(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2015 年 3 月 12 日(12.03.2015)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2015/033479 A1

(51) 国際特許分類:
G01N 27/62 (2006.01) *G01N 1/28* (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2013/074292

(22) 国際出願日: 2013 年 9 月 9 日(09.09.2013)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(71) 出願人: 株式会社島津製作所(SHIMADZU CORPORATION) [JP/JP]; 〒6048511 京都府京都市中京区西ノ京桑原町１番地 Kyoto (JP).

(72) 発明者: 嶋田 崇史(SHIMADA, Takashi); 〒6048511 京都府京都市中京区西ノ京桑原町１番地 株式会社島津製作所内 Kyoto (JP). 深尾 典子(FUKAO, Noriko); 〒6048511 京都府京都市中京区西ノ京桑原町１番地 株式会社島津製作所内 Kyoto (JP). 青木 智景(AOKI, Chikage); 〒6048511 京都府京都市中京区西ノ京桑原町１番地 株式会社島津製作所内 Kyoto (JP). 佐藤 孝明(SATO, Taka-Aki); 〒6048511 京都府京都市中京区西ノ京桑原町１番地 株式会社島津製作所内 Kyoto (JP).

(74) 代理人: 新宅 将人, 外(SHINTAKU, Masato et al.); 〒5410054 大阪府大阪市中央区南本町４丁目５－７ 東亜ビル いざなぎ国際特許事務所 Osaka (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (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), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

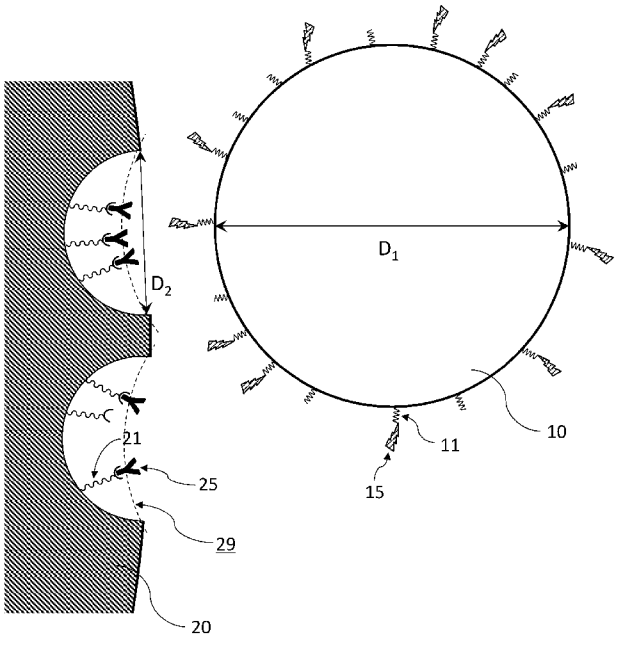
添付公開書類:
— 国際調査報告（条約第 21 条(3)）

[続葉有]

(54) **Title**: METHOD FOR PREPARING PEPTIDE FRAGMENTS, KIT FOR PREPARING PEPTIDE FRAGMENTS TO BE USED THEREIN, AND ANALYSIS METHOD

(54) 発明の名称 : ペプチド断片の調製方法およびそれに用いられるペプチド断片調製用キット、ならびに分析方法

[図1]



(57) **Abstract**: A method for preparing peptide fragments by cleaving a protein using a protease. The method according to the present invention comprises a step for contacting, in a liquid, a porous body (20), in which the substrate protein (25) to be cleaved is immobilized in pores (29), with microparticles (10) which carry the protease (15) immobilized on the surface thereof. In the present invention, the average particle diameter of the microparticles (10) is larger than the average pore diameter of the porous body (20). According to the method of the present invention, the substrate protein (25) that is an antibody can be site-specifically cleaved. By analyzing the peptide fragments that are obtained by the above method by mass spectrometry, etc., the antibody protein can be detected or quantitatively analyzed.

(57) 要約: 本発明は、プロテアーゼを用いて、タンパク質を切断して、ペプチド断片を調製する方法に関する。 本発明の方法は、切断対象の基質タンパク質（２５）が細孔（２９）内に固定化された多孔質体（２０）と、プロテアーゼ（１５）が表面に固定化された微粒子（１０）とを液体中で接触させるステップを有する。本発明において、前記微粒子（１０）の平均粒径は、前記多孔質体（２０）の平均細孔径よりも大きい。本発明の方法によれば、抗体の基質タンパク質（２５）を位置選択的に切断できる。 上記方法により得られたペプチド断片を、質量分析法等によって分析することにより、抗体のタンパク質の検出や定量分析を行い得る。

WO 2015/033479 A1

— 明細書の別個の部分として表した配列リスト
（規則 5.2(a)）