するため、緩衝液試料 (PBS-TBN 緩衝液) も、各プレートにおいて 3 つ組で処理した。各エピトープ及び試料の蛍光強度中央値 (MFI) は、Luminex リーダーの出力から直接得た。各試料 i 及びエピトープ j について、結合測定値 B_{ij} は、以下のとおり定義した：

40

【0128】

【数 1】

$$Y_{ij} - \log_2(MFI_{ij} + 0.05); R_{ij} = Y_{ij} - \frac{1}{N_{ns}} \sum_{k=1:ns} Y_{kj}$$

式中、 ns は、非特異的結合 (緩衝剤) 試料を表す。

【0129】

50

実施例 4：臨床試験コホート

C o F A R 2 予測小児コホートのピーナッツの非アレルギー性及びアレルギー性患者の血漿試料を分析に使用した。各来院時のアレルギー診断は、以下のとおり定義した：1) アレルギー性（血清学的：ピーナッツ $s I g E > 1.4 k U_A / L$ 、確定：O F C + または（確証的履歴 + 血清学的））、2) 非アレルギー性（感作された：耐性であるがピーナッツ $s I g E > 0.35 k U_A / L$ 、感作されていない：耐性であり、ピーナッツ $s I g E$ のエビデンスなし）。3 回の来院が計画された：1) ベースライン（約 0 歳）、2) 来院 2（約 2 歳）、及び 3) 来院 5（約 4 + 歳）。ベースラインの情報を表 3 に示す。

【 0 1 3 0 】

【表 4】

10

表3

ベースライン (N=141)		
非アレルギー性	血清学的	
40% (n=57)	60% (n=84)	
V2 (N=129)		
非アレルギー性	血清学的	確定
54% (n=70)	39% (n=60)	7%
ベースライン (N=141)		
非アレルギー性	血清学的	確定
48% (n=89)	32% (n=59)	20%

20

先行試験は、年齢（若いほど多い）、性別（男性で多い）、人種（アフリカ系アメリカ人で多い）、及びアレルギー反応の程度及び履歴が、ピーナッツアレルギーを予測することを示した。本発明のコホートでは、アレルギー性群と非アレルギー性群は、ベースラインでこれらの予測因子が互角であった。C o F A R は、ピーナッツアレルギーのリスクが高い小児患者を登録するため、A D の有病率は、両群で非常に高い（90% 及び 98%）。患者のベースライン情報を表 4 に示す。

30

【 0 1 3 1 】

【表 5 - 1】

表4

	非アレルギー性 n=57	アレルギー性 n=84	P値
年齢	0.84 (0.28)	0.83 (0.25)	0.71
性別=男性 (%)	41 (71.9)	65 (77.4)	0.591
人種 (%)			0.14
アジア人	1 (1.8)	10 (11.9)	
アフリカ系アメリカ人	10 (17.5)	14 (16.7)	
白人	45 (78.9)	57 (67.9)	
その他	1 (1.8)	3 (3.6)	
非ラテンアメリカ系/ラテン 血統 (%)	54 (94.7)	80 (95.2)	1
体重	9.14 (1.54)	8.57 (1.29)	0.02
身長	72.09 (4.83)	70.92 (4.67)	0.153
SPTスコア (mm、ピーナ ッツ)	0.58 (1.43)	9.04 (5.20)	<0.001
特異的IgE (KU _A /L)	1.63 (8.89)	35.48 (45.09)	<0.001
特異的IgG (mgA/L)	5.44 (10.57)	20.26 (26.52)	<0.001
特異的IgG4 (mgA/ L)	0.09 (0.47)	0.36 (0.67)	0.011
sIgG4/sIgE比 (K U _A /L、log2)	4.43 (3.90)	1.48 (2.62)	<0.001

10

20

30

40

【0132】

【表 5 - 2】

ピーナッツ構成要素に対する I g E			
A r a h 1 (K U _A /L)	0. 43 (2. 59)	7. 59 (18. 71)	0. 006
A r a h 2 (K U _A /L)	1. 94 (12. 53)	21. 75 (45. 12)	0. 002
A r a h 3 (K U _A /L)	0. 14 (0. 69)	3. 57 (8. 28)	0. 003

10

ベースラインでは、全てのアレルギー性患者は「血清学的」である。

【0133】

時間とともに、より多くのアレルギー性小児が、より多数のエピトープと結合する I g E を示した。I g E エピトープレパートリーの明白な差異が、全ての来院時にわたり、アレルギー性小児と非アレルギー性小児の間で観察された。I g G 4 は、全てのアウトカムにわたり年齢とともに増加し、来院 5 時点に 2 つの群の間で I g G 4 プロファイルは非常に類似していた。図 8 に結果を示す。

20

【0134】

エピトープに関して複数のモデルが開発されてきており、そのようなモデルとして、例えば、ランダムフォレスト (R F) 及び交差検証 (C V) が挙げられる。R F モデルは、交差検証で、特に年齢が 2 歳及び 4 + 歳の小児に関して良く機能した (表 5 を参照)。R F モデルは、訓練セットにおいて、患者のほぼ 100 % で正確にアレルギー診断を予測することができる (表 6 を参照)。C V は、全ての訓練反復においてモデルがどの程度うまくいったかの尺度であり、予測モデルの不偏評価と見なされる (図 9 を参照)。

【0135】

30

【表 6】

表5

交差検証 (RF)				
測定基準	V0	V2	V5	全体
AUC	0.90	0.99	0.97	0.95
感度	82%	95%	89%	89%
特異性	83%	96%	92%	90%

10

表6

訓練 (RF)				
測定基準	V0 n=106 a l g=63	V2 n=98 a l g=45	V5 n=139 a l g=72	V0 n=343 a l g=180
AUC	0.98	1	1	1
精度	93%	100%	100%	100%
感度	82%	100%	100%	100%
特異性	100%	100%	100%	100%
PPV	100%	100%	100%	100%
NPV	85%	100%	100%	100%

20

a l g=アレルギー性

30

実際の試験で、エピトープモデルを実行した。試験データは、以下のとおりであった：
 1) V0時に35人(21人のアレルギー性)患者、2) V2時に31人(14人のアレルギー性)患者、及び3) V5時に46人(24人のアレルギー性)患者。試験のAUCは、以下の結果となった：1) V0時に0.70、11人の誤分類、2) V2時に0.88、4人の誤分類、3) V5時に0.84、7人の誤分類、及び4) 来院全体で0.84、18人の誤分類。試験の成績測定基準を図10に示す。

【0136】

試験データでのエピトープモデルの成績を、ImmunoCAPデータに基づくアレルギー診断と比較した。ImmunoCAP診断は、患者が、ピーナッツ、Ara h1、Ara h2、及びAra h3に対して陽性(0.35 kU_A/L) sIgEを有していれば「アレルギー性」であった。各来院(及び全ての来院をまとめて)について、エピトープに基づくモデルは、構成要素に基づくアレルギー診断よりも成績が優れていた(図11を参照)。試験データでは10人の患者しかOFCで確定した診断を有していなかったが、エピトープ及びImmunoCAPは両方とも8/10の小児を正確に診断した。

40

【0137】

エピトープとピーナッツに対するsIgEとの関連性を調べた。年齢が2歳未満の小児は、構成タンパク質またはそれらの直鎖エピトープに対してよりも全ピーナッツ抽出物に対して抗体を発達させる見込みがより高い。また、全ピーナッツに対するsIgEを含めることは、非常に若い年齢でアレルギー性小児を同定するのに役立つ可能性がある。CV

50

の AUC を図 12 に示す。予想どおり、0 歳モデルについて、s I g E は、最上位の予測因子であり、C V のモデル成績は改善され、AUC は 0.98 に到達した (0.89 に比べて)。来院 2 及び 5 時点の AUC は同じままであった。

【0138】

3 通りの予測因子の組を用いて、アレルギーアウトカムを予測した：1) エピトープ、2) エピトープ + ピーナッツ特異的 I g E、及び 3) ピーナッツ特異的 + 構成要素特異的 I g E：ピーナッツ、A r a h 1、A r a h 2、及び A r a h 3 に対する s I g E。エピトープに対する I g E 抗体単独で、患者の大多数において、ピーナッツアレルギーを正確に診断することができ、構成要素よりも良い結果であった (表 7 及び図 13 を参照)。ピーナッツに対する s I g E を加えると、C V 及び試験におけるエピトープモデルの成績がさらに改善され、95% (107 / 112) の患者が正確に診断された。

10

【0139】

【表 7】

表 7

試験でのエピトープ + s I g E				
測定基準	V0	V2	V5	全体
AUC	1	0.94	0.95	0.95
感度	100%	100%	96%	94%
特異性	100%	88%	95%	95%

20

エピトーププロファイルは、ピーナッツアレルギーを診断する予測バイオマーカーとして有望な成績を示す。I m m u n o C A P 標準ガイドラインを用いた場合に 70% であったのに比べて、エピトープのみを使用した場合、いずれの来院時でも小児の 83% が「アレルギー性」とであると正確に同定された。エピトープ及び構成要素の両方の試験は、2 歳来院時及びその後の小児のピーナッツアレルギーを同定する場合により良い成績となった。全ピーナッツに対する s I g E をエピトープモデルに追加すると、診断モデルの成績を顕著に改善し、試験データにおいて精度が > 95% であった。

30

【0140】

実施例 5：ピーナッツアレルギー診断法の発見及び検証

方法

発見：試験法の発見は、L E A P 試験の回避群にいた 133 人の対象 (31 人がアレルギー性、102 人が非アレルギー性) で行った。全ての診断は、年齢 5 歳で O F C により確定した。血漿試料は、各対象について 2.5 歳及び 5 歳で得た。これらの試料を、上記の B B E A 方法を用いて分析し、各対象について 2.5 歳及び 5 歳での I g E 及び I g G 4 エピトープレベルを得た。各対象についての I g E (I g G 4) エピトープレベルを、全ての I g E (I g G 4) エピトープ測定値の中央値で正規化した。

40

【0141】

5 歳でのデータを分析して、アレルギー性対象と非アレルギー性対象とを区別するのに最良の成績を与える I g E または I g G 4 エピトープを特定した。具体的には、最良の成績を与える I g E または I g G 4 エピトープとは、ピーナッツ特異的 I g E (s I g E) レベルが 0.1 k U / L 未満であることによる対象の最初の格付け後、これらの対象をアレルギー性または非アレルギー性として分類するのに最良の AUC を持つものである。次いで、当該 I g E または I g G 4 エピトープが 2.5 歳での最良の成績を与えるエピトープでもあることを確認した。

【0142】

最良の成績を与えるエピトープ及び判断閾値の同定後、診断試験を完全に締め切り、そ

50

れから検証した。

検証：試験法の検証は、C o F A R 2 試験にいた 8 1 人の対象（2 3 人がアレルギー性、5 8 人が非アレルギー性）で行った。全ての診断は、年齢 5 歳時に O F C により確定した。血漿試料は、各対象について 2 歳及び 5 歳時に得た。これらの試料を、上記の B B E A 方法を用いて分析し、各対象について 2 歳及び 5 歳時の I g E 及び I g G 4 エピトープレベルを得た。各対象についてのエピトープレベルを、全ての I g E (I g G 4) エピトープ測定値の中央値で正規化した。診断試験が完全に締め切られるまで、全てのデータは匿名のままであった。

【 0 1 4 3 】

診断試験の検証は、事前に定義された仮説及び閾値を用いて行った。最初に、s I g E の閾値 0 . 1 K u / L 及び最適 I g E (I g G 4) エピトープの閾値 0 . 3 0 を用いた診断試験の成績は、5 歳時の対象に関するカイ二乗検定を用いたところ、統計上有意であった。同様に、2 歳時の対象の診断試験の成績も評価した。全てのデータ分析は、M a t l a b R 2 0 1 5 b を用いて行った。

10

【 0 1 4 4 】

統合された試験アルゴリズムでは、閾値 T に関する様々な値が検証され、使用された中に含まれていたのは、最初のクエリー：s I g E 0 . 1 0 であるか？である。この最初のクエリーに対する答えが「はい」ならば、「非アレルギー性」という結論が得られる。最初のクエリーに対する答えが「いいえ」ならば、追加クエリー：I g E h 2 . 0 0 8 T であるか？が要求される。この追加クエリーに対する答えが「はい」ならば、「非アレルギー性」という結論が得られる。追加クエリーに対する答えが「いいえ」ならば、「アレルギー性」という結論が得られる。s I g E の単位は k U / L であり、I g E h 2 . 0 0 8 測定値は無次元量である。

20

【 0 1 4 5 】

結果

発見：表 8 は、L E A P コホートにおける上位 3 位の I g E 及び / または I g G 4 エピトープの成績を、それら自身及び閾値 0 . 1 k U / L の s I g E で格付け後の両方で、示す。データは、2 . 5 歳及び 5 歳時のものである。

【 0 1 4 6 】

【表 8】

表8：個別及びs I g Eと組み合わせた場合の両方での成績上位のエピトープ、ただし測定基準としてAUCを用いる

	2. 5歳時				5歳時			
	エピトープのみ		s I g E及び エピトープ		エピトープのみ		s I g E及び エピトープ	
ランク	エピトープ	AUC	エピトープ	AUC	エピトープ	AUC	エピトープ	AUC
1	I g E h2. 0 08	72%	I g E h2. 0 08	77%	I g E h2. 0 08	71%	I g E h2. 0 08	69%
2	I g E h1. 1 79	68%	I g E h1. 0 22	70%	I g E h1. 1 73	69%	I g E h1. 1 79	69%
3	I g E h1. 0 22	68%	I g G4 h1. 0 25	67%	I g E h2. 0 21	69%	I g G4 h3. 0 80	69%

10

20

発見データは、エピトープ I g E h 2 . 0 0 8 が、2 . 5 歳及び5 歳時の両方で最高の成績を有することを示す。そのうえさらに、当該エピトープは、単独で及び s I g E との組み合わせの両方で、最高の成績を有する。

30

【0 1 4 7】

検証：L E A P 試験及び C o F A R 2 試験の人口構成は、例えば、T o i t e t a l . , N . E n g l . J . M e d . , 2 0 1 5 , 3 7 2 , 8 0 3 - 8 1 3 及びワールドウェブの「l e a p s t u d y . c o . u k / 」(L E A P) に、ならびに S i c h e r e r e t a l . , J A C I , 2 0 1 6 , 1 3 7 , A B 1 5 2 及びワールドウェブの「c l i n i c a l t r i a l s . g o v / c t 2 / s h o w / N C T 0 0 3 5 6 1 7 4 」(C o F A R 2) に記載されている。

【0 1 4 8】

図 1 4 に、構成要素 h 1、h 2、h 3、エピトープ I g E h 2 . 0 0 8、s I g E、及び s I g E との組み合わせの成績を比較した R O C プロットを示す。

40

表 9 に、個別の測定及び s I g E と統合したものの成績を示す。統合した試験 (s I g E + h 2 . 0 0 8) は、閾値 T の様々な例示の値について表す。

【0 1 4 9】

【表 9】

表9

診断	AUC	感度	特異性	NPV	PPV
h 1	6 4%	7 8%	4 0%	8 2%	3 4%
h 2	7 4%	8 3%	4 3%	8 6%	3 7%
h 3	5 2%	9 1%	9%	7 1%	2 8%
I g E h 2. 0 0 8	8 4%	9 1%	5 3%	9 4%	4 4%
s I g E	7 7%	9 1%	3 6%	9 1%	3 6%
s I g E+h 2	8 0%	9 1%	4 0%	9 2%	3 8%
s I g E+h 2. 0 0 8 (T = . 3 0)	8 8%	9 1%	7 9%	9 6%	6 4%
s I g E+h 2. 0 0 8 (T = 1. 2)	8 8%	7 0%	9 7%	8 9%	8 9%
s I g E+h 2. 0 0 8 (T = 2. 0)	8 8%	4 8%	9 8%	8 3%	9 2%

10

20

この実施例では、統合された試験は、 $T = 0.30$ で強力なルールアウト試験であり、NPVが96%である。反対に、 $T = 2.0$ では、統合された試験は、強力なルールイン試験であり、PPVが92%である。 $T = 1.2$ では、統合された試験は、強力なルールインかつルールアウト試験の両方である。

30

【0150】

2歳時、s I g E + I g e __ h 2 . 0 0 8の成績は一定しており、AUC、感度、特異性、NPV、及びPPVはそれぞれ、88%、96%、71%、98%、及び56%である。I g E h 2 . 0 0 8の統計上の有意性は、それ自身またはs I g Eと組み合わせて、2歳及び5歳時に、 P 値 < 0.0001 である。

【0151】

実施例6：多重エピトープ分類器

方法

LEAP及びCoFAR2の試料セットで以下の基準に関してI g Eエピトープを評価した：1)両試験にまたがり再現性の高い成績(AUC)、及び2)両試験にまたがり、高い成績を与えるサイズ2のエピトープパネルにおける関与の頻度(ロジスティック回帰モデルを使用)。

40

【0152】

結果

上記の基準を用いると、以下の表10のエピトープリストが、多重エピトープパネルで良い成績を与える最も再現性の高いエピトープである。一変量予測因子としてのそれらの成績を示してあるが、ロジスティック回帰当てはめを用いてI g E h 2 . 0 0 8との組み合わせについても示す。

50

【 0 1 5 3 】

【 表 1 0 】

表10

エピトープ (I g E)	C o F A R 2での成績 (AUC)	I g E h 2 . 0 0 8と 組み合わせた成績 (AUC)
H2. 0 0 8	7 8%	7 8%
H2. 0 2 1	6 4%	8 9%
H2. 0 1 7	6 1%	8 7%
H2. 0 1 9	6 0%	8 8%
H3. 0 9 3	6 1%	8 0%
H1. 1 7 3	6 7%	7 9%
H2. 0 4 0	7 5%	8 9%

10

20

高成績の多重エピトープ診断分類器の形成において、表 1 1 のエピトープはその中から選ぶのに最適なエピトープ類である。

【 0 1 5 4 】

実施例 7 : 多重バイオマーカー分類器

方法

L E A P 及び C o F A R 2 の試料セットの I g E エピトープを、皮膚プリックテスト (S P T) と組み合わせ、以下の基準に関してピーナッツ特異的 I g E (s I g E) を評価した: 1) 両試験にまたがり再現性の高い成績 (A U C) 、及び 2) 高い成績を与えるエピトープパネルにおける関与の頻度 (ロジスティック回帰モデルを使用) 。 S P T は、膨疹の大きさに関して報告した。

30

【 0 1 5 5 】

使用目的症例: 使用目的症例は、S P T が行われた後に検査依頼が出される血液検査である。S P T の結果 (膨疹の大きさ) は、検査依頼書で提供されることになる。

使用目的: 血液検査の使用目的は、試験された対象がピーナッツアレルギーを有するかどうかを、高い可能性で判定することである。

【 0 1 5 6 】

単一閾値試験: 単一閾値試験は、以下のとおりである: s I g E 0 . 1 0 、または S P T T 1 、または h 2 . 0 0 8 0 . 8 、または h 2 . 0 1 0 T 2 ならば、対象は非アレルギー性である。そうでなければ、対象はアレルギー性である。

【 0 1 5 7 】

基本的に、試験での状態がピーナッツアレルギー性であるとされるためには、対象は立体的構造的エピトープヒット (s I g E) 、陽性の S P T 、及び複数の直鎖エピトープヒットを有してなければならない。

40

【 0 1 5 8 】

この試験の成績は、T 1 及び T 2 の選択に依存するものであり、それらを表 1 1 に示す。

【 0 1 5 9 】

【表 1 1】

表11

T1	T2	感度	特異性	NPV	PPV
0	1. 1	65%	97%	88%	88%
4	0. 75	94%	91%	91%	94%

二重閾値試験：二重閾値試験は、以下のとおりであり、T2及びT3がそれぞれ下及び上閾値である：s I g E 0. 10、またはS P T T1、またはh2. 008 0. 8、またはh2. 010 T2ならば、対象は非アレルギー性である。そうでなければ、h2. 010 T3ならば、対象はアレルギー性である。そうでなければ、試験結果は、判定保留である。

【0160】

この試験の成績は、T1、T2、及びT3の選択に依存するものであり、それらを表12に示す。

【0161】

【表 1 2】

表12

T1	T2	T3	保留%*	NPV	PPV
0	0. 75	1. 26	5%	90%	93%
0	0. 75	1. 26	10%	90%	100%
4	0. 75	1. 10	2%	91%	100%

なお、2つの閾値が存在する場合、試験の感度及び特異性は特定することができない。二重閾値試験は、ほとんどの個体について解釈が困難である。

* 判定保留例のパーセンテージは、推定である。

【0162】

実施例8：ランダムフォレスト分類器

方法

C o F A R自然歴試験にいた対象318人からなるコホートを利用して、3～15月齢から8歳までの高リスク乳幼児における連続アレルギー性ピーナッツエピソードに対するI g E及びI g G 4の結合を測定し、臨床的ピーナッツアレルギーの予測にそれらが利用できるかどうか判定した。A r a h 1～3で見られる連続エピソードに対するI g E及びI g G 4抗体の結合を、L u m i n e xビーズ系アッセイを用いて評価した。318人の対象由来の血清を、ベースライン、2年後、及び5年後に、I g E及びI g G 4エピソード特異的抗体について評価した。ランダムフォレスト及び機械学習アルゴリズムを用いて、エピソード結合プロファイル（E B P）に基づき対象のアレルギー状態のアウトカムを予測することができるモデルを構築した。モデルの成績を、当該コホートから得られた匿名試料（当初のセットの30%）を用いたリサンプリング法及び検証により評価し、精度、A U C、感度、及び特異性を、信頼区間と合わせて得た。225人の対象を「モデル開発」のために無作為に選択し、93人を「試験」のために選択し、5年後にはそれぞれ、合計122人及び48人のアレルギー性患者を選択した。

【0163】

結果

年齢無関係モデル及び各年齢に特異的なモデルを用いたところ、後者がより良好な結果をもたらすことがわかった。I g E プロファイルは、O F C アウトカムを予測するのに十分であったが、I g G 4 のみを用いたモデルでは同じような成績を出せなかった。年齢無関係モデルは、年齢特異的モデルほど正確ではなかった。評価した戦略の中で、ダウンプートストラップリサンプリングを用いるランダムフォレストアルゴリズムが最良の成績を出し、0 年目の交差検証で平均 A U C > 0 . 8 7 であり、2 年後及び 5 年後に行われた O F C について 0 . 9 9 及び 0 . 9 5 に到達した。次いで、各年齢群についての最終的な I g E に基づくモデルを、「見えない」試験データで評価した。ベースラインでのアレルギー状態は、7 6 人の患者で正確に予測され（精度 8 2 % ）、2 年後及び 5 年後ではアレルギー状態がより正確に予測された（それぞれ、9 1 % 及び 8 7 % ）。特異性は、全ての年齢群にまたがり互角であったものの、1 年目についてのモデルは、より低い真陽性率を有していた。アレルギー性患者が幼いほど、非直鎖、立体構造エピトープに対する反応性を発生させる傾向があるため、分類器としてピーナッツ特異的 I g E を用いたアルゴリズムも開発した。ピーナッツ特異的 I g E (s I g E) を含めると、エピトープ単独に比べて、ランダムフォレストアルゴリズムを用いるモデルの劇的な改善が見られた。成績は、以下の表 1 3 にまとめるとおりである。

【 0 1 6 4 】

【表 1 3 】

表 1 3

試験	エピトープ (BF=75, RF)				エピトープ+sIgE (BF=75, RF)			
	(T1)				(T2)			
来院	0	2	5	全て	0	2	5	全て
精度	0.68	0.87	0.84	0.83	1.00	0.94	0.95	0.95
AUC	0.70	0.88	0.84	0.83	1.00	0.94	0.95	0.95
感度	0.55	1.00	0.83	0.89	1.00	1.00	0.96	0.96
特異性	0.86	0.76	0.86	0.77	1.00	0.88	0.95	0.94
PPV	0.85	0.78	0.86	0.81	1.00	0.88	0.96	0.95
NPV	0.57	1.00	0.82	0.87	1.00	1.00	0.95	0.96

表 1 3 において、ランダムフォレスト予測因子 T 1 (s I g E なし) 及び T 2 (s I g E あり) の一部として上位モデルの「バギング頻度 (B a g g i n g F r e q u e n c y) 」の少なくとも 7 5 % で出現したエピトープを以下に列挙する：

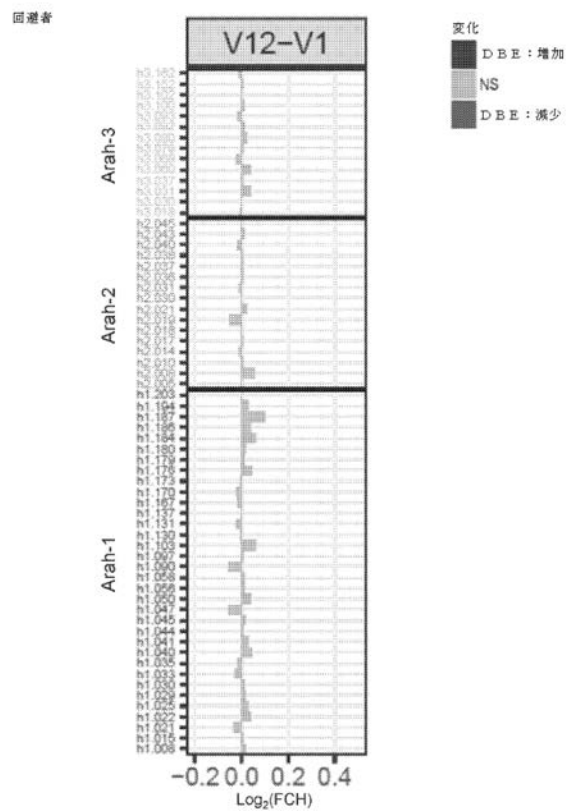
T 1 エピトープ、BF 順：h 2 . 0 0 8 __ I g E、h 2 . 0 0 8 __ I g G 4、h 1 . 0 2 1 __ I g E、h 1 . 0 3 0 __ I g E、h 1 . 0 4 0 __ I g E、h 3 . 1 0 2 __ I g E、h 1 . 1 8 6 __ I g G 4、h 1 . 0 1 5 __ I g E、h 2 . 0 1 0 __ I g G 4、h 2 . 0 3 7 __ I g G 4、h 3 . 0 8 0 __ I g E、h 1 . 1 9 4 __ I g E、h 1 . 0 4 1 __ I g E、h 3 . 1 5 2 __ I g G 4、h 2 . 0 1 7 __ I g E、T 2 エピトープ、BF 順：h 2 . 0 0 8 __ I g E、h 2 . 0 0 8 __ I g G 4、h 1 . 0 2 1 __ I g E、h 1 . 0 1 5 __ I g E、h 1 . 0 2 9 __ I g E、h 2 . 0 1 0 __ I g G 4、h 1 . 1 9 4 __ I g E、h 1 . 1 8 6 __ I g G 4。

【 0 1 6 5 】

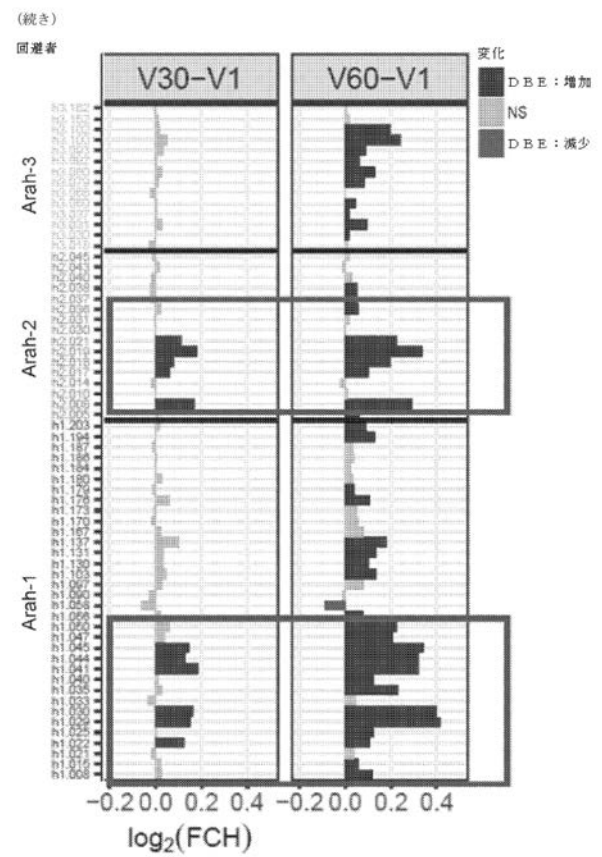
記載される発明の対象の様々な修飾が、本明細書中記載されるものに加えて、上記の説明から当業者に明らかとなるだろう。そのような修飾も、添付の特許請求の範囲内に含まれるものとする。本出願中引用される各参照（雑誌論文、米国特許及び非米国特許、特許

出願公開、国際特許出願公開、遺伝子バンク受入番号などが挙げられるが、これらに限定されない)は、そのまま全体が本明細書中参照により援用される。

【図 1 - 1】



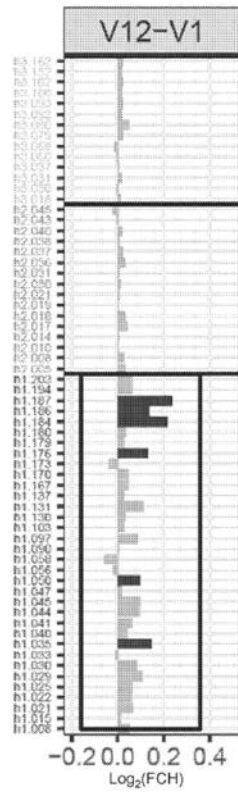
【図 1 - 2】



【図 1 - 3】

(続き)

損取者

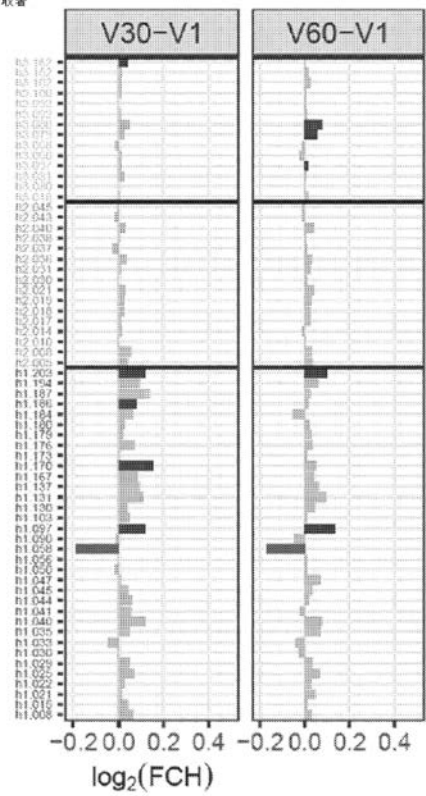


【図 1 - 4】

(続き)

損取者

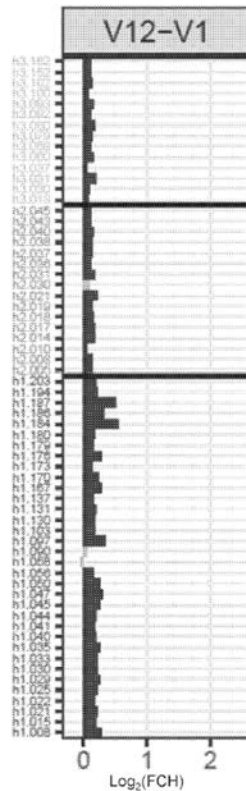
変化
 D B E : 増加
 NS
 D B E : 減少



変化
 D B E : 増加
 NS
 D B E : 減少

【図 2 - 1】

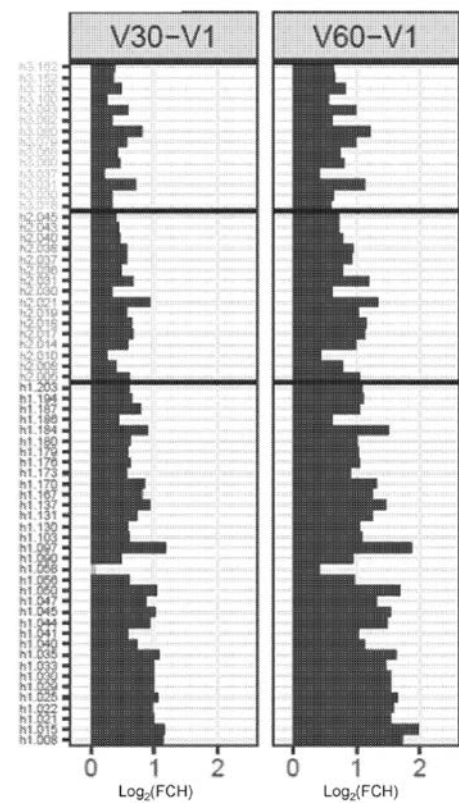
回避者



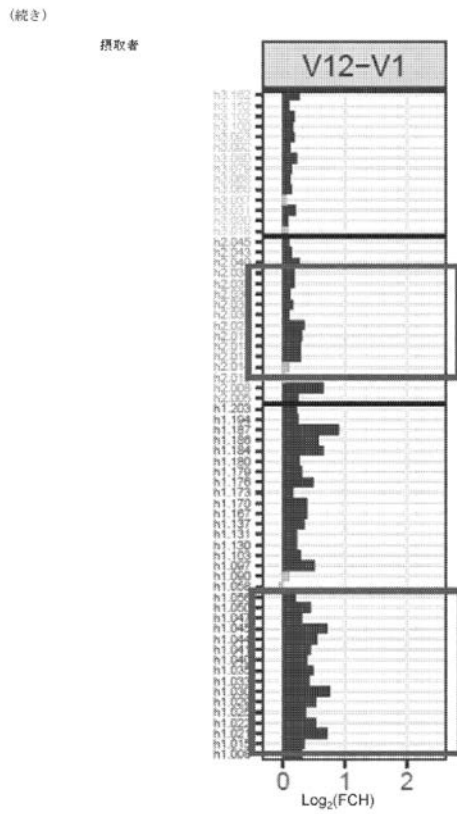
【図 2 - 2】

(続き)

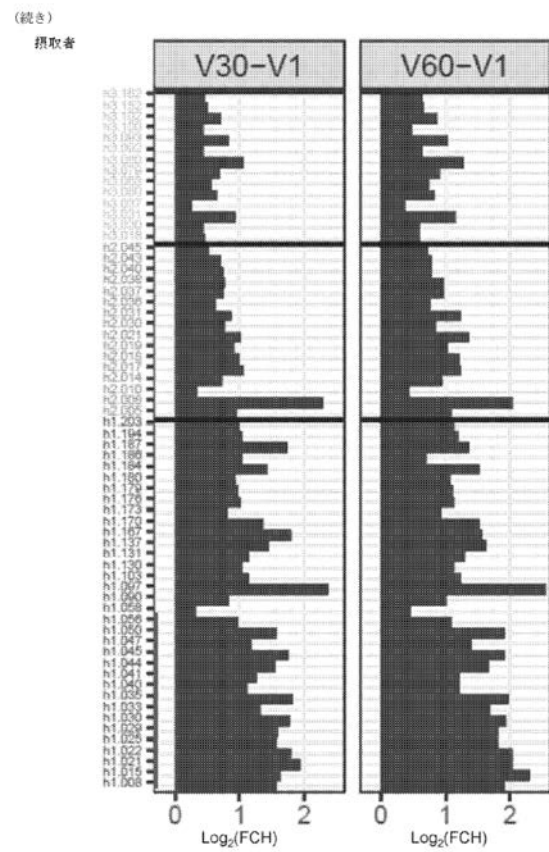
回避者



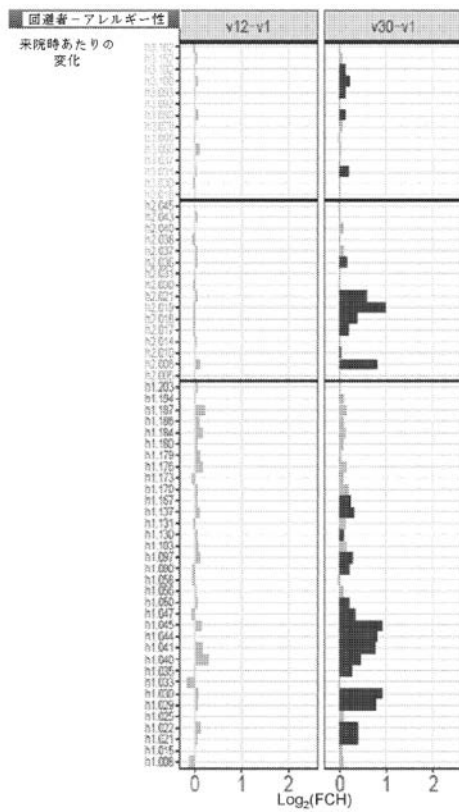
【図 2 - 3】



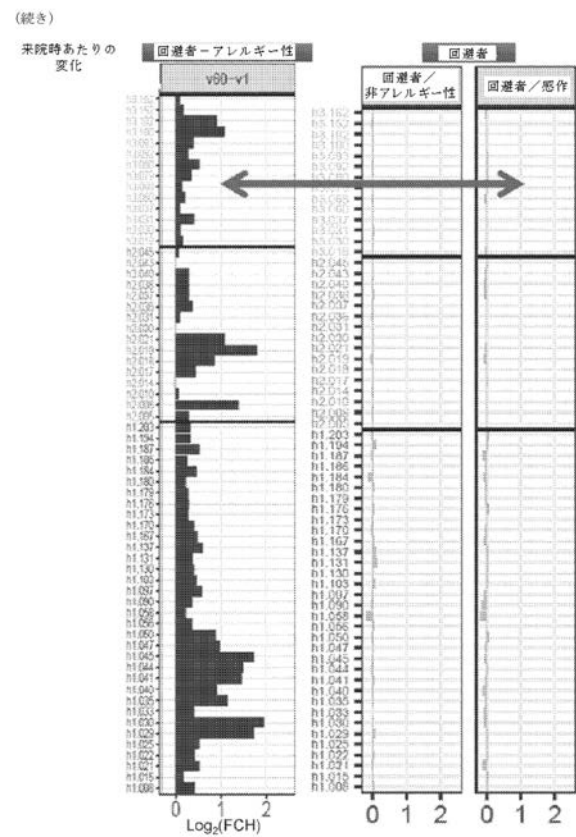
【図 2 - 4】



【図 3 - 1】

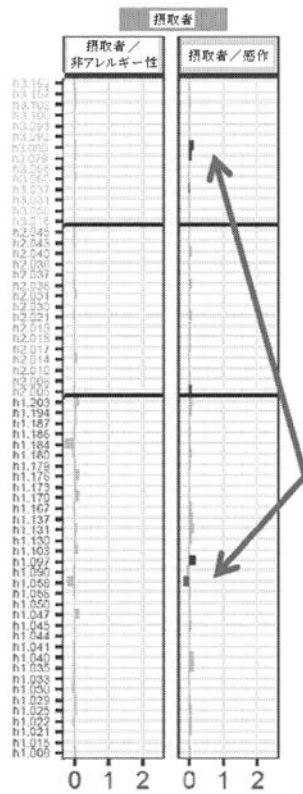


【図 3 - 2】



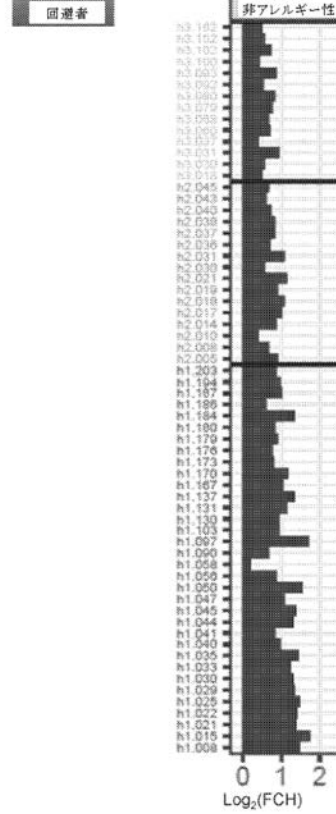
【図 3 - 3】

(続き)



【図 4 - 1】

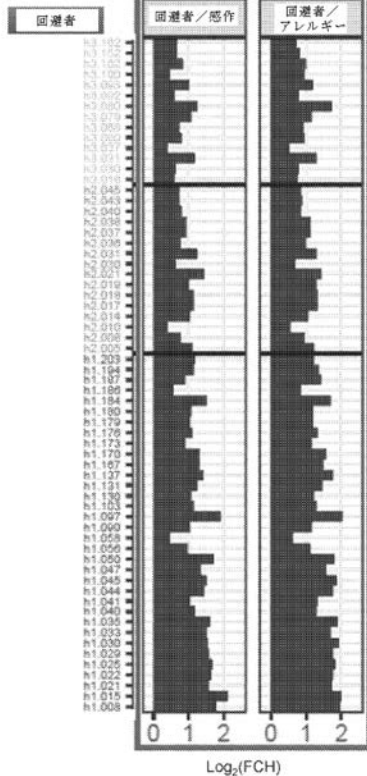
来院 60 時点での変化



【図 4 - 2】

(続き)

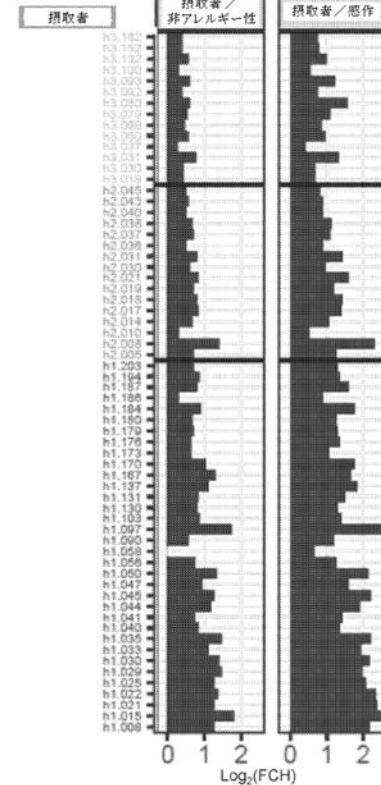
来院 60 時点での変化



【図 4 - 3】

(続き)

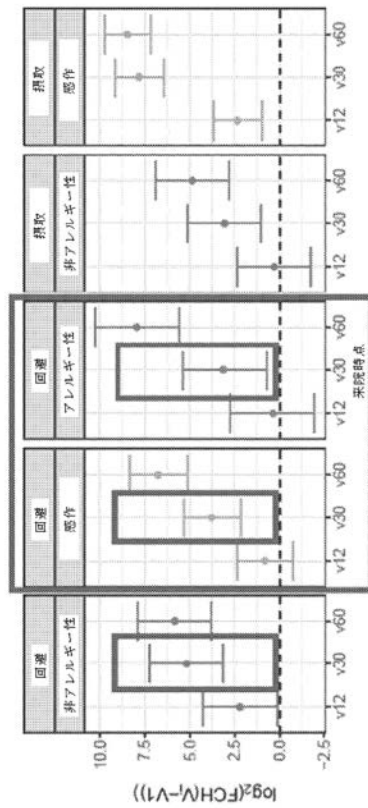
来院 60 時点での変化



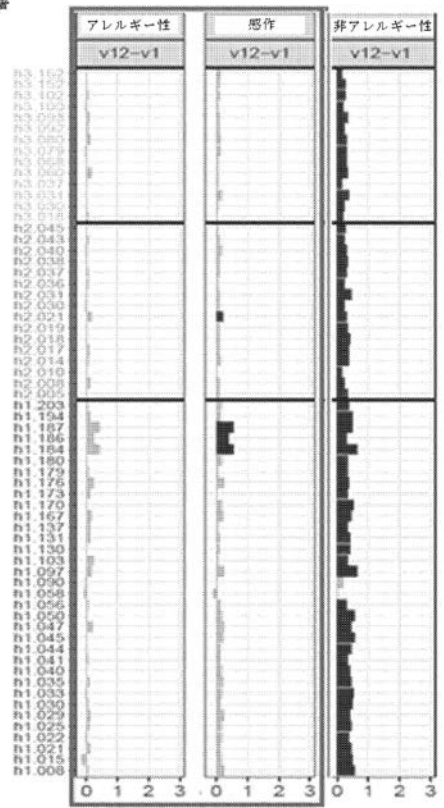
【図 4 - 4】

【図 5 - 1】

(続き)



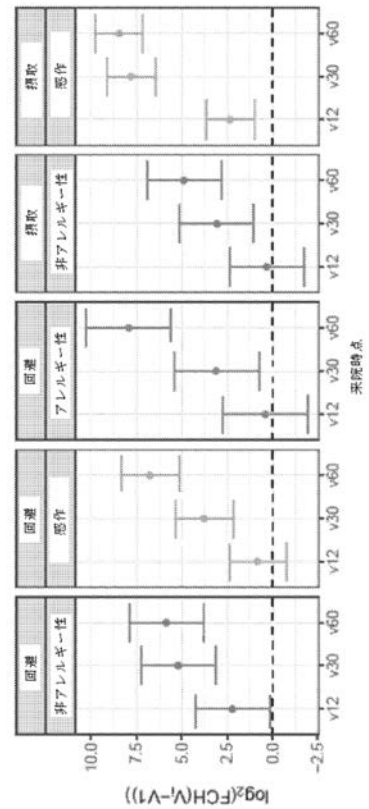
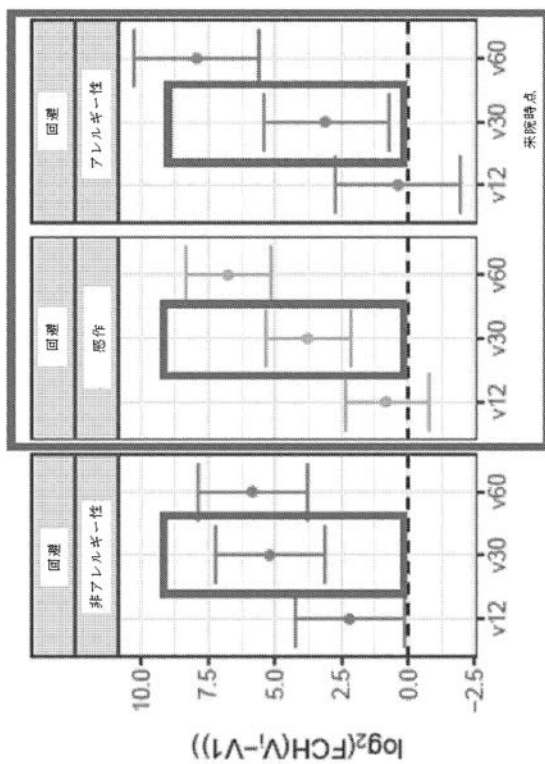
回復者



【図 5 - 2】

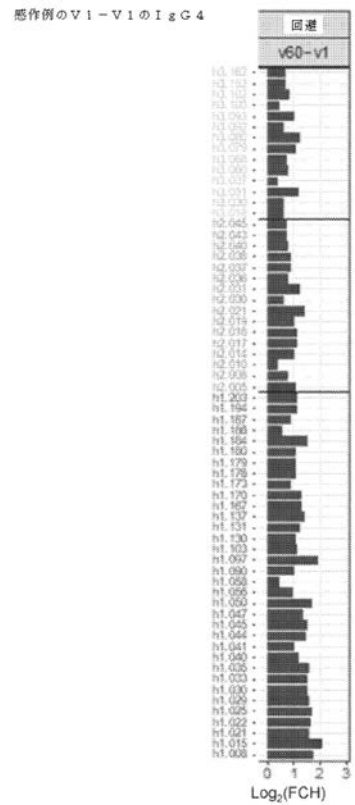
【図 6 - 1】

(続き)



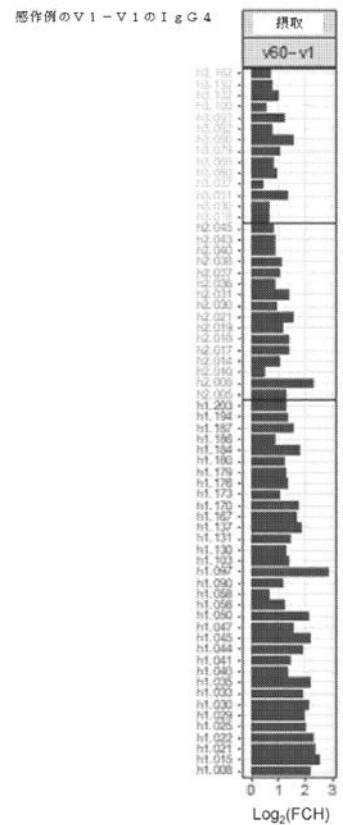
【 図 6 - 3 】

(続き)

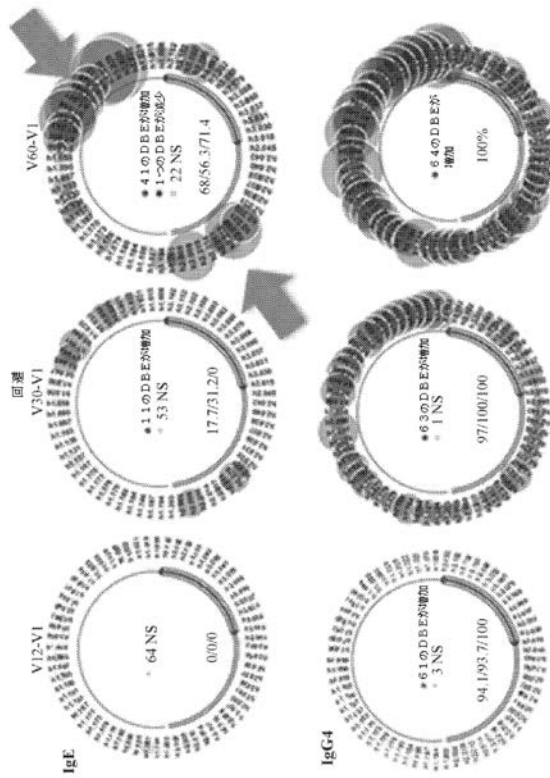


【 図 6 - 5 】

(続き)

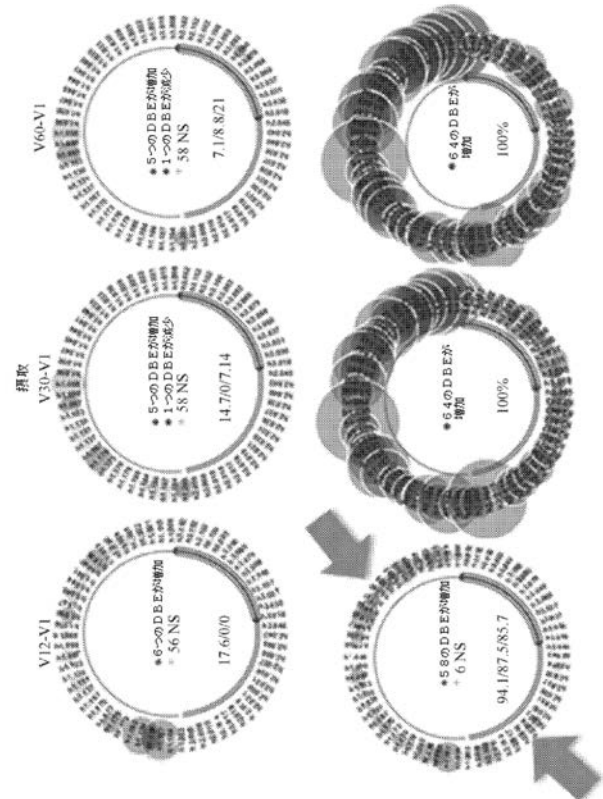


【図 7 - 1】

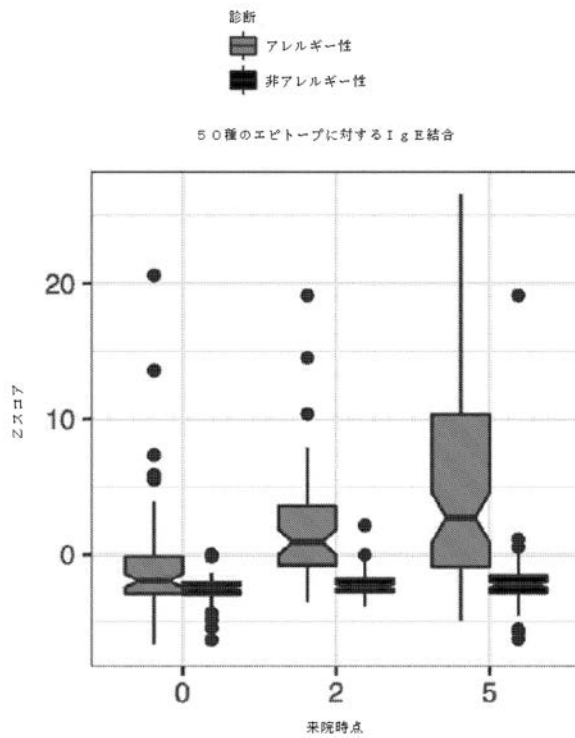


【図 7 - 2】

(続き)

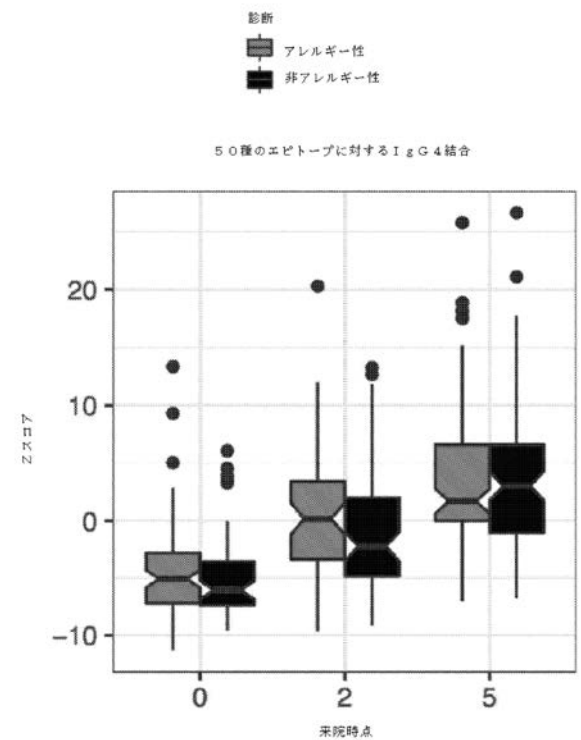


【図 8 - 1】

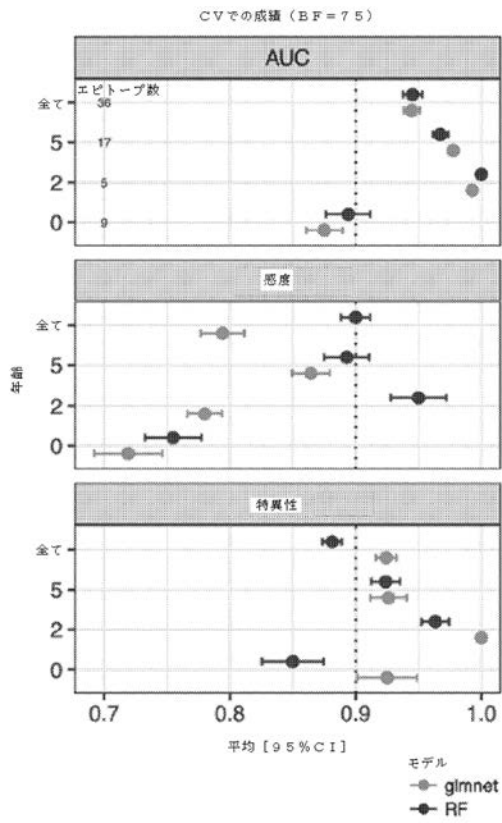


【図 8 - 2】

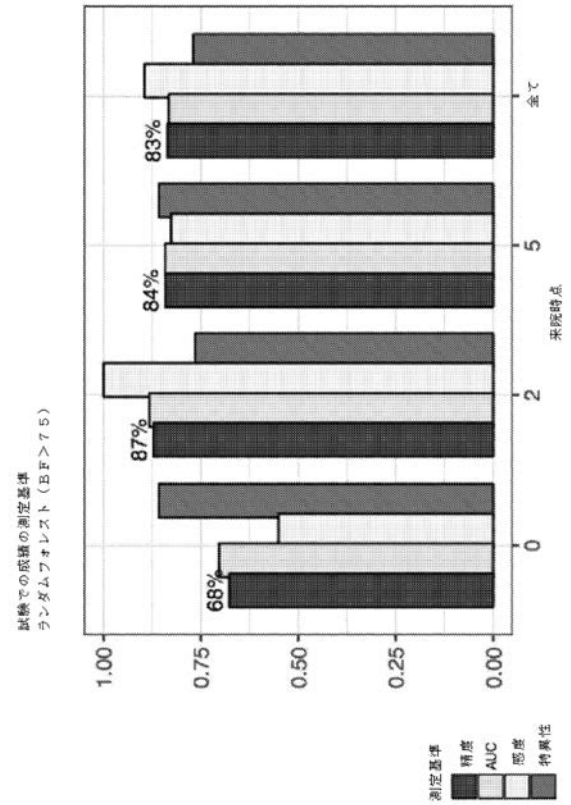
(続き)



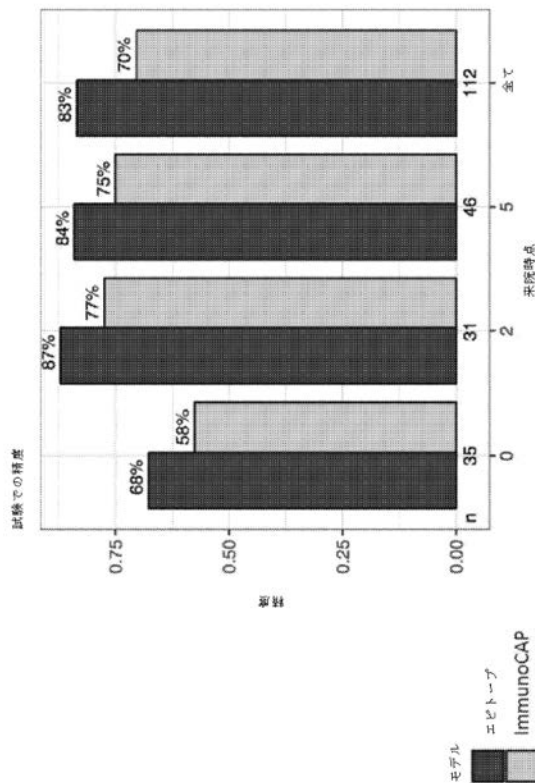
【図 9】



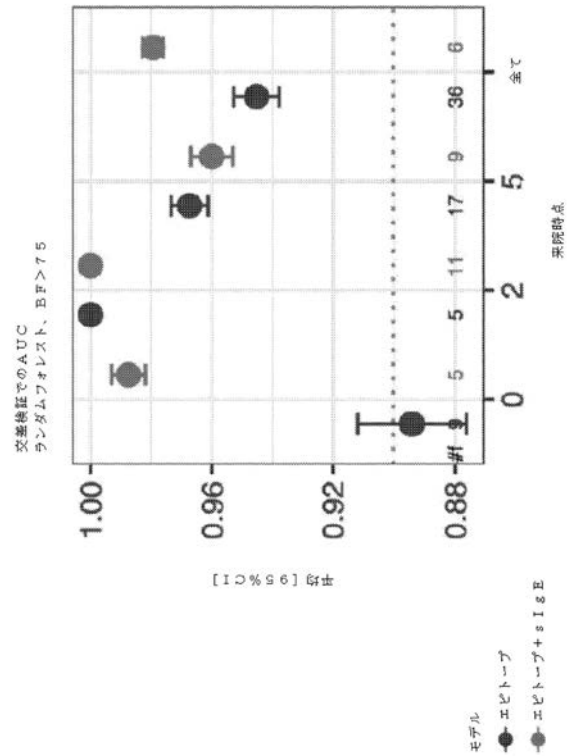
【図 10】



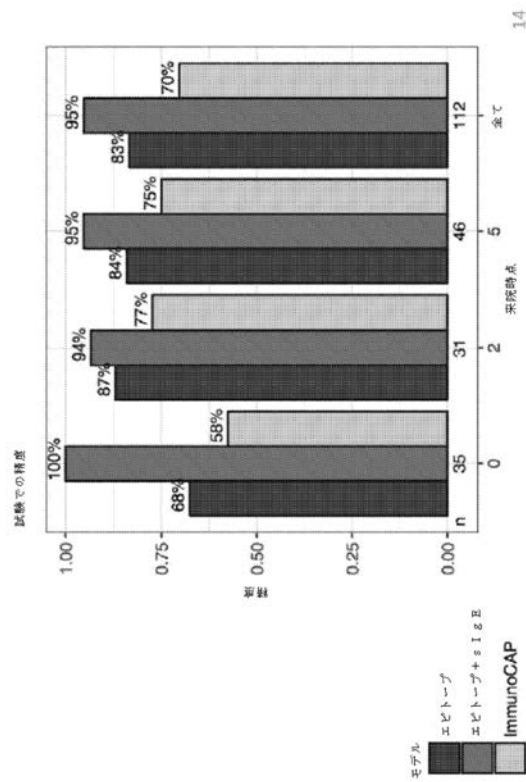
【図 11】



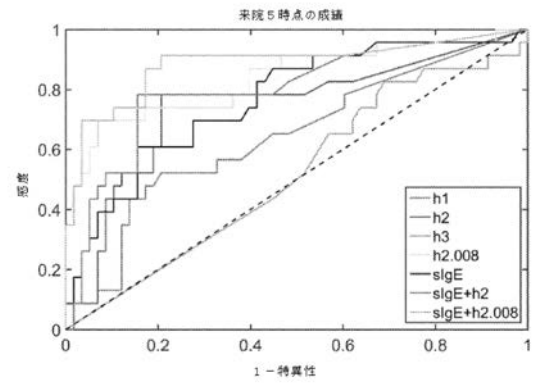
【図 12】



【図 1 3】



【図 1 4】



【配列表】

2021525378000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2019/033227

Box No. 1 Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

a. ☒ forming part of the international application as filed:

☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

☐ on paper or in the form of an image file.

b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

SEQ ID NOs: 1-40 were searched.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2019/033227

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: 13-23, 37-50, 61-71, 83, 84, 96, 97, 112-117
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
See extra sheet(s).

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1, 3, 4, 12, 24-27, 35, 36, 51, 52, 60, 72-74, 82, 98-102, 110, and 111 to the extent that they read on a peanut peptide of SEQ ID NO:4.

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2019/033227

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - G01N 33/02; G01N 33/53; G01N 33/543; G01N 33/564; G01N 33/68 (2019.01)

CPC - G01N 33/564; G01N 33/6854; G01N 2800/24 (2019.08)

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)

See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

USPC - 435/7.1; 435/7.92; 506/9; 506/18; 530/324 (keyword delimited)

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2017/0219578 A1 (GENISPHERE, LLC et al) 03 August 2017 (03.08.2017) entire document	1, 3, 4, 12, 24-27, 35, 36, 51, 52, 60, 98-102, 110, 111
—		72-74, 82
Y	US 2016/0263212 A1 (ANTERA THERAPEUTICS INC.) 15 September 2016 (15.09.2016) entire document	72-74, 82
A	— GREGORY et al. "Immunotherapy using algal-produced Ara h 1 core domain suppresses peanut allergy in mice," Plant Biotechnology Journal, 23 January 2016 (23.01.2016), Vol. 14, Iss. 7, Pgs. 1541-1550. entire document	1, 3, 4, 12, 24-27, 35, 36, 51, 52, 60, 72-74, 82, 98-102, 110, 111
A	US 2015/0168389 A1 (ICAHN SCHOOL OF MEDICINE AT MOUNT SINAI) 18 June 2015 (18.06.2015) entire document	1, 3, 4, 12, 24-27, 35, 36, 51, 52, 60, 72-74, 82, 98-102, 110, 111
A	— LIN et al. "A bioinformatics approach to identify patients with symptomatic peanut allergy using peptide microarray immunoassay," The Journal of Allergy and Clinical Immunology, 26 March 2012 (23.03.2012), Vol. 129, Iss. 5, Pgs. 1321-1328. entire document	1, 3, 4, 12, 24-27, 35, 36, 51, 52, 60, 72-74, 82, 98-102, 110, 111

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ 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

16 September 2019

Date of mailing of the international search report

12 NOV 2019

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents
P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450

Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Blaine R. Copenheaver

PCT Helpdesk: 571-272-4300

PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2019/033227

Continued from Box No. III Observations where unity of invention is lacking

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees need to be paid.

Group I+: claims 1-12, 24-36, 51-60, 72-82, 85-95, and 98-111 are drawn to peanut peptides, methods and kits comprising the same.

The first invention of Group I+ is restricted to a peanut peptide, methods and kits comprising the same, wherein the peanut peptide is selected to be SEQ ID NO:4. It is believed that claims 1, 3, 4, 12, 24-27, 35, 36, 51, 52, 60, 72-74, 82, 98-102, 110, and 111 read on this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they read on a peanut peptide of SEQ ID NO:4.

Applicant is invited to elect additional peanut peptides, each with specified amino acid sequence and/or SEQ ID NO, to be searched in a specific combination by paying an additional fee for each set of election. An exemplary election would be a peanut peptide, methods and kits comprising the same, wherein the peanut peptide is selected to be SEQ ID NO:5. Additional peanut peptides will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that read on any additional elected inventions. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which read on the first named invention if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined.

The inventions listed in Groups I+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1, because under PCT Rule 13.2 they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The Groups I+ formulas do not share a significant structural element responsible for diagnosing, treating, tolerizing, and/or detecting intensities of a peanut allergy, requiring the selection of alternatives for the amino acid sequence of the peanut peptides, where "the one or more peanut peptides is selected from: peptides having at least 3 contiguous amino acids from positions 8 to 66 of ara h 1 allergen; peptides having at least 3 contiguous amino acids from positions 103 to 152 of ara h 1 allergen; peptides having at least 3 contiguous amino acids from positions 176 to 195 of ara h 1 allergen; peptides having at least 3 contiguous amino acids from positions 5 to 40 of ara h 2 allergen; peptides having at least 3 contiguous amino acids from positions 93 to 115 of ara h 3 allergen; peptides having at least 3 contiguous amino acids from positions 30 to 75 of ara h 3 allergen; and/or peptides having at least 3 contiguous amino acids from positions 152 to 167 of ara h 3 allergen" and "the one or more peanut peptides comprise an amino acid sequence selected from any one or more of SEQ ID NOs: 4-67".

Additionally, even if Groups I+ were considered to share the technical features of a method for detecting development of clinical tolerance to peanuts in a subject that is allergic to peanuts comprising: contacting one or more peanut peptides with serum or plasma obtained from the subject under conditions sufficient to permit binding of one or more allergy associated immunoglobulins (AAIs) in the serum or plasma to the one or more peanut peptides, wherein the one or more peanut peptides are coupled to a solid support, to form one or more AAI-peptide-solid support complexes; binding an AAI-specific labeling reagent to the AAI-peptide-solid support complex; detecting binding of the AAI-specific labeling reagent to each AAI-peptide-solid support complex to identify one or more peanut peptides bound to the AAI in the serum or plasma of the subject; and comparing the identified one or more peanut peptides bound to the AAI in the serum or plasma of the subject, or the concentration of the AAI in the serum or plasma of the subject, with a previously identified panel of one or more peanut peptides bound to the AAI in the serum or plasma of the subject, or a previous concentration of the AAI in the serum or plasma of the subject; wherein development of clinical tolerance to peanuts is indicated when: the subsequent number of peanut peptides recognized by IgE AAI in the serum or plasma of the subject, and/or the subsequent concentration of AAI IgE in the serum or plasma of the subject, is less than the previously identified number of peanut peptides recognized by AAI IgE in the serum or plasma of the subject, and/or less than the previous concentration of AAI IgE in the serum or plasma of the subject; and/or the subsequent number of peanut peptides recognized by IgG4 AAI in the serum or plasma of the subject, and/or the subsequent concentration of AAI IgG4 in the serum or plasma of the subject, is greater than the previously identified number of peanut peptides recognized by AAI IgG4 in the serum or plasma of the subject, and/or greater than the previous concentration of AAI IgG4 in the serum or plasma of the subject; a method for diagnosing a peanut allergy, and/or severity of a peanut allergy, in a subject comprising: contacting one or more peanut peptides with serum or plasma obtained from the subject under conditions sufficient to permit binding of one or more allergy associated immunoglobulins (AAIs) in the serum or plasma to the one or more peanut peptides, wherein the one or more peanut peptides are coupled to a solid support, to form one or more AAI-peptide-solid support complexes; binding an AAI-specific labeling reagent to the AAI-peptide-solid support complex; and detecting binding of the AAI-specific labeling reagent to each AAI-peptide-solid support complex to identify one or more peanut peptides bound to the AAI in the serum or plasma of the subject; a wherein recognition of at least one peanut peptide by an AAI in the serum or plasma of the subject indicates that the subject is allergic to peanuts; a method for detecting an increase in intensity of allergy or adverse event during treatment of allergy to peanuts over time in a subject that is allergic to peanuts comprising: contacting one or more peanut peptides with serum or plasma obtained from the subject under conditions sufficient to permit binding of one or more allergy associated immunoglobulins (AAIs) in the serum or plasma to the one or more peanut peptides, wherein the one or more peanut peptide are coupled to a solid support, to form one or more AAI-peptide-solid support complexes, a method of sensitizing an infant to one or more peanut allergens to induce tolerance or non-allergy to peanuts comprising administering one or more peanut peptides to the infant, a set of allergenic epitope-containing peanut peptides comprising a plurality of peanut peptides comprising at least two peptides a kit comprising: a) one or more allergenic epitope-containing peanut peptides wherein each peanut peptide is coupled to a solid support; and b) an allergy associated immunoglobulin (AAI)-specific labeling reagent; packaged together and including instructions for use; these shared technical features do not represent a contribution over the prior art.

Specifically, US 2017/0219578 A1 to Genisphere, LLC. discloses a method for detecting development of clinical tolerance to peanuts in a subject that is allergic to peanuts (predicting whether an allergic subject is likely to develop clinical or natural tolerance over time, Abstract; the invention relates to methods for detecting development of clinical tolerance in a subject having CMA, Para. [0018]; For

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2019/033227

example, allergenic epitope-containing peptide panels derived from allergenic peanut proteins, Para. [0077]; wherein the allergy is allergy to cow's milk, allergy to peanut, Claim 2) comprising: contacting one or more peanut peptides with serum or plasma obtained from the subject under conditions sufficient to permit binding of one or more allergy associated immunoglobulins (AAIs) in the serum or plasma to the one or more peanut peptides, wherein the one or more peanut peptides are coupled to a solid support, to form one or more AAI-peptide-solid support complexes (contacting each solid support with serum obtained from the subject under conditions sufficient to permit binding of allergy-associated immunoglobulin (AAI) in the serum to the peptide on each solid support to form a peptide-AAI complex, Para. [0015]; allergenic epitope-containing peptide panels derived from allergenic peanut proteins, Para. [0077]); binding an AAI-specific labeling reagent to the AAI-peptide-solid support complex ((c) binding an AAI-specific labeling reagent to the peptide-AAI complex, Para. [0016]); detecting binding of the AAI-specific labeling reagent to each AAI-peptide-solid support complex to identify one or more peanut peptides bound to the AAI in the serum or plasma of the subject (analyzing binding of the labeling reagent to each peptide-AAI complex to identify peptides recognized by the AAI in the serum of the subject; wherein recognition of at least one peptide by the AAI in the serum of the subject indicates that the subject is allergic, Para. [0017]); and comparing the identified one or more peanut peptides bound to the AAI in the serum or plasma of the subject, or the concentration of the AAI in the serum or plasma of the subject, with a previously identified panel of one or more peanut peptides bound to the AAI in the serum or plasma of the subject, or a previous concentration of the AAI in the serum or plasma of the subject (an increase in the subsequent concentration of IgE in the serum of the subject that recognizes at least one peptide compared to the initial concentration of IgE in the serum of the subject that recognizes the at least one peptide, indicates increased intensity in the subject of the allergic response to the food); wherein development of clinical tolerance to peanuts is indicated when: the subsequent number of peanut peptides recognized by IgE AAI in the serum or plasma of the subject, and/or the subsequent concentration of AAI IgE in the serum or plasma of the subject, is less than the previously identified number of peanut peptides recognized by AAI IgE in the serum or plasma of the subject (a patient to either develop tolerance or experience an increased allergic response based on the number of epitopes... bound by IgE in the serum of the subject, Para. [0055]; A reduction in the number of peptides reactive with AAI at the subsequent time-point as compared to the initial profile, or a reduction in intensity of binding of AAI to any of the peptides at the subsequent time-point as compared to the initial profile, particularly at least a 2-fold reduction, indicates development of clinical tolerance, Para. [0068]); a method for diagnosing a peanut allergy, in a subject (Provided are peptide biomarkers for diagnosis of allergy, Abstract; allergenic epitope-containing peptide panels derived from allergenic peanut proteins, particularly the Ara h protein family, may be utilized in methods similar to those discussed above, Para. [0078]; the invention encompasses a method for diagnosing a food allergy in a subject, Para. [0081]) comprising: contacting one or more peanut peptides with serum or plasma obtained from the subject under conditions sufficient to permit binding of one or more allergy associated immunoglobulins (AAIs) in the serum or plasma to the one or more peanut peptides, wherein the one or more peanut peptides are coupled to a solid support, to form one or more AAI-peptide-solid support complexes (contacting each solid support with serum obtained from the subject under conditions sufficient to permit binding of allergy-associated immunoglobulin (AAI) in the serum to the peptide on each solid support to form a peptide-AAI complex, Para. [0015]; allergenic epitope-containing peptide panels derived from allergenic peanut proteins, Para. [0077]); binding an AAI-specific labeling reagent to the AAI-peptide-solid support complex (binding an AAI-specific labeling reagent to the peptide-AAI complex, Para. [0016]); and detecting binding of the AAI-specific labeling reagent to each AAI-peptide-solid support complex to identify one or more peanut peptides bound to the AAI in the serum or plasma of the subject (analyzing binding of the labeling reagent to each peptide-AAI complex to identify peptides recognized by the AAI in the serum of the subject, Para. [0017]); wherein recognition of at least one peanut peptide by an AAI in the serum or plasma of the subject indicates that the subject is allergic to peanuts (wherein recognition of at least one peptide by the AAI in the serum of the subject indicates that the subject is allergic, Para. [0017]; allergenic epitope-containing peptide panels derived from allergenic peanut proteins, particularly the Ara h protein family, may be utilized in methods similar to those discussed above, Para. [0078]; the invention encompasses a method for diagnosing a food allergy in a subject, Para. [0081]); a method for detecting an increase in intensity of allergy or adverse event during treatment of allergy to peanuts over time in a subject that is allergic to peanuts (methods for diagnosis of CMA, for detecting development of clinical tolerance to cow's milk proteins, and for detecting increases and decreases in the intensity of the allergy, Para. [0012]; or detect an increase... in the intensity of the allergic response to cow's milk (CMA intensity) in a subject over a period of time, Para. [0026]; allergenic epitope-containing peptide panels derived from allergenic peanut proteins, particularly the Ara h protein family, may be utilized in methods similar to those discussed above, Para. [0078]; the invention encompasses a method for diagnosing a food allergy in a subject, Para. [0081]) comprising: contacting one or more peanut peptides with serum or plasma obtained from the subject under conditions sufficient to permit binding of one or more allergy associated immunoglobulins (AAIs) in the serum or plasma to the one or more peanut peptides, wherein the one or more peanut peptide are coupled to a solid support, to form one or more AAI-peptide-solid support complexes (contacting each solid support with serum obtained from the subject under conditions sufficient to permit binding of allergy-associated immunoglobulin (AAI) in the serum to the peptide on each solid support to form a peptide-AAI complex, Para. [0015]; allergenic epitope-containing peptide panels derived from allergenic peanut proteins, Para. [0077]); a set of allergenic epitope-containing peanut peptides comprising a plurality of peanut peptides comprising at least two peptides (several peptides in the panel were highly reactive with the sera of the individual, Para. [0070]; allergenic epitope-containing peptide panels derived from allergenic peanut proteins, Para. [0077]); a kit (kit, Para. [0072]) comprising: a) one or more allergenic epitope-containing peanut peptides wherein each peanut peptide is coupled to a solid support (the reagents for use in any of the foregoing methods may be packaged together in the form of a kit comprising a plurality of allergenic epitope-containing peptides, Para. [0072]; allergenic epitope-containing peptide panels derived from allergenic peanut proteins, Para. [0077]); and b) an allergy associated immunoglobulin (AAI)-specific labeling reagent (a labeling reagent comprising an antihuman IgE antibody conjugated to a first reporter moiety, Para. [0072]); packaged together and including instructions for use (The kit will typically include instructions for use of these reagents in one or more of the methods of the invention described above, Para. [0072]).

US 2016/0263212 A1 to Antera Therapeutics Inc. discloses a method of sensitizing an infant to one or more peanut allergens to induce tolerance or non-allergy to peanuts (methods can be used for tolerizing the immune system... allergens that are designed to be administered in escalating doses to, for example, an infant, Abstract; where the allergen is a peanut allergen, Para. [0008]) comprising administering one or more peanut peptides to the infant (Generally, upon administration over time, the amount(s) of the allergen (s) in Subsequent administrations increases, and the increase may be linear or logarithmic, Para. [0016]; the composition containing the allergen (e.g., peanut flour); the compositions can be administered at 2-730 (e.g., about 2-365 or 2-120), Para. [0017]; are intended to be administered to humans (e.g., human infants), Para. [0393]).

The inventions listed in Groups I+ therefore lack unity under Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical features.

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 M 1/34 (2006.01)	C 0 7 K 14/415	
A 6 1 P 37/08 (2006.01)	C 0 7 K 17/00	
A 6 1 K 38/16 (2006.01)	C 0 7 K 17/14	
A 6 1 K 38/10 (2006.01)	C 1 2 M 1/34	F
C 1 2 N 15/29 (2006.01)	A 6 1 P 37/08	
	A 6 1 K 38/16	
	A 6 1 K 38/10	
	C 1 2 N 15/29	

(81) 指定国・地域 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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, 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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1 . T W E E N

2 . M A T L A B

(74) 代理人 100068755

弁理士 恩田 博宣

(74) 代理人 100142907

弁理士 本田 淳

(74) 代理人 100152489

弁理士 中村 美樹

(72) 発明者 ゲッツ、ロバート シー .

アメリカ合衆国 1 9 4 4 0 ペンシルバニア州 ハットフィールド スターリング ドライブ
2 8 0 1

(72) 発明者 カーニー、ポール

アメリカ合衆国 1 9 4 4 0 ペンシルバニア州 ハットフィールド スターリング ドライブ
2 8 0 1

(72) 発明者 サンプソン、ヒュー エイ .

アメリカ合衆国 1 0 0 2 9 ニューヨーク州 ニューヨーク ワン グスタフ エル . レビー
ブレイス 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

(72) 発明者 スアレス - ファリナス、マイテ

アメリカ合衆国 1 0 0 2 9 ニューヨーク州 ニューヨーク ワン グスタフ エル . レビー
ブレイス 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

F ターム(参考) 4B029 AA07 BB15 BB17 FA12 GA03

4C084 AA01 AA02 BA01 BA08 BA18 BA22 BA23 BA44 MA52 MA63
MA66 NA14 ZB131 ZB132 ZC511

4H045 AA11 AA20 AA30 BA12 BA13 BA14 BA15 BA16 BA17 BA18
BA19 BA20 BA63 CA33 DA86 EA20 EA22 EA50 FA33