

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マコード <sup>*</sup> (参考)
C12N 15/02	ZNA	C07K 16/00	4B024
C07K 16/00		C12P 21/08	4B064
C12P 21/08		C12N 15/00	ZNA C 4H045

審査請求 未請求 請求項の数15 O L (全19頁)

(21)出願番号	特願2001 - 74263 ( P 2001 - 74263 )	(71)出願人	396020800 科学技術振興事業団 埼玉県川口市本町 4 丁目 1 番 8 号
(22)出願日	平成13年 3月15日 (2001.3.15)	(71)出願人	000231109 株式会社ジャパンエナジー 東京都港区虎ノ門二丁目10番 1号
		(72)発明者	小松 靖彦 埼玉県戸田市新曽南 3 - 17 - 35 株式会社 ジャパンエナジー内
		(72)発明者	吉田 稔 埼玉県川口市安行655 - 21
		(74)代理人	100102668 弁理士 佐伯 憲生

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アセチルリジン認識モノクローナル抗体及びその製造方法

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 隣接のアミノ酸の種類に依存せずにN - アセチルリジン残基を認識し得る抗アセチルリジンモノクローナル抗体とその製造法の提供。

【解決手段】 軽鎖が、不変領域がマウスモノクローナル抗体の特定のアミノ酸配列からなり、可変領域がマウス由来の特定のアミノ酸配列又は該アミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなるものであって、且つ、重鎖が、不変領域がマウス由来の特定のアミノ酸配列からなり、可変領域がマウス由来の特定のアミノ酸配列又は該アミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる、蛋白質中のN - アセチルリジンを認識するに際し、隣接のアミノ酸の種類に特に依存せず広範囲の隣接アミノ酸を許容し得るモノクローナル抗体と、化学的にアセチル化した蛋白質を抗原として用いる該モノクローナル抗体の製造方法。

## 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 N - アセチルリジンを認識するモノクローナル抗体。

【請求項 2】 蛋白質中の N - アセチルリジンを認識するに際し、隣接のアミノ酸の種類に特に依存せず広範囲の隣接アミノ酸を許容し得る、請求項 1 に記載のモノクローナル抗体。

【請求項 3】 モノクローナル抗体が、( 1 ) 軽鎖が、不変領域が配列番号：1 に記載されたアミノ酸配列からなり、可変領域が配列番号：2 に記載されたアミノ酸配列又は該アミノ酸配列において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなるものであって、且つ、( 2 ) 重鎖が、不変領域が配列番号：3 に記載されたアミノ酸配列からなり、可変領域が配列番号：4 に記載されたアミノ酸配列又は該アミノ酸配列において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなるものである請求項 1 又は 2 に記載のモノクローナル抗体。

【請求項 4】 軽鎖の可変領域が、配列番号：2 に記載されたアミノ酸配列において 1 若しくは数個のアミノ酸が置換されたアミノ酸配列からなるものである請求項 3 に記載のモノクローナル抗体。

【請求項 5】 配列番号：2 に記載されたアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が置換されたアミノ酸配列が、配列番号：5 に記載されたアミノ酸配列である請求項 4 に記載のモノクローナル抗体。

【請求項 6】 配列番号：2 に記載されたアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が置換されたアミノ酸配列が、配列番号：6 に記載されたアミノ酸配列である請求項 4 に記載のモノクローナル抗体。

【請求項 7】 配列番号：2 に記載されたアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が置換されたアミノ酸配列が、配列番号：7 に記載されたアミノ酸配列である請求項 4 に記載のモノクローナル抗体。

【請求項 8】 重鎖の可変領域が、配列番号：4 に記載されたアミノ酸配列において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなるものである請求項 3 ~ 7 の何れかに記載のモノクローナル抗体。

【請求項 9】 配列番号：4 に記載されたアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が置換されたアミノ酸配列が、配列番号：8 に記載されたアミノ酸配列である請求項 8 に記載のモノクローナル抗体。

【請求項 10】 配列番号：4 に記載されたアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列が、配列番号：9 に記載されたアミノ酸配列である請求項 8 に記載のモノクローナル抗体。

【請求項 11】 配列番号：4 に記載されたアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が付加されたアミノ酸配列が、配列番号：10 に記載されたアミノ酸配

列である請求項 8 に記載のモノクローナル抗体。

【請求項 12】 マウスモノクローナル抗体である請求項 1 ~ 11 の何れかに記載のモノクローナル抗体。

【請求項 13】 化学的にアセチル化した蛋白質を抗原として用いることを特徴とする請求項 1 ~ 12 の何れかに記載のモノクローナル抗体の製造方法。

【請求項 14】 蛋白質が分子内に複数のリジンを有する蛋白質である請求項 13 に記載の製造方法。

【請求項 15】 化学的にアセチル化した蛋白質がアセチル化したムラサキカサガイヘモシアニンである請求項 13 に記載の製造方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は新規なモノクローナル抗体及びその製造方法に関する。詳しくは、隣接のアミノ酸の種類に依存せずに蛋白質中の N - アセチルリジン残基を認識し得るモノクローナル抗体とその製造方法に関する。

## 【0002】

【従来技術】近年真核生物の遺伝子発現制御においてコアヒストンの N 末端領域のリジン残基の N - アセチル化が重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。そのアセチル化を担う酵素であるヒストンアセチルトランスフェラーゼ及び脱アセチル化を担う酵素であるヒストンデアセチラーゼは 1996 年に初めてクローニングされたが、その後同活性を有する分子が複数見だされてきている。また、近年ではヒストン以外に p53、TCF、HMG - 1 等種々の非ヒストン蛋白質がアセチル化を受けることが明らかにされてきており、アセチル化はリン酸化に匹敵する広範な役割を果たす翻訳後修飾である可能性が指摘されるようになった。上記のような未知の新規アセチル化蛋白質を検索するためには N - アセチルリジン残基を特異的にかつ隣接アミノ酸のい

かんを問わず認識するプローブ分子が有用であることは論を待たない。その様な目的に最もかなった分子としては抗体が考えられるが、これまでに隣接アミノ酸の種類によらず様々な状況下のアセチルリジンを認識できる抗体はほとんど報告されていなかった。

## 【0003】

【発明が解決しようとする課題】本発明は上記した如き現状に鑑みなされたもので、隣接のアミノ酸の種類に特に依存せず広範囲の隣接アミノ酸を許容し得る、N - アセチルリジン認識抗アセチルリジンモノクローナル抗体を提供することを目的とする。

## 【0004】

【課題を解決するための手段】本発明者等は、上記課題を解決すべく鋭意研究を重ねた結果、広範囲の隣接アミノ酸を許容する抗アセチルリジンモノクローナル抗体を作製することに成功した。また、作製したモノクローナル抗体の可変領域の cDNA 配列を決定することによ

り、作製した抗体が互いに類似した構造上の特徴を有していることを明らかにし、本発明を完成するに至った。

【0005】即ち、本発明は、N - アセチルリジンを認識するモノクローナル抗体に関する。詳しくは、蛋白質中のN - アセチルリジンを認識するに際し、隣接のアミノ酸の種類に特に依存せず広範囲の隣接アミノ酸を許容し得る、該モノクローナル抗体に関する。

【0006】更に詳しくは、(1) 軽鎖が、不変領域が配列番号：1に記載されたアミノ酸配列からなり、可変領域が配列番号：2に記載されたアミノ酸配列又は該アミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなるものであって、且つ、(2) 重鎖が、不変領域が配列番号：3に記載されたアミノ酸配列からなり、可変領域が配列番号：4に記載されたアミノ酸配列又は該アミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる、該モノクローナル抗体に関する。

【0007】また、本発明は、化学的にアセチル化した蛋白質を抗原として用いることを特徴とする該モノクローナル抗体の製造方法に関する。

【0008】

【発明の実施の形態】本発明のモノクローナル抗体において、軽鎖の可変領域が、配列番号：2に記載されたアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が置換されたアミノ酸配列からなるものとしては、例えば、配列番号：5、配列番号：6又は配列番号：7等に記載のアミノ酸配列を有するものが挙げられる。また、本発明のモノクローナル抗体において、重鎖の可変領域が、配列番号：4に記載されたアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が置換されたアミノ酸配列からなるものとしては、例えば、配列番号：8に記載のアミノ酸配列を有するもの等が、1若しくは数個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列からなるものとしては、例えば、配列番号：9に記載のアミノ酸配列を有するもの等が、また、1若しくは数個のアミノ酸が付加されたアミノ酸配列からなるものとしては、例えば、配列番号：10に記載のアミノ酸配列を有するもの等が、それぞれ挙げられる。

【0009】本発明のモノクローナル抗体は、N - アセチルリジンを認識する抗体であって、且つ、蛋白質中に存在するN - アセチルリジン残基を認識する際に、隣接のアミノ酸の種類に特に依存せず、広範な隣接アミノ酸を許容するという性質を有するが、これらの抗体はアセチルリジンを含有する様々な分子を抗原に用いることにより製造することができる。特に優れた性質の抗体は、複数のリジン残基を持つ蛋白質を化学的にアセチル化したものを抗原として用いる作製方法によりもたらされる。本発明の抗体は、例えばアセチルリジンを含む合成ペプチドをムラサキカサガイヘモシアニン等のキャリアー蛋白質に結合させたもの、あるいは複数のリジン残

基を化学的にアセチル化した蛋白質、例えば無水酢酸でアセチル化したムラサキカサガイヘモシアニンを抗原として用いて動物、例えばマウスを免疫し、得られた抗体産生細胞、例えば脾臓細胞を、例えばミエローム細胞と融合させることによって不死化することにより得られる抗体産生不死化細胞により産生される。上記抗原分子の内、分子中に複数のリジン残基を含む蛋白質を化学的にアセチル化したものを用いる方法は単一のリジン残基を含むペプチドを抗原とした方法よりもより好ましい。従って、優れた抗体を得るために多種類のアセチルリジン含有ペプチドの混合物を用いることが好ましいことは容易に想像できる。

【0010】また、別の方法として、例えばファージにディスプレイされた抗体ライブラリーを抗原とのアフィニティーによりスクリーニングする様な方法により抗体産生細胞を得ることもできる。この様な抗体産生不死化細胞を得るためには従来から使用されているモノクローナル抗体産生技術及び将来開発される新たなモノクローナル抗体産生技術をとともに全て利用出来る。

【0011】抗体産生細胞のスクリーニングは複数のリジン残基をアセチル化した抗原とは異なる蛋白質、例えばアセチル化ウシ血清アルブミンや種々の隣接アミノ酸を有するアセチルリジン含有ペプチドを用いて、なるべく多くの隣接アミノ酸を許容する抗体を産生するクローンを選別することにより行うことができる。また、産生された抗体分子は、アセチルリジンを固相化したアフィニティーカラムや、プロテインAを用いたアフィニティーカラムにより精製できる。産生された抗体が本発明の抗体であるかどうかは、抗体産生不死化細胞の抗体遺伝子の可変領域のDNA配列を解析し、それを蛋白質に翻訳した際の配列的特徴が上記配列に高度に類似するかどうかで判断できる。

【0012】また、本発明は前記してきた本発明のN - アセチルリジンを認識するモノクローナル抗体をコードする遺伝子、好ましくはDNAを提供するものでもある。本発明のDNAの例を配列表の配列番号11~18に示す。配列番号の11~14は軽鎖に関するものであり、配列番号15~18は重鎖に関するものである。本発明のDNAはこれらの相補鎖又はこれらの塩基配列にストリージェントな条件下でハイブリダイズし得る塩基配列を包含している。本発明のモノクローナル抗体は、感作動物としてマウス、ラット、ウサギ、イヌなどの各種の哺乳動物や、ニワトリなどの鳥類などを使用することもできる。また、本発明のモノクローナル抗体の可変領域及びノ又は超可変領域をもちいてキメラ抗体やヒト型抗体にすることもできる。

【0013】

【実施例】以下、実施例により本発明を更に詳細に説明するが、本発明はこれら実施例により何ら限定されるものではない。

【0014】実施例1. 抗N - アセチルリジンモノクローナル抗体の作製

表1に記載の三種類の免疫用抗原及びスクリーニング用抗原の組み合わせで抗N - アセチルリジンモノクローナル抗体の作製を行った。なお、ウシ血清アルブミン及びムラサキカサガイヘモシアニンのアセチル化は、無水酢酸を用いて以下の方法で行った。10mgの蛋白質を1mlのホウ酸緩衝液(20mM Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub> · p

H9.3)に溶解し、氷冷下、250μmolの無水酢酸(約22.6μl)と500μlの1M NaOHを加え、30分間時々かき混ぜながらインキュベートした。反応終了後、G-25ゲルろ過(PD-10, ファルマシア社)を用いて溶媒交換して、アセチル化蛋白質のリソ酸緩衝液(PBS)溶液を得た。

【0015】

【表1】

	免疫用抗原	スクリーニング用抗原
ケース1	ヒストンH4N末ペプチドをアセチル化したものとムラサキカサガイヘモシアニンのコンジュゲート	ヒストンH3N末ペプチドをアセチル化したもの
ケース2	ヒストンH4N末ペプチドをアセチル化したものとムラサキカサガイヘモシアニンのコンジュゲート	ウシ血清アルブミンを無水酢酸でアセチル化したもの
ケース3	ムラサキカサガイヘモシアニンを無水酢酸でアセチル化したもの	ウシ血清アルブミンを無水酢酸でアセチル化したもの、及びアセチル化ペプチド

【0016】免疫はBalb/cマウスのメスにて行い、一週間ごとに3回、一回目はフロイド完全アジュバントを、二回目及び三回目はフロイド不完全アジュバントを用いて、背部皮下に行った。免疫量は0.1mg/マウスである。免疫が成立したマウスから、常法を用いて抗アセチルリジンモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマのクローニングを行った。その結果、ケース1からクローン-1、ケース2からクローン-2、ケース3からクローン-3及びクローン-4の計4クローンをそれぞれ樹立できた。ELISAプレート(岩城硝子、AquaBind plate)にC末システインを介して共有結合した種々のアセチルリジン含有ペプチドを用いて、それらに対する反応性を比較した結果を図1に示した。図1中、Aはクローン-1、Bはクローン-2、Cはクローン-3、Dはクローン-4の結果をそれぞれ示す。各グラフの右には吸光度0.5を与える時の各抗体の濃度を記してある。なお、図中使用されたペプチドの一覧は以下の表2に示すとおりである。図1に示されるように、クローン-1~4のいずれの抗体も様々な隣接アミノ酸が存在する条件下でアセチルリジンに対して結合反応性を示すことが判った。この実験からは、特にクローン-2~4の三つが今回調べたペプチドのいずれともほぼ同程度の反応性を示し、隣接アミノ酸を広く許容することが明らかになった。また、抗体のアイソタイプを決定した結果、いずれもIgG1であることを確認した。

【0017】

【表2】

name of peptide	sequence
H2A-5-GKQ	SGRGK(Ac)QGQKC
H2B-5-AKS	PEPAK(Ac)SAPAC
H2B-12-KKG	PAPKK(Ac)GSKKC
H2B-15-SKK	KKGSK(Ac)KA VTC
H3-9-RKS	TARK(Ac)STGGKAC
H3-14-GKA	STGGK(Ac)APRKC
H3-18-RKQ	KAPRK(Ac)QLATC
H3-23-TKA	LATK(Ac)AARKSAC
H4-5-GKG	SGRGK(Ac)GQKGLC
H4-16-AKR	KGGAK(Ac)RHRKVC
H4RC	SGRGKGGKGLGKGAKRHRKVC
p53-320	SPQPKK(Ac)KPLC
p53-373	HLKSKK(Ac)GQSC
p53-382	TSRHKK(Ac)LMFC

名称の右に付加した数字は各蛋白質中の該当アセチルリジン残基の位置を示す。H4RCは非アセチル化ペプチドである。なお、表中のアミノ酸配列は一文字表記で表した。

【0018】実施例2. ウエスタンブロッティング法によるアセチル化蛋白質の検出

B16/BL6、MOLT-4F、HeLa-S3、COS-1、及びCOS-7の5種の細胞を1μMのヒストンデアセチラーゼ阻害剤CHAP31で24時間処理した後、細胞ライセートを調製し、電気泳動で展開後、上記4種の抗体を一次抗体として使用して、アセチル化蛋白質の検出を実施した。結果を図2に示す。図2中、A、B、C、Dはそれぞれ、クローン-1、クローン-2、クローン-3、及びクローン-4抗体を用いて検出を行った結果を示す。ウエスタンブロッティングに用いた一次抗体の濃度は、それぞれ、107、65.7、258、及び158ng/mlであり、いずれもアセチル

化ウシ血清アルブミンを固相化したELISAにおいて同じ反応性(A492=1)を与える濃度である。各細胞を1μMのCHAP31で24時間処理した後の細胞(+ )または無処理の細胞(- )から総細胞ライセートを調製した。各レーンには20μgの蛋白質を乗せた。用いた5種の細胞は1: B16/BL6、2: MOLT-4F、3: HeLa-S3、4: COS-1、及び5: COS-7である。図2に示されるように、実施例1のケース1で作製したクローン-1抗体はCHAP31で亢進したヒストンのアセチル化以外検出出来ず、またケース2で作製したクローン-2はヒストン以外に数個の蛋白を検出できるがそれ以外に対する反応性は不十分であったのに対して、ケース3で作製したクローン-3及びクローン-4抗体はMOLT-4F、COS-1、及びCOS-7細胞においてヒストン以外に、50kDa付近の位置のアセチル化蛋白質を強く検出し、更に、MOLT-4F細胞では20kDa付近及び高分子部分の複数の蛋白質を、COS-7細胞では更に多くのアセチル化蛋白質を検出出来ることが分かった。この検討により、ウエスタンブロットング法によるアセチル化非ヒストン蛋白質の検出には、アセチル化ムラサキカサガイヘモシアニン抗原として用いたクローン-3及び-4が特に優れていることが確認された。即ち、アセチルリジンの隣接アミノ酸をより広く許容する抗体を作製するためには、アセチル化ムラサキカサガイヘモシアニンに代表される、蛋白質内の複数のリジン残基がアセチル化された分子を抗原として用いることが優れていることが判った。

#### 【0019】実施例3 . N - アセチルリジンに対する特異性の確認

作製した抗体がN - アセチルリジンに特異的に反応していることを確かめるために、ELISAプレートにアセチル化ウシ血清アルブミンを固相化し、各抗体のELISA反応性がN - アセチルリジン及びN - アセチルリジンで競合されるかどうかを調べた。即ち、1μg/mlのアセチル化ウシ血清アルブミンのリン酸緩衝液(50μl)溶液で一晩4で固相化したELISAプレートを用いて、各抗体1μg/mlを反応させる条件でN - アセチルリジン及びN - アセチルリジンによる阻害を調べた。結果を図3に示す。図3中、  
、  
、及びは、N - アセチルリジンによる阻害を、また、  
、  
、及びは、N - アセチルリジンによる阻害を調べた結果をそれぞれ示す。また、  
及びはクローン-1を用いた場合の結果を、  
及びはクローン-2を用いた場合の結果を、  
及びはクローン-3を用いた場合の結果を、  
及びはクローン-4を用いた場合の結果をそれぞれ示す。図3から明らかのように、クローン-1~4のいずれの抗体の反応もN - アセチルリジンによっては競合され反応性が低下したが、N - アセチルリジンでは競合されず、これらの抗

体がN - アセチルリジンに特異的に反応していることが明らかになった。

#### 【0020】実施例4 . 各抗体の可変領域のcDNA及びアミノ酸配列決定

どのような可変領域のアミノ酸配列がAKL3H6及びAKL5C1抗体の上記実施例に示されたような優れた性質を担っているのかを明らかにするために、ハイブリドーマより各抗体のL鎖及びH鎖の可変領域のDNAをクローニングし、その配列を決定した。クローニングは、まずハイブリドーマからQIAGEN社のRNeasy Mini Kitを用いてRNAを単離した後、random-9merをテンプレートとして用いSawady TechnologyのTrueScript IIRTを用いて逆転写反応を実施し、更に、5'-プライマーとしてNovagen社のmixプライマーを、3'-プライマーとして、軽鎖に関しては、5'-ACTGTTTCAGGACGCCATTTTGTCTTCACT-3'、重鎖に関しては、5'-GGATCCAGAGTTCCAGGTCAGTCTGT-3'をプライマーとして用いてSawady Technology社のSuperTaq 2x kitによるPCR法により可変領域cDNAを増幅することにより行った。得られたDNA断片はNovagen社のpT7 Blue T-VectorにTaKaRaのDNALigation kit ver.2を用いてライゲートし、それを用いて宝酒造のJM109コンピテントセルをトランスフォームし、X-gal、アンピシリン、IPTG含有プレートに播種後、白いコロニーをピックアップした。正常なサイズのインサートを含むクローン各5種よりプラスミドを調製後、ABI PRISM 310型自動シーケンサーを用いてDNA配列を決定した。決定した配列は一部にPCRエラーによると思われる変異が認められた以外は5クローンとも同じ配列を示したので、その配列をもって目的のDNA配列とした。結果を配列番号: 11~配列番号: 18に示す。また、上記のごとく決定したDNA配列を元にしてL鎖及びH鎖のアミノ酸配列を推定した結果を配列番号: 19~配列番号: 26に示す。また、図4には、アミノ酸配列をアラインし、各抗体の重鎖及び軽鎖可変領域のアミノ酸配列を比較した結果を示す。なお、アミノ酸は一文字表記で表した。また、可変領域中の相補性決定領域を四角で囲って、CDR1~3と明示した。この図で判る通り、3回の独立の免疫操作により得た4種の抗体は何れも共通のフレームワーク構造を有しており、この共通性がアセチルリジン認識自体に何らかの重要性をもっているものと思われる。一方、実施例1及び2で示したような、抗体間の性質の違いは、ここで示される、配列のわずかな違いに帰着されるはずであるが、立体構造的な情報が無い現時点では、どこの部分の差異が抗体のどのような性質の違いをもたらしているのかまでは明らかでない。

## 【0021】

【発明の効果】本発明の抗体はアセチルリジンの隣接アミノ酸の種類に余り依存せずアセチルリジンを検出することができるので、既知の種々のアセチル化蛋白質のアセチル化状態を検出するのに有用である。例えば、種々の刺激剤の影響下ヒストンのアセチル化レベルがどう変動するかをウエスタンブロットング等の方法で容易に検出できる。また、本発明の抗体は同様の理由から未知の新たなアセチルリジン含有蛋白質を検索するのも非常に有用である。具体的には、本抗体を用いた免疫沈降法や本抗体を固相化したアフィニティカラムあるいは抗体チップ等を使用することにより、未知の新規なアセチルリジン含有蛋白質を見出せることが予想される。更に、本発明の抗体はモノクローナル抗体であるから、既

## 配列表

## SEQUENCE LISTING

<110> Japan Science and Technology Corporation ;  
Japan Energy Corporation  
<120> A monoclonal antibody for N -acetyl-lysine and a method for  
preparation thereof  
<130> PA906412  
<160>  
<210> 1  
<211> 57  
<212> PRT  
<213> MOUSE  
<400> 1  
Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser  
1 5 10 15  
Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn  
20 25 30  
Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser  
35 40 45  
Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser  
50 55 57  
<210> 2  
<211> 110  
<212> PRT  
<213> MOUSE  
<400> 2  
Asp Ala Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly  
1 5 10 15  
Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Ser  
20 25 30  
Asn Gly Asn Thr Asp Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
35 40 45  
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Leu  
50 55 60  
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
65 70 75 80

に樹立された方法により一本鎖抗体に改変可能で、あるいは、エピトープがアセチルリジンと小さいことから、軽鎖または重鎖のいずれか一方のみで活性を持つ可能性もあり、そうならばこれをコードするDNAを用いたツナー・ハイブリッド法により、抗体に対するアフィニティの弱いアセチルリジン含有蛋白質を発見することにも用いることもできる。また、種々の細胞内で発現させることにより、アセチルリジン含有蛋白質の機能解析にも用い得る。更に、将来的に病態と何らかの関連を示すアセチル化蛋白質の存在が明らかになった上は、その診断法を構築する上で重要な役割を果たし得る。

## 【0022】

## 【配列表】

11  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Leu Gln Val  
                   85                  90                  95  
 Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Asp  
                   100                  105                  110

<210> 3  
 <211> 54  
 <212> PRT  
 <213> MOUSE  
 <400> 3

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser  
   1                  5                  10                  15  
 Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val  
                   20                  25                  30  
 Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
                   35                  40                  45  
 Thr Trp Asn Ser Gly Ser  
           50                  54

<210> 4  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> MOUSE  
 <400> 4

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr  
   1                  5                  10                  15  
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ala Gly Tyr Thr Phe Thr Asn His  
                   20                  25                  30  
 Trp Ile Gly Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile  
                   35                  40                  45  
 Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe  
           50                  55                  60  
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
   65                  70                  75                  80  
 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys  
                   85                  90                  95  
 Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly  
                   100                  105                  110

<210> 5  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> MOUSE  
 <400> 5

Asp Ala Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly  
   1                  5                  10                  15  
 Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Ser  
                   20                  25                  30  
 Asp Gly Thr Thr Asp Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
           35                  40                  45  
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro  
           50                  55                  60

13 14  
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Glu Leu Gly Val Tyr Phe Cys Leu Gln Val  
 85 90 95  
 Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu  
 100 105 110

<210> 6  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> MOUSE  
 <400> 6

Asp Ala Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Lys Ser  
 20 25 30  
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Phe Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45  
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Leu  
 50 55 60  
 Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Leu Gln Val  
 85 90 95  
 Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu  
 100 105 110

<210> 7  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> MOUSE

<400> 7  
 Asp Ala Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Ser Leu Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Ser  
 20 25 30  
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45  
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Leu  
 50 55 60  
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Leu Gln Val  
 85 90 95  
 Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu  
 100 105 110

<210> 8  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> MOUSE



15

16

&lt;400&gt; 8

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr  
 1                    5                    10                    15  
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ala Gly Tyr Thr Phe Thr Lys Tyr  
                   20                    25                    30  
 Trp Ile Gly Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile  
                   35                    40                    45  
 Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe  
                   50                    55                    60  
 Lys Gly Lys Ala Lys Leu Thr Ala Asp Pro Ser Ser Thr Thr Ala Tyr  
                   65                    70                    75                    80  
 Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys  
                   85                    90                    95  
 Ala Arg Ala Gly Asn Tyr Gly Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly  
                   100                    105                    110

&lt;210&gt; 9

&lt;211&gt; 109

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; MOUSE

&lt;400&gt; 9

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr  
 1                    5                    10                    15  
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ala Gly Tyr Thr Phe Thr Lys Tyr  
                   20                    25                    30  
 Trp Ile Gly Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile  
                   35                    40                    45  
 Gly Asp Ile Tyr Pro Ala Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe  
                   50                    55                    60  
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ile Tyr  
                   65                    70                    75                    80  
 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys  
                   85                    90                    95  
 Cys Tyr Gly Tyr Gly Gly Ala Trp Phe Ser Tyr Trp Gly  
                   100                    105                    109

&lt;210&gt; 10

&lt;211&gt; 112

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; MOUSE

&lt;400&gt; 10

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr  
 1                    5                    10                    15  
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ala Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr  
                   20                    25                    30  
 Trp Ile Gly Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Asp Leu Glu Trp Ile  
                   35                    40                    45  
 Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Tyr Ala Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe  
                   50                    55                    60  
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
                   65                    70                    75                    80  
 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Phe Tyr Tyr Cys

17 85 90 95 18

Val Arg Ser Tyr Phe Ala Asp Gly Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly  
 100 105 110 112

<210> 11  
 <211> 501  
 <212> DNA  
 <213> MOUSE

<400> 11  
 gatgctgtga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60  
 atctcttgca ggtctagtca gagccttgaa aacagtaatg gaaacaccga ttggaactgg 120  
 tacctccaga aaccaggcca gtctccacag ctctgatct acagggtttc caaccgattt 180  
 tctgggggtcc tagacagggt cagtggtagt ggatcagga cagatttcac actgaaaatc 240  
 agcagagtgg aggctgagga ttgggagtt tatttctgcc tccaagttac acatgtccc 300  
 tggacgttcg gtggaggcac caagctggac atcaaacggg ctgatgctgc accaactgta 360  
 tccatcttcc caccatccag tgagcagtta acatctggag gtgcctcagt cgtgtgcttc 420  
 ttgaacaact tctaccccaa agacatcaat gtcaagtgga agattgatgg cagtgaacga 480  
 caaaatggcg tcctgaacag t 501

<210> 12  
 <211> 501  
 <212> DNA  
 <213> MOUSE

<400> 12  
 gatgctgtga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60  
 atctcttgca ggtctagtca gagccttgaa aacagtgatg gaaccaccga ttggaactgg 120  
 tacctccaga aaccaggcca gtctccacag ctctgatct acagggtttc caaccgattt 180  
 tctgggggtcc cagacagggt cagtggtagt ggatcagga cagatttcac actgaaaatc 240  
 agcagagtgg aggctgagga atgggagtt tatttctgcc tccaagttac acatgtccc 300  
 tggacgttcg gtggaggcac caagctggaa atcaaacggg ctgatgctgc accaactgta 360  
 tccatcttcc caccatccag tgagcagtta acatctggag gtgcctcagt cgtgtgcttc 420  
 ttgaacaact tctaccccaa agacatcaat gtcaagtgga agattgatgg cagtgaacga 480  
 caaaatggcg tcctgaacag t 501

<210> 13  
 <211> 501  
 <212> DNA  
 <213> MOUSE

<400> 13  
 gatgctgtga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60  
 atctcttgca ggtctagtca gagccttgaa aaaagtaatg gaaacaccta ttggaactgg 120  
 tatttccaga aaccaggcca gtctccacag ctctgatct acagggtttc caaccgattt 180  
 tctgggggtcc tagacagggt cactggtagt ggatcagga cagatttcac attgaaaatc 240  
 agcagagtgg aggctgagga ttgggagtt tatttctgcc tccaagttac acatgtccc 300  
 tggacgttcg gtggaggcac caagctggaa atcaaacggg ctgatgctgc accaactgta 360  
 tccatcttcc caccatccag tgagcagtta acatctggag gtgcctcagt cgtgtgcttc 420  
 ttgaacaact tctaccccaa agacatcaat gtcaagtgga agattgatgg cagtgaacga 480  
 caaaatggcg tcctgaacag t 501

<210> 14  
 <211> 501

19

20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; MOUSE

&lt;400&gt; 14

```

gatgctgtga tgacccaac tccactctcc ctgtctgtca gtcttgaga tcaagcctcc 60
atctcttgca ggtctagta gagccttgaa aacagtaat gaaacaccta ttgaactgg 120
tacctccaga aaccaggcca gtctccacag ctctgatct acagggtttc caaccgattt 180
tctggggctc tagacagggt cagtggtagt ggatcagga cagatttcac actgaaaatc 240
agcagagtgg aggctgagga ttgggagtt ttttctgcc tccaagtac acatgtcccg 300
tggacgttcg gtggaggcac caagctgaa atcaaacggg ctgatgctgc accaactgta 360
tccatcttcc caccatccag tgagcagtta acatctggag gtgcctcagt cgtgtgcttc 420
ttgaacaact tctaccccaa agacatcaat gtcaagtga agattgatgg cagtgaacga 480
caaaatggcg tcctgaacag t 501

```

&lt;210&gt; 15

&lt;211&gt; 492

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; MOUSE

&lt;400&gt; 15

```

caggtccagc tgcagcagtc tggagctgag ttggaaggc ctgggacttc agtgaagatg 60
tctgcaagg ctgctggata caccttact aaccactgga taggttgggt aaagcagagg 120
cctggacatg gccttgagt gatggagat attaccctg gaagtggta tactaactac 180
aatgagaagt tcaagggcaa ggccactg actgcagaca catcctccag cacagcctac 240
atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgcatct attactgtgc aagatccgat 300
tactacggct cctggtttgc ttactggggc caagggactc tggctactgt ctctgcagcc 360
aaaacgacac ccccatctgt ctatccactg gccctggat ctgctgccca aactaactcc 420
atggtgacct tgggatgcct ggtcaagggc ttttcctg agccagtgc agtgacctgg 480
aactctggat cc 492

```

&lt;210&gt; 16

&lt;211&gt; 492

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; MOUSE

&lt;400&gt; 16

```

caggtccagc tgcagcagtc tggagctgag ctggaaggc ctgggacttc agtgaagatg 60
tctgcaagg ctgctggata caccttact aaatactgga taggttgggt aaagcagagg 120
cctggacatg gccttgagt gatggagat attaccctg gaagtggta tactaactac 180
aatgagaaat tcaagggcaa ggccaaactg actgcagacc ctctctccac cacagcctac 240
ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgcatct attactgtgc aagagcggga 300
aattacggcg cctggtttgc ttactggggt caagggactc tggctactgt ctctgcagcc 360
aaaacgacac ccccatctgt ctatccactg gccctggat ctgctgccca aactaactcc 420
atggtgacct tgggatgcct ggtcaagggc ttttcctg agccagtgc agtgacctgg 480
aactctggat cc 492

```

&lt;210&gt; 17

&lt;211&gt; 489

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; MOUSE

&lt;400&gt; 17

```

caggtccagc tgcagcagtc tggagctgag ctggaaggc ctgggacttc agtgaagatg 60
tctgcaagg ctgctggata caccttact aagtattgga taggttgggt taagcagagg 120
cctggacatg gccttgagt gatggagat attaccctg caggtggta tactaactac 180
aatgagaagt tcaagggcaa ggccactg actgcagaca catcctccag cacaactac 240
atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgcatct attactgttg ctatggttac 300

```

21  
ggcggggcct ggttttctta ctggggccaa gggactctgg tcaactgtctc tgcagccaaa 360  
acgacacccc catctgtcta tccactggcc cctggatctg ctgcccaaac taactccatg 420  
gtgaccctgg gatgcctggt caagggctat ttcctgagc cagtgcagct gacctggaac 480  
tctggatcc 489  
<210> 18  
<211> 498  
<212> DNA  
<213> MOUSE  
<400> 18  
caggccaac tgcagcagtc tggagctgag ctggtaagcc ctgggacttc agtgaagatg 60  
tcttgaagg ctgctggata caccttcaact aactactgga taggttgggt aaagcagagg 120  
cctggacatg accttgagtg gattggagat attaccctg gaagtgggta tgcttactac 180  
aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actgcagaca catcctccag cacagcctac 240  
atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgccttct attactgtgt aagatcctac 300  
ttcgtgatg gcccgccctg gtttgcttac tggggccaag ggactctggt cactgtctct 360  
gcagccaaaa cgacaccccc atctgtctat ccactggccc ctggatctgc tgcccaaaact 420  
aactccatgg tgaccctggg atgcctggtc aagggtatt tccctgagcc agtgacagtg 480  
acctggaact ctggatcc 498  
<210> 19  
<211> 167  
<212> PRT  
<213> MOUSE  
<400> 19  
Asp Ala Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly  
1 5 10 15  
Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Ser  
20 25 30  
Asn Gly Asn Thr Asp Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
35 40 45  
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Leu  
50 55 60  
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
65 70 75 80  
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Leu Gln Val  
85 90 95  
Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys  
100 105 110  
Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu  
115 120 125  
Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe  
130 135 140  
Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg  
145 150 155 160  
Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser  
165 167  
<210> 20  
<211> 167  
<212> PRT  
<213> MOUSE  
<400> 20

23 24

Asp Ala Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly  
 1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Ser  
 20 25 30

Asp Gly Thr Thr Asp Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro  
 50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Glu Leu Gly Val Tyr Phe Cys Leu Gln Val  
 85 90 95

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105 110

Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu  
 115 120 125

Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe  
 130 135 140

Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg  
 145 150 155 160

Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser  
 165 167

&lt;210&gt; 21

&lt;211&gt; 167

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; MOUSE

&lt;400&gt; 21

Asp Ala Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly  
 1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Lys Ser  
 20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Phe Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Leu  
 50 55 60

Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Leu Gln Val  
 85 90 95

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105 110

Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu  
 115 120 125

Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe  
 130 135 140

Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg  
 145 150 155 160

Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser  
 165 167

&lt;210&gt; 22

25  
 <211> 167  
 <212> PRT  
 <213> MOUSE  
 <400> 22

Asp Ala Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Ser Leu Gly  
 1                    5                    10                    15  
 Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Ser  
                   20                    25                    30  
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
                   35                    40                    45  
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Leu  
                   50                    55                    60  
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65                    70                    75                    80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Leu Gln Val  
                   85                    90                    95  
 Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
                   100                    105                    110  
 Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu  
                   115                    120                    125  
 Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe  
                   130                    135                    140  
 Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg  
 145                    150                    155                    160  
 Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser  
                   165                    167

<210> 23  
 <211> 164  
 <212> PRT  
 <213> MOUSE  
 <400> 23

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr  
 1                    5                    10                    15  
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ala Gly Tyr Thr Phe Thr Asn His  
                   20                    25                    30  
 Trp Ile Gly Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile  
                   35                    40                    45  
 Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe  
                   50                    55                    60  
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
 65                    70                    75                    80  
 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys  
                   85                    90                    95  
 Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly  
                   100                    105                    110  
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr  
                   115                    120                    125  
 Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu  
                   130                    135                    140

27 28

Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp  
 145 150 155 160

Asn Ser Gly Ser  
 164

<210> 24  
 <211> 164  
 <212> PRT  
 <213> MOUSE  
 <400> 24

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ala Gly Tyr Thr Phe Thr Lys Tyr  
 20 25 30  
 Trp Ile Gly Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
 Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe  
 50 55 60  
 Lys Gly Lys Ala Lys Leu Thr Ala Asp Pro Ser Ser Thr Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Ala Gly Asn Tyr Gly Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110  
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr  
 115 120 125  
 Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu  
 130 135 140  
 Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp  
 145 150 155 160

Asn Ser Gly Ser  
 164

<210> 25  
 <211> 163  
 <212> PRT  
 <213> MOUSE  
 <400> 25

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ala Gly Tyr Thr Phe Thr Lys Tyr  
 20 25 30  
 Trp Ile Gly Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
 Gly Asp Ile Tyr Pro Ala Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe  
 50 55 60  
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ile Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Cys Tyr Gly Tyr Gly Gly Ala Trp Phe Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

29  
 Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro  
 115 120 125  
 Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly  
 130 135 140  
 Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn  
 145 150 155 160  
 Ser Gly Ser  
 163  
 <210> 26  
 <211> 166  
 <212> PRT  
 <213> MOUSE  
 <400> 26  
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ala Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr  
 20 25 30  
 Trp Ile Gly Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Asp Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
 Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Tyr Ala Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe  
 50 55 60  
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Phe Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Val Arg Ser Tyr Phe Ala Asp Gly Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly  
 100 105 110  
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser  
 115 120 125  
 Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val  
 130 135 140  
 Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
 145 150 155 160  
 Thr Trp Asn Ser Gly Ser  
 165 166

【図面の簡単な説明】

【図 1】図 1 は、本発明の 4 種の抗アセチルリジンモノクローナル抗体の種々のアセチルリジン含有ペプチドに対する反応性の比較（E L I S A 法）を示したものである。

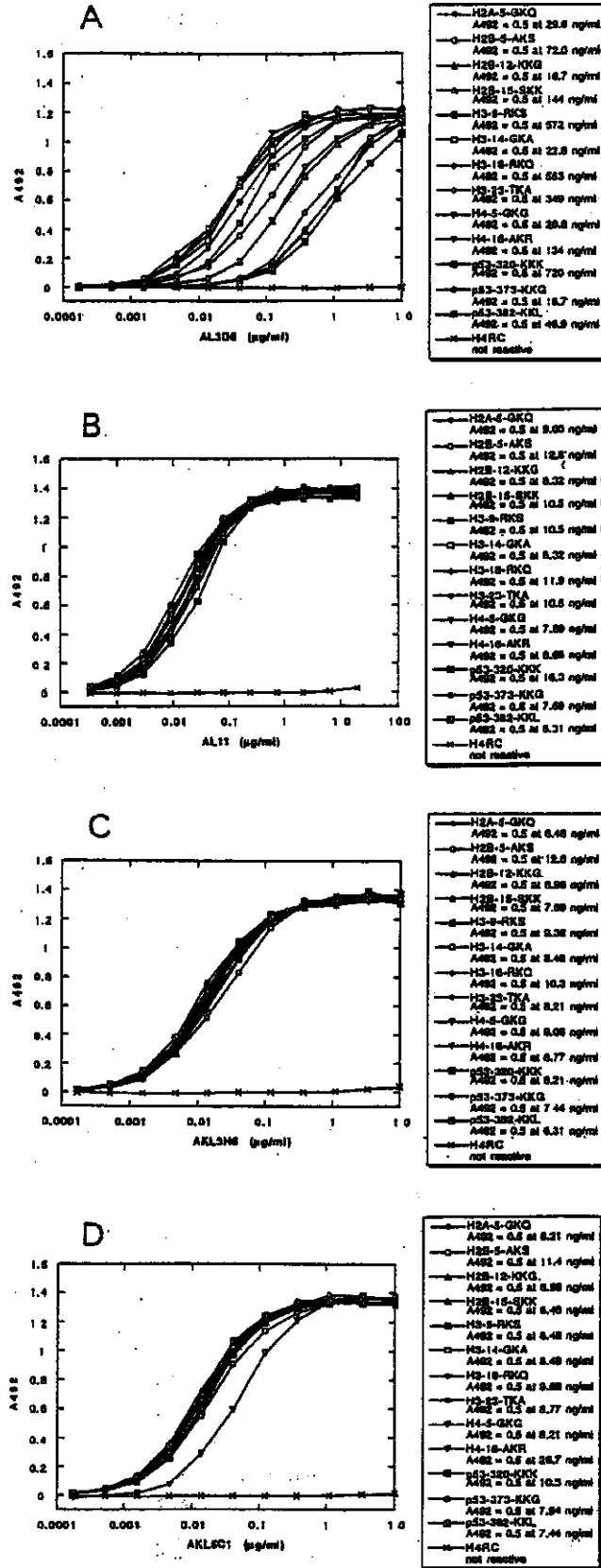
【図 2】図 2 は、本発明の 4 種の抗アセチルリジンモノクローナル抗体による、種々の細胞の総細胞ライセート中のアセチル化蛋白質の検出結果を示す。

【図 3】図 3 は、本発明の 4 種の抗アセチルリジンモノクローナル抗体の E L I S A 反応性が N - アセチルリジン及び N - アセチルリジンで競合されるかどうかを調べた結果を示す。

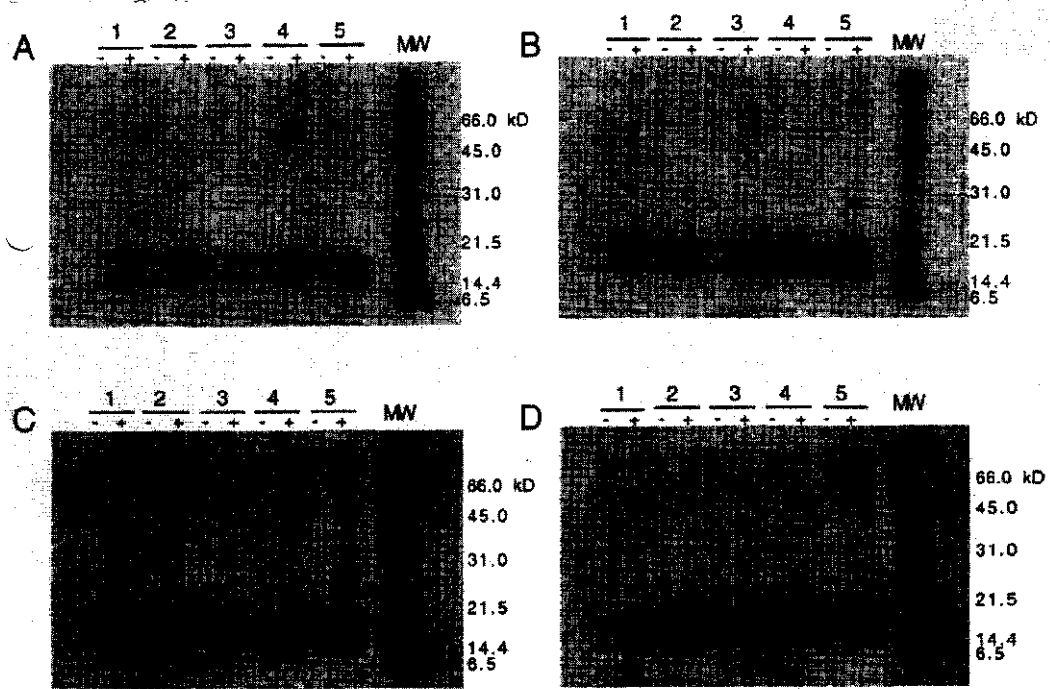
40 【図 4】図 4 は、本発明の 4 種の抗アセチルリジンモノクローナル抗体の重鎖及び軽鎖可変領域のアミノ酸配列を比較した結果を示す。



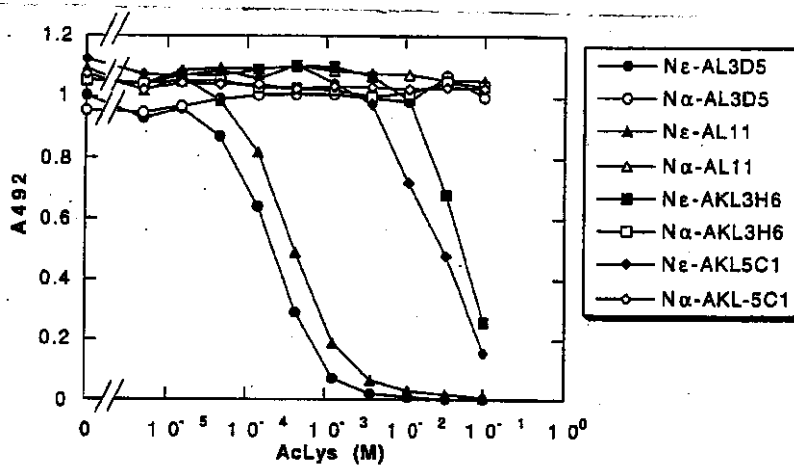
【 図 1 】



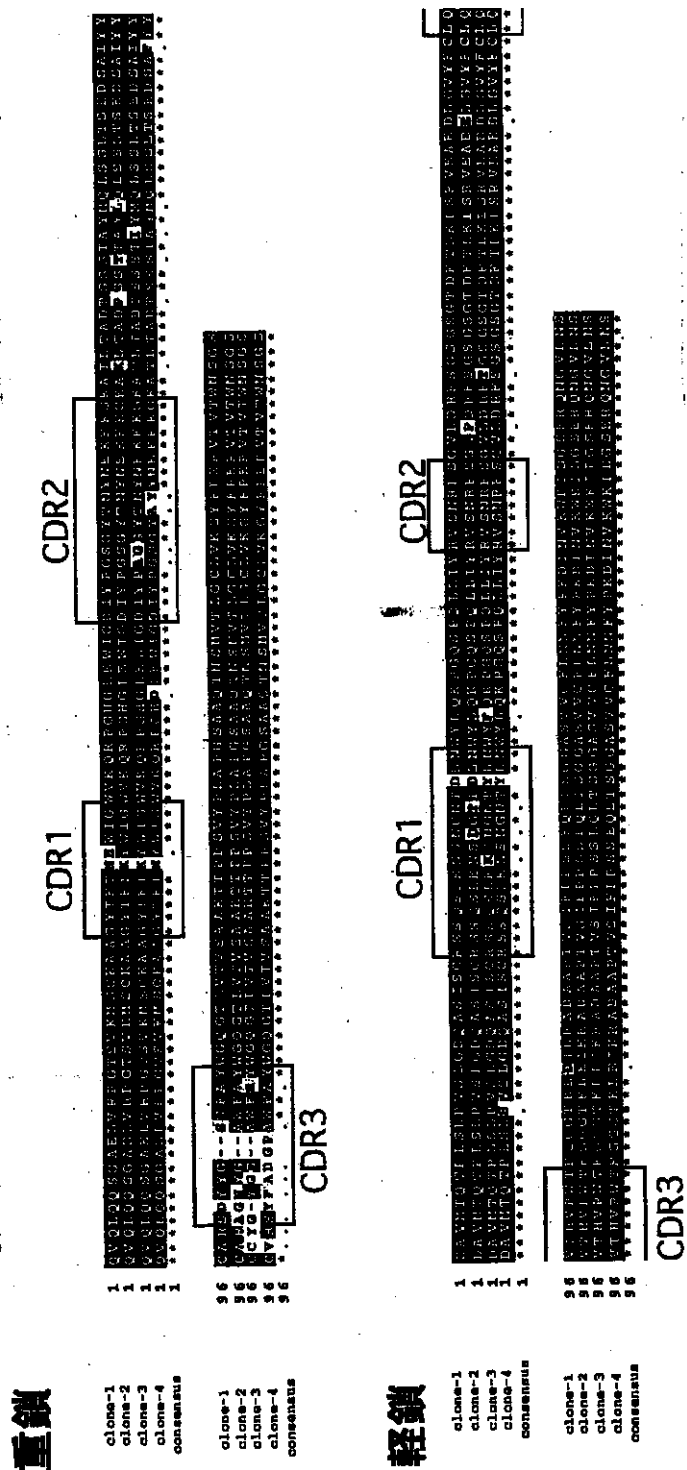
【図 2】



【図 3】



【 図 4 】



フロントページの続き

F ターム(参考) 4B024 AA11 BA43 GA18 HA15  
 4B064 AG27 CA10 CC24 DA13  
 4H045 AA11 BA10 CA40 DA76 EA50  
 FA71