(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第6480558号
(P6480558)

(45)発行日　平成31年3月13日(2019.3.13)　(24)登録日　平成31年2月15日(2019.2.15)

(51)Int.Cl.		F I		
C12N 15/13	(2006.01)	C12N	15/13	ZNA
C07K 14/705	(2006.01)	C07K	14/705	
C07K 16/28	(2006.01)	C07K	16/28	
C07K 16/46	(2006.01)	C07K	16/46	
C07K 19/00	(2006.01)	C07K	19/00	

請求項の数 21　外国語出願　(全 78 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2017-247587(P2017-247587)
(22)出願日　平成29年12月25日(2017.12.25)
(62)分割の表示　特願2015-530124(P2015-530124)の分割
原出願日　平成25年8月30日(2013.8.30)
(65)公開番号　特開2018-42573(P2018-42573A)
(43)公開日　平成30年3月22日(2018.3.22)
審査請求日　平成29年12月25日(2017.12.25)
(31)優先権主張番号　61/695,791
(32)優先日　平成24年8月31日(2012.8.31)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　61/756,254
(32)優先日　平成25年1月24日(2013.1.24)
(33)優先権主張国　米国(US)

(73)特許権者　512186793
イミュノジェン，　インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　マサチューセッツ　０２４５１，　ウォルサム，　ウィンター　ストリート　８３０
(74)代理人　100078282
弁理士　山本　秀策
(74)代理人　100113413
弁理士　森下　夏樹
(74)代理人　100181674
弁理士　飯田　貴敏
(74)代理人　100181641
弁理士　石川　大輔
(74)代理人　230113332
弁護士　山本　健策

最終頁に続く

(54)【発明の名称】葉酸受容体１の検出のための診断分析およびキット

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
ＦＯＬＲ１に特異的に結合する抗体もしくはその抗原結合断片であって、前記抗体もしくはその抗原結合断片は、重鎖可変ドメインおよび軽鎖可変ドメインを含み、前記重鎖可変ドメインが、それぞれ配列番号４、５、および６のＣＤＲ１、ＣＤＲ２、およびＣＤＲ３配列を含み、前記軽鎖可変ドメインが、それぞれ配列番号１６、１７、および１８のＣＤＲ１、ＣＤＲ２、およびＣＤＲ３配列を含む、抗体もしくはその抗原結合断片。
【請求項２】
前記抗体もしくはその抗原結合断片は、重鎖可変ドメインおよび軽鎖可変ドメインを含み、前記重鎖可変ドメインおよび前記軽鎖可変ドメインが、それぞれ配列番号２６および配列番号３０に示される配列を含む、請求項１に記載の抗体もしくはその抗原結合断片。
【請求項３】
前記抗体もしくはその抗原結合断片は、それぞれ配列番号３４および配列番号３８に示される配列を含む全長重鎖および全長軽鎖を含む、請求項１に記載の抗体もしくはその抗原結合断片。
【請求項４】
前記抗体もしくはその抗原結合断片は、マウス、ヒト化、キメラ、または再表面化である、請求項１～３のいずれか一項に記載の抗体もしくはその抗原結合断片。
【請求項５】
請求項１～４のいずれか一項に記載の抗体もしくはその抗原結合断片の可変重鎖または

可変軽鎖をコードしている核酸分子。
【請求項６】
試料中のＦＯＬＲ１タンパク質を検出するインビトロの方法であって、前記試料を、請求項１～４のいずれか一項に記載の抗体もしくはその抗原結合断片と接触させることを含む、方法。
【請求項７】
前記ＦＯＬＲ１タンパク質は、ラジオイムノアッセイ、ウエスタンブロット分析、免疫蛍光分析、酵素免疫分析、免疫沈降分析、化学発光分析、サイトメトリー、または免疫組織化学分析によって検出される、請求項６に記載のインビトロの方法。
【請求項８】
前記サイトメトリーがフローサイトメトリーである、請求項７に記載のインビトロの方法。
【請求項９】
前記酵素免疫分析が酵素結合免疫吸着分析（ＥＬＩＳＡ）である、請求項７に記載のインビトロの方法。
【請求項１０】
前記ＦＯＬＲ１タンパク質が、免疫組織化学分析によって検出される、請求項７に記載のインビトロの方法。
【請求項１１】
前記ＦＯＬＲ１タンパク質が脱落ＦＯＬＲ１タンパク質である、請求項６～１０のいずれか一項に記載のインビトロの方法。
【請求項１２】
前記試料が、被験体由来の体液試料であり、上昇した脱落ＦＯＬＲ１タンパク質を示す、請求項６～１１のいずれか一項に記載のインビトロの方法。
【請求項１３】
前記試料が、卵巣癌、非小細胞肺癌、子宮癌、子宮内膜癌、膵臓癌、腎臓癌、肺癌、腹膜の癌および乳癌からなる群から選択される癌試料である、請求項６～１２のいずれか一項に記載のインビトロの方法。
【請求項１４】
請求項１～４のいずれか一項に記載の抗体もしくはその抗原結合断片を産生する細胞。
【請求項１５】
請求項１～４のいずれか一項に記載の抗体もしくはその抗原結合断片を作製する方法であって、（ａ）請求項１４に記載の細胞を培養することと、（ｂ）前記培養された細胞から前記抗体もしくはその抗原結合断片を単離することと、を含む、方法。
【請求項１６】
試料中のＦＯＬＲ１タンパク質を検出するための免疫分析キットであって、（ａ）第１の試薬であって、請求項１～４のいずれか一項に記載の抗体もしくはその抗原結合断片である、第１の試薬と、（ｂ）第２の試薬であって、ＦＯＬＲ１に特異的に結合する第２の抗体もしくは抗原結合断片である、第２の試薬と、を含む、キット。
【請求項１７】
被験体における癌治療のための、（ａ）ＦＯＬＲ１に特異的に結合する検出抗体もしくはその抗原結合断片と、（ｂ）ＦＯＬＲ１に結合する抗体もしくはその抗原結合断片を含む活性剤とを含む組み合わせ物であって、前記検出抗体もしくは抗原結合断片が、請求項１～４のいずれか一項に記載の抗体もしくはその抗原結合断片である、組み合わせ物。
【請求項１８】
前記被験体が、卵巣癌、非小細胞肺癌、子宮癌、子宮内膜癌、膵臓癌、腎臓癌、肺癌、腹膜の癌および乳癌からなる群から選択される癌を有する、請求項１７に記載の組み合わせ物。
【請求項１９】
前記活性剤の抗体もしくはその抗原結合断片が、細胞毒性剤に共役される、請求項１７

または１８に記載の組み合わせ物。
【請求項２０】
前記活性剤の抗体もしくはその抗原結合断片が、Ｎ－スクシンイミジル４－（２－ピリジルジチオ）－２－スルホブタノエート（スルホ－ＳＰＤＢ）リンカーを介して、Ｎ（２’）－デアセチル－Ｎ２’－（４－メルカプト－４－メチル－１－オキソペンチル）－メイタンシン（ＤＭ４）に共役される、請求項１７～１９のいずれか一項に記載の組み合わせ物。
【請求項２１】
前記活性剤の抗体もしくはその抗原結合断片が、配列番号４６の重鎖可変領域および配列番号４８の軽鎖可変領域を含む、請求項１７～２０のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明の分野は概して、ヒト葉酸受容体１（ＦＯＬＲ１）に結合する抗体、ＦＯＬＲ１を検出する方法、癌を診断および治療する方法、ならびにＦＯＬＲ１に基づく療法のための診断分析およびキットに関する。
【背景技術】
【０００２】
癌は、先進国世界における死亡の主原因の１つであり、米国では毎年百万人を超える人々が、癌と診断され、５００，０００人が死亡している。全体で３人に１人超が、その生涯の間に何らかの形態の癌を発症すると見積もられている。２００を超える異なる種類の癌が存在し、そのうちの４つ－乳癌、肺癌、大腸癌、および前立腺癌－は、全新規事例の半数以上を占める（Ｊｅｍａｌ ｅｔ ａｌ．，２００３，Ｃａｎｃｅｒ Ｊ．Ｃｌｉｎ．５３：５－２６）。
【０００３】
葉酸受容体１（ＦＯＬＲ１）は、葉酸受容体－αまたは葉酸結合タンパク質としても既知であり、細胞の血漿膜に発現されるＮ－糖化タンパク質である。ＦＯＬＲ１は、葉酸、および幾つかの還元葉酸誘導体に関する高い親和性を有する。ＦＯＬＲ１は、生理的葉酸、５－メチルテトラヒドロ葉酸の、細胞内部への送達を媒介する。
【０００４】
ＦＯＬＲ１は、卵巣癌の大半、ならびに多くの子宮癌、子宮内膜癌、膵臓癌、腎臓癌、肺癌、および乳癌にて過剰発現され、一方、正常な組織中におけるＦＯＬＲ１の発現は、近位尿細管内の上皮細胞の頂端膜、肺の肺胞肺細胞、膀胱、精巣、脈絡叢、および甲状腺に限定される（Ｗｅｉｔｍａｎ ＳＤ，ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ ５２：３３９６－３４０１（１９９２）；Ａｎｔｏｎｙ ＡＣ，Ａｎｎｕ Ｒｅｖ Ｎｕｔｒ １６：５０１－５２１（１９９６）；Ｋａｌｌｉ ＫＲ，ｅｔ ａｌ．Ｇｙｎｅｃｏｌ Ｏｎｃｏｌ １０８：６１９－６２６（２００８））。ＦＯＬＲ１のこの発現パターンにより、これは、ＦＯＬＲ１を対象とする癌療法のための望ましい標的となる。
【０００５】
卵巣癌は、典型的には進行期まで無症状であるため、末期にて診断されることが多く、現在利用可能な処置、典型的には原料手術後の化学療法薬を用いて治療される場合に不良な予後を有する（ｖｏｎ Ｇｒｕｅｎｉｇｅｎ Ｖ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ １１２：２２２１－２２２７（２００８）；Ａｙｈａｎ Ａ ｅｔ ａｌ．，Ａｍ Ｊ Ｏｂｓｔｅｔ Ｇｙｎｅｃｏｌ １９６：８１ ｅ８１－８６（２００７）；Ｈａｒｒｙ ＶＮ ｅｔ ａｌ．，Ｏｂｓｔｅｔ Ｇｙｎｅｃｏｌ Ｓｕｒｖ ６４：５４８－５６０（２００９））。したがって、卵巣癌のためのより有効な治療法に対する未だ満たされていない明確な医学的必要性が存在する。

脱落ＦＯＬＲ１を検出するために用いられる幾つかの従来の分析法は、ＦＯＬＲ１に十分に特異的ではない。例えば、幾つかの分析法は、ＦＯＬＲ１と他の葉酸受容体ファミリーメンバー（ＦＯＬＲ２、３、および４）との間を区別しないか、または総ＦＢＰ（葉酸結合タンパク質）に関する値を報告しない。それに加えて、幾つかの分析法は、ヒト試料（例えば、血漿）を、軽酸洗浄ステップにより事前処理して、葉酸を受容体から解離させることを必要とする。また、幾つかの分析結果は、抗体療法と診断的抗体との間の競合的な効果のため、誤差を有することがある。それに加えて、多数の市販のキットは、その試薬、およびそのロット間安定性の双方において、従来信頼性が低い。これらのキットの評定は、極めて混じり合った結果を出しており、研究的使用のためのみを意図される。多くは、ヒト試料を、「マトリックス効果」に起因する偽陽性の機会を低減させるために、分析前に事前希釈することを必要とする。したがって、ＦＯＬＲ１に基づく療法への付属物としての、感受性が高く正確な診断分析に対する明確な必要性が存在する。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【０００６】

【非特許文献１】Ｊｅｍａｌ ｅｔ ａｌ．，２００３，Ｃａｎｃｅｒ Ｊ．Ｃｌｉｎ．５３：５－２６

【非特許文献２】Ｗｅｉｔｍａｎ ＳＤ，ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ ５２：３３９６－３４０１（１９９２）

【非特許文献３】Ａｎｔｏｎｙ ＡＣ，Ａｎｎｕ Ｒｅｖ Ｎｕｔｒ １６：５０１－５２１（１９９６）

【非特許文献４】Ｋａｌｌｉ ＫＲ，ｅｔ ａｌ．Ｇｙｎｅｃｏｌ Ｏｎｃｏｌ １０８：６１９－６２６（２００８）

【非特許文献５】ｖｏｎ Ｇｒｕｅｎｉｇｅｎ Ｖ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ １１２：２２２１－２２２７（２００８）

【非特許文献６】Ａｙｈａｎ Ａ ｅｔ ａｌ．，Ａｍ Ｊ Ｏｂｓｔｅｔ Ｇｙｎｅｃｏｌ １９６：８１ ｅ８１－８６（２００７）

【非特許文献７】Ｈａｒｒｙ ＶＮ ｅｔ ａｌ．，Ｏｂｓｔｅｔ Ｇｙｎｅｃｏｌ Ｓｕｒｖ ６４：５４８－５６０（２００９）

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【０００７】

本発明は、試料中のＦＯＬＲ１の検出のためのものであり、また例えば、患者を層別化するために使用され得る方法を提供する。したがって、一実施形態では、本発明は、葉酸受容体１媒介疾患を有する患者を治療する方法を提供し、この方法は、（ａ）抗体ｈｕＭｏｖ１９のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない抗体またはその抗原結合断片を用いて、患者から採取した試料中のサーカルティング腫瘍細胞（ＣＴＣ）中の脱落葉酸受容体１（ＦＯＬＲ１）発現レベルまたはＦＯＬＲ１を、基準試料中の脱落またはＣＴＣ ＦＯＬＲ１レベルと比較して測定することと、（ｂ）患者の脱落またはＣＴＣ ＦＯＬＲ１レベルが上昇している場合に、患者に、ＦＯＬＲ１活性を調節する固定用量の抗体またはその抗原結合断片を投与することと、を含み、固定用量の抗体またはその断片は、疾患または障害を効果的に治療する。

【０００８】

別の実施形態では、本発明は、ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者を治療する方法を提供し、この方法は、（ａ）ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者に、ＦＯＬＲ１活性を調節する固定用量の抗体またはその抗原結合断片を投与することと、（ｂ）抗体ｈｕＭｏｖ１９のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない抗体またはその抗原結合断片を用いて、患者の脱落またはＣＴＣ ＦＯＬＲ１発現レベルを、基準試料中のＦＯＬＲ１レベルと比較して測定することと、（ｃ）患者の脱落またはＣＴＣ ＦＯＬＲ１レベルが上昇している場合に、その後の固定用量の量および頻度を増加させることと、を含み、

患者のＦＯＬＲ１レベルの増加（例えば、増加した細胞死が、脱落ＦＯＬＲ１の増加した放出をもたらすため）または減少は、治療有効性を示す。別の実施形態では、その後の固定用量の量または頻度は、患者の脱落またはＣＴＣ　ＦＯＬＲ１レベルが減少している場合、増加される。

【０００９】

別の実施形態では、本発明は、患者におけるＦＯＬＲ１発現を減少させる方法を提供し、この方法は、（ａ）抗体ｈｕＭｏｖ１９のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない抗体またはその抗原結合断片を用いて、ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者から採取した試料中の脱落またはＣＴＣ　ＦＯＬＲ１レベルを、基準試料中のＦＯＬＲ１レベルと比較して測定することと、（ｂ）患者の脱落またはＣＴＣ　ＦＯＬＲ１がレベル上昇している場合に、患者に、ＦＯＬＲ１活性を調節する固定用量の抗体またはその抗原結合断片を投与することと、を含み、抗体またはその抗原結合断片の投与は、患者のＦＯＬＲ１を増加（例えば、増加した細胞死が、脱落ＦＯＬＲ１の増加した放出をもたらすため）または減少させる。

【００１０】

別の実施形態では、本発明は、患者におけるＦＯＬＲ１発現を減少させる方法を提供し、この方法は、（ａ）媒介疾患または障害を有する患者に、ＦＯＬＲ１活性を調節する固定用量の抗体またはその抗原結合断片を投与することと、（ｂ）患者の脱落またはＣＴＣ　ＦＯＬＲ１レベルを、基準試料中のＦＯＬＲ１レベルと比較して測定することと、（ｃ）患者の脱落またはＣＴＣ　ＦＯＬＲ１レベルが上昇している場合に、その後の固定用量の量および頻度を増加させることと、を含み、抗体またはその抗原結合断片の投与は、患者におけるＦＯＬＲ１レベルを増加（例えば、増加した細胞死が、脱落ＦＯＬＲ１の増加した放出をもたらすため）または減少させる。

【００１１】

一実施形態では、疾患は、癌である。別の実施形態では、癌は、卵巣癌、非小細胞肺癌、子宮癌、子宮内膜癌、膵臓癌、腎臓癌、肺癌、および乳癌からなる群から選択される、ＦＯＬＲ１上昇癌である。別の実施形態では、癌は、白金耐性または白金不応性の卵巣癌である。

【００１２】

本発明は、患者におけるＦＯＬＲ１活性を調節する固定用量の抗体または抗原結合断片の治療有効性を監視する方法も提供し、この方法は、（ａ）抗体ｈｕＭｏｖ１９のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない抗体またはその抗原結合断片を用いて、ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者から採取した試料中の第１の脱落またはＣＴＣ　ＦＯＬＲ１レベルを測定することと、（ｂ）患者に、ＦＯＬＲ１活性を調節する固定用量の抗体または抗原結合断片を投与することと、（ｃ）抗体投与後に、抗体ｈｕＭｏｖ１９のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない抗体またはその抗原結合断片を用いて、患者から採取した試料中の第２の脱落またはＣＴＣ　ＦＯＬＲ１レベルを測定することと、（ｄ）第２のＦＯＬＲ１レベルを第１のＦＯＬＲ１レベルと比較することと、を含み、第１及び第２のＦＯＬＲ１スコアとの間の増加（例えば、増加した細胞死が、脱落ＦＯＬＲ１の増加した放出をもたらすため）または減少は、治療有効性を示す。

【００１３】

一実施形態では、ＦＯＬＲ１発現レベルは、体液において測定される。別の実施形態では、体液は、腹水である。別の実施形態では、体液は、血清、血液、または血漿である。別の実施形態では、ＦＯＬＲ１発現レベルは、末梢血液試料において測定される。

【００１４】

一実施形態では、患者は、癌を有する。別の実施形態では、癌は、卵巣癌、非小細胞肺癌、子宮癌、子宮内膜癌、膵臓癌、腎臓癌、肺癌、および乳癌からなる群から選択される、ＦＯＬＲ１上昇癌である。別の実施形態では、癌は、白金耐性または白金不応性の卵巣癌である。

【００１５】

一実施形態では、ＦＯＬＲ１発現は、少なくとも１つの追加の抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を用いて測定される。別の実施形態では、ＦＯＬＲ１発現は、２つの抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を用いて測定される。別の実施形態では、別の実施形態では、抗体は、マウス抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、またはヒト抗体である。別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、約１．０～約１０ｎＭのＫｄを有するヒト葉酸受容体１に結合する。別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、約０．５～約５ｎＭのＫｄを有するヒト葉酸受容体１に結合する。別の実施形態では、結合親和性は、サイトメトリー、Ｂｉａｃｏｒｅ、ＥＬＩＳＡ、またはラジオイムノアッセイによって測定される。別の実施形態では、サイトメトリーは、フローサイトメトリーである。

【００１６】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、葉酸受容体２または葉酸受容体３に結合しない。

【００１７】

一実施形態では、少なくとも１つの抗体またはその抗原結合断片は、固体支持体に結合される。別の実施形態では、少なくとも１つの抗体またはその抗原結合断片は、マイクロタイタープレートに結合される。別の実施形態では、少なくとも１つの抗体またはその抗原結合断片は、検出剤を含む。別の実施形態では、検出剤は、発色検出剤、蛍光検出剤、酵素検出剤、または電気化学発光検出剤である。別の実施形態では、検出剤は、西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）である。

【００１８】

一実施形態では、ＦＯＬＲ１レベルは、酵素結合免疫吸着分析（ＥＬＩＳＡ）、またはサイトメトリー（例えば、フローサイトメトリー）を用いて決定される。別の実施形態では、ＥＬＩＳＡは、サンドイッチＥＬＩＳＡである。

【００１９】

一実施形態では、少なくとも１つの抗体またはその抗原結合断片は、（ａ）配列番号２５のポリペプチドおよび配列番号２９のポリペプチドを含む抗体、（ｂ）配列番号２６のポリペプチドおよび配列番号３０のポリペプチドを含む抗体、（ｃ）配列番号２７のポリペプチドおよび配列番号３１のポリペプチドを含む抗体、ならびに（ｄ）配列番号２８のポリペプチドおよび配列番号３２のポリペプチドを含む抗体からなる群から選択される抗体と同一のＦＯＬＲ１エピトープに特異的に結合する。

【００２０】

一実施形態では、少なくとも１つの抗体またはその抗原結合断片は、ＦＯＬＲ１に特異的に結合し、抗体またはその断片は、（ａ）配列番号２５のポリペプチドおよび配列番号２９のポリペプチドを含む抗体、（ｂ）配列番号２６のポリペプチドおよび配列番号３０のポリペプチドを含む抗体、（ｃ）配列番号２７のポリペプチドおよび配列番号３１のポリペプチドを含む抗体、ならびに（ｄ）配列番号２８のポリペプチドおよび配列番号３２のポリペプチドを含む抗体からなる群から選択される抗体のＦＯＬＲ１結合を、競合的に阻害する。

【００２１】

一実施形態では、少なくとも１つの抗体またはその抗原結合断片は、ＦＯＬＲ１に特異的に結合し、抗体は、（ａ）配列番号１、２、および３と配列番号１３、１４、および１５、（ｂ）配列番号４、５、および６と配列番号１６、１７、および１８、（ｃ）配列番号７、８、および９と配列番号１９、２０、および２１、（ｄ）配列番号１０、１１、および１２と配列番号２２、２３、および２４、ならびに（ｅ）１、２、３、または４つの保存的アミノ酸置換を含む（ａ）～（ｄ）の変異体からなる群から選択されるポリペプチド配列を含む。

【００２２】

一実施形態では、少なくとも１つの抗体またはその抗原結合断片は、検出可能に標識される。

【００２３】

一実施形態では、投与される抗体は、ＦＯＬＲ１抗体ｈｕＭｏｖ１９を含む。
【００２４】
一実施形態では、ｈｕＭｏｖ１９は、抗体メイタンシノイド共役体として投与される。一実施形態では、抗体メイタンシノイド共役体は、メイタンシノイドＤＭ４と切断可能なスルホ－ＳＰＤＢリンカー（ＩＭＧＮ８５３）とを含む。
【００２５】
本発明は、ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者を治療する方法も提供し、この方法は、（ａ）ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者に、ＦＯＬＲ１活性を調節する固定用量の抗体またはその抗原結合断片を投与することと、（ｂ）ＦＯＬＲ１発現レベルの測定のために、患者から採取した試料を提出することと、（ｃ）測定の結果から、患者の脱落またはＣＴＣ　ＦＯＬＲ１レベルが、基準試料中のＦＯＬＲ１レベルと比較して上昇しているかを決定することと、（ｄ）患者の脱落またはＣＴＣ　ＦＯＬＲ１レベルが上昇している場合に、その後の固定用量の量および頻度を増加させることと、を含む。
【００２６】
本発明は、ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者を治療する方法も提供し、この方法は、（ａ）ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者に、ＦＯＬＲ１活性を調節する固定用量の抗体またはその抗原結合断片を投与することと、（ｂ）脱落またはＣＴＣ　ＦＯＬＲ１レベルの測定、および基準試料中のＦＯＬＲ１レベルとの比較のために、患者から採取した試料を提出することと、（ｃ）患者の脱落またはＣＴＣ　ＦＯＬＲ１レベルが上昇している場合に、その後の固定用量の量および頻度を増加させることと、を含み、患者のＦＯＬＲ１レベルの増加（例えば、増加した細胞死が、脱落ＦＯＬＲ１の増加した放出をもたらすため）または減少は、治療有効性を示す。
【００２７】
一実施形態では、投与される抗体は、ＦＯＬＲ１抗体ｈｕＭｏｖ１９を含む。別の実施形態では、ｈｕＭｏｖ１９は、抗体メイタンシノイド共役体として投与される。一実施形態では、抗体メイタンシノイド共役体は、メイタンシノイドＤＭ４と切断可能なスルホ－ＳＰＤＢリンカー（ＩＭＧＮ８５３）とを含む。
【００２８】
本発明は、ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者を治療する方法も提供し、この方法は、（ａ）ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者から試料を得ることであって、患者は、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を受けている、得ることと、（ｂ）抗体ｈｕＭｏｖ１９のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない抗体またはその抗原結合断片を用いて、試料から脱落またはＣＴＣ　ＦＯＬＲ１レベルを測定することと、（ｃ）患者の脱落またはＣＴＣ　ＦＯＬＲ１レベルが、基準試料中のＦＯＬＲ１レベルと比較して上昇しているかを決定することと、（ｄ）患者の脱落またはＣＴＣ　ＦＯＬＲ１レベルが上昇している場合に、その後の固定用量の量および頻度を増加させるようにヘルスケア提供者に指示することと、を含み、患者のＦＯＬＲ１の増加（例えば、増加した細胞死が、脱落ＦＯＬＲ１の増加した放出をもたらすため）または減少は、治療有効性を示す。
【００２９】
本発明は、試料中の脱落またはＣＴＣ　ＦＯＬＲ１を検出するための免疫分析キットも提供し、（ａ）ヒトＦＯＬＲ１に対する捕捉抗体であって、該捕捉抗体またはその抗原結合断片は、ｈｕＭｏｖ１９のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない、捕捉抗体と、（ｂ）検出試薬と、を含む。別の実施形態では、キットは、捕捉試薬のための固体支持体をさらに含む。別の実施形態では、捕捉試薬は、固体支持体上に固定される。別の実施形態では、捕捉試薬は、マイクロタイタープレート上にコーティングされる。別の実施形態では、検出試薬は、第２のＦＯＬＲ１抗体である。別の実施形態では、第１および／または第２のＦＯＬＲ１抗体は、（ａ）配列番号１、２、および３と配列番号１３、１４、および１５、（ｂ）配列番号４、５、および６と配列番号１６、１７、および１８、（ｃ）配列番号７、８、および９と配列番号１９、２０、および２１、（ｄ）配列番号１０、１１、

および１２と配列番号２２、２３、および２４、ならびに（ｅ）１、２、３、または４つの保存的アミノ酸置換を含む（ａ）～（ｄ）の変異体からなる群から選択されるポリペプチド配列を含む。

【００３０】

一実施形態では、検出試薬は、種特異的抗体を用いて検出される。別の実施形態では、キットは、検出可能な抗体のための検出手段をさらに含む。別の実施形態では、検出手段は、比色手段である。別の実施形態では、キットは、抗原標準としてＦＯＬＲ１ポリペプチドをさらに含む。別の実施形態では、ＦＯＬＲ１ポリペプチドは、ＦＯＬＲ１－Ｆｃである。

【００３１】

本発明は、（ａ）配列番号２５のポリペプチドおよび配列番号２９のポリペプチドを含む抗体、（ｂ）配列番号２６のポリペプチドおよび配列番号３０のポリペプチドを含む抗体、（ｃ）配列番号２７のポリペプチドおよび配列番号３１のポリペプチドを含む抗体、ならびに（ｄ）配列番号２８のポリペプチドおよび配列番号３２のポリペプチドを含む抗体からなる群から選択される抗体と同一のＦＯＬＲ１エピトープに特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片も提供する。

【００３２】

本発明は、ＦＯＬＲ１に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片も提供し、この抗体またはその断片は、（ａ）配列番号２５のポリペプチドおよび配列番号２９のポリペプチドを含む抗体、（ｂ）配列番号２６のポリペプチドおよび配列番号３０のポリペプチドを含む抗体、（ｃ）配列番号２７のポリペプチドおよび配列番号３１のポリペプチドを含む抗体、ならびに（ｄ）配列番号２８のポリペプチドおよび配列番号３２のポリペプチドを含む抗体からなる群から選択される抗体のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害する。

【００３３】

本発明は、ＦＯＬＲ１に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片も提供し、この抗体は、（ａ）配列番号１、２、および３と配列番号１３、１４、および１５、（ｂ）配列番号４、５、および６と配列番号１６、１７、および１８、（ｃ）配列番号７、８、および９と配列番号１９、２０、および２１、（ｄ）配列番号１０、１１、および１２と配列番号２２、２３、および２４、ならびに（ｅ）１、２、３、または４つの保存的アミノ酸置換を含む（ａ）～（ｄ）の変異体からなる群から選択されるポリペプチド配列を含む。

【００３４】

一実施形態では、抗体は、（ａ）配列番号２５および配列番号２９、（ｂ）配列番号２６および配列番号３０、（ｃ）配列番号２７および配列番号３１、ならびに（ｄ）配列番号２８および配列番号３２からなる群から選択されるポリペプチド配列と少なくとも９０％同一のポリペプチド配列を含む。別の実施形態では、ポリペプチド配列は、（ａ）配列番号２５および配列番号２９、（ｂ）配列番号２６および配列番号３０、（ｃ）配列番号２７および配列番号３１、ならびに（ｄ）配列番号２８および配列番号３２からなる群から選択されるポリペプチド配列と少なくとも９５％同一である。別の実施形態では、ポリペプチド配列は、（ａ）配列番号２５および配列番号２９、（ｂ）配列番号２６および配列番号３０、（ｃ）配列番号２７および配列番号３１、ならびに（ｄ）配列番号２８および配列番号３２からなる群から選択されるポリペプチド配列と少なくとも９９％同一である。

【００３５】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、マウス、非ヒト、ヒト化、キメラ、再表面化（ｒｅｓｕｒｆａｃｅｄ）、またはヒトである。別の実施形態では、抗体は、ヒトＦＯＬＲ１に結合するが、ＦＯＬＲ２またはＦＯＬＲ３には結合しない。別の実施形態では、抗体は、全長抗体または抗原結合断片である。別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｄ、一本鎖ＦｖもしくはｓｃＦｖ、ジスフィルド結合Ｆｖ、Ｖ－ＮＡＲドメイン、ＩｇＮａｒ、細胞内抗体、ＩｇＧΔＣＨ２、小型抗体（ｍｉｎｉｂｏｄｙ）、Ｆ（ａｂ’）３、四重特異性抗体（ｔｅｔｒａｂｏ

ｄｙ）、三重特異性抗体（ｔｒｉａｂｏｄｙ）、二重特異性抗体（ｄｉａｂｏｄｙ）、単一ドメイン抗体、ＤＶＤ－Ｉｇ、Ｆｃａｂ、ｍＡｂ２、（ｓｃＦｖ）２、またはｓｃＦｖ－Ｆｃを含む。

【００３６】

本発明は、ＦＯＬＲ１に特異的に結合するポリペプチドも提供し、このポリペプチドは、（ａ）配列番号１、２、および３と配列番号１３、１４、および１５、（ｂ）配列番号４、５、および６と配列番号１６、１７、および１８、（ｃ）配列番号７、８、および９と配列番号１９、２０、および２１、（ｄ）配列番号１０、１１、および１２と配列番号２２、２３、および２４、ならびに（ｅ）１、２、３、または４つの保存的アミノ酸置換を含む（ａ）～（ｄ）の変異体からなる群から選択される配列を含む。別の実施形態では、ポリペプチドは、（ａ）配列番号２５および配列番号２９、（ｂ）配列番号２６および配列番号３０、（ｃ）配列番号２７および配列番号３１、ならびに（ｄ）配列番号２８および配列番号３２からなる群から選択される配列と少なくとも９０％同一の配列を含む。別の実施形態では、配列は、（ａ）配列番号２５および配列番号２９、（ｂ）配列番号２６および配列番号３０、（ｃ）配列番号２７および配列番号３１、ならびに（ｄ）配列番号２８および配列番号３２から選択される配列と少なくとも９５％同一である。別の実施形態では、配列は、（ａ）配列番号２５および配列番号２９、（ｂ）配列番号２６および配列番号３０、（ｃ）配列番号２７および配列番号３１、ならびに（ｄ）配列番号２８および配列番号３２からなる群から選択される配列と少なくとも９９％同一である。

【００３７】

一実施形態では、抗体またはポリペプチドは、約１．０～約１０ｎＭのＫｄを有するヒト葉酸受容体１に結合する。別の実施形態では、抗体またはポリペプチドは、約１．０ｎＭまたはより良好なＫｄを有するヒト葉酸受容体１に結合する。別の実施形態では、結合親和性は、サイトメトリー、Ｂｉａｃｏｒｅ、ＥＬＩＳＡ、またはラジオイムノアッセイによって測定される。別の実施形態では、サイトメトリーは、フローサイトメトリーである。

【００３８】

本発明は、試料中のＦＯＬＲ１発現を検出する方法も提供し、この方法は、試料を、本発明の抗体もしくはその抗原結合断片またはポリペプチドと接触させることを含む。別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、検出可能に標識される。別の実施形態では、標識は、免疫蛍光標識、化学発光標識、リン光標識、酵素標識、放射標識、アビジン／ビオチン、コロイド金粒子、着色粒子、および磁性粒子からなる群から選択される。別の実施形態では、ＦＯＬＲ１発現は、ラジオイムノアッセイ、ウエスタンブロット分析、免疫蛍光分析、酵素免疫分析、免疫沈降分析、化学発光分析、または免疫組織化学分析によって決定される。別の実施形態では、ＦＯＬＲ１発現は、循環腫瘍細胞（ＣＴＣ）を、血液、血漿、または血清の試料から富化し、本発明の抗体またはその抗原結合断片を用いてＦＯＬＲ１発現に関して染色する、ＣＴＣ分析を用いて決定される。ＣＴＣ分析に有用な抗体の非限定的な例としては、ＦＲ１－９およびＦＲ１－１３が挙げられる。本発明の抗体を用いるＣＴＣ分析は、ＦＯＬＲ１に基づく療法に応答する可能性があるとして対象を同定するのに有用であり得る。

【００３９】

本発明は、本発明の抗体もしくはその抗原結合断片またはポリペプチドを産生する単離された細胞も提供する。

【００４０】

本発明は、本発明の抗体もしくはその抗原結合断片、またはポリペプチドを作製する方法も提供し、この方法は、（ａ）本発明の抗体もしくはその抗原結合断片、またはポリペプチドを発現する細胞を培養することを含む。

【００４１】

本発明は、癌を治療するための方法における使用のための、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤も提供し、ＦＯＬＲ１タンパク質の増加した発現

が、活性剤の投与前に、本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて対象由来の癌性試料において測定される。

【００４２】

本発明は、ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤も提供し、この方法は、（ａ）本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて、患者試料中のＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定することと、（ｂ）患者のＦＯＬＲ１タンパク質レベルが基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、患者に固定用量の活性剤を投与することと、を含む。

【００４３】

本発明は、ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤も提供し、この方法は、（ａ）ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者に、固定用量の活性剤を投与することと、（ｂ）本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて、患者のＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定することと、（ｃ）患者のＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量および頻度を増加させることと、を含む。

【００４４】

本発明は、ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤も提供し、（ａ）患者から採取した試料において測定されるＦＯＬＲ１タンパク質レベルは、本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較され、（ｂ）患者のＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、固定用量の活性剤が投与され、活性剤の投与は、ＦＯＬＲ１タンパク質レベルを減少させる。

【００４５】

本発明は、ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤も提供し、患者におけるＦＯＬＲ１発現細胞は、減少され、（ａ）固定用量の活性剤が、患者に投与され、（ｂ）患者から得られた試料において測定されるＦＯＬＲ１タンパク質レベルは、本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較され、（ｃ）患者のＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量および頻度が増加され、活性剤の投与は、ＦＯＬＲ１タンパク質レベルを減少させる。

【００４６】

本発明は、患者における固定用量の活性剤の治療有効性を監視するための方法における使用のための、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤も提供し、この方法は、（ａ）本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて、ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者からの試料中の第１のＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定することと、（ｂ）患者に、固定用量の活性剤を投与することと、（ｃ）本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて、活性剤投与後に患者から採取した試料中の第２のＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定することと、（ｄ）第２のＦＯＬＲ１タンパク質レベルを第１のＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較することと、を含み、第１および第２のＦＯＬＲ１タンパク質レベルの間の減少は、治療有効性を示す。

【００４７】

本発明は、患者におけるＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤も提供し、この方法は、（ａ）ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者に、固定用量の活性剤を投与することと、（ｂ）本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、またはポリ

ペプチドを用いるＦＯＬＲ１タンパク質レベルの測定のために、患者から採取した試料を提出することと、（ｃ）測定の結果から、患者のＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇しているかを決定することと、（ｄ）患者のＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量および／または頻度を増加させることと、を含む。

【００４８】

本発明は、ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤も提供し、この方法は、（ａ）ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者に、固定用量の活性剤を投与することと、（ｂ）本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いたＦＯＬＲ１タンパク質レベルの測定、および測定されたＦＯＬＲ１タンパク質レベルの基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルとの比較のために、患者から採取した試料を提出することと、（ｃ）患者のＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量または頻度を増加させることと、を含み、患者のＦＯＬＲ１レベルの減少は、治療有効性を示す。

【００４９】

本発明は、ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤も提供し、この方法は、（ａ）ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者から試料を得ることであって、患者は、固定用量の活性剤を受けている、得ることと、（ｂ）本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて、試料からＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定することと、（ｃ）患者のＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇しているかを決定することと、（ｄ）患者のＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量および／または頻度を増加させるか、または増加させるようにヘルスケア提供者に指示することと、を含み、患者のＦＯＬＲ１の減少は、治療有効性を示す。

【００５０】

本発明は、ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤も提供し、ＦＯＬＲ１の増加した発現が、活性剤の投与前に、本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて対象からの試料において測定される。

【００５１】

幾つかの実施形態では、測定されるＦＯＬＲ１タンパク質は、脱落ＦＯＬＲ１である。幾つかの実施形態では、測定されるＦＯＬＲ１タンパク質は、循環腫瘍細胞における。

【００５２】

幾つかの実施形態では、ＦＯＬＲ１タンパク質レベルは、体液において測定される。幾つかの実施形態では、体液は、腹水である。幾つかの実施形態では、体液は、血清、血液、または血漿である。幾つかの実施形態では、ＦＯＬＲ１タンパク質レベルは、末梢血液試料において測定される。

【００５３】

幾つかの実施形態では、患者は、癌を有する。幾つかの実施形態では、ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害は、癌である。幾つかの実施形態では、癌は、卵巣癌、非小細胞肺癌、子宮癌、子宮内膜癌、膵臓癌、腎臓癌、肺癌、および乳癌からなる群から選択される、ＦＯＬＲ１上昇癌である。幾つかの実施形態では、卵巣癌は、白金耐性または白金不応性である。幾つかの実施形態では、肺癌は、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）である。幾つかの実施形態では、癌は、子宮内膜癌である。

【００５４】

幾つかの実施形態では、ＦＯＬＲ１タンパク質レベルは、ＦＯＬＲ１に特異的に結合する２つの異なる抗体もしくはその抗原結合断片またはポリペプチドを用いて測定される。幾つかの実施形態では、ＦＯＬＲ１タンパク質を検出するために用いられる抗体、その抗原

結合断片、またはポリペプチドは、固体支持体に結合される。幾つかの実施形態では、固体支持体は、マイクロタイタープレートである。

【００５５】

幾つかの実施形態では、ＦＯＬＲ１タンパク質を検出するために用いられる抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドは、検出剤を含む。幾つかの実施形態では、検出剤は、発色検出剤、蛍光検出剤、酵素検出剤、または電気化学発光検出剤である。幾つかの実施形態では、検出剤は、西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）である。

【００５６】

幾つかの実施形態では、ＦＯＬＲ１タンパク質レベルは、酵素結合免疫吸着分析（ＥＬＩＳＡ）を用いて決定される。幾つかの実施形態では、ＥＬＩＳＡは、サンドイッチＥＬＩＳＡである。

【００５７】

幾つかの実施形態では、活性剤は、ＦＯＬＲ１抗体ｈｕＭｏｖ１９を含む。幾つかの実施形態では、ｈｕＭｏｖ１９は、細胞毒性剤に共役される。幾つかの実施形態では、ｈｕＭｏｖ１９は、メイタンシノイドＤＭ４と切断可能なスルホ－ＳＰＤＢリンカー（ＩＭＧＮ８５３）とをさらに含む抗体メイタンシノイド共役体として、投与される。

【００５８】

本発明は、診断剤としての使用のための、本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドも提供する。

【００５９】

本発明は、例えば、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体もしくはその抗原結合断片を含む活性剤を用いたＦＯＬＲ１媒介疾患もしくは障害の治療における使用のため、および／または、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体もしくはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤の治療有効性を監視するための、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体もしくはその抗原結合断片を含む活性剤のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない、抗体もしくはその抗原結合断片において提供される、抗体、その抗原結合断片、もしくはポリペプチドも提供する。

【００６０】

本発明は、本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、もしくはポリペプチドであって、（ｉ）ＦＯＬＲ１媒介疾患もしくは障害、および／または（ｉｉ）ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体もしくはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を用いたＦＯＬＲ１媒介疾患もしくは障害の治療に対する、応答、および／または（ｉｉｉ）ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体もしくはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を用いた治療の治療有効性を診断する方法における使用のための、本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドも提供する。幾つかの実施形態では、抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドは、癌に罹患する患者における癌を診断するための方法における、使用のためのものである。幾つかの実施形態では、癌は、ＦＯＬＲ１の上昇したレベルと関連している。幾つかの実施形態では、抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドは、検出剤を含む。幾つかの実施形態では、検出剤は、発色検出剤、蛍光検出剤、酵素検出剤、または電気化学発光検出剤である。

【００６１】

本発明は、方法も提供し、ＦＯＬＲ－１媒介疾患は、癌であり、活性剤は、ＩＭＧＮ８５３を含み、脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルは、活性剤のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない少なくとも２つの抗ＦＯＬＲ１抗体を用いるＥＬＩＳＡ分析を用いて測定され、少なくとも２つの抗ＦＯＬＲ１の各々は、（ａ）配列番号１、２、および３と配列番号１３、１４、および１５、（ｂ）配列番号４、５、および６と配列番号１６、１７、および１８、（ｃ）配列番号７、８、および９と配列番号１９、２０、および２１、ならびに（ｄ）配列番号１０、１１、および１２と配列番号２２、２３、および２４からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。

【００６２】

本発明は、方法も提供し、ＦＯＬＲ－１媒介疾患は、癌であり、活性剤は、ＩＭＧＮ８５

３を含み、活性剤のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない抗ＦＯＬＲ１抗体は、アミノ酸配列（ａ）配列番号１、２、および３と配列番号１３、１４、および１５、（ｂ）配列番号４、５、および６と配列番号１６、１７、および１８、（ｃ）配列番号７、８、および９と配列番号１９、２０、および２１、または（ｄ）配列番号１０、１１、および１２と配列番号２２、２３、および２４を含み、ＦＯＬＲ１タンパク質は、サイトメトリーによって検出される。

【００６３】

方法の幾つかの実施形態では、癌は、卵巣癌である。幾つかの実施形態では、卵巣癌は、白金耐性または白金不応性である。幾つかの実施形態では、癌は、ＮＳＣＬＣである。幾つかの実施形態では、癌は、子宮内膜癌である。

【００６４】

本発明は、活性剤も提供し、ＦＯＬＲ－１媒介疾患は、癌であり、活性剤は、ＩＭＧＮ８５３を含み、脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルは、活性剤のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない少なくとも２つの抗ＦＯＬＲ１抗体を用いるＥＬＩＳＡ分析を用いて測定され、少なくとも２つの抗ＦＯＬＲ１の各々は、（ａ）配列番号１、２、および３と配列番号１３、１４、および１５、（ｂ）配列番号４、５、および６と配列番号１６、１７、および１８、（ｃ）配列番号７、８、および９と配列番号１９、２０、および２１、ならびに（ｄ）配列番号１０、１１、および１２と配列番号２２、２３、および２４からなる群から選択されるアミノ酸配列を。

【００６５】

本発明は、活性剤も提供し、ＦＯＬＲ－１媒介疾患は、癌であり、活性剤は、ＩＭＧＮ８５３を含み、脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルは、活性剤のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない少なくとも２つの抗ＦＯＬＲ１抗体を用いるＥＬＩＳＡ分析を用いて測定され、少なくとも２つの抗ＦＯＬＲ１の各々は、（ａ）配列番号１、２、および３と配列番号１３、１４、および１５、（ｂ）配列番号４、５、および６と配列番号１６、１７、および１８、（ｃ）配列番号７、８、および９と配列番号１９、２０、および２１、ならびに（ｄ）配列番号１０、１１、および１２と配列番号２２、２３、および２４からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。

【００６６】

活性剤の幾つかの実施形態では、癌は、卵巣癌である。幾つかの実施形態では、卵巣癌は、白金耐性または白金不応性である。幾つかの実施形態では、癌は、ＮＳＣＬＣである。幾つかの実施形態では、癌は、子宮内膜癌である。

【００６７】

本発明は、癌を治療する方法も提供し、この方法は、基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇した脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルを有する患者に、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤を投与することを含み、患者のＦＯＬＲ１タンパク質レベルは、本明細書に提供される抗体、抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて測定される。

【００６８】

本発明は、癌を治療する方法も提供し、この方法は、基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇した循環腫瘍細胞中のＦＯＬＲ１タンパク質レベルを有する患者に、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤を投与することを含み、患者のＦＯＬＲ１タンパク質レベルは、本明細書に提供される抗体、抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて測定される。幾つかの実施形態では、活性剤は、ＩＭＧＮ８５３を含む。幾つかの実施形態では、癌は、卵巣癌である。幾つかの実施形態では、卵巣癌は、白金耐性または白金不応性である。幾つかの実施形態では、癌は、ＮＳＣＬＣである。幾つかの実施形態では、癌は、子宮内膜癌である。

【００６９】

本発明は、インビトロの試料中のＦＯＬＲ１タンパク質レベルの測定のための、本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドの使用も提供する。

本発明の好ましい実施形態では、例えば以下が提供される。
（項目１）
（ａ）配列番号２５のポリペプチドおよび配列番号２９のポリペプチドを含む抗体、
（ｂ）配列番号２６のポリペプチドおよび配列番号３０のポリペプチドを含む抗体、
（ｃ）配列番号２７のポリペプチドおよび配列番号３１のポリペプチドを含む抗体、ならびに
（ｄ）配列番号２８のポリペプチドおよび配列番号３２のポリペプチドを含む抗体からなる群から選択される抗体と同一のＦＯＬＲＩエピトープに特異的に結合するか、またはそのＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害する、抗体もしくはその抗原結合断片。
（項目２）
前記抗体またはその抗原結合断片は、
（ａ）配列番号１、２、および３と配列番号１３、１４、および１５、
（ｂ）配列番号４、５、および６と配列番号１６、１７、および１８、
（ｃ）配列番号７、８、および９と配列番号１９、２０、および２１、
（ｄ）配列番号１０、１１、および１２と配列番号２２、２３、および２４、ならびに
（ｅ）１、２、３、または４つの保存的アミノ酸置換を含む（ａ）～（ｄ）の変異体からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、項目１に記載の抗体または抗原結合断片。
（項目３）
前記抗体またはその抗原結合断片は、
（ａ）配列番号２５および配列番号２９、
（ｂ）配列番号２６および配列番号３０、
（ｃ）配列番号２７および配列番号３１、ならびに
（ｄ）配列番号２８および配列番号３２からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、項目１または２に記載の抗体またはその抗原結合断片。
（項目４）
前記抗体またはその抗原結合断片は、マウス、非ヒト、ヒト化、キメラ、再表面化、またはヒトである、項目１～３のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片。
（項目５）
ＦＯＬＲ１に特異的に結合するポリペプチドであって、前記ポリペプチドは、
（ａ）配列番号１、２、および３と配列番号１３、１４、および１５、
（ｂ）配列番号４、５、および６と配列番号１６、１７、および１８、
（ｃ）配列番号７、８、および９と配列番号１９、２０、および２１、
（ｄ）配列番号１０、１１、および１２と配列番号２２、２３、および２４、ならびに
（ｅ）１、２、３、または４つの保存的アミノ酸置換を含む（ａ）～（ｄ）の変異体からなる群から選択される配列を含む、ポリペプチド。
（項目６）
項目１～５のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドをコードする、核酸分子。
（項目７）
試料中のＦＯＬＲ１タンパク質を検出する方法であって、前記試料を、項目１～５のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドと接触させることを含む、方法。
（項目８）
前記ＦＯＬＲ１タンパク質は、ラジオイムノアッセイ、ウエスタンブロット分析、免疫蛍光分析、酵素免疫分析、免疫沈降分析、化学発光分析、サイトメトリー、または免疫組織化学分析によって検出される、項目７に記載の方法。
（項目９）
前記サイトメトリーは、フローサイトメトリーである、項目８に記載の方法。
（項目１０）
前記ＦＯＬＲ１タンパク質は、脱落ＦＯＬＲ１タンパク質である、項目７または８に記

載の方法。
（項目１１）
前記ＦＯＬＲ１タンパク質は、前記試料中の循環腫瘍細胞において検出される、項目７または８に記載の方法。
（項目１２）
前記酵素免疫分析は、酵素結合免疫吸着分析（ＥＬＩＳＡ）である、項目８に記載の方法。
（項目１３）
前記ＦＯＬＲ１タンパク質は、免疫組織化学分析によって検出される、項目８に記載の方法。
（項目１４）
項目１～５のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを産生する、細胞。
（項目１５）
項目１～５のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを作製する方法であって、（ａ）項目１２に記載の細胞を培養することと、（ｂ）前記培養された細胞から、前記抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを単離することと、を含む、方法。
（項目１６）
試料中のＦＯＬＲ１タンパク質を検出するための免疫分析キットであって、（ａ）第１の試薬であって、前記第１の試薬は、項目１～４のいずれか一項に記載の抗体もしくはその抗原結合断片または項目５に記載のポリペプチドである、第１の試薬と、（ｂ）第２の試薬であって、前記第２の試薬は、検出試薬である、第２の試薬と、を含む、キット。
（項目１７）
癌を治療する方法であって、上昇したＦＯＬＲ１タンパク質レベルを有する患者に、ＦＯＬＲ１に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤を投与することを含み、前記上昇したＦＯＬＲ１タンパク質レベルは、項目１～４のいずれか一項に記載の抗体もしくはその抗原結合断片または項目５に記載のポリペプチドを用いて測定される、方法。
【図面の簡単な説明】
【００７０】
【図１】ＦＯＬＲ１脱落抗原分析の概略図である。
【図２Ａ】（Ａ）Ｍｏｖ１９競合ＥＬＩＳＡ分析の概略図である。
【図２Ｂ】（Ｂ）Ｍｏｖ１９を用いたサンドイッチＥＬＩＳＡによる、ｍｕＦＲ１－１３の結合親和性の決定である。
【図３Ａ】（Ａ）非競合的ＦＯＬＲ１結合エピトープを決定するための、直接結合競合ＥＬＩＳＡの概略図である。
【図３Ｂ】（Ｂ）抗ＦＯＬＲ１抗体のＭｏｖ１９との結合干渉をスクリーニングするための、競合ＥＬＩＳＡ結果のＬｏｇ変換グラフである。
【図４】抗ＦＯＬＲ１抗体のｍｕＦＲ１－１３との結合干渉をスクリーニングするための、競合ＥＬＩＳＡ結果のＬｏｇ変換グラフである。
【図５】サンドイッチＥＬＩＳＡによる、抗ＦＯＬＲ１抗体の結合親和性である。
【図６】（Ａ）フローサイトメトリーおよび（Ｂ）サンドイッチＥＬＩＳＡの双方による、ＦＲ１－１３の結合親和性である。
【図７】サンドイッチＥＬＩＳＡによる、（Ａ）ＦＯＬＲ２および（Ｂ）ＦＯＬＲ３に結合する抗体に関する結果のＬｏｇ変換グラフである。
【図８】ＦＲ１－９およびＦＲ１－１３を用いた脱ＦＯＬＲ１抗原の検出に対する、ＦＯＬＲ１に予め結合された葉酸の効果である。
【図９】ＦＯＬＲ１の存在および干渉する分析タンパク質の存在に関する、ヒト腹水試料の分析である。

【図１０】ＦＯＬＲ１の存在および干渉する分析タンパク質の存在に関する、正常ヒトプール血漿試料の分析である。
【図１１】ＦＯＬＲ１サンドイッチＥＬＩＳＡを用いた、ヒト卵巣患者血漿試料中のＦＯＬＲ１濃度の決定である。
【図１２】連続的に希釈した精製ＦＯＬＲ１－Ｆｃ融合タンパク質標準の４ＰＬのＳ状用量応答曲線適合に基づく、患者試料中のＦＯＬＲ１の量の補間に関する概略図である。
【図１３】一定範囲のＦＯＬＲ１発現レベルを有する細胞株を用いた抗ＦＯＬＲ１抗体の滴定である。各細胞株および希釈に関して、三連の染色を実施した。平均蛍光強度（ＭＦＩ）を、ＦＲＡ発現に関して測定し、平均化し、表に示す（誤差はＳＥＭを表す）。
【図１４】抗ＦＯＬＲ１抗体の最適希釈を用いた細胞株におけるＦＯＬＲ１発現を示すヒストグラムである。
【図１５】抗ＦＯＬＲ１抗体とＩＭＧＮ８５３との間の競合を示すグラフである。
【発明を実施するための形態】
【００７１】
本発明は、患者試料中の循環腫瘍細胞中の脱落ヒト葉酸受容体１（ＦＯＬＲ１）またはＦＯＬＲ１を検出する、新規の方法を提供する。ＦＯＬＲ１は、抗ＦＯＬＲ１活性剤（例えば、抗体ｈｕＭｏｖ１９を含む活性剤）のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない抗体を用いて、検出され得る。抗ＦＯＬＲ１活性剤の結合を競合的に阻害しない抗体は、抗ＦＯＬＲ１活性剤を用いて治療されている患者からの試料中のＦＯＬＲ１（例えば、循環腫瘍細胞中の脱落ＦＯＬＲ１またはＦＯＬＲ１）の検出において、特に有用である。循環腫瘍細胞中の脱落ＦＯＬＲ１またはＦＯＬＲ１は、ＦＯＬＲ１の過剰発現によって特徴付けられる癌治療の治療有効性、またはそれに対する応答の可能性を監視または決定するために、使用され得る。脱落ＦＯＬＲ１検出方法および追加のＦＯＬＲ１検出方法（例えば、ＦＯＬＲ１に関連した膜結合および細胞に関するＩＨＣ、およびＣＴＣ分析）に有用な新規のＦＯＬＲ１結合ポリペプチド、例えば、抗体等も、開示される。関連するポリペプチドおよびポリヌクレオチド、ＦＯＬＲ１結合剤を含む組成物、ならびにＦＯＬＲ１結合剤を作製する方法も、提供される。それに加えて、本明細書に提供される方法は、患者の層別化のために使用され得る。
【００７２】
Ｉ．　定義
本発明の理解を助けるために、多数の用語および語句を、下記に定義する。
【００７３】
本明細書で使用するとき、用語「ヒト葉酸受容体１」、「ＦＯＬＲ１」、または「葉酸受容体α（ＦＲ－α）」は、別段に指定されない限り、任意の天然のヒトＦＯＬＲ１を指す。したがって、これらの用語は全て、本明細書に指定されるタンパク質か核酸配列かのいずれかを指すことができる。用語「ＦＯＬＲ１」は、「全長」の未処理ＦＯＬＲ１、および細胞内の処理の結果として得られるＦＯＬＲ１の任意の形態を包含する。本用語はまた、ＦＯＬＲ１の自然発生変異体、例えば、スプライス変異体（ＦＯＬＲ２、ＦＯＬＲ３、またはＦＯＬＲ４を包含する変異体を除く）、対立遺伝子変異体、およびアイソフォームも包含する。本明細書に説明されるＦＯＬＲ１ポリペプチドは、種々の供給源から、例えば、ヒト組織型もしくは別の供給源から単離することができ、または組換えもしくは合成方法によって調製することができる。ＦＯＬＲ１配列の例としては、ＮＣＢＩ参照番号Ｐ１５３２８、ＮＰ＿００１０９２２４２．１、ＡＡＸ２９２６８．１、ＡＡＸ３７１１９．１、ＮＰ＿０５７９３７．１、およびＮＰ＿０５７９３６．１が挙げられるが、これらに限定されない。ヒトＦＯＬＲ１配列は、以下のものである：
ＭＡＱＲＭＴＴＱＬＬＬＬＬＶＷＶＡＶＶＧＥＡＱＴＲＩＡＷＡＲＴＥＬＬＮＶＣＭＮＡ
ＫＨＨＫＥＫＰＧＰＥＤＫＬＨＥＱＣＲＰＷＲＫＮＡＣＣＳＴＮＴＳＱＥＡＨＫＤＶＳＹ
ＬＹＲＦＮＷＮＨＣＧＥＭＡＰＡＣＫＲＨＦＩＱＤＴＣＬＹＥＣＳＰＮＬＧＰＷＩＱＱＶ
ＤＱＳＷＲＫＥＲＶＬＮＶＰＬＣＫＥＤＣＥＱＷＷＥＤＣＲＴＳＹＴＣＫＳＮＷＨＫＧＷ
ＮＷＴＳＧＦＮＫＣＡＶＧＡＡＣＱＰＦＨＦＹＦＰＴＰＴＶＬＣＮＥＩＷＴＨＳＹＫＶＳ

ＮＹＳＲＧＳＧＲＣＩＱＭＷＦＤＰＡＱＧＮＰＮＥＥＶＡＲＦＹＡＡＡＭＳＧＡＧＰＷＡＡＷＰＦＬＬＳＬＡＬＭＬＬＷＬＬＳ（配列番号４９）。

【００７４】

用語「脱落抗原」および「脱落ＦＯＬＲ１」は、本明細書において互換的に使用される。これらの用語は、可溶性であり、細胞結合型ではないＦＯＬＲ１タンパク質を指す。幾つかの実施形態では、これは、細胞外ドメイン（ＥＣＤ）およびグリコシルフォスファチジルイノシトール（ＧＰＩ）リンカーを含む。一実施形態では、脱落ＦＯＬＲ１は、ＥＣＤのみを含む。ＦＯＬＲ１は、シグナルペプチド（アミノ酸１～２４）、ＦＯＬＲ１タンパク質鎖（アミノ酸２５～２３３または２３４）、および切断され得るプロペプチド（アミノ酸２３５～２５７）を含む。脱落ＦＯＬＲは、アミノ酸１～２５７、１～２３３、１～２３４、２５～２３３、２５～２３４、または任意の他のその断片を含むことができる。幾つかの実施形態では、シグナル配列は、切断される。他の実施形態では、ＥＣＤおよびＧＰＩ部分は、膜（例えば、可溶性脂質ラフト）の中に埋め込まれ得る。一実施形態では、脱落ＦＯＬＲ１は、アミノ酸１～２３３またはその断片を含むことができる。

【００７５】

用語「抗体」は、免疫グロブリン分子の可変領域内の少なくとも１つの抗原認識部位を通して、標的、例えば、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、炭水化物、ポリヌクレオチド、脂質、または前述のものの組み合わせ等を認識し、特異的に結合する、免疫グロブリン分子を意味する。本明細書で使用するとき、用語「抗体」は、無傷ポリクローナル抗体、無傷モノクローナル抗体、抗体断片（Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、およびＦｖ断片等）、一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）突然変異体、二重特異性抗体等の多特異性抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、抗体の抗原決定部分を含む融合タンパク質、ならびに抗体が所望の生物学的活性を示す限りは、抗原認識部位を含む任意の他の修飾免疫グロブリン分子を包含する。抗体は、５つの主要なクラスの免疫グロブリン：ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ、およびＩｇＭ、または、それぞれα、δ、ε、γ、およびμと称されるその重鎖定常ドメインの同一性に基づく、そのサブクラス（アイソタイプ）（例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１、およびＩｇＡ２）のうちのいずれかであり得る。異なるクラスの免疫グロブリンは、異なる、また周知のサブユニット構造および３次元構成を有する。抗体は、裸であるか、または毒素、放射性同位体等の他の分子に共役され得る。

【００７６】

幾つかの実施形態では、抗体は、非自然発生抗体である。幾つかの実施形態では、抗体は、天然の成分から精製される。幾つかの実施形態では、抗体は、組換え産生される。幾つかの実施形態では、抗体は、ハイブリドーマによって産生される。

【００７７】

「遮断」抗体または「アンタゴニスト」抗体は、ＦＯＬＲ１等のそれが結合する抗原の生物学的活性を阻害または低減させる抗体である。特定の実施形態では、遮断抗体またはアンタゴニスト抗体は、抗原の生物学的活性を実質的または完全に阻害する。望ましくは、生物学的活性は、１０％、２０％、３０％、５０％、７０％、８０％、９０％、９５％、またはさらには１００％低減される。

【００７８】

用語「抗ＦＯＬＲ１抗体」または「ＦＯＬＲ１に結合する抗体」は、抗体が、ＦＯＬＲ１を標的とすることにおいて診断剤および／または治療剤として有用であるように、十分な親和性によってＦＯＬＲ１に結合可能である抗体を指す。抗ＦＯＬＲ１抗体の関連しない非ＦＯＬＲ１タンパク質への結合の程度は、例えば、ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）によって測定するとき、抗体のＦＯＬＲ１への結合の約１０％未満である。特定の実施形態では、ＦＯＬＲ１に結合する抗体は、≦１μＭ、≦１００ｎＭ、≦１０ｎＭ、≦１ｎＭ、または≦０．１ｎＭの解離定数（Ｋｄ）を有する。一実施形態では、抗ＦＯＬＲ１抗体は、ＦＯＬＲ２、ＦＯＬＲ３、ＦＯＬＲ４、または葉酸に結合しない。

【００７９】

用語「抗体断片」は、無傷抗体の一部分を差し、また無傷抗体の抗原決定可変領域を指す。抗体断片の例としては、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、およびＦｖ断片、線状抗体、一本鎖抗体、ならびに抗体断片から形成される多特異性抗体が挙げられるが、これらに限定されない。本明細書で使用するとき、用語「モノクローナル抗体」は、実質的に均質な抗体の集団から得られる抗体を指し、即ち、該集団を構成する個々の抗体は、例えば、若干存在し得る自然発生突然変異等の可能な突然変異を除き、同一である。したがって、修飾因子「モノクローナル」は、抗体の特徴を別個の抗体の混合物としてではなく示す。特定の実施形態では、かかるモノクローナル抗体は、典型的には、標的に結合するポリペプチド配列を含む抗体を含み、標的結合ポリペプチド配列は、複数のポリペプチド配列から、単一の標的結合ポリペプチド配列を選択することを含むプロセスによって得られる。例えば、選択プロセスは、ハイブリドーマクローン、ファージクローン、または組換えＤＮＡクローンのプール等の複数のクローンからの、固有のクローンの選択であり得る。選択される標的結合配列は、例えば、標的への親和性を改善する、標的結合配列をヒト化する、細胞培養におけるその産生を改善する、インビボのその免疫原性を低減させる、多特異性抗体を作製する等のために、さらに変更され得ること、また、変更された標的結合配列を含む抗体も、本発明のモノクローナル抗体であることを理解すべきである。異なる決定基（エピトープ）に対する異なる抗体を典型的に含む、ポリクローナル抗体製剤とは対照的に、モノクローナル抗体製剤の各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対する。その特異性に加えて、モノクローナル抗体調製物は、典型的には他の免疫グロブリンによって汚染されていないという点で有利である。

【００８０】

修飾因子「モノクローナル」は、実質的に均質な抗体の集団から得られたものとしての抗体の特徴を示し、特定の方法による抗体の産生を必要とするようには解釈されない。 例えば、本発明に従って用いられるモノクローナル抗体は、種々の技術によって作製することができ、例えば、ハイブリドーマ法（例えば、Ｋｏｈｌｅｒ ａｎｄ Ｍｉｌｓｔｅｉｎ, Ｎａｔｕｒｅ, ２５６：４９５－９７ （１９７５）；Ｈｏｎｇｏ ｅｔ ａｌ．, Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ, １４（３）：２５３－２６０ （１９９５）、Ｈａｒｌｏｗ ｅｔ ａｌ．, Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ, （Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ, ２ｎｄ ｅｄ. １９８８）；Ｈａｍｍｅｒｌｉｎｇ ｅｔ ａｌ．, Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｔ－Ｃｅｌｌ Ｈｙｂｒｉｄｏｍａｓ ５６３－６８１（Ｅｌｓｅｖｉｅｒ, Ｎ．Ｙ．, １９８１）中）、組換えＤＮＡ法（例えば、米国特許第４，８１６，５６７号を参照）、ファージディスプレイ技術（例えば、Ｃｌａｃｋｓｏｎ ｅｔ ａｌ．, Ｎａｔｕｒｅ, ３５２： ６２４－６２８ （１９９１）；Ｍａｒｋｓ ｅｔ ａｌ．, Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２２：５８１－５９７ （１９９２）；Ｓｉｄｈｕ ｅｔ ａｌ．, Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３３８（２）：２９９－３１０ （２００４）；Ｌｅｅ ｅｔ ａｌ．, Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３４０（５）：１０７３－１０９３ （２００４）；Ｆｅｌｌｏｕｓｅ, Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ １０１（３４）：１２４６７－１２４７２ （２００４）；およびＬｅｅ ｅｔ ａｌ．, Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ ２８４（１－２）：１１９－１３２ （２００４）を参照）、ならびにヒト免疫グロブリン遺伝子座またはヒト免疫グロブリン配列をコードする遺伝子の一部または全部を有するヒト抗体または動物内のヒト様抗体を産生するための技術（例えば、ＷＯ１９９８／２４８９３号；ＷＯ１９９６／３４０９６号；ＷＯ１９９６／３３７３５号；ＷＯ１９９１／１０７４１号；Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｓ ｅｔ ａｌ．, Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９０：２５５１ （１９９３）；Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｓ ｅｔ ａｌ．, Ｎａｔｕｒｅ ３６２：２５５－２５８ （１９９３）；Ｂｒｕｇｇｅｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．, Ｙｅａｒ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌ．７：３３ （１９９３）；米国特許第５，５４５，８０７号；同第５，５４５，８０６号；同第５，５６９，８２５号；同第５，６２５，１２６号；同第５，６３３，４２５号；および

同第５，６６１，０１６号；Ｍａｒｋｓ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １０：７７９－７８３（１９９２）；Ｌｏｎｂｅｒｇ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３６８：８５６－８５９（１９９４）；Ｍｏｒｒｉｓｏｎ，Ｎａｔｕｒｅ ３６８：８１２－８１３（１９９４）；Ｆｉｓｈｗｉｌｄ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１４：８４５－８５１（１９９６）；Ｎｅｕｂｅｒｇｅｒ，Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１４：８２６（１９９６）；ならびにＬｏｎｂｅｒｇ ａｎｄ Ｈｕｓｚａｒ，Ｉｎｔｅｒｎ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１３：６５－９３（１９９５）を参照）が挙げられる。

【００８１】

用語「ヒト化抗体」は、特定の免疫グロブリン鎖、キメラ免疫グロブリン、または最小の非ヒト（例えば、マウス）配列を含有するそれらの断片である、非ヒト（例えば、マウス）抗体の形態を指す。典型的には、ヒト化抗体は、相補性決定領域（ＣＤＲ）由来の残基が、所望の特異性、親和性、および能力を有する非ヒト種（例えば、マウス、ラット、ウサギ、ハムスター）のＣＤＲ由来の残基によって置換される、ヒト免疫グロブリンである（Ｊｏｎｅｓ ｅｔ ａｌ．，１９８６，Ｎａｔｕｒｅ，３２１：５２２－５２５；Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，１９８８，Ｎａｔｕｒｅ，３３２：３２３－３２７；Ｖｅｒｈｏｅｙｅｎ ｅｔ ａｌ．，１９８８，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２３９：１５３４－１５３６）。場合により、ヒト免疫グロブリンのＦｖフレームワーク領域（ＦＲ）残基は、所望の特異性、親和性、および能力を有する非ヒト種由来の抗体内の対応する残基によって置き換えられる。ヒト化抗体は、抗体特異性、親和性、および／または能力を高め、最適化するために、Ｆｖフレームワーク領域および／または置き換えられた非ヒト残基内の追加の残基の置換によって、さらに修飾され得る。概して、ヒト化抗体は、非ヒト免疫グロブリンに対応するＣＤＲ領域の全てまたは実質的に全てを含有する少なくとも１つ、また典型的には２または３つの可変ドメインのうちの実質的に全てを含み、一方、ＦＲ領域の全てまたは実質的に全ては、ヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のものである。ヒト化抗体はまた、免疫グロブリン定常領域またはドメイン（Ｆｃ）の少なくとも一部分を含むこともでき、それらは典型的には、ヒト免疫グロブリンのものである。ヒト化抗体を生成するために用いられる方法の例は、米国特許第５，２２５，５３９号または同第５，６３９，６４１号に説明される。抗体の「再表面化」は概して、軽鎖および重鎖の双方における可変領域フレームワーク表面残基の同定、ならびにヒトの等価物を用いてそれらを置き換えることを含む。　抗体を再表面化する方法は、例えば、Ｒｏｇｕｓｋａ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，ＵＳＡ，９１（３）：９６９－９７３（１９９４）およびＲｏｇｕｓｋａ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．９（１０）：８９５－９０４（１９９６）に提供されており、それらは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【００８２】

抗体の「可変領域」は、単独でか、または組み合わせて、抗体軽鎖の可変領域または抗体重鎖の可変領域を指す。重鎖および軽鎖の可変領域は各々、超可変領域としても既知である３つの相補性決定領域（ＣＤＲ）によって接続される、４つのフレームワーク領域（ＦＲ）からなる。各鎖内のＣＤＲは、ＦＲによって極めて近接して一緒に保持され、他の鎖に由来するＣＤＲと共に、抗体の抗原結合部位の形成に寄与する。ＣＤＲを決定するための、少なくとも２つの技術が存在する：（１）種間配列変動に基づくアプローチ（即ち、Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，（５ｔｈ ｅｄ．，１９９１，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ Ｍｄ．））、および（２）抗原－抗体複合体の結晶学的研究に基づくアプローチ（Ａｌ－ｌａｚｉｋａｎｉ ｅｔ ａｌ（１９９７）Ｊ．Ｍｏｌｅｃ．Ｂｉｏｌ．２７３：９２７－９４８））。それに加えて、当該技術分野では、これらの２つのアプローチの組み合わせがＣＤＲを決定するために使用される場合もある。

【００８３】

Ｋａｂａｔの番号付けシステムは、概して、可変ドメイン内の残基（概ね、軽鎖の残基１～１０７および重鎖の残基１～１１３）に言及する際に用いられる（例えば、Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．，　Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｔｅｒｅｓｔ．　５ｔｈ　Ｅｄ．　Ｐｕｂｌｉｃ　Ｈｅａｌｔｈ　Ｓｅｒｖｉｃｅ，　Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ，　Ｂｅｔｈｅｓｄａ，　Ｍｄ．（１９９１））。

【００８４】

Ｋａｂａｔにおいて、アミノ酸位置の番号付けは、Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．，　Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，　５ｔｈ　Ｅｄ．　Ｐｕｂｌｉｃ　Ｈｅａｌｔｈ　Ｓｅｒｖｉｃｅ，　Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ，　Ｂｅｔｈｅｓｄａ，　Ｍｄ．（１９９１）内の、抗体の編集物の重鎖可変ドメインまたは軽鎖可変ドメインに関して用いられる番号付けシステムを指す。この番号付けシステムを用いて、実際の線状アミノ酸配列は、可変ドメインのＦＲまたはＣＤＲの短縮、またはそれへの挿入に対応する、より少ない、または追加のアミノ酸を含有することができる。例えば、重鎖可変ドメインは、Ｈ２の残基５２の後の単一のアミノ酸挿入（Ｋａｂａｔによる残基５２ａ）、および重鎖ＦＲ残基８２の後の挿入された残基（例えば、Ｋａｂａｔによる残基８２ａ、８２ｂ、および８２ｃ等）を含むことができる。残基のＫａｂａｔ番号付けは、抗体の配列の相同領域における「標準」Ｋａｂａｔ番号付き配列との整列によって、所与の抗体に関して決定することができる。　Ｃｈｏｔｈｉａは、代わりに、構造的ループの位置に言及する（Ｃｈｏｔｈｉａ　ａｎｄ　Ｌｅｓｋ　Ｊ．Ｍｏｌ．　Ｂｉｏｌ．　１９６：９０１－９１７　（１９８７））。ＣｈｏｔｈｉａのＣＤＲ－Ｈ１ループの末端は、Ｋａｂａｔ番号付け方式を用いて番号付けされるとき、ループの長さに応じてＨ３２とＨ３４との間で変動する（これは、Ｋａｂａｔ番号付けスキームが、Ｈ３５ＡおよびＨ３５Ｂにて挿入を置くためであり、３５Ａおよび３５Ｂのいずれも存在しない場合、ループは３２にて終了し、３５Ａのみが存在する場合、ループは３３にて終了し、３５Ａおよび３５Ｂの双方が存在する場合、ループは３４にて終了する）。ＡｂＭ超可変領域は、ＫａｂａｔのＣＤＲとＣｈｏｔｈｉａの構造的ループとの間の妥協案を表し、Ｏｘｆｏｒｄ　ＭｏｌｅｃｕｌａｒのＡｂＭ抗体モデリングソフトウエアによって用いられる。

【表１Ａ】

環	Kabat	AbM	Chothia
L1	L24-L34	L24-L34	L24-L34
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L56
L3	L89-L97	L89-L97	L89-L97
H1	H31-H35B	H26-H35B (Kabat 番号付け)	H26-H32..34
H1	H31-H35	H26-H35 (Chothia 番号付け)	H26-H32
H2	H50-H65	H50-H58	H52-H56
H3	H95-H102	H95-H102	H95-H102

【００８５】

用語「ヒト抗体」は、ヒトによって産生される抗体、または当該技術分野において既知である任意の技術を用いて作製される、ヒトによって産生される抗体に対応するアミノ酸配列を有する抗体を意味する。ヒト抗体のこの定義は、無傷もしくは全長抗体、その断片、ならびに／または、少なくとも１つのヒト重鎖および／もしくは軽鎖ポリペプチドを含む抗体、例えば、マウス軽鎖およびヒト重鎖ポリペプチドを含む抗体を含む。

【００８６】

用語「キメラ抗体」は、免疫グロブリン分子のアミノ酸配列が２つ以上の種に由来する抗

体を指す。典型的には、軽鎖および重鎖の双方の可変領域は、所望の特異性、親和性、および能力を有する１種の哺乳類（例えば、マウス、ラット、ウサギ等）に由来する抗体の可変領域に対応し、一方、定常領域は、その種における免疫応答を引き起こすのを回避するために、別のもの（通常、ヒト）に由来する抗体内の配列に相同である。

【００８７】

用語「エピトープ」または「抗原決定基」は、本明細書において互換的に使用され、特定の抗体によって認識および特異的に結合されることが可能な抗原の部分を指す。抗原がポリペプチドである場合、エピトープは、連続アミノ酸から、およびタンパク質の３次折り畳み（ｔｅｒｔｉａｒｙ　ｆｏｌｄｉｎｇ）によって並列する非連続アミノ酸からの双方から形成することができる。連続アミノ酸から形成されるエピトープは、典型的にはタンパク質変性に際して保持され、一方、３次折り畳みによって形成されるエピトープは、典型的にはタンパク質変性に際して失われる。エピトープは典型的には、固有の空間構造内に、少なくとも３個、またより通常は、少なくとも５または８～１０個のアミノ酸を含む。

【００８８】

「結合親和性」は概して、分子（例えば、抗体）の単一の結合部位とその結合パートナー（例えば、抗原）との間の、非共有的相互作用の和の強度を指す。別段に指定されない限り、本明細書で使用するとき、「結合親和性」は、結合対のメンバー（例えば、抗体と抗原）間の１：１の相互作用を反映する、本来の結合親和性を指す。分子Ｘの、そのパートナーＹに対する親和性は、一般に、解離定数（Ｋｄ）によって表すことができる。親和性は、本明細書に記載される方法を含む、当該技術分野で既知の一般的な方法によって測定することができる。低親和性抗体は概して、ゆっくりと抗原に結合し、容易に解離する傾向があるのに対し、高親和性抗体は概して、より速く抗原に結合し、結合をより長く保つ傾向がある。結合親和性を測定する種々の方法が、当該技術分野において既知であり、それらのうちのいずれも、本発明の目的のために使用することができる。特定の例証的実施形態は、本明細書に説明される。

【００８９】

本明細書において結合親和性に言及して使用するとき、「またはより良好な」は、分子とその結合パートナーとの間のより強力な結合を指す。本明細書で使用するとき、「またはより良好な」は、より強力な結合を指し、より小さいＫｄ数値で表される。例えば、「０．６ｎＭまたはより良好な」抗原に対する親和性を有する抗体では、抗原に対する抗体の親和性は、＜０．６ｎＭ、即ち、０．５９ｎＭ、０．５８ｎＭ、０．５７ｎＭ等、または０．６ｎＭ未満の任意の値である。一実施形態では、抗体の親和性は、Ｋｄによって決定するとき、約10^{-3}～約10^{-12}Ｍ、約10^{-6}～約10^{-11}Ｍ、約10^{-6}～約10^{-10}Ｍ、約10^{-6}～約10^{-9}Ｍ、約10^{-6}～約10^{-8}Ｍ、または約10^{-6}～約10^{-7}Ｍとなる。

【００９０】

本明細書で使用するとき、語句「実質的に類似の」または「実質的に同一の」は、２つの数値（概して、一方は本発明の抗体に関連し、もう一方は基準／比較抗体に関連する）間の十分に高い度合の類似性を示し、したがって当業者であれば、２つの値の間の差は、該値（例えば、Ｋｄ値）によって測定される生物学的特徴の文脈において、生物学的および／または統計的有意性をほとんどまたは全く伴わないものであると考えるであろう。該２つの値の間の差は、基準／比較抗体に関する値の関数として、約５０％未満、約４０％未満、３０％未満、約２０％未満、または約１０％未満である。

【００９１】

「単離された」ポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物は、天然には見出されない形態のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物である。単離されたポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物としては、もはや天然に見出される形態ではない度合まで精製されているものが挙げられる。幾つかの実施形態では、単離された抗体、ポリヌクレオチド、

ベクター、細胞、または組成物は、実質的に純粋である。

【００９２】

本明細書で使用するとき、「実質的に純粋である」は、少なくとも５０％純粋である（即ち、汚染物を含まない）、少なくとも９０％純粋である、少なくとも９５％純粋である、少なくとも９８％純粋である、または少なくとも９９％純粋である材料を指す。

【００９３】

用語ＦＯＬＲ１の「増加した発現」は、基準試料、基準ＦＯＬＲ１レベル、または同一対象から検出された以前のＦＯＬＲ１レベルと比較して、上昇したレベルのＦＯＬＲ１発現を含有する試料を指す。したがって、例えば、患者試料中の「増加したＦＯＬＲ１タンパク質レベル」は、非癌性基準試料中のＦＯＬＲ１タンパク質レベルよりも高いＦＯＬＲ１タンパク質レベルを有することができる。患者試料中の「増加したＦＯＬＲ１タンパク質レベル」はまた、例えば、癌性試料中のＦＯＬＲ１タンパク質レベルと等しいＦＯＬＲ１タンパク質レベルを有することもできる。幾つかの実施形態では、「増加したＦＯＬＲ１タンパク質レベル」が検出され、患者のＦＯＬＲ１タンパク質レベルは、例えば、同一対象から検出された以前のＦＯＬＲ１レベルよりも、少なくとも約５％、少なくとも約１０％、少なくとも約１５％、少なくとも約２０％、または少なくとも約２５％、少なくとも約３０％、または少なくとも約５０％多い。循環腫瘍細胞分析において、「増加したＦＯＬＲ１タンパク質レベル」は、ＦＯＬＲ１が、より多い割合の細胞中に検出される試料、またはＦＯＬＲ１が、より高いレベルで細胞中に検出される試料を指すことができる。したがって、幾つかの実施形態では、「増加したＦＯＬＲ１タンパク質レベル」は、ＣＴＣ分析にて検出され、少なくとも約５％、少なくとも約１０％、少なくとも約１５％、少なくとも約２０％、または少なくとも約２５％、少なくとも約３０％、または少なくとも約５０％多い細胞が、ＦＯＬＲ１発現を示す。それに加えて、幾つかの実施形態では、「増加したＦＯＬＲ１タンパク質レベル」は、ＣＴＣ分析にて検出され、少なくとも約５％、少なくとも約１０％、少なくとも約１５％、少なくとも約２０％、または少なくとも約２５％、少なくとも約３０％、または少なくとも約５０％多いＦＯＬＲ１が、細胞中に検出される。

【００９４】

「基準試料」は、試験試料から得られた本発明の方法の結果を相関させ、比較するために使用され得る。基準試料は、細胞（例えば、細胞株、細胞ペレット）、体液、または組織であり得る。「基準試料」中のＦＯＬＲ１レベルは、ＦＯＬＲ１の絶対もしくは相対量、量の範囲、最少および／もしくは最大量、平均量、ならびに／または中央量であってよい。「基準試料」はまた、試験試料を比較するＦＯＬＲ１発現のベースラインの役割を果たすこともできる。「基準試料」は、同一患者からの以前の試料もしくベースライン試料、正常基準、または関連する患者集団からの基準を含むことができる。概して、ＦＯＬＲ１レベルは、標準曲線中の値として表される。標準曲線は、試料中のＦＯＬＲ１の濃度を決定するための、分析データをプロットする定量的方法である。一実施形態では、基準試料は、精製されたＦＯＬＲ１またはＦＯＬＲ１－Ｆｃを含む抗原標準である。本発明の診断方法は、試験試料中のＦＯＬＲ１の発現レベルと「基準値」または「レフェレセレベル」との間の比較を含む。幾つかの実施形態では、基準値は、基準試料中のＦＯＬＲ１の発現レベルである。基準値は、所定の値であってもよく、また同様に、試験試料と平行して試験される基準試料（例えば、対照生物学的試料）から決定されてもよい。基準値は、中央値または平均値等の単一のカットオフ値か、または信頼区間等の値の範囲であり得る。基準値は、例えば、癌に罹患し易い個体、早期もしくは末期癌を有する個体、男性および／もしくは女性個体、または癌療法を受けている個体等、種々の個体の下位群に関して確立され得る。正常の基準試料または値、および陽性基準試料または値の例は、本明細書に説明される。

【００９５】

本明細書において、用語「一次抗体」は、試料中の標的タンパク質抗原に特異的に結合する抗体を指す。一次抗体は概して、ＥＬＩＳＡ分析において用いられる第１の抗体である

。一実施形態では、一次抗体は、ＩＨＣ手順において用いられる唯一の抗体である。本明細書において、用語「二次抗体」は、一次抗体に特異的に結合し、それによって、一抗体と、存在する場合、その後の試薬との間に架橋を形成する抗体を指す。二次抗体は概して、免疫組織化学的手順において用いられる第２の抗体である。

【００９６】

本明細書で使用するとき、「免疫組織化学」は、例えば、細胞または組織を分析するために用いられる、組織化学的および免疫学的方法を指す。したがって、用語「免疫組織化学」、「免疫細胞化学」、および「免疫化学」は、互換的に使用される。

【００９７】

本発明の「試料」または「生物学的試料」は、生物学的起源のものであり、特定の実施形態では、例えば、真核生物に由来する。好ましい実施形態では、試料は、ヒト試料であるが、動物試料も、本発明の実践において使用することができる。本発明における使用のための非限定的な試料供給源としては、例えば、固体組織、生検吸引物、腹水、流体摘出物、血液、血漿、血清、髄液、リンパ液、皮膚の外部切片、気道、腸管、および尿生殖路、涙、唾液、乳、腫瘍、器官、細胞培養物、ならびに／または細胞培養成分が挙げられる。本発明は、概して腹水等の体液を含み、また利用可能な材料の量が少量である癌試料に対して、特に有用である。異なる種類の細胞または組織を比較すること、異なる発生段階を比較すること、ならびに疾患または異常の存在および／または種類を検出または決定することを含むがこれらに限定されない方法が、ＦＯＬＲ１の発現の態様または試料の状態を検査するために用いられ得る。

【００９８】

本明細書で使用するとき、用語「捕捉試薬」は、好適な条件下で、捕捉試薬と標的分子との複合体を試料の残りから分離することができるように、試料中の標的分子を結合および捕捉することが可能な試薬を指す。一実施形態では、捕捉試薬は、固定される。一実施形態では、サンドイッチ免疫分析における捕捉試薬は、標的抗原に対する抗体または異なる抗体の混合物である。

【００９９】

本明細書で使用するとき、用語「検出可能な抗体」は、検出手段によって増幅された標識を通して直接的にか、または例えば、標識された別の抗体を通して、間接的にかのいずれかで検出され得る抗体を指す。直接標識化に関して、抗体は典型的には、何らかの手段によって検出可能である部分に共役される。一実施形態では、検出可能な抗体は、ビオチン化抗体である。

【０１００】

本明細書で使用するとき、語「標識」は、抗体に直接的または間接的に共役されて、「標識された」抗体を生成する、検出可能な化合物または組成物を指す。標識は、それ自体が検出可能あり得るか（例えば、放射性同位体標識または蛍光性標識）、または酵素標識の場合、検出可能な基質化合物もしくは組成物の化学的変更を触媒し得る。

【０１０１】

本明細書で使用するとき、用語「検出手段」は、本明細書にてＥＬＩＳＡにおいて検出可能な抗体の存在を検出するために用いられる部分または技術を指し、マイクロタイタープレート上に捕捉された標識等の固定された標識を増幅する検出剤を含む。一実施形態では、検出手段は、アビジンまたはストレプトアビジン等の蛍光定量的検出剤である。

【０１０２】

一般的に、「サンドイッチＥＬＩＳＡ」は、以下のステップを採用する：（１）マイクロタイタープレートが、捕捉抗体でコーティングされる、（２）試料が添加され、任意の存在する抗原が、捕捉抗体に結合する、（３）検出抗体が添加され、抗原に結合する、（４）酵素に結合した二次抗体が添加され、検出抗体に結合する、および（５）基質が添加され、検出可能な形態に酵素によって変換される。

【０１０３】

「相関させる」または「相関させること」は、任意の方法で、第１の分析の性能および／

または結果を、第２の分析の性能および／または結果と比較することを意味する。例えば、第１の分析の結果を、第２の分析の実行において用いることができ、および／または第１の分析の結果を用いて、第２の分析を実施すべきかを決定することができ、および／または第１の分析の結果を第２の分析の結果と比較することができる。一実施形態では、ＦＯＬＲ１の増加した発現は、ＦＯＬＲ１を標的する抗癌療法の有効性の増加した可能性と相関する。

【０１０４】

用語「癌」および「癌性」は、細胞集団が、調節されていない細胞成長によって特徴付けられる、哺乳類における生理的状態を指すか、または説明する。癌の例としては、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫、および白血病が挙げられるが、これらに限定されない。かかる癌のより具体的な例としては、例えば、肺癌（例えば、扁平上皮細胞癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、中皮腫、および肺扁平上皮癌）等の内皮、間葉、もしくは上皮起源の癌、腹膜の癌（例えば、原発腹膜癌）、肝細胞癌、消化管癌、膵臓癌、グリア芽腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、ヘパトーマ、乳癌、結腸癌、大腸癌、子宮内膜癌（例えば、子宮内膜腺癌）もしくは子宮癌、唾液腺癌、腎臓癌、肝臓癌、前立腺癌、外陰部癌、甲状腺癌、肝癌、脳癌（例えば、グリア芽腫、脈絡叢の腫瘍）、ならびに種々の種類の頭部および頸部癌、また同様に、血管および卵管の腫瘍が挙げられる。癌はまた、上昇したＦＯＬＲ１発現レベルを有する細胞を含有する癌も包含する。かかるＦＯＬＲ１上昇癌としては、卵巣癌、非小細胞肺癌、子宮癌、子宮内膜癌、膵臓癌、腎臓癌、肺癌、および乳癌が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１０５】

「腫瘍」および「新生物」は、前癌性病変を含む、良性（非癌性）かまたは悪性（癌性）かのいずれかの過剰な細胞成長または増殖の結果として生じる組織の塊を指す。

【０１０６】

用語「癌細胞」、「腫瘍細胞」、および文法的等価物は、腫瘍または前癌性病変に由来する細胞の全集団を指し、腫瘍細胞集団の大部分を占める非腫瘍形成性細胞と、腫瘍形成性幹細胞（癌幹細胞）との双方を含む。本明細書で使用するとき、用語「腫瘍細胞」は、再生能力を欠失する腫瘍細胞のみを指す場合、用語「非腫瘍形成性」によって修飾され、癌幹細胞に由来する腫瘍細胞を区別するために差別化する。

【０１０７】

用語「対象」は、特定の治療の受容者となる任意の動物（例えば、哺乳類）を指し、ヒト、非ヒト霊長類、齧歯類等が挙げられるがこれらに限定されない。典型的には、用語「対象」および「患者」は、本明細書においてヒト対象に関して互換的に使用される。

【０１０８】

用語「薬学的製剤」は、活性成分の生物学的活性を有効にし得るような形態であり、製剤が投与される対象に対して許容不可能に毒性である追加の成分を含有しない調製物を指す。かかる製剤は、無菌であり得る。

【０１０９】

本明細書に開示される抗体の「有効な量」は、具体的に定められた目的を実行するのに十分な量である。「有効な量」は、定められた目的に関連して、経験的に、また習慣的手法で決定することができる。

【０１１０】

用語「治療上有効な量」または「固定用量」は、対象または哺乳類における疾患または障害を「治療」するのに有効な抗体または他の薬物の量を指す。癌の場合、薬物の治療上有効な量は、癌細胞の数を低減させることができ、腫瘍サイズを低減させることができ、抹消器官への癌細胞浸潤を阻害する（即ち、ある程度遅らせる、および特定の実施形態では、停止する）ことができ、腫瘍転移を阻害する（即ち、ある程度遅らせる、および特定の実施形態では、停止する）ことができ、腫瘍成長を、ある程度阻害することができ、癌に関連した症状のうちの１つ以上を、ある程度緩和することができ、および／あるいは好ましい応答、例えば、増加した無進行生存（ＰＦＳ）、無病生存（ＤＦＳ）、もしくは全生

存（ＯＳ）、完全応答（ＣＲ）、部分応答（ＰＲ）、または場合により、安定疾患（ＳＤ）、進行性疾患（ＰＤ）の減少、低減した進行までの時間（ＴＴＰ）、卵巣癌の場合におけるＣＡ１２５の減少、またはそれらの任意の組み合わせをもたらすことができる。本明細書における「治療する」の定義を参照されたい。薬物が、成長を防止するおよび／または既存の癌細胞を死滅させ得る限り、それは、細胞増殖抑制性および／または細胞毒性であり得る。「予防上有効な量」は、所望の予防結果を達成するために必要な用量および期間に有効な量を指す。典型的であって必ずしもそうではないが、疾患の早期段階前または早期段階で予防用量が対象において用いられるため、予防上有効な量は、治療上有効な量よりも少ない。

【０１１１】

ＰＦＳ、ＤＦＳ、およびＯＳは、国立癌研究所および新薬の認可のための米国食品医薬品局によって定められた規格によって測定することができる。Ｊｏｈｎｓｏｎ ｅｔ ａｌ，（２００３） Ｊ． Ｃｌｉｎ． Ｏｎｃｏｌ． ２１（７）：１４０４－１４１１を参照されたい。

【０１１２】

「無進行生存」（ＰＦＳ）は、登録から疾患進行または死亡までの時間を指す。ＰＦＳは概して、Ｋａｐｌａｎ－Ｍｅｉｅｒ方法および固形癌の治療効果判定のためのガイドライン（Ｒｅｓｐｏｎｓｅ Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ Ｃｒｉｔｅｒｉａ ｉｎ Ｓｏｌｉｄ Ｔｕｍｏｒ）（ＲＥＣＩＳＴ）１．１規格を用いて測定される。概して、無進行生存は、患者が、癌が悪化していない状態で生存している状態を指す。

【０１１３】

「腫瘍進行までの時間」（ＴＴＰ）は、登録から疾患進行までの時間として定義される。ＴＴＰは概して、ＲＥＣＩＳＴ１．１基準を用いて測定される。

【０１１４】

「完全応答」または「完全寛解」または「ＣＲ」は、治療に応答した腫瘍または癌の全ての兆候の消失を示す。これは、必ずしも癌が治癒したことを意味しない。

【０１１５】

「部分応答」または「ＰＲ」は、治療に応答した１つ以上の腫瘍もしくは病変のサイズもしくは体積、または体内の癌の範囲の減少を指す。

【０１１６】

「安定疾患」は、進行または再発を伴わない疾患を指す。安定疾患においては、部分応答と見なすのに十分な腫瘍縮小がなく、また進行性疾患と見なすのに十分な腫瘍増加もない。

【０１１７】

「進行性疾患」は、１つ以上の新しい病変もしくは腫瘍の出現、および／または既存の非標的病変の明確な進行を指す。進行性疾患はまた、質量の増加か、または腫瘍の拡大の増加かのいずれかに起因する、治療開始以降の２０パーセント超の腫瘍成長を指すこともできる。

【０１１８】

「無病生存」（ＤＦＳ）は、患者が疾患を有さないままである治療後の時間の長さを指す。

【０１１９】

「全生存」（ＯＳ）は、患者の登録から、死亡、または生存していることが最後に知られている日に打ち切られるまでの時間を指す。ＯＳは、ナイーブまたは未治療の個体または患者と比較した、平均余命の延長を含む。全生存は、患者が、例えば、診断または治療時から、１年、５年等の定められた期間、生存したままである状況を指す。

【０１２０】

「ＣＡ１２５レベルの減少」は、婦人科癌インターグループ（Ｇｙｎｅｃｏｌｏｇｉｃ Ｃａｎｃｅｒ Ｉｎｔｅｒｇｒｏｕｐ）（ＧＣＩＧ）ガイドラインに従って評価することができる。例えば、ＣＡ１２５レベルは、ベースラインＣＡ１２５レベルを確立するため

に治療前に測定することができる。ＣＡ１２５レベルは、治療中または治療後に１回以上測定することができ、ベースラインレベルと比較したＣＡ１２５レベルの経時的な低減は、ＣＡ１２５レベルの減少と見なされる。

【０１２１】

「治療する」または「治療」または「治療すること」または「軽減する」または「軽減すること」等の用語は、１）診断された病状もしくは障害の症状を治癒、減速、低下させる、および／または診断された病状または障害の進行を中断する治療手段と、２）標的病状もしくは障害の発生を防止するおよび／または遅らせる予防的もしくは防止的手段との双方を指す。したがって、治療を必要とするものは、既に障害を有しているもの、障害を有する傾向があるもの、および障害が防止されるべきものを含む。特定の実施形態では、対象は、国立癌研究所および新薬の認可のための米国食品医薬品局によって定められた規格によって各々測定されるとき、患者が以下のうちの１つ以上を示す場合に、本発明の方法に従って成功裏に癌を「治療される」：悪液質の低減、生存期間の増加、腫瘍進行までの時間の延長、腫瘍塊の低減、腫瘍負荷の低減、および／または腫瘍転移までの時間の延長、腫瘍再発までの時間、腫瘍応答、完全応答、部分応答、安定疾患、進行性疾患、無進行生存（ＰＦＳ）、全生存（ＯＳ）。Ｊｏｈｎｓｏｎ ｅｔ ａｌ，（２００３） Ｊ．Ｃｌｉｎ． Ｏｎｃｏｌ． ２１（７）：１４０４－１４１１を参照されたい。

【０１２２】

「ポリヌクレオチド」または「核酸」は、本明細書において互換的に使用され、任意の長さのヌクレオチドのポリマーを指し、ＤＮＡおよびＲＮＡを含む。ヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、修飾ヌクレオチドもしくは塩基、および／またはそれらの類似体、あるいはＤＮＡもしくはＲＮＡポリメラーゼによりポリマーに組み込むことができる任意の基質であり得る。ポリヌクレオチドは、メチル化ヌクレオチドおよびその類似体等の修飾ヌクレオチドを含むことができる。存在する場合、ヌクレオチド構造に対する修飾は、ポリマーの組み立ての前または後に付与され得る。ヌクレオチドの配列は、非ヌクレオチド成分によって中断され得る。ポリヌクレオチドは、例えば、標識成分との共役によって、重合化後にさらに修飾され得る。他の種類の修飾としては、例えば、「キャップ」、類似体を用いた自然発生ヌクレオチドのうちの１つ以上との置換、ヌクレオチド間修飾、例えば、非荷電結合（例えば、メチルホスホン酸、ホスホトリエステル、ホスホアミダート、カバメート等）および荷電結合（例えば、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエート等）によるもの、ペンダント部分、例えば、タンパク質（例えば、ヌクレアーゼ、毒素、抗体、シグナルペプチド、ｐｌｙ－Ｌ－リシン等）等を含有するもの、挿入剤（例えば、アクリジン、ソラーレン等）によるもの、キレート剤（例えば、金属、放射活性金属、ホウ素、酸化金属等）を含有するもの、アルキル化剤を含有する物、修飾結合（例えば、αアノマー核酸等）によるもの、ならびにポリヌクレオチド（単数または複数）の非修飾形態が挙げられる。さらに、糖内に通常存在するヒドロキシル基のうちのいずれかは、例えば、ホスホン酸基、リン酸基によって置き換えられるか、標準保護基によって保護されるか、もしくは追加のヌクレオチドへの追加の結合を調製するように活性化され得、または固体支持体に共役され得る。５’および３’末端ＯＨは、リン酸化され得、またはアミンもしくは１～２０個の炭素原子の有機キャッピング基部分と置換され得る。他のヒドロキシルはまた、標準保護基に誘導体化され得る。ポリヌクレオチドはまた、当該技術分野において概して既知であるリボースまたはデオキシリボース糖の類似形態を含有することもでき、例えば、２’－Ｏ－メチル－、２’－Ｏ－アリル、２’－フルオロ－または２’－アジド－リボース、炭素環式糖類似体、α－アノマー糖、エピマー糖、例えば、アラビノース、キシロース、またはリキソース、ピラノース糖、フラノース糖、セドヘプツロース、非環式類似体、および脱塩基ヌクレオシド類似体、例えば、メチルリボシドが挙げられる。１つ以上のホスホジエステル結合を、代替的連結基によって置き換えることができる。これらの代替的連結基としては、限定されないが、リン酸塩がＰ（Ｏ）Ｓ（「チオエート」）、Ｐ（Ｓ）Ｓ（「ジチオエート」）、（Ｏ）NR_2（「アミダート」）、Ｐ（Ｏ）Ｒ、Ｐ（Ｏ）ＯＲ’、ＣＯ、またはCH_2（「ホルムアセタール」

）によって置き換えられる実施形態が挙げられ、各ＲまたはＲ’は、独立してＨであるか、または任意に、エーテル（－－Ｏ－－）結合を含む置換もしくは非置換アルキル（１～２０Ｃ）、アリール、アルケニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、もしくはアラルジル（ａｒａｌｄｙｌ）である。ポリヌクレオチド内のすべての結合が同一である必要はない。前述の説明は、ＲＮＡおよびＤＮＡを含む、本明細書において言及される全てのポリヌクレオチドに適用される。

【０１２３】

用語「ベクター」は、宿主細胞中に１つ以上の関心の遺伝子または配列を送達および発現することが可能な構築物を意味する。ベクターの例としては、ウイルスベクター、裸ＤＮＡまたはＲＮＡ発現ベクター、プラスミド、コスミド、またはファージベクター、カチオン濃縮剤に関連したＤＮＡまたはＲＮＡ発現ベクター、リポソーム中に封入されるＤＮＡまたはＲＮＡ発現ベクター、および産生細胞等の特定の真核細胞が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１２４】

用語「ポリペプチド」、「ペプチド」、および「タンパク質」は、本明細書において、任意の長さのアミノ酸のポリマーを指すために互換的に使用される。ポリマーは、線状または分枝状であることができ、修飾アミノ酸を含むことができ、また非アミノ酸によって中断されることができる。本用語はまた、天然に、または介入によって修飾されたアミノ酸ポリマーも包含し、例えば、ジスフィルド結合形成、糖化、脂質化、アセチル化、リン酸化、または任意の他の操作もしくは修飾、例えば、標識成分による共役である。この定義には、例えば、アミノ酸の１つ以上の類似体を含有するポリペプチド（例えば、非天然アミノ酸等を含む）、および当該技術分野において既知である他の修飾も含まれる。本発明のポリペプチドは抗体に基づくため、特定の実施形態では、ポリペプチドは、一本鎖または会合した鎖として発生し得ることを理解すべきである。幾つかの実施形態では、ポリペプチド、ペプチド、またはタンパク質は、非自然発生的である。幾つかの実施形態では、ポリペプチド、ペプチド、またはタンパク質は、他の自然発生成分から精製される。幾つかの実施形態では、ポリペプチド、ペプチド、またはタンパク質は、組換え産生される。

【０１２５】

２つ以上の核酸またはポリペプチドの文脈において、用語「同一である」またはパーセント「同一性」は、配列同一性の部分としていかなる保存的置換も考慮せずに、最大対応に関して比較および整列（必要に応じて、ギャップを導入する）したときに、同一である、または同一である特定の割合のヌクレオチドもしくはアミノ酸残基を有する２つ以上の配列またはサブ配列を指す。パーセント同一性は、配列比較ソフトウエアもしくはアルゴリズムを用いて、または目視検査によって測定することができる。アミノ酸またはヌクレオチド配列の整列を得るために用いることができる種々のアルゴリズムおよびソフトウエアが、当該技術分野において既知である。配列整列アルゴリズムのかかる一非限定的例は、Ｋａｒｌｉｎ ｅｔ ａｌ，１９９０，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，８７：２２６４－２２６８において説明され、Ｋａｒｌｉｎ ｅｔ ａｌ．，１９９３，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，９０：５８７３－５８７７において修正され、また ＮＢＬＡＳＴ およびＸＢＬＡＳＴプログラム（Ａｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｌ．，１９９１，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，２５：３３８９－３４０２）に組み込まれるアルゴリズムである。特定の実施形態では、Ｇａｐｐｅｄ ＢＬＡＳＴが、Ａｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｌ．，１９９７，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓｓ Ｒｅｓ．２５：３３８９－３４０２に説明される通り用いられ得る。ＢＬＡＳＴ－２、ＷＵ－ＢＬＡＳＴ－２（Ａｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｌ．，１９９６，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ，２６６：４６０－４８０）、ＡＬＩＧＮ、ＡＬＩＧＮ－２（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ，Ｓｏｕｔｈ Ｓａｎ Ｆｒａｎｃｉｓｃｏ，Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａ）、またはＭｅｇａｌｉｇｎ（ＤＮＡＳＴＡＲ）は、配列を整列させるために用いることができる、追加の公表されているソフトウエアプログラムである。特定の実施形態では、２つのヌクレオチド 配列間のパーセント同一性は

、ＧＣＧソフトウエア内のＧＡＰプログラムを用いて（例えば、ＮＷＳｇａｐｄｎａ．ＣＭＰマトリックスおよび４０、５０、６０、７０、または９０のギャップ重みおよび１、２、３、４、５、または６の長さ重みを用いて）、決定される。特定の代替的実施形態では、Ｎｅｅｄｌｅｍａｎ ａｎｄ Ｗｕｎｓｃｈのアルゴリズム（Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．（４８）：４４４－４５３（１９７０））を組み込むＧＣＧ ソフトウエアパッケージ内のＧＡＰプログラムは、２つのアミノ酸配列間のパーセント同一性を決定するために用いることができる（例えば、Ｂｌｏｓｓｕｍ６２マトリックスかまたはＰＡＭ２５０マトリックスかのいずれか、ならびに１６、１４、１２、１０、８、６または４のギャップ重みおよび１、２、３、４、５の長さ重みを用いる）。別法として、特定の実施形態では、ヌクレオチドまたはアミノ酸配列間のパーセント同一性は、Ｍｙｅｒｓ ａｎｄ Ｍｉｌｌｅｒのアルゴリズム（ＣＡＢＩＯＳ，４：１１－１７（１９８９））を用いて決定される例えば、パーセント同一性は、ＡＬＩＧＮ プログラム（ｖｅｒｓｉｏｎ ２．０）を用いて、また残基表を伴うＰＡＭ１２０、１２のギャップ長さペナルティ、および４のギャップペナルティを用いて決定することができる。特定の整列ソフトウエアによる最大整列のための適切なパラメータは、当業者によって決定され得る。特定の実施形態では、整列ソフトウエアの初期パラメータが用いられる。特定の実施形態では、第１のアミノ酸配列の第２の配列アミノ酸に対する同一性割合「Ｘ」は、１００ｘ（Ｙ／Ｚ）として算出され、Ｙは、（目視検査または特定の配列整列プログラムによって整列したときに）第１の配列と第２の配列との整列において同一である適合としてスコア化されたアミノ酸残基の数であり、Ｚは、第２の配列中の残基の総数である。第１の配列の長さが第２の配列よりも長い場合、第１の配列の第２の配列に対するパーセント同一性は、第２の配列に対する第１の配列に対するパーセント同一性よりも長くなる。

【０１２６】

非限定的な例として、任意の特定のポリヌクレオチドが、基準配列に対して特定の配列同一性割合（例えば、少なくとも８０％同一である、少なくとも８５％同一である、少なくとも９０％同一である、また幾つかの実施形態では、少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一である）を有するかどうかは、特定の実施形態において、Ｂｅｓｔｆｉｔプログラム（Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ Ｐａｃｋａｇｅ，Ｖｅｒｓｉｏｎ ８ ｆｏｒ Ｕｎｉｘ（登録商標），Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ｇｒｏｕｐ，Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｐａｒｋ，５７５ Ｓｃｉｅｎｃｅ Ｄｒｉｖｅ，Ｍａｄｉｓｏｎ，ＷＩ ５３７１１）を用いて決定することができる。Ｂｅｓｔｆｉｔは、Ｓｍｉｔｈ ａｎｄ Ｗａｔｅｒｍａｎ，Ａｄｖａｎｃｅｓ ｉｎ Ａｐｐｌｉｅｄ Ｍａｔｈｅｍａｔｉｃｓ ２：４８２ ４８９（１９８１）の局所相同性アルゴリズムを用いて、２つの配列間の相同性の最良のセグメントを見出す。Ｂｅｓｔｆｉｔまたは任意の他の配列整列プログラムを用いて、特定の配列が、本発明による基準配列と、例えば、９５％同一であるかを決定するとき、パラメータは、同一性の割合が、基準ヌクレオチド配列の全長にわたって算出されるように、また基準配列中のヌクレオチドの総数の最大５％の相同性におけるギャップが可能であるように、設定される。

【０１２７】

幾つかの実施形態では、本発明の２つの核酸またはポリペプチドは、実質的に同一であり、それらは、配列比較アルゴリズムを用いて、または目視検査によって測定し、最大対応に関して比較および整列されるときに、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、また幾つかの実施形態では、少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、９９％のヌクレオチドまたはアミノ酸残基同一性を有することを意味する。特定の実施形態では、同一性は、少なくとも約１０、約２０、約４０～６０残基もしくはその間の任意の整数値の長さである配列の領域にわたって、または６０～８０残基よりも長い領域、少なくとも約９０～１００残基にわたって存在し、あるいは配列は、例えば、ヌクレオチド配列のコード領域等の比較される配列の全長にわたって実質的に同一である。

【０１２８】
「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸残基が、類似の側鎖を有する別のアミノ酸残基と置き換えられる置換である。類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当該技術分野において定義されており、塩基性側鎖（例えば、リシン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖（例えば、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン）、非極性側鎖（例えば、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）、β－分枝側鎖（例えば、スレオニン、バリン、イソロイシン）、および芳香族側鎖（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）が挙げられる。例えば、チロシンに関するフェニルアラニンの置換は、保存的置換である。特定の実施形態では、本発明のポリペプチドおよび抗体の配列内の保存的置換は、アミノ酸配列を含有するポリペプチドまたは抗体の、抗原（単数または複数）、即ち、ポリペプチドまたは抗体が結合するＦＯＬＲ１への結合を無効にしない。抗原結合を除去しないヌクレオチドおよびアミノ酸の保存的置換を同定する方法は、当該技術分野において周知である（例えば、Ｂｒｕｍｍｅｌｌ ｅｔ ａｌ．, Ｂｉｏｃｈｅｍ．３２：１１８０－１１８７（１９９３）；Ｋｏｂａｙａｓｈｉ ｅｔ ａｌ．Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．１２（１０）：８７９－８８４（１９９９）；およびＢｕｒｋｓ ｅｔ ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ９４：．４１２－４１７（１９９７）を参照）。

【０１２９】
本開示および特許請求の範囲において使用するとき、単数形「１つの（ａ）」、「１つの（ａｎ）」、および「その（ｔｈｅ）」は、文脈によって別段に明確に示されない限り、複数形を含む。

【０１３０】
実施形態は、「～を含む」という原語によって本明細書に説明されているが、「～からなる」および／または「～から本質的になる」という用語で説明される他の類似の実施形態も同様に提供されることが理解される。

【０１３１】
用語「および／または」は、本明細書で「Ａおよび／またはＢ」等の語句において使用するとき、「ＡおよびＢ」、「ＡまたはＢ」、「Ａ」、および「Ｂ」のいずれをも含むように意図される。同様に、「Ａ、Ｂ、および／またはＣ」等の語句において使用するとき、用語「および／または」は、以下の実施形態の各々を包含するように意図される：Ａ、Ｂ、およびＣ；Ａ、Ｂ、またはＣ；ＡまたはＣ；ＡまたはＢ；ＢまたはＣ；ＡおよびＣ；ＡおよびＢ；ＢおよびＣ；Ａ（単独）；Ｂ（単独）；ならびにＣ（単独）。

【０１３２】
ＩＩ．　脱落抗原分析
抗体メイタンシノイド共役体（ＡＭＣ）、ＩＭＧＮ８５３は、メイタンシノイド、ＤＭ４（Ｎ（２’）－デアセチル－Ｎ２’－（４－メルカプト－４－メチル－１－オキソペンチル）－メイタンシン）に共役され、切断可能なスルホ－ＳＰＤＢ（Ｎ－スクシンイミジル４－（２－ピリジルジチオ）－２－スルホブタノエート）リンカーを介して付着される、ＦＯＬＲ１結合モノクローナル抗体、ｈｕＭｏｖ１９（Ｍ９３４６Ａ）を含む。ＩＭＧＮ８５３およびｈｕＭｏｖ１９は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる同時係属中の米国出願公開第２０１２／０００９１８１号に説明される。ＦＯＬＲ１抗原は、Ｍｏｖ１９によって認識される単一のエピトープを含有する。一実施形態では、ｈｕＭｏｖ１９抗体は、以下の配列を有する重鎖および軽鎖を含む：
配列番号４６：ｈｕＭｏｖ１９　ｖＨＣ
ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＶＫＰＧＡＳＶＫＩＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＧＹＦＭＮＷＶＫＱＳＰＧＱＳＬＥＷＩＧＲＩＨＰＹＤＧＤＴＦＹＮＱＫＦＱＧＫＡＴＬＴＶＤＫＳＳＮＴＡＨＭＥＬＬＳＬＴＳＥＤＦＡＶＹＹＣＴＲＹＤＧＳＲＡＭＤＹＷＧＱＧＴＴＶＴＶＳＳ
配列番号４７－ｈｕＭｏｖ１９　ｖＬＣｖ１．００

ＤＩＶＬＴＱＳＰＬＳＬＡＶＳＬＧＱＰＡＩＩＳＣＫＡＳＱＳＶＳＦＡＧＴＳＬＭＨＷＹ
ＨＱＫＰＧＱＱＰＲＬＬＩＹＲＡＳＮＬＥＡＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＫＴＤＦＴＬＮＩＳ
ＰＶＥＡＥＤＡＡＴＹＹＣＱＱＳＲＥＹＰＹＴＦＧＧＧＴＫＬＥＩＫＲ
配列番号４８－ｈｕＭｏｖ１９　ｖＬＣｖ１．６０
ＤＩＶＬＴＱＳＰＬＳＬＡＶＳＬＧＱＰＡＩＩＳＣＫＡＳＱＳＶＳＦＡＧＴＳＬＭＨＷＹ
ＨＱＫＰＧＱＱＰＲＬＬＩＹＲＡＳＮＬＥＡＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＫＴＤＦＴＬＴＩＳ
ＰＶＥＡＥＤＡＡＴＹＹＣＱＱＳＲＥＹＰＹＴＦＧＧＧＴＫＬＥＩＫＲ。

【０１３３】

幾つかの実施形態では、ＩＭＧＮ８５３等の抗ＦＯＬＲ１活性剤は、ＦＯＬＲ１活性を調節し、例えば、ＦＯＬＲ１タンパク質の活性を減少させる。

【０１３４】

ＩＭＧＮ８５３は、ＦＯＬＲ１陽性の卵巣癌、非小細胞肺癌、類内膜癌、腎臓癌、および他の上皮性悪性腫瘍を含む種々の治療指標に関して、現在臨床開発中である。卵巣癌は、最も大きいＦＯＬＲ１浸透度を示し、ＩＭＧＮ８５３を用いた治療に関する主要な指標と見なされる（Ａｎｔｏｎｙ　ＡＣ．　Ａｎｎ　Ｒｅｖ　Ｎｕｔｒ　１６：５０１－２１（１９９６）；　Ｙｕａｎ　Ｙ　ｅｔ　ａｌ．　Ｈｕｍ　Ｐａｔｈｏｌ　４０（１０）：１４５３－１４６０　（２００９））。

【０１３５】

患者血漿試料中の循環抗原（脱落抗原）のレベルを測定することは、ＡＭＣ治療により応答しやすい患者集団を同定するのに役立つ可能性がある。高レベルの脱落抗原は、治療用抗体の薬物動態学に著しく影響を及ぼすことが報告されている（Ｔｏｌｃｈｅｒ　Ａ．ｅｔ　ａｌ．　２０ｔｈ　Ｓｙｍｐｏｓｉｕｍ　ｏｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｔａｒｇｅｔｓ　ａｎｄ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ；　Ｏｃｔｏｂｅｒ　２１－２４，　２００８；　Ｇｅｎｅｖａ，　Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ：　ＥＯＲＴＣ－ＮＣＩ－ＡＡＣＲ，　ｐ１６３，　＃５１４；　Ｂａｓｅｌｇａ　Ｊ，　ｅｔ　ａｌ．　Ｊ　Ｃｌｉｎ　Ｏｎｃｏｌ　１４：７３７－７４４　（１９９６））。患者血漿試料からの脱落抗原レベルは、抗原標的、疾患指標、および疾患経過等の因子に応じて変動すると考えらえる。現在、ＩＭＧＮ８５３に対する疾患指標における脱落抗原レベルは、十分に検証されており、固体腫瘍発現との相関は、限定されている。ＦＯＬＲ１の上昇が、卵巣腺癌において報告されている一方で、データは、それは、小細胞肺癌等の他のＦＯＬＲ１＋腫瘍指標においては上昇していないことを示唆している（Ｍａｎｔｏｖａｎｉ　ＬＴ，　ｅｔ　ａｌ．　Ｅｕｒ　Ｊ　Ｃａｎｃｅｒ　３０Ａ（３）：３６３－９　（１９９４）；　Ｂａｓａｌ　Ｅ，　ｅｔ　ａｌ．　ＰＬｏＳ　ＯＮＥ　４（７）：　ｅ６２９２　（２００９））。本方法は、多い葉酸の存在下でのＦＯＬＲ１受容体の検出を可能にする。従来の分析は、分析の設計にＭｏｖ１９を用いていた。ＩＭＧＮ８５３は、Ｍｏｖ１９を含有し、また一実施形態では、本発明の標的療法であるため、ＦＯＬＲ１の検出前にＩＭＧＮ８５３が投与される実施形態では、方法が、Ｍｏｖ１９の存在下または不在下でＦＯＬＲ１を検出することが不可欠である。Ｍｏｖ１９を用いる従来の分析は、競合的な効果を有し、ＩＭＧＮ８５３治療を受けている患者において著しく少ないＦＯＬＲ１を検出するか、または全く検出しないであろう。

【０１３６】

一実施形態では、ヒト由来の流体試料中のＦＯＬＲ１を検出するための本方法は、従来のサンドイッチＥＬＩＳＡフォーマットを用いる（図１）。一実施形態では、方法は、捕捉剤（即ち、抗体、他のタンパク質）を用いて、ＦＯＬＲ１を固体支持体に付着させる。一実施形態では、固体支持体は、マイクロタイタープレートである。このために、試料（腹水、血液、血清、血漿等）は、希釈せずに添加され、第１の捕捉剤の結合と干渉しない異なる検出剤（異なる抗体またはタンパク質）によって検出される。検出剤は次に、二次検出剤（ビオチン／ストレプトアビジン、抗ヒト二次モノクローナルまたはポリクローナル抗体等）の使用を通して検出され、該二次検出剤は、第１の検出剤と複数回結合することができ、したがって検出のシグナルを増幅することができる。二次検出剤は次に、何らか

の他の手段（例えば、ＴＭＢ／ペルオキシダーゼ、シンチレーション計数、蛍光プローブ等）の使用によって定量化される。それに加えて、この分析は、ＦＯＬＲ１を検出し、Ｍｏｖ１９、ＩＭＧＮ８５３、他のＦＯＬＲ１ファミリーメンバー、または葉酸の存在によって悪影響を受けない。

【０１３７】

本発明の分析は、ＦＯＬＲ１に基づく療法を受けるのに適格である患者を選択するための分析と、患者の応答を監視するための分析との双方を含む。応答予測に関する分析は、療法選択の前に実施され、脱落ＦＯＬＲ１のレベルは、療法決定に影響を及ぼすことがある。患者の応答を監視するために、分析は、試料中のＦＯＬＲ１のベースライン（または、所定の）レベルを確立するために、療法の開始時に実施される。次に、同一の試料を分析し、ＦＯＬＲ１のレベルを、ベースラインまたは所定のレベルと比較する。本明細書で使用するとき、用語「所定のレベル」は、概して、分析結果を所定のレベルと比較することによって診断結果を評価するために用いられる分析カットオフ値を指し、所定のレベルは既に、種々の臨床パラメータと結び付けられているか、または関連付けられている（例えば、薬物を用いて治療されている対象が、薬物の有効な血液レベルを達成したかの監視、抗癌剤を用いた治療を受けている対象の応答の監視、腫瘍のための治療を受けている対象における、該腫瘍の応答の監視等）。所定のレベルは、絶対値か、または療法の開始前に患者から得られた値を差し引くことによって正規化した値かのいずれかであってもよい。用いることができる所定のレベルの例は、１つ以上の対象から得られたベースラインレベルがあり、該対象は、任意に、１つ以上の疾患または疾病に罹患していてもよい。分析されるバイオマーカーレベルの、ベースラインまたは所定のレベルとの比較（または情報分析）は、ソフトウエアプログラム、または分析が実行される設備（例えば、コンピュータープラットフォーム）の一部であるか、もしくはそれと互換性がある知能システム等の、自動システムによって行うことができる。別法として、この比較または情報分析は、医師によって行われ得る。一実施形態では、レベルが、同一のままであるか、または減少する場合、療法は、有効である可能性があり、継続され得る。ベースラインレベル（または所定のレベル）を上回る著しい増加が生じる場合、患者は、応答していない可能性がある。別の実施形態では、脱落ＦＯＬＲ１レベルの増加は、増加した細胞死および脱落ＦＯＬＲ１の増加した放出を示唆する場合がある。この実施形態では、脱落ＦＯＬＲ１の増加は、治療有効性を示す。したがって、幾つかの実施形態では、脱落ＦＯＬＲ１が測定され、また細胞死が測定される。細胞死を測定するための分析は、当該技術分野において既知であり、例えば、Ｍ３０－抗原（カスパーゼ切断サイトケラチン）の検出、γ－Ｈ２ＡＸ等のＤＮＡ損傷のマーカー、または断片化および／または濃色したＤＡＰＩ染色した核等の細胞の形態学的特徴が挙げられる。

【０１３８】

本発明の分析は、任意のタンパク質分析法によって実施することができる。本発明において有用なタンパク質分析法は、当該技術分野において周知であり、特定の非標識もしくは標識抗体またはタンパク質の発現したタンパク質またはＦＯＬＲ１の断片への結合に関与する免疫分析法が挙げられる。有用な免疫分析法としては、当該技術分野において既知である任意のフォーマットを用いて実施される液相分析、例えば、限定されないが、Ｂｉａｃｏｒｅ、時間分解蛍光エネルギー転移（ＴＲ－ＦＲＥＴ）、ＥＬＩＳＡフォーマット（サンドイッチ、正逆方向　競合的阻害）、または蛍光偏光フォーマットと、固相分析、例えば、免疫組織化学との双方が挙げられる。下記に提供されるＦＯＬＲ－１結合剤は、これらの免疫分析法に特に有用である。

【０１３９】

ＩＩＩ．　ＦＯＬＲ１結合剤

本発明は、ヒトＦＯＬＲ１に特異的に結合する薬剤を提供する。これらの薬剤は、本明細書において「ＦＯＬＲ１結合剤」と称する。

【０１４０】

ＦＯＬＲ１結合剤としては、ｍｕＦＲ１－９、ｍｕＦＲ１－１３、ｍｕＦＲ１－５３、ｍ

ｕＦＲ１－６２、およびｍｕＦＲ１－６４の重鎖および軽鎖ＣＤＲ配列を含むＦＯＬＲ１結合剤が挙げられる。ＣＤＲ配列ｍｕＦＲ１－９、ｍｕＦＲ１－１３、ｍｕＦＲ１－５３、およびｍｕＦＲ１－６２は、下の表１および２に説明される。

【表１】

【表１】　可変重鎖ＣＤＲアミノ酸配列

抗体	VH-CDR1	VH-CDR2	VH-CDR3
muFR1-9	SFGMH (配列番号 1)	YISSGSSTFYYADTVKG (配列番号 2)	ELTGTFAY (配列番号 3)
muFR1-13	RYSVH (配列番号 4)	MIWSGGNTDYNSVFKS (配列番号 5)	FDGKVSWFAY (配列番号 6)
muFR1-53	DYDIS (配列番号 7)	EIYPGSGRTYYNERFKG (配列番号 8)	SYYYGTNSPFAY (配列番号 9)
muFR1-62	TYTMH (配列番号 10)	YINPTSGYNNYNQKFKE (配列番号 11)	GGAYGRRPVDY (配列番号 12)

【表２】

【表２】　可変軽鎖ＣＤＲアミノ酸配列

抗体	VL-CDR1	VL-CDR2	VL-CDR3
muFR1-9	RASQSINNNLH (配列番号 13)	YASQSIS (配列番号 14)	QQSNSWPQVT (配列番号 15)
muFR1-13	KASQSVSNDVL (配列番号 16)	YAYNRYS (配列番号 17)	QQDHSSPFT (配列番号 18)
muFR1-53	RASQDISNYLH (配列番号 19)	YTSRLQS (配列番号 20)	QQGNSLPPT (配列番号 21)
muFR1-62	KASQNVGTNVA (配列番号 22)	SASSRYS (配列番号 23)	HQYNSYPYT (配列番号 24)

【０１４１】

ＦＯＬＲ１結合分子は、１つのＣＤＲにつき最大４つ（即ち、０、１、２、３、または４つ）の保存的アミノ酸置換を有するｍｕＦＲ１－９、ｍｕＦＲ１－１３、ｍｕＦＲ１－５３、ｍｕＦＲ１－６２、またはｍｕＦＲ１－６４のＣＤＲを含むＦＯＬＲ１に特異的に結合する、抗体または抗原結合断片であり得る。

【０１４２】

ポリペプチドは、本明細書に説明される個々の可変軽鎖または可変重鎖のうちの１つを含むことができる。抗体およびポリペプチドはまた、可変軽鎖および可変重鎖の双方を含むこともできる。マウスｍｕＦＲ１－９、ｍｕＦＲ１－１３、ｍｕＦＲ１－５３、およびｍｕＦＲ１－６２抗体の可変軽鎖および可変重鎖配列は、表３および４に提供される。

【表３】

【表３】　可変重鎖アミノ酸配列

抗体	VH アミノ酸配列 (配列番号)
muFR1-9HCvar	QVQLVESGGGLVQPGGSRKLSCAASGFTFSSFGMHWVRQAPEKGLEWVAYIS SGSSTFYYADTVKGRFTISRDNPKNTLFLQMTSLRSEDTAMYYCAKELTGTFA YWGQGTLVTVSA (配列番号 25)
muFR1-13HCvar	QVQLKESGPDLVAPSQSLSITCTVSGFSLSRYSVHWIRQPPGKGLEWLGMIWS GGNTDYNSVFKSRLNITKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCATFDGKVSWF AYWGQGTLVTVSA (配列番号 26)
muFR1-53HC	QVQLQQSGPELVRPGASVKMSCKASGYKFTDYDISWVLQRTGQGLEWIGEI YPGSGRTYYNERFKGKATLTADKSSNTVYMQLSSLTSEDSAVYFCASSYYYG TNSPFAYWGQGTTLTVSS (配列番号 27)
muFR1-62HC	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTTYTMHWVKQRPGQGLEWIAY INPTSGYNNYNQKFKEKATLTADKSSSTAYMQLTSLTSEDSAVYYCASGGAYG RRPVDYWGQGTSVTVSS (配列番号 28)

【表４】

【表４】　可変軽鎖アミノ酸配列

抗体	VL アミノ酸配列 (配列番号)
muFR1-9LCvar	DIVLTQSPATLSVTPGDSVSLSCRASQSINNNLHWYQQKSHESPRLLIKYASQ SISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVETEDFGMYFCQQSNSWPQVTFGAGTKLE LKR (配列番号 29)
muFR1-13LCvar	SIVMTQTPKFLLVSTGDRFTITCKASQSVSNDVLWYQQKPGQSPKLLIYYAY NRYSGVPDRFTGSGYGTDFTFTITTVQSEDLAVYFCQQDHSSPFTFGSGTKLE IKR (配列番号 30)
muFR1-53LC	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLHWYQRKPDGTVKLLVYYTS RLQSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNSLPPTFGSGTKLEI KR (配列番号 31)
muFR1-62LC	DIVMTQSQKFMSISVGDRVSVTCKASQNVGTNVAWYQQKPGQSPKTLIYSA SSRYSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLADYFCHQYNSYPYTFGGGTK LEIKR (配列番号 32)

【０１４３】

（ａ）配列番号２５～２８に対して少なくとも約９０％の配列同一性を有するポリペプチド、および／または（ｂ）配列番号２９～３２に対して少なくとも約９０％の配列同一性を有するポリペプチドを含むポリペプチドも、提供される。特定の実施形態では、ポリペプチドは、配列番号２５～３２に対して少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するポリペプチドを含む。したがって、特定の実施形態では、ポリペプチドは、（ａ）配列番号２５～２８に対して少なくとも約９５％の配列同一性を有するポリペプチド、および／または（ｂ）配列番号２９～３２に対して少なくとも約９５％の配列同一性を有するポリペプチドを含む。特定の実施形態では、ポリペプチドは、（ａ）配列番号２５－２８のアミノ酸配列を有するポリペプチド、および／または（ｂ）配列番号２９～３２のアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む。特定の実施形態では、ポリペプチドは、ＦＯＬＲ１を特異的に結合する抗体および／またはポリペプチドである。特定の実施形態では、ポリペプチドは、ＦＯＬＲ１に特異的に結合するマウス抗体、キメラ抗体、またはヒト化抗体で

ある。特定の実施形態では、配列番号２５～３２に対して特定の割合の配列同一性を有するポリペプチドは、保存的アミノ酸置換によってのみ配列番号２５～３２と異なる。

【０１４４】

ポリペプチドは、本明細書に説明される個々の軽鎖または重鎖のうちの１つを含むことができる。抗体およびポリペプチドはまた、軽鎖および重鎖の双方を含むこともできる。マウスｍｕＦＲ１－９、ｍｕＦＲ１－１３、ｍｕＦＲ１－５３、およびｍｕＦＲ１－６２抗体の軽鎖および可変鎖配列は、表５および６に提供される。

【表５－１】

【表５】　全長重鎖アミノ酸配列

抗体	全長重鎖アミノ酸配列 (配列番号)
muFR1-9HC	QVQLVESGGGLVQPGGSRKLSCAASGFTFSSFGMHWVRQAPEKGLEWVAYIS SGSSTFYYADTVKGRFTISRDNPKNTLFLQMTSLRSEDTAMYYCAKELTGTFA YWGQGTLVTVSAAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVT WNSGSLSSGVHTFPAVLESDLYTLSSSVTVPSSMRPSETVTCNVAHPASSTKVD KKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISKDDPEV QFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNS AAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVE WQWNGQPAENYKNTQPIMNTNGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEG LHNHHTEKSLSHSPGK (配列番号 33)
muFR1-13HC	QVQLKESGPDLVAPSQSLSITCTVSGFSLSRYSVHWIRQPPGKGLEWLGMIWSG GNTDYNSVFKSRLNITKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCATFDGKVSWFA YWGQGTLVTVSAAKTTPPSVYPLAPGCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPESVTVT WNSGSLSSSVHTFPALLQSGLYTMSSSVTVPSSTWPSQTVTCSVAHPASSTTVD KKLEPSGPISTINPCPPCKECHKCPAPNLEGGPSVFIFPPNIKDVLMISLTPKVTC VVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTIRVVSTLPIQHQDW MSGKEFKCKVNNKDLPSPIERTISKIKGLVRAPQVYILPPPAEQLSRKDVSLTCL VVGFNPGDISVEWTSNGHTEENYKDTAPVLDSDGSYFIYSKLNMKTSKWEKT DSFSCNVRHEGLKNYYLKKTISRSPGK (配列番号 34)
muFR1-53HC	QVQLQQSGPELVRPGASVKMSCKASGYKFTDYDISWVLQRTGQGLEWIGEIY PGSGRTYYNERFKGKATLTADKSSNTVYMQLSSLTSEDSAVYFCASSYYYGTN SPFAYWGQGTTLTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPV TVTWNSGSLSSGVHTFPAVLESDLYTLSSSVTVPSSMRPSETVTCNVAHPASST KVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISKD DPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKC RVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPED ITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMNTNGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTFTCSV LHEGLHNHHTEKSLSHSPGK (配列番号 35)
muFR1-62HC	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTTYTMHWVKQRPGQGLEWIAYI NPTSGYNNYNQKFKEKATLTADKSSSTAYMQLTSLTSEDSAVYYCASGGAYGR

【表５－２】

	RPVDYWGQGTSVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEP VTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLESDLYTLSSSVTVPSSMRPSETVTCNVAHPASS TKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISK DDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFK CRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPE DITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMNTNGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTFTCS VLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK (配列番号 36)

【表６】

【表６】　全長軽鎖アミノ酸配列

抗体	全長軽鎖アミノ酸配列 (配列番号)
muFR1-9LC	DIVLTQSPATLSVTPGDSVSLSCRASQSINNNLHWYQQKSHESPRLLIKYASQSI SGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVETEDFGMYFCQQSNSWPQVTFGAGTKLELK RADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVL NSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNE C (配列番号 37)
muFR1-13LC	SIVMTQTPKFLLVSTGDRFTITCKASQSVSNDVLWYQQKPGQSPKLLIYYAYN RYSGVPDRFTGSGYGTDFTFTITTVQSEDLAVYFCQQDHSSPFTFGSGTKLEIK RADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFY PKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSY TCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC (配列番号 38)
muFR1-53LC	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLHWYQRKPDGTVKLLVYYTSR LQSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNSLPPTFGSGTKLEIKR ADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLN SWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC (配列番号 39)
muFR1-62LC	DIVMTQSQKFMSISVGDRVSVTCKASQNVGTNVAWYQQKPGQSPKTLIYSAS SRYSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLADYFCHQYNSYPYTFGGGTKLE IKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFY PKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSY TCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC (配列番号 40)

【０１４５】

（ａ）配列番号３３～３６に対して少なくとも約９０％の配列同一性を有するポリペプチド、および／または（ｂ）配列番号３７～４０に対して少なくとも約９０％の配列同一性を有するポリペプチドを含むポリペプチドも、提供される。特定の実施形態では、ポリペプチドは、配列番号３３～４０に対して少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するポリペプチドを含む。したがって、特定の実施形態では、ポリペプチドは、（ａ）配列番号３３～３６に対して少なくとも約９５％の配列同一性を有するポリペプチド、および／または（ｂ）配列番号３７～４０に対して少なくとも約９５％の配列同一性を有するポリペプチドを含む。特定の実施形態では、ポリペプチドは、（ａ）配列番号３３～３６のアミノ酸配列を有するポリペプチド、および／または（ｂ）配列番号３７～４０のアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む。特定の実施形態では、ポリペプチドは、ＦＯＬＲ１を

特異的に結合する抗体および／またはポリペプチドである。特定の実施形態では、ポリペプチドは、ＦＯＬＲ１に特異的に結合するマウス抗体、キメラ抗体、またはヒト化抗体である。特定の実施形態では、配列番号３３～４０に対して特定の割合の配列同一性を有するポリペプチドは、保存的アミノ酸置換によってのみ配列番号３３～４０と異なる。

【０１４６】

抗原に関する抗体の親和性または結合力（ａｖｉｄｉｔｙ）は、例えば、サイトメトリー（フローサイトメトリーを含む）、酵素結合免疫吸着剤分析（ＥＬＩＳＡ）、またはラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）、または動力学（例えば、表面プラズモン共鳴分光法（ＢＩＡＣＯＲＥ（商標）分析）等の、当該技術分野において周知の任意の好適な方法を用いて、実験的に決定することができる。直接結合分析、および競合的結合分析フォーマットは、容易に採用され得る（例えば、Ｂｅｒｚｏｆｓｋｙ，ｅｔ ａｌ．，”Ａｎｔｉｂｏｄｙ－Ａｎｔｉｇｅｎ Ｉｎｔｅｒａｃｔｉｏｎｓ”、Ｆｕｎｄａｍｅｎｔａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，Ｐａｕｌ，Ｗ．Ｅ．，Ｅｄ．，Ｒａｖｅｎ Ｐｒｅｓｓ：Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．（１９８４）中；Ｋｕｂｙ，Ｊａｎｉｓ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ ａｎｄ Ｃｏｍｐａｎｙ：Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．（１９９２）；および本明細書に説明される方法を参照）。特定の抗体－抗原相互作用の測定された親和性は、異なる条件（例えば、塩濃度、ｐＨ、温度）下で測定する場合、変動する可能性がある。したがって、親和性および他の抗原結合パラメータ（例えば、ＫＤまたはＫｄ、K_{on}、K_{off}）の測定は、抗体および抗原の標準溶液、ならびに当該技術分野において既知である標準緩衝液、例えば、本明細書に説明される緩衝液を用いて行われる。

【０１４７】

一態様では、結合分析は、表面上にＦＯＬＲ１抗原を発現する細胞において、サイトメトリー（例えば、フローサイトメトリー）を用いて実施することができる。例えば、ＳＫＯＶ３等のＦＯＬＲ１陽性細胞を、１００μＬのＦＡＣＳ緩衝液（２％の正常ヤギ血清を補充したＲＰＭＩ－１６４０培地）中で一試料あたり$1x10^5$の細胞を用いて、種々の濃度の抗ＦＯＬＲ１抗体と共に定温放置した。次に、細胞を、ペレット化し、脱落し、１００μＬのＦＩＴＣ－共役ヤギ－抗マウスまたはヤギ－抗ヒトＩｇＧ抗体（例えば、Ｊａｃｋｓｏｎ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙから得られるもの、ＦＡＣＳ緩衝液中６μｇ／ｍＬ）と共に１時間定温放置した。細胞を、再びペレット化し、ＦＡＣＳ緩衝液で洗浄し、１％のホルムアルデヒドを含有する２００μＬのＰＢＳ中で再懸濁した。試料は、例えば、ＨＴＳマルチウエルサンプラーを有するＦＡＣＳＣａｌｉｂｕｒフローサイトメーターを用いて獲得し、ＣｅｌｌＱｕｅｓｔ Ｐｒｏを用いて分析した（全て、ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ、米国）。各試料に関して、ＦＬ１（ＭＦＩ）に関する平均蛍光強度を出力し、セミログプロットにて抗体濃度に対してプロットして、結合曲線を生成した。Ｓ状用量応答曲線を、結合曲線に対して適合させ、ＥＣ５０値を、初期パラメータを用いてＧｒａｐｈＰａｄ Ｐｒｉｓｍ ｖ４（ＧｒａｐｈＰａｄ ｓｏｆｔｗａｒｅ，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）等のプログラムを用いて算出する。ＥＣ５０値は、各抗体に関する見かけの解離定数「Ｋｄ」または「ＫＤ」のための測定値として用いることができる。

【０１４８】

モノクローナル抗体は、Ｋｏｈｌｅｒ ａｎｄ Ｍｉｌｓｔｅｉｎ（１９７５）Ｎａｔｕｒｅ ２５６：４９５によって説明されるもの等のハイブリドーマ法を用いて調製することができる。ハイブリドーマ法を用いて、マウス、ハムスター、または他の適切な宿主動物は、上述の通り免疫付与されて、免疫抗原に特異的に結合する抗体のリンパ球による産生を引き起こす。リンパ球はまた、インビトロで免疫付与されることもできる。免疫付与後、リンパ球は、単離され、例えば、ポリエチレングリコールを用いて、好適な骨髄腫細胞株と融合されて、ハイブリドーマ細胞を形成し、該ハイブリドーマ細胞は次に、非融合リンパ球および骨髄腫細胞から離して選択される。免疫沈降、免疫ブロット法、またはインビトロの結合分析（例えば、ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）；酵素結合免疫吸着

分析（ＥＬＩＳＡ））によって決定するときに、選択された抗原に特異的に方向付けられるモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマは、次に、標準的な方法（Ｇｏｄｉｎｇ，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，１９８６）を用いてか、または動物内の腹水腫瘍としてインビボでかのいずれかで、繁殖させることができる。モノクローナル抗体は次に、培養培地または本明細書に説明される腹水から、ポリクローナル抗体に関して精製することができる。

【０１４９】

別法として、モノクローナル抗体はまた、米国特許第４，８１６，５６７号に説明されるような組換えＤＮＡ法を用いて作製することもできる。モノクローナル抗体をコードするポリヌクレオチドは、抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子を特異的に増幅するオリゴヌクレオチドプライマーを用いて、成熟Ｂ細胞、またはＲＴ－ＰＣＲによるもの等のハイブリドーマ細胞から単離され、その配列は、従来の手順を用いて決定される。重鎖および軽鎖をコードする単離されたポリヌクレオチドは次に、好適な発現ベクターにクローン化され、それは、ないしは免疫グロブリンタンパク質を産生しない大腸菌細胞、サルＣＯＳ細胞、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞、または骨髄腫細胞等の宿主細胞に形質導入されるとき、モノクローナル抗体が、宿主細胞によって生成される。また、所望の種の組換えモノクローナル抗体またはその断片は、説明される通り、所望の種のＣＤＲを発現するファージディスプレイライブラリから単離することもできる（ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙ ｅｔ ａｌ．，１９９０，Ｎａｔｕｒｅ，３４８：５５２－５５４；Ｃｌａｃｋｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，１９９１，Ｎａｔｕｒｅ，３５２：６２４－６２８；ａｎｄ Ｍａｒｋｓ ｅｔ ａｌ．，１９９１，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２２２：５８１－５９７）。

【０１５０】

モノクローナル抗体をコードするポリヌクレオチド（単数または複数）は、生成する代替的抗体ための組換えＤＮＡ技術を用いて、多数の異なる様式でさらに修飾され得る。幾つかの実施形態では、例えば、マウスモノクローナル抗体の軽鎖および重鎖の定常ドメインは、１）例えば、キメラ抗体を生成するために、ヒト抗体の該領域と、または２）融合抗体を生成するために、非ヒト免疫グロブリンポリペプチドと置換され得る。幾つかの実施形態では、定常領域は、モノクローナル抗体の所望の抗体断片を生成するために、切断または除去される。可変領域の部位指向型または高密度突然変異生成は、モノクローナル抗体の特異性、親和性等を最適化するために用いることができる。

【０１５１】

幾つかの実施形態では、ヒトＦＯＬＲ１に対するモノクローナル抗体は、ヒト化抗体である。特定の実施形態では、かかる抗体は、ヒト対象に投与されるとき、抗原応答およびＨＡＭＡ（ヒト抗マウス抗体）応答を低減させるために治療的に用いられる。

【０１５２】

非ヒトまたはヒト抗体を改変、ヒト化、再表面化するための方法を用いることもでき、また当該技術分野において周知である。ヒト化、再表面化、または同様に改変された抗体は、例えば、限定されないが、マウス、ラット、ウサギ、非ヒト霊長類、または他の哺乳類等の非ヒトである供給源に由来する、１つ以上のアミノ酸残基を有することができる。これらの非ヒトアミノ酸残基は、「移入」残基と称されることが多い残基によって置き換えられ、それは典型的には、「移入」可変、定常、または既知のヒト配列の他のドメインから採取される。

【０１５３】

かかる移入された配列は、当該技術分野において既知である通り、免疫原性を低減させる、または結合、親和性、オンレート（ｏｎ－ｒａｔｅ）、オフレート（ｏｆｆ－ｒａｔｅ）、結合力、特異性、半減期、もしくは任意の他の好適な特徴を低減、強化、もしくは修飾するために用いることができる。概して、ＣＤＲ残基は、直接的また最も実質的に、ＦＯＬＲ１結合に影響を及ぼすことに関与する。したがって、非ヒトまたはヒトＣＤＲ配列

の一部または全部を保持しながら、可変および定常領域の非ヒト配列を、ヒトまたは他のアミノ酸と置き換えることができる。

【０１５４】

抗体はまた、任意に、抗原ＦＯＬＲ１に対する高い親和性および他の好ましい生物学的特性を保持して改変された、ヒト化抗体、再表面化抗体、改変抗体、またはヒト抗体であり得る。この目的を達成するために、ヒト化（またはヒト）または改変抗ＦＯＬＲ１抗体および再表面化抗体は、任意に、親配列、改変配列、およびヒト化配列の３次元モデルを用いた親配列ならびに種々の概念的ヒト化および改変産生物の分析プロセスによって調製することができる。３次元免疫グロブリンモデルは、一般的に入手可能であり、また当業者に知られている。選択される候補免疫グロブリン配列の可能性のある３次元立体配座構造を例示および表示するコンピュータープログラムが、入手可能である。これらの表示の検査は、残基が、候補免疫グロブリン配列の機能において果たす可能性のある役割の分析を可能にし、即ち、候補免疫グロブリンがＦＯＬＲ１等のその抗原に結合する能力に影響を及ぼす残基の分析を可能にする。このように、フレームワーク（ＦＲ）残基は、標的抗原（単数または複数）に対する増加した親和性等の所望の抗体特徴が達成されるように、コンセンサス配列および移入配列から選択され、組み合わせされ得る。

【０１５５】

本発明の抗体のヒト化、再表面化、または改変は、任意の既知の方法を用いて実施することができ、例えば、限定されないが、Ｗｉｎｔｅｒ（Ｊｏｎｅｓ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３２１：５２２（１９８６）；Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３３２：３２３（１９８８）；Ｖｅｒｈｏｅｙｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２３９：１５３４（１９８８））、Ｓｉｍｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５１：２２９６（１９９３）；Ｃｈｏｔｈｉａ ａｎｄ Ｌｅｓｋ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１（１９８７）、Ｃａｒｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．８９：４２８５（１９９２）；Ｐｒｅｓｔａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５１：２６２３（１９９３）、Ｒｏｇｕｓｋａ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，ＵＳＡ，９１（３）：９６９－９７３（１９９４）、Ｒｏｇｕｓｋａ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．９（１０）：８９５－９０４（１９９６）、米国特許第５，６３９，６４１号、同第５，７２３，３２３号；同第５，９７６，８６２号；同第５，８２４，５１４号；同第５，８１７，４８３号；同第５，８１４，４７６号；同第５，７６３，１９２号；同第５，７２３，３２３号；同第５，７６６，８８６号；同第５，７１４，３５２号；同第６，２０４，０２３号；同第６，１８０，３７０号；同第５，６９３，７６２号；同第５，５３０，１０１号；同第５，５８５，０８９号；同第５，２２５，５３９号；同第４，８１６，５６７号；ＰＣＴ第ＵＳ９８／１６２８０号；同第ＵＳ９６／１８９７８号；同第ＵＳ９１／０９６３０号；同第ＵＳ９１／０５９３９号；同第ＵＳ９４／０１２３４号；同第ＧＢ８９／０１３３４号；同第ＧＢ９１／０１１３４号；同第ＧＢ９２／０１７５５号；同第ＷＯ９０／１４４４３号；同第ＷＯ９０／１４４２４号；同第ＷＯ９０／１４４３０号；同第ＥＰ２２９２４６号；同第７，５５７，１８９号；同第７，５３８，１９５号；および同第７，３４２，１１０号に説明されるもの等であり、その各々は、本明細書に引用される参考文献を含め、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０１５６】

特定の代替的実施形態では、ＦＯＬＲ１に対する抗体は、ヒト抗体である。ヒト抗体は、当該技術分野において既知である種々の技術を用いて直接調製することができる。インビトロで免疫付与された、または免疫付与された個体から単離された、標的抗原に対する抗体を産生する不死化ヒトＢリンパ球を生成することができる（例えば、Ｃｏｌｅ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ，Ａｌａｎ Ｒ．Ｌｉｓｓ，ｐ．７７（１９８５）；Ｂｏｅｍｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９９１，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１４７（１）：８６－９

５；および米国特許第５，７５０，３７３号を参照）。 また、ヒト抗体は、ファージライブラリから選択することができ、例えば、Ｖａｕｇｈａｎ ｅｔ ａｌ．，１９９６，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．，１４：３０９－３１４，Ｓｈｅｅｔｓ ｅｔ ａｌ．，１９９８，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，９５：６１５７－６１６２，Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ ａｎｄ Ｗｉｎｔｅｒ，１９９１，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２２７：３８１，ａｎｄ Ｍａｒｋｓ ｅｔ ａｌ．，１９９１，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２２２：５８１に説明されるように、該ファージライブラリはヒト抗体を発現する。 抗体ファージライブラリの生成および使用に関する技術はまた、米国特許第５，９６９，１０８号、同第６，１７２，１９７号、同第５，８８５，７９３号、同第６，５２１，４０４号、同第６，５４４，７３１号、同第６，５５５，３１３号、同第６，５８２，９１５号、同第６，５９３，０８１号、同第６，３００，０６４号、同第６，６５３，０６８号、同第６，７０６，４８４号、および同第７，２６４，９６３号、ならびにＲｏｔｈｅ ｅｔ ａｌ．，２００７，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏ．，ｄｏｉ：１０．１０１６／ｊ．ｊｍｂ．２００７．１２．０１８（その各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）にも説明される。親和性成熟戦略および鎖シャッフリング戦略（その全体が参照により本明細書に組み込まれる、Ｍａｒｋｓ ｅｔ ａｌ．，１９９２，Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １０：７７９－７８３）は、当該技術分野において既知であり、また高親和性ヒト抗体を生成するために採用することができる。

【０１５７】

ヒト化抗体はまた、免疫付与時に、内因性免疫グロブリン産生の不在化で、ヒト抗体の完全なレパートリーを産生することが可能なヒト免疫グロブリン遺伝子座を含有するトランスジェニックマウスにおいて、作製することもできる。このアプローチは、米国特許第５，５４５，８０７号；同第５，５４５，８０６号；同第５，５６９，８２５号；同第５，６２５，１２６号；同第５，６３３，４２５号；および同第５，６６１，０１６号に説明される。

【０１５８】

本発明は、ヒト葉酸受容体１を特異的に認識する二重特異性抗体も包含する。二重特異性抗体は、少なくとも２つの異なるエピトープを特異的に認識し、結合することが可能な抗体である。ことなるエピトープは、同一分子（例えば、同一ヒト葉酸受容体１）中であるか、または異なる分子上かのいずれかであり得、例えば、抗体は、ヒト葉酸受容体１、および例えば、１）白血球上のエフェクター分子、例えば、Ｔ細胞受容体（例えば、ＣＤ３）もしくはＦｃ受容体（例えば、ＣＤ６４、ＣＤ３２、もしくはＣＤ１６）等、または２）下記に詳細に説明されるような細胞毒性剤を特異的に認識し、結合することができる。

【０１５９】

例示的な二重特異性抗体は、２つの異なるエピトープに結合することができ、それらのうちの少なくとも１つは、本発明のポリペプチドに起源を有する。別法として、免疫グロブリン分子の抗抗原腕は、Ｔ細胞受容体分子（例えば、ＣＤ２、ＣＤ３、ＣＤ２８、またはＢ７）等の白血球上のトリガ分子、またはＩｇＧに対するＦｃ受容体に結合する腕と組み合わせて、特定の抗原を発現する細胞に対する細胞防御メカニズムを集中させることができる。二重特異性抗体はまた、細胞毒性剤を特定の抗原を発現する細胞に方向付けるために用いることもできる。これらの抗体は、抗原結合腕、および細胞毒性剤またはＥＯＴＵＢＥ、ＤＰＴＡ、ＤＯＴＡ、もしくはＴＥＴＡ等の放射性核キレート剤を結合する腕を有する。 二重特異性抗体を作製するための技術は、当該技術分野において一般的である（Ｍｉｌｌｓｔｅｉｎ ｅｔ ａｌ．，１９８３，Ｎａｔｕｒｅ ３０５：５３７－５３９；Ｂｒｅｎｎａｎ ｅｔ ａｌ．，１９８５，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２２９：８１；Ｓｕｒｅｓｈ ｅｔ ａｌ，１９８６，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌ．１２１：１２０；Ｔｒａｕｎｅｃｋｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９９１，ＥＭＢＯ Ｊ．１０：３６５５－３６５９；Ｓｈａｌａｂｙ ｅｔ ａｌ．，１９９２，Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１７５：２１７－２２５；Ｋｏｓｔｅｌｎｙ ｅｔ ａｌ

．，１９９２，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４８：１５４７－１５５３；Ｇｒｕｂｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９９４，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５２：５３６８；ａｎｄ Ｕ．Ｓ．Ｐａｔｅｎｔ ５，７３１，１６８）。２以上の価数を有する抗体も、企図される。 例えば、三重特異性抗体を、調製することができる（Ｔｕｔｔ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４７：６０（１９９１））。従って、特定の実施形態では、ＦＯＬＲ１に対する抗体は、多特異性である。

【０１６０】

特定の実施形態では、例えば、腫瘍浸透を増加させるための、抗体断片が提供される。抗体断片の産生に関する種々の技術が、既知である。従来、これらの断片は、無傷抗体のタンパク消化を介して抽出される（例えば、Ｍｏｒｉｍｏｔｏ ｅｔ ａｌ．，１９９３，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｃａｌ ａｎｄ Ｂｉｏｐｈｙｓｉｃａｌ Ｍｅｔｈｏｄｓ ２４：１０７－１１７；Ｂｒｅｎｎａｎ ｅｔ ａｌ．，１９８５，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２２９：８１）。特定の実施形態では、抗体断片は、組換え産生される。Ｆａｂ、Ｆｖ、およびｓｃＦｖ抗体断片は全て、大腸菌または他の宿主細胞内で発現および分泌され得、したがって大量のこれらの断片の産生を可能にする。かかる抗体断片はまた、上述の抗体ファージライブラリから単離することもできる。抗体断片はまた、例えば、米国特許第５，６４１，８７０号に説明されるような線状抗体であり得、また単一特異性または二重特異性であり得る。抗体断片の産生に関する他の技術は、当業者に明白であろう。

【０１６１】

本発明によれば、ヒト葉酸受容体１に特異的である一本鎖抗体の産生に関する技術が、適用され得る（米国特許第４，９４６，７７８号を参照）。それに加えて、Ｆａｂ発現ライブラリの構築に関する方法が、適用され得、葉酸１受容体、またはその誘導体、断片、類似体、もしくは相同体に対する所望の特異性を有するモノクローナルＦａｂ断片の迅速で有効な同定を可能にする（Ｈｕｓｅ，ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４６：１２７５－１２８１（１９８９））。抗体断片は、当該技術分野の技術によって産生することができ、（ａ）抗体分子のペプシン消化によって産生されるＦ（ａｂ’）２断片、（ｂ）Ｆ（ａｂ’）２断片のジスフィルド架橋を還元することによって生成されるＦａｂ断片、（ｃ）パパインおよび還元剤を用いた抗体分子の処理によって生成されるＦａｂ断片、ならびに（ｄ）Ｆｖ断片が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１６２】

特に抗体断片の場合には、その血清半減期を増加させるために抗体を修飾することは、さらに望ましい可能性がある。これは、例えば、抗体断片内の適切な領域の突然変異による抗体断片へのサルベージ受容体結合エピトープの組み込みによって、またはエピトープを、その後に（例えば、ＤＮＡまたはペプチド合成によって）末端かもしくは中央かのいずれかで抗体断片に融合されるペプチドタグに、組み込むことによってによって、達成することができる。

【０１６３】

ヘテロ共役抗体もまた、本発明の範囲内である。ヘテロ共役抗体は、２つの共有結合した抗体で構成される。かかる抗体は、例えば、不要な細胞に対する免疫細胞を標的にすることが提案されている（米国特許第４，６７６，９８０号）。抗体は、架橋剤に関与するものを含む、合成タンパク質化学における既知の方法を用いて、インビトロで調製され得ることが企図される。例えば、免疫毒素は、ジスフィルド交換反応を用いて、またはチオエーテル結合を形成することによって、構築することができる。この目的のために好適な試薬の例としては、イミノチオレートおよびメチル－４－メルカプトブチリミデートが挙げられる。

【０１６４】

本発明の目的のために、修飾抗体は、抗体とヒトＦＯＬＲ１のポリペプチドとの会合を提供する任意の種類の可変領域を含み得ることが理解されるべきである。この点に関して、可変領域は、液性応答を行い、所望の腫瘍関連抗原に対する免疫グロブリンを生成するよ

うに誘発され得る任意の種類の哺乳類を含み得るか、またはそれに由来し得る。したがって、修飾抗体の可変領域は、例えば、ヒト、マウス、非ヒト霊長類（例えば、カニクイザル、マカク等）、またはルピナス起源のものであり得る。幾つかの実施形態では、修飾免疫グロブリンの可変領域および定常領域の双方は、ヒトである。他の実施形態では、適合性のある抗体の可変領域（通常、非ヒト供給源に由来する）は、結合特性を改善する、または分子の免疫原性を低減させるように、改変または特別に作製され得る。この観点から、本発明に有用な可変領域は、ヒト化され得るか、ないしは別の方法で、移入されたアミノ酸配列の含有を通して変更され得る。

【０１６５】

特定の実施形態では、重鎖および軽鎖の双方の可変ドメインは、１つ以上のＣＤＲの少なくとも部分的な置き換えによって、ならびに必要に応じて、部分的なフレームワーク領域の置き換えおよび配列変化によって、変更される。ＣＤＲは、フレームワーク領域が由来する抗体と同一のクラス、またはさらにはサブクラスの抗体に由来し得るが、ＣＤＲは、異なるクラスの抗体に由来すること、また特定の実施形態では、異なる種の異なる抗体に由来することが想定される。必ずしも、ある可変ドメインの抗原結合能力を別の可変ドメインに移行するために、ＣＤＲの全てをドナー可変領域に由来する完全なＣＤＲと置き換える必要はない。むしろ、抗原結合部位の活性を維持するために必要な残基を移行するだけでもよい。米国特許第５，５８５，０８９号、同第５，６９３，７６１号、および同第５，６９３，７６２号に記載される説明を考慮すると、これは、習慣的実験を実行することか、または試行錯誤により試験して、低減された免疫原性を有する機能的抗体を得ることかのいずれかによって、当業者の能力の範囲内にある。

【０１６６】

可変領域への変更に関わらず、当業者は、本発明の修飾抗体は、定常領域ドメインのうちの１つ以上の少なくとも一部が、天然または変更されていな定常領域を含む概ね同一の免疫原性の抗体と比較したときに、増加した腫瘍局在化または低減した血清半減期等の所望の生化学的特徴を提供するように、欠失されるか、ないしは別の方法で変更されている抗体（例えば、全長抗体またはその免疫反応性断片）を含むことを理解するであろう。幾つかの実施形態では、修飾抗体の定常領域は、ヒト定常領域を含む。本発明に適合する定常領域への修飾は、１つ以上のドメインにおける１つ以上のアミノ酸の付加、欠失、または置換を含む。すなわち、本明細書に開示される修飾抗体は、３つの重鎖定常ドメイン（ＣＨ１、ＣＨ２、またはＣＨ３）のうちの１つ以上、および／または軽鎖定常ドメイン（ＣＬ）に対する変更または修飾を含むことができる。幾つかの実施形態では、１つ以上のドメインが部分的または全体的に欠失される修飾定常領域が、企図される。幾つかの実施形態では、修飾抗体は、ＣＨ２ドメイン全体が除去されているドメイン欠失構築物または変異体（ΔＣＨ２構築物）を含む。幾つかの実施形態では、削除される定常領域ドメインは、典型的には不在定常領域によって付与される分子可撓性のうちの幾らかを提供する短いアミノ酸スペーサー（例えば、１０残基）によって、置き換えられる。

【０１６７】

特定の実施形態では、修飾抗体は、ＣＨ３ドメインをそれぞれの修飾抗体のヒンジ領域に直接融合させるように改変され得ることが、留意されるであろう。他の構築物においては、ヒンジ領域と、修飾ＣＨ２および／またはＣＨ３ドメインとの間にペプチドスペーサーを提供することが望ましい場合もある。例えば、ＣＨ２ドメインが欠失されており、残っているＣＨ３ドメイン（修飾または非修飾）は、５～２０アミノ酸のスペーサーによってヒンジ領域に加えられる、適合性のある構築物が発現され得る。かかるスペーサーは、例えば、定常ドメインの調節要素が遊離し、接近可能なままであること、またはヒンジ領域が可撓性のままであることを確実にするように、付加され得る。しかしながら、アミノ酸スペーサーは、場合により、免疫原性であることが判明し、構築物に対して不要な免疫応答を引き起こす可能性があることに留意すべきである。しがたって、特定の実施形態では、構築物に付加される任意のスペーサーは、修飾抗体の所望の生化学的品質を維持するように、比較的非免疫原性であるか、またはさらには完全に削除される。

【０１６８】
全定常領域ドメインの欠失に加え、本発明の抗体は、少数の、またはさらには単一のアミノ酸の部分的欠失または置換によって提供され得ることが、理解されるであろう。例えば、ＣＨ２ドメインの選択されたエリア内の単一のアミノ酸の突然変異は、Ｆｃ結合を実質的に低減し、したがって腫瘍局在化を増加させるのに十分な場合がある。同様に、単に、調節されるべきエフェクター機能（例えば、補体Ｃ１Ｑ結合）を制御する１つ以上の定常領域ドメインの部分を欠失することが、望ましい場合もある。定常領域のかかる部分的欠失は、対象の無傷定常領域ドメインに関連した他の望ましい機能は残したまま、抗体の選択された特徴（血清半減期）を改善することができる。しかしながら、上に示唆される通り、開示される抗体の定常領域は、結果として得られる構築物のプロファイルを強化する１つ以上のアミノ酸の突然変異または置換を通して修飾することができる。この観点から、修飾抗体の構成および免疫原性特性を実質的に維持しながら、保存される結合部位（例えば、Ｆｃ結合）によって提供される活性を破壊することが可能であり得る。特定の実施形態は、望ましい特徴、例えば、エフェクター機能の減少もしくは増加等の望ましい特徴を強化するため、またはより多い細胞毒素もしくは炭水化物付着を提供するために、定常領域への１つ以上のアミノ酸の付加を含むことができる。かかる実施形態では、選択される定常領域ドメインに由来する特定の配列を挿入または複製ことが、望ましくあり得る。
【０１６９】
本発明は、本明細書に記載されるキメラ抗体、ヒト化抗体、およびヒト抗体、またはそれらの抗体断片に実質的に相同である変異体および等価物を、さらに採用する。これらは、例えば、保存的置換突然変異、即ち、類似のアミノ酸による１つ以上のアミノ酸の置換を含有し得る。例えば、保存的置換は、アミノ酸の、同一の一般的クラス内の別のアミノ酸との置換を指し、例えば、ある酸性アミノ酸と別の酸性アミノ酸、ある塩基性アミノ酸と別の塩基性アミノ酸、または別の中性アミノ酸による中性アミノ酸の置換である。保存的アミノ酸置換によって意図されるものは、当該技術分野において周知である。
【０１７０】
本発明のポリペプチドは、ヒトＦＯＬＲ１に対する抗体またはその断片を含む、組換えポリペプチド、天然ポリペプチド、または合成ポリペプチドであり得る。本発明のアミノ酸配列のうちの幾つかは、タンパク質の構造または機能の著しい効果を伴わずに変化され得ることは、当該技術分野において認識されるであろう。したがって、本発明は、ヒト葉酸受容体タンパク質に対する実質的活性を示すか、またはヒト葉酸受容体タンパク質に対する抗体もしくはその断片の領域を含むポリペプチドの変形を、さらに含む。かかる突然変異体は、欠失、挿入、反転、反復、および型置換を含む。
【０１７１】
ポリペプチドおよび類似体は、正常にはタンパク質の一部ではない追加の化学的部分を含有するように、さらに修飾することができる。これらの誘導体化された部分は、可溶性、生物学的半減期、またはタンパク質の吸収を改善することができる。この部分はまた、タンパク質等の任意の望ましい副作用を低減または除去することができる。これらの部分の概要は、ＲＥＭＩＮＧＴＯＮ’Ｓ ＰＨＡＲＭＡＣＥＵＴＩＣＡＬ ＳＣＩＥＮＣＥＳ, ２０ｔｈ ｅｄ., Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ., Ｅａｓｔｏｎ, ＰＡ （２０００）に見出すことができる。
【０１７２】
本明細書に説明される単離されたポリペプチドは、当該技術分野において既知である任意の好適な方法によって産生することができる。かる方法は、直接的なタンパク質合成方法から、単離されたポリペプチド配列をコードし、それらの配列を好適な形質転換された宿主内に発現するＤＮＡ配列を構築することに及ぶ。幾つかの実施形態では、ＤＮＡ配列は、組換え技術を用いて、関心の野生型タンパク質をコードするＤＮＡ配列を単離または合成することによって構築される。任意に、配列は、その機能的類似体を提供するような部位特異的な突然変異生成によって、突然変異を誘発され得る。 例えば、Ｚｏｅｌｌｅｒ ｅｔ ａｌ., Ｐｒｏｃ. Ｎａｔ’ｌ. Ａｃａｄ. Ｓｃｉ. ＵＳＡ ８１：

５６６２－５０６６　（１９８４）および米国特許第４，５８８，５８５号を参照されたい。

【０１７３】

幾つかの実施形態では、関心のポリペプチドをコードするＤＮＡ配列は、オリゴヌクレオチド合成を用いた化学合成によって構築されることになる。かかるオリゴヌクレオチドは、所望のポリペプチドのアミノ酸配列に基づき、関心の組換えポリペプチドが産生されるであろう宿主細胞において好ましいコドンを選択して、設計することができる。関心の単離されたポリペプチドをコードする単離されたポリヌクレオチド配列を合成するために、標準的な方法を適用することができる。例えば、完全なアミノ酸配列を用いて、逆翻訳された遺伝子を構築することができる。さらに、特定の単離されたポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含有するＤＮＡオリゴマーが、合成され得る。例えば、所望のポリペプチドの部分をコードする幾つかの小さいオリゴヌクレオチドを合成し、次に結紮することができる。個々のオリゴヌクレオチドは、典型的には、相補性組み立て（ｃｏｍｐｌｅｍｅｎｔａｒｙ　ａｓｓｅｍｂｌｙ）のための５’または３’オーバーハングを含有する。

【０１７４】

一旦組み立てられると（合成、部位指向型突然変異生成、または別の方法によって）、関心の特定の単離されたポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列は、発現ベクターに挿入され、所望の宿主内でのタンパク質の発現に適切な発現制御配列に、操作可能に結合される。適当な組み立ては、ヌクレオチド配列決定、制限酵素マッピング、および好適な宿主内での生物学的に活性なポリペプチドの発現によって確認することができる。当該技術分野において周知の通り、宿主内に高い発現レベルの形質導入遺伝子を得るために、遺伝子は、選択される発現宿主内で機能する転写および翻訳発現制御配列に操作可能に結合されなければならない。

【０１７５】

特定の実施形態では、組換え発現ベクターは、ヒトＦＯＬＲ１に対する抗体またはその断片をコードするＤＮＡを増幅および発現するために用いられる。組換え発現ベクターは、抗ＦＯＬＲ１抗体またはその断片のポリペプチド鎖をコードし、また哺乳類、微生物、ウイルス、または昆虫遺伝子に由来する好適な転写または翻訳調節要素に操作可能に結合される合成またはｃＤＮＡ由来ＤＮＡ断片を有する、複製可能なＤＮＡ構築物である。転写ユニットは概して、（１）遺伝子発現において調節的役割を果たす遺伝要素または要素類、例えば、転写プロモーターまたはエンハンサー、（２）ｍＲＮＡへ転写され、タンパク質へ翻訳される、構造配列またはコード配列、ならびに（３）下記に詳細に説明されるような、適切な転写および翻訳開始および停止配列の組み立てを含む。かかる調節要素としては、転写を制御するためのオペレーター配列を挙げることができる。通常は複製起点によって付与される宿主における複製の能力、および形質転換体の認識を促進するための選択遺伝子は、追加的に組み込まれ得る。ＤＮＡ領域は、互いに機能的に関連する場合、操作可能に結合される。例えば、シグナルペプチド（分泌リーダー）に関するＤＮＡは、それがポリペプチドの分泌に関与する前駆体として発現される場合、ポリペプチドに関するＤＮＡに操作可能に結合され、プロモーターは、それが配列の転写を制御する場合、コード配列に操作可能に結合され、またはリボソーム結合部位は、それが翻訳を可能にするように位置付けられる場合、コード配列に操作可能に結合される。酵母発現系における使用のために意図される構造要素としては、宿主細胞による翻訳タンパク質の細胞外分泌を可能にするリーダー配列が挙げられる。別法として、組換えタンパク質がリーダーまたは移行配列を伴わずに発現される場合、それは、Ｎ－末端メチオニン残基を含むことができる。この残基は、任意に、発現された組換えタンパク質からその後切断されて、最終的な産生物を提供することができる。

【０１７６】

発現制御配列および発現ベクターの選択は、宿主の選択に依存する。広範な発現宿主／ベクターの組み合わせが、採用され得る。真核生物宿主に有用な発現ベクターとしては、例

えば、ＳＶ４０、ウシパピローマウイルス、アデノウイルス、およびサイトメガロウイルスに由来する発現制御配列を含むベクターが挙げられる。細菌宿主に有用な発現ベクターとしては、既知の細菌プラスミド、例えば、ｐＣＲ１、ｐＢＲ３２２、ｐＭＢ９、およびそれらの誘導体を含む、大腸菌に由来するプラスミド、より広範な宿主域のプラスミド、例えば、Ｍ１３および糸状一本鎖ＤＮＡファージが挙げられる。

【０１７７】

ＦＯＬＲ１結合ポリペプチドまたは抗体（または、抗原として使用するためのＦＯＬＲ１タンパク質）の発現に好適な宿主細胞としては、適切なプロモーターの制御下での原核生物、酵母、昆虫、または高等真核細胞が挙げられる。原核生物としては、例えば、大腸菌または桿菌等のグラム陰性またはグラム陽性生物が挙げられる。高等真核細胞としては、下記に説明されるような、哺乳類起源の確立された細胞株が挙げられる。無細胞翻訳系も、採用され得る。細菌、真菌、酵母、および哺乳類細胞宿主との使用に適切なクローニングおよび発現ベクターは、Ｐｏｕｗｅｌｓ ｅｔ ａｌ．（Ｃｌｏｎｉｎｇ ベクターｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｅｌｓｅｖｉｅｒ，Ｎ．Ｙ．，１９８５）によって説明されており、その関連する開示は、参照により本明細書に組み込まれる。抗体産生を含む、タンパク質産生の方法に関するさらなる情報は、例えば、米国特許公開第２００８／０１８７９５４号、米国特許６，４１３，７４６号および同第６，６６０，５０１号、ならびに国際特許公開第ＷＯ０４００９８２３号に見出すことができ、その各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０１７８】

種々の哺乳類または昆虫細胞培養システムもまた、組換えタンパク質を発現するために有利に採用される。哺乳類細胞における組換えタンパク質発現は、かかるタンパク質は概して、正確に折り畳まれ、適切に修飾され、また完全に機能的であるため、実施され得る。好適な哺乳類宿主細胞株の例としては、ＨＥＫ－２９３およびＨＥＫ－２９３Ｔ、Ｇｌｕｚｍａｎ（Ｃｅｌｌ ２３：１７５，１９８１）によって説明されるサル腎臓細胞のＣＯＳ－７株、ならびに例えば、Ｌ細胞、Ｃ１２７、３Ｔ３、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）、ＨｅＬａおよびＢＨＫ細胞株を含む他の細胞株が挙げられる。哺乳類発現ベクターは、非転写要素、例えば、複製起点、発現されるべき遺伝子に結合される好適なプロモーターおよびエンハンサー、ならびに他の５’または３’隣接非転写配列、ならびに５’または３’非翻訳配列、例えば、必要なリボソーム結合部位、ポリアデニル化部位、スプライスドナーおよび受容部位、ならびに転写停止配列を含むことができる。昆虫細胞における異種タンパク質の産生に関するバキュロウイルスシステムは、Ｌｕｃｋｏｗ ａｎｄ Ｓｕｍｍｅｒｓ，Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ６：４７（１９８８）によって考察されている。

【０１７９】

形質転換宿主によって産生されるタンパク質は、任意の好適な方法に従って精製することができる。かかる標準的方法としては、クロマトグラフィー（例えば、イオン交換、親和性、およびサイジングカラムクロマトグラフィー）、遠心分離、溶解度差、またはタンパク質精製に関する任意の他の標準的技術が挙げられる。ヘキサヒスチジン、マルトース結合ドメイン、インフルエンザコート配列、およびグルタチオン－Ｓ－トランスフェラーゼ等の親和性タグは、適切な親和性カラム上の通過による容易な精製を可能にするために、タンパク質に付着され得る。単離されたタンパク質はまた、タンパク質分解、核磁気共鳴、およびＸ線結晶構造解析等の技術を用いて、物理的に特徴付けられ得る。

【０１８０】

例えば、組換えタンパク質を培養培地内に分泌するシステムの上清は、まず、市販のタンパク質濃縮フィルタ、例えば、ＡｍｉｃｏｎまたはＭｉｌｌｉｐｏｒｅ Ｐｅｌｌｉｃｏｎ限外濾過ユニットと用いて濃色され得る。この濃縮ステップの後、濃縮物は、好適な精製マトリックスに適用され得る。別法として、アニオン交換樹脂が採用され得、例えば、ペンダントジエチルアミノエチル（ＤＥＡＥ）基を有するマトリックスまたは基質である。マトリックスは、アクリルアミド、アガロース、デキストラン、セルロース、またはタ

ンパク質精製に一般的に採用される他の種類のものであり得る。別法として、カチオン交換ステップが採用され得る。好適なカチオン交換としては、スルホプロピルまたはカルボキシメチル基を含む、種々の不溶性マトリックスが挙げられる。最後に、例えば、ペンダントメチル基または他の脂肪族基を有するシリカゲル等の、疎水性ＲＰ－ＨＰＬＣ培地を採用する１つ以上の逆相高性能液体クロマトグラフィー（ＲＰ－ＨＰＬＣ）ステップが、ＦＯＬＲ１結合剤をさらに精製するために採用され得る。前述の精製ステップのうちの幾つかまたは全ても、種々の組み合わせで、均質な組換えタンパク質を提供するために採用され得る。

【０１８１】

細菌培養において産生される組換えタンパク質は、例えば、細胞ペレットからの初期抽出の後、１つ以上の濃縮、塩析、水性イオン交換、またはサイズ排除クロマトグラフィーステップによって、単離され得る。高性能液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）は、最終精製ステップのために採用され得る。組換えタンパク質の発現に採用される微生物細胞は、凍結融解サイクル、超音波、機械的破壊、または細胞溶解剤の使用を含む、任意の便宜的方法によって破壊され得る。

【０１８２】

抗体および他のタンパク質を生成するための当該技術分野において既知である方法としては、例えば、米国特許公開第２００８／０３１２４２５号、同第２００８／０１７７０４８号、および同第２００９／０１８７００５号に説明されるものも挙げられ、その各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０１８３】

ＩＶ．　ポリヌクレオチド

特定の実施形態では、本発明は、ヒトＦＯＬＲ１受容体に特異的に結合するポリペプチドまたはかかるポリペプチドの断片をコードするポリヌクレオチドを含む、ポリヌクレオチドを包含する。例えば、本発明は、ヒトＦＯＬＲ１に対する抗体をコードする、またはかかる抗体の断片をコードする核酸配列を含むポリヌクレオチドを提供する。本発明のポリヌクレオチドは、ＲＮＡの形態またはＤＮＡの形態であり得る。ＤＮＡは、ｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ、および合成ＤＮＡを含み、二重鎖または一本鎖であり得、また一本鎖である場合、コード鎖または非コード（アンチセンス）鎖であり得る。幾つかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、１つ以上の内因性イントロンを欠損するｃＤＮＡまたはＤＮＡである。

【０１８４】

幾つかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、非自然発生ポリヌクレオチドである。幾つかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、組換え産生される。

【０１８５】

特定の実施形態では、ポリヌクレオチドは、単離されている。特定の実施形態では、ポリヌクレオチドは、実質的に純粋である。幾つかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、天然成分から精製される。

【０１８６】

本発明は、配列番号１～４０からなる群から選択される配列を含む、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む、ポリヌクレオチドを提供する。配列番号１～４０に対して少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドも、提供される。

【０１８７】

特定に実施形態では、ポリヌクレオチドは、例えば、宿主細胞からのポリペプチドの発現および分泌を助けるポリヌクレオチドに対して同一の読み枠内で融合された成熟ポリペプチドのためのコード配列を含む（例えば、細胞からのポリペプチドの移行を制御するための分泌配列として機能するリーダー配列）。リーダー配列を有するポリペプチドは、プレタンパク質であり、成熟形態のポリペプチドを形成するために宿主細胞によって切断され

るリーダー配列を有することができる。ポリヌクレオチドはまた、追加の５’アミノ酸残基を伴う成熟タンパク質であるプロタンパク質をコードすることができる。プロ配列を有する成熟タンパク質は、プロタンパク質であり、タンパク質の不活性型である。一旦プロ配列が切断されると、活性成熟タンパク質が残る。

【０１８８】

特定の実施形態では、ポリヌクレオチドは、例えば、コードされたポリペプチドの精製を可能にするマーカー配列に、同一の読み枠内で有効された成熟ポリペプチドのためのコード配列を含む。例えば、マーカー配列は、細菌宿主の場合、マーカーに融合される成熟ポリペプチドの精製を提供するためのｐＱＥ－９ベクターによって供給されるヘキサ－ヒスチジンタグであり得、または哺乳類宿主（例えば、ＣＯＳ－７細胞）を用いる場合、マーカー配列は、インフルエンザ血球凝集素タンパク質に由来する血球凝集素（ＨＡ）タグであり得る。

【０１８９】

本発明はさらに、例えば、断片、類似体、および誘導体をコードする、上述のポリヌクレオチドの変異体に関する。

【０１９０】

ポリヌクレオチド変異体は、コード領域、非コード領域、またはその双方に変更を含有することができる。幾つかの実施形態では、ポリヌクレオチド変異体は、サイレント置換、付加、または欠失を生み出すがコードされるポリペプチドの特性または活性は変更しない、変更を含有する。幾つかの実施形態では、ヌクレオチド変異体は、遺伝子コードの縮重に起因するサイレント置換によって産生される。ポリヌクレオチド変異体は、種々の理由、例えば、特定の宿主に関するコドン発現を最適化するために産生され得る（ヒトｍＲＮＡ内のコドンを、大腸菌等の細菌宿主によって好まれるものに変化させる）。

【０１９１】

本明細書に説明されるポリヌクレオチドを含むベクターおよび細胞も、提供される。

【０１９２】

Ｖ．　検出

サンドイッチＥＬＩＳＡフォーマットを用いるとき、捕捉抗体は、標識されない。検出抗体は、直接標識されるか、または（過剰の検出抗体を洗浄して取り除いた後に）モル過剰の第２の、第１の抗体に対する標識抗体を添加することによって間接的に検出されるかのいずれかである。

【０１９３】

検出抗体に用いられる標識は、ＦＯＬＲ１抗体の結合と干渉しない任意の検出可能な機能性である。好適な標識の例は、蛍光色素標識、化学発光標識、および放射活性標識等の直接検出され得る部分、ならびに酵素等の検出されるために反応または誘導体化されればければならない部分を含む、免疫分析における使用に関して既知である多数の標識である。かかる標識の例としては、放射性同位体^{32}Ｐ、^{14}Ｃ、^{125}Ｉ、^{3}Ｈ、および^{131}Ｉ、例えば、希土類キレートまたはフルオレセインおよびその誘導体等のフルオロフォア、ローダミンおよびその誘導体、ダンシル、ウンベリフェロン、例えば、ホタルルシフェラーゼおよび細菌ルシフェラーゼ（米国特許第４，７３７，４５６号）等のルシフェラーゼ、ルシフェリン、２，３－ジヒドロフタラジンジオン、西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）、アルカリホスファターゼ、β－ガラクトシダーゼ、グルコアミラーゼ、リゾチーム、例えば、グルコースオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ、およびグルコース－６－リン酸デヒドロゲナーゼ等の糖質サッカリドオキシダーゼ、過酸化水素を採用して色素前駆体を酸化する酵素、例えば、ＨＲＰ、ラクトペルオキシダーゼ、またはマイクロペルオキシダーゼとカップリングされた、ウリカーゼおよびキサンチンオキシダーゼ等の複素環式オキシダーゼ、ビオチン／アビジン、ビオチン／ストレプトアビジン、ＭＵＧを伴うビオチン／ストレプトアビジン－β－ガラクトシダーゼ、スピン標識、バクテリオファージ標識、安定した遊離ラジカル等が挙げられる。上述の通り、蛍光定量的検出は、１つの例である。

【０１９４】
これらの標識をタンパク質またはポリペプチドに共有結合するために、従来の方法が利用可能である。例えば、ジアルデヒド、カルボジイミド、ジマレイミド、ビス－イミダート、ビス－ジアゾ化ベンジジン等のカップリング剤を用いて、上述の蛍光標識、化学発光標識、および酵素標識によって抗体にタグ付けすることができる。例えば、米国特許第３，９４０，４７５号（蛍光定量法）および同第３，６４５，０９０号（酵素）；Ｈｕｎｔｅｒ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ １４４：９４５ （１９６２）；Ｄａｖｉｄ ｅｔ ａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ １３：１０１４－１０２１ （１９７４）；Ｐａｉｎ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ ４０：２１９－２３０ （１９８１）；ならびにＮｙｇｒｅｎ Ｊ．Ｈｉｓｔｏｃｈｅｍ．ａｎｄ Ｃｙｔｏｃｈｅｍ．３０：４０７－４１２ （１９８２）を参照されたい。特定の実施形態では、本明細書の標識は、増幅および感度を８ｐｇ／ｍｌまで増加させるために蛍光性であり、より好ましくは、シグナルを増幅するためのストレプトアビジン－β－ガラクトシダーゼおよびＭＵＧを伴うビオチンである。特定の実施形態では、比色標識が用いられ、例えば、検出可能な抗体は、ビオチン化され、検出手段は、アビジンまたはストレプトアビジン－ペルオキシダーゼおよび３，３’，５，５’－テトラメチルベンジジンである。

【０１９５】
酵素を含む、抗体に対するかかる標識の共役は、免疫分析技術における通常の技術のうちの１つに関する標準的な操作手順である。 例えば、Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ，ｅｄ．Ｊ．Ｊ．Ｌａｎｇｏｎｅ ａｎｄ Ｈ．Ｖａｎ Ｖｕｎａｋｉｓ，Ｖｏｌ．７３（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．，１９８１），ｐｐ．１４７－１６６内のＯ’Ｓｕｌｌｉｖａｎ ｅｔ ａｌ．”Ｍｅｔｈｏｄｓ ｆｏｒ ｔｈｅ Ｐｒｅｐａｒａｔｉｏｎ ｏｆ Ｅｎｚｙｍｅ－ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｃｏｎｊｕｇａｔｅｓ ｆｏｒ Ｕｓｅ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｅ Ｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ”を参照されたい。

【０１９６】
最終標識抗体の添加後、結合した抗体の量は、過剰の結合していない標識抗体を、洗浄を通して除去し、次に標識に適切な検出方法を用いて付着した標識の量を測定し、測定した量を、生物学的試料中の循環腫瘍細胞中の脱落ＦＯＬＲ１またはＦＯＬＲ１の量と相関させることによって決定される。例えば、酵素の場合、発色および測定される色の量は、循環腫瘍細胞中に存在する脱落ＦＯＬＲ１またはＦＯＬＲ１の量の直接測定値となる。具体的には、ＨＲＰが標識である場合、色は、４５０ｎｍ吸光度で基質３，３’，５，５’－テトラメチルベンジジンを用いて検出され得る。

【０１９７】
ＶＩ．循環腫瘍細胞分析
本明細書に説明される抗ＦＯＬＲ１抗体は、循環腫瘍細胞分析におけるＦＯＬＲ１の検出のために使用することもできる。循環腫瘍細胞（ＣＴＣ）は、腫瘍から血管系へ脱落し、血流中を循環する細胞である。ＣＴＣは、極めて低い濃度で循環して存在する。概して、ＣＴＣは、当該技術分野において既知である種々の技術によって、患者の血液から富化される。ＣＴＣは、サイトメトリー（例えば、フローサイトメトリー）に基づく方法およびＩＨＣに基づく方法を含むがこれらに限定されない、当該技術分野において既知である方法を用いて染色されてもよい。ＣＴＣは、ＣＴＣを正常血液細胞から同定および識別することを可能にする腫瘍細胞に特有のタンパク質マーカーに関して染色されてもよい。ＣＴＣはまた、ＦＲ１－９およびＦＲ１－１３を含むがこれらに限定されない、本発明の抗体を用いて、ＦＯＬＲ１に関して染色されてもよい。ＣＴＣ分析はまた、ＣＴＣの数および／またはＦＯＬＲ１陽性ＣＴＣの数の定量分析を含んでもよい。本発明では、本明細書に説明されるＦＯＬＲ１抗体は、癌を有する対象から単離されたＣＴＣを染色して、ＣＴＣ中に存在するＦＯＬＲ１を測定するために用いられてもよい。ＦＯＬＲ１発現ＣＴＣの増加は、ＦＯＬＲ１に基づく療法に応答する可能性がある、癌を有する対象を同定するのに役立つことができ、またはＦＯＬＲ１抗体もしくは免疫共役体を用いた治療計画の最適化

を可能にすることができる。ＣＴＣ　ＦＯＬＲ１の定量化は、腫瘍の病期、療法に対する応答、および／または疾患進行に関する情報を提供することができる。これは、予後的、予測的、または薬力学的バイオマーカーとして用いることができる。それに加えて、ＦＯＬＲ１を含むがこれに限定されない特定のマーカーに関してＣＴＣを染色することは、単独でか、または固体生検試料の追加の腫瘍マーカー分析と組み合わせてかのいずれかで、液体生検として用いることができる。

【０１９８】

ＶＩＩ．　キット

便宜上、本発明の分析方法は、キットの形式で提供することができる。かかるキットは、（ａ）捕捉試薬であり得、ヒトＦＯＬＲ１に対するモノクローナル抗体からなる第１の試薬、および／または（ｂ）検出試薬である第２の試薬の基本的な要素を含む、パッケージ化された組み合わせである。検出試薬はまた、ＦＯＬＲ１モノクローナル抗体を含むこともできるが、ＦＯＬＲ１に結合する検出可能な（標識または非標識）抗体を含むこともできる。これらの基本的な要素は、上記において、および下記の実施例において定義される。

【０１９９】

第１の試薬および第２の試薬が、ＦＯＬＲ１に結合する抗体、その抗原結合断片、またはポリエプチデである一実施形態では、第１および第２の試薬は、異なる抗体、その抗原結合断片、またはポリエプチデでである。一実施形態では、第１の試薬は、第２のＦＯＬＲ１試薬とは異なるＦＯＬＲ１エピトープに結合する。一実施形態では、第１の試薬および第２の試薬のどちらも、活性剤（例えば、ｈｕＭＯｖ１９抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤）の結合がＦＯＬＲ１に結合することを競合的に阻害しない。

【０２００】

一実施形態では、キットは、捕捉試薬のための固体支持体を更に含み、該固体支持体は、別個の要素として提供されることができ、またはその上に捕捉試薬が既に固定されている。したがって、キット内の捕捉抗体は、固体支持体上に固定され得るか、または、キットと共に含まれる、もしくはキットとは別個に提供される支持体上に固定され得る。

【０２０１】

一実施形態では、捕捉試薬は、マイクロタイタープレート上にコーティングされる。検出試薬は、直接検出される標識抗体、または異なる種において育成された非標識抗体に対する標識抗体によって検出される非標識抗体であり得る。標識が酵素である場合、キットは通常、酵素によって必要とされる基質および補因子を含み、標識がフルオロフォアである場合、検出可能な発色団を提供する染料前駆体を含む。検出試薬が標識されない場合、キットは、例えば、蛍光定量的に検出されたフォーマットにおける、非標識抗体に対する標識抗体等の検出可能な抗体のために検出手段を、さらに含むことができる。標識が酵素である場合、キットは通常、酵素によって必要とされる基質および捕因子を含み、標識がフルオロフォアである場合、検出可能な発色団を提供する染料前駆体を含み、また標識がビオチンである場合、ＭＵＧと共にＨＲＰまたはβ－ガラクトシダーゼに共役されるアビジン、例えば、アビジン、ストレプトアビジン、またはストレプトアビジン等を含む。

【０２０２】

一実施形態では、捕捉試薬は、ＦＯＬＲ１抗体ＦＲ１－９であり、検出試薬は、ＦＯＬＲ１抗体ＦＲ１－１３である。別の実施形態では、ＦＲ１－１３は、ビオチン化される。

【０２０３】

キットはまた、典型的には、分析を実行するための手引き、ならびに／または抗原標準としてＦＯＬＲ１タンパク質もしくはその断片（例えば、ＦＯＬＲ１細胞外ドメインもしくはＦＯＬＲ１細胞外ドメイン、およびＧＰＩ結合ドメインの全部もしくは一部）、ならびに他の添加物、例えば、安定剤、洗浄および定温放置緩衝液等を含有する。一実施形態では、ＦＯＬＲ１抗原標準は、ＦＯＬＲ１－Ｆｃイムノアドヘシンである。キットはまた、ＦＯＬＲ１発現の検出およびスコア化のための手引きを含むこともできる。

【０２０４】

キットの構成要素は、分析の感度を実質的に最大化する試薬溶液の濃度を提供するために好適に変化された種々の試薬の相対量を用いた、所定の比率で提供される。具体的には、試薬は、溶解すると、試験されるべき試料との組み合わせに適切な濃度を有する試薬溶液を提供する賦形剤を含む、通常は凍結乾燥された、乾燥粉末として提供され得る。

【０２０５】

本開示の実施形態では、本開示の特定の抗体の調製および本開示の抗体を用いるための方法を詳細に説明する以下の非限定的実施例への参照によって、さらに定義され得る。多数の修正が、材料および方法の双方に対して、本開示の範囲から逸脱することなく行われ得ることは、当業者に明らかであろう。

【実施例】

【０２０６】

本明細書で説明される実施例および実施形態は、例証のみを目的としており、これらを考慮して、種々の修正および変更が当業者に提案され、本出願の精神および範囲に含まれることが理解される。

【０２０７】

実施例１

マウス抗ＦＯＬＲ１抗体の開発

２つの異なる免疫付与／スクリーニングシリーズが存在した。第１のシリーズでは、マウスを、約５ｘ１０^{6}のＦＯＬＲ１発現ＫＢ細胞（Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｉｓｓｕｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ，　ＡＴＣＣ　ＣＣＬ－１７）を用いて皮下に免疫付与した。第２のシリーズでは、表面にヒトＦＯＬＲ１を発現する３００－１９細胞を用いて、マウスに免疫付与した。これらの細胞を作製するために、ヒトＦＯＬＲ１アミノ酸配列を、ＮＣＢＩウェブサイト（受託番号　ＮＰ＿０５７９３７）から得て、次にＢｌｕｅ　Ｈｅｒｏｎ　ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓによって、コドンを最適化し、ｐＳＲａ哺乳類発現ベクターへのクローン化を促進するように両側にＥｃｏＲＩおよびＸｂａ１制限部位を隣接させて合成した。Ｂａｌｂ／ｃマウスに由来するプレＢ細胞株、３００－１９細胞（Ｒｅｔｈ　ｅｔ　ａｌ．，　Ｎａｔｕｒｅ，　３１７：３５３－３５５　（１９８５））を、高レベルのヒトＦＯＬＲ１を細胞表面上に安定して発現するように、ｐＳＲａ－ＦｏｌＲ１発現プラスミドで形質移入した。　当業者に既知である標準的な免疫付与プロトコル、例えば、ＩｍｍｕｎｏＧｅｎ，　Ｉｎｃ．にて用いられるものを、両シリーズに適用した。免疫付与されたマウスを、ハイブリドーマ生成のために屠殺する前に、抗原を用いて３日間ブーストした。マウスの脾臓を、例えば、２つの無菌顕微鏡曇りスライドガラスの間で組織をすり潰して、ＲＰＭＩ－１６４０培地中に単一細胞懸濁液を得ること等の標準的な動物プロトコルに従って収集した。脾臓細胞を、遠心分離し、ペレット化し、洗浄し、ポリエチレングリコール－１５００（Ｒｏｃｈｅ　７８３　６４１）を用いて、例えば、Ｐ３Ｘ６３Ａｇ８．６５３細胞（Ｋｅａｒｎｅｙ　ｅｔ　ａｌ．，　Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，　１２３：１５４８－１５５０　（１９７９））等のマウス骨髄腫と融合させた。融合させた細胞を、ヒポキサンチン－アミノプテリン－チミジン（ＨＡＴ）（Ｓｉｇｍａ　Ｈ－０２６２）を含有するＲＰＭＩ－１６４０選択培地内で再懸濁し、５％CO_2、３７℃で９６ウエル平底培養プレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ－Ｃｏｓｔａｒ　３５９６、１ウエルあたり０．２ｍｌの細胞懸濁液）内で成長に関して選択した。５日間の定温放置後、０．１ｍｌの培養上清を各ウエルから取り除き、ヒポキサンチン－チミジン（ＨＴ）補充物（Ｓｉｇｍａ　Ｈ－０１３７）を含有する０．１ｍｌのＲＰＭＩ－１６４０培地と置き換えた。ハイブリドーマクローンが抗体スクリーニングに対して準備が整うまで、５％CO_2、３７℃での定温放置を継続した。他の免疫付与およびハイブリドーマ産生技術を用いることもでき、例えば、Ｌａｎｇｏｎｅ　ｅｔ　ａｌ．（Ｅｄｓ．，”Ｉｍｍｕｎｏｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ，　Ｐａｒｔ　Ｉ”，　Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ，　Ａｃａｄｅｍｉｃ　Ｐｒｅｓｓ，　ｖｏｌｕｍｅ　１２１，　Ｆｌｏｒｉｄａ）およびＨａｒｌｏｗ　ｅｔ　ａｌ．（”Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：　Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ”；　Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａ

ｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ, Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ （１９８８））に説明されるものが挙げられる。

【０２０８】

実験例２

ハイブリドーマスクリーニングおよび選択

ヒトＦＯＬＲ１で形質移入したＦＯＬＲ１－３００－１９細胞およびＫＢ細胞を、第１および第２のスクリーニングシリーズにおいて対応させて用いた。ハイブリドーマからの培養上清を、ＦＯＬＲ１発現３００－１９細胞またはＫＢ細胞等のＦＯＬＲ１陽性細胞には結合するが、非形質導入３００－１９細胞等のＦＯＬＲ１陰性細胞には結合しないマウスモノクローナル抗体の分泌に関してフローサイトメトリーによってスクリーニングした。０．１ｍｌのハイブリドーマ上清を、ＦＯＬＲ１陽性細胞かまたは非形質導入３００－１９細胞（一試料あたり$1x10^5$細胞）かのいずれかと共に、０．１ｍｌのＦＡＣＳ緩衝液（２％の正常ヤギ血清を補充したＲＰＭＩ－１６４０培地）中で３時間定温放置した。次に、細胞を、遠心分離し、ペレット化し、洗浄し、０．１ｍｌのＰＥ共役ヤギ抗マウスＩｇＧ－抗体（例えば、Ｊａｃｋｓｏｎ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙから得られるもの、ＦＡＣＳ緩衝液中６μｇ／ｍＬ）と共に１時間定温放置した。細胞を、遠心分離し、再びペレット化し、ＦＡＣＳ緩衝液で洗浄し、１％のホルムアルデヒドを含有する０．２ｍｌのＰＢＳ中で再懸濁した。細胞関連蛍光を、ＨＴＳマルチウエルサンプラーを有するＦＡＣＳ ＣａｌｉｂｕｒフローサイトメーターまたはＦＡＣＳ ａｒｒａｙフローサイトメーターを用いて測定し、ＣｅｌｌＱｕｅｓｔ Ｐｒｏ（全て、ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ, Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ、米国）を用いて分析した。陽性ハイブリドーマクローンを、限界希釈法を用いてサブクローン化した。フローサイトメトリーによってＦＯＬＲ１に対して親細胞と同一の反応性を示した各ハイブリドーマに由来する１つのクローンを、その後の分析のために選択した。安定したサブクローンを、培養し、分泌された各抗ＦＯＬＲ１抗体のアイソタイプを、商業用アイソタイプ試薬（Ｒｏｃｈｅ １４９３０２７）を用いて同定した。マウス抗体は、上述の通り除去されたハイブリドーマ培地から精製されたタンパク質Ａであった。これらの抗体は、指定のＦＲ－１抗体であった。

【０２０９】

１つのクローン、ｍｕＦＲ１－１３が、（１）同一抗原へのＭｏｖ１９の結合を同時に競争または妨害しない、および（２）一般的なフローサイトメトリー技術によって実証するときにり、標的に対する高い結合特異性を有する（図２Ａおよび２Ｂ）、抗ＦＯＬＲ１クローンとして同定された。これらの２つの特徴は、この分析の開発に必要であり、したがってクローンｍｕＦＲ１－１３を、分析における使用のために選択した。

【０２１０】

残りの６４個の抗ＦＯＬＲ１クローンパネルから、ｍｕＦＲ１－１３に求められるものと同一の基準を保持する第２の抗体が、分析のために必要とされた。それに加えて、第２の抗体は、同一抗原へのｍｕＦＲ１－１３の結合を同時に競争または妨害することはできなかった（即ち、Ｍｏｖ１９、ｍｕＦＲ１－１３、および最終クローンは、全て明確に別個のエピトープを有さなければならない）。これらの条件を満たすために、一連の競合ＥＬＩＳＡ実験を、６５個の抗葉酸クローンの残りのパネルに実施した（図３Ａ）。抗体が、検出されている抗体と同一または立体的に類似したエピトープを共有する場合、シグナルの低減が観察される（図３Ｂ）。この方法を用いて、試験した６４個の抗体のうち５個が、Ｍｏｖ１９と競争するエピトープを有すると同定され、したがって以後の考察から取り除いた。

【０２１１】

同一の方法を繰り返して、Ｍｏｖ１９共役ビオチンをｍｕＦＲ１－１３共役ビオチンで置換した（図４）。この方法を用いて、６個の追加のクローンが、ｍｕＦＲ１－１３と競争するエピトープを有すると同定され、したがって以後の考察から取り除いた。残りの５３個のクローンのうち、さらに１３個のクローンが、不良な親和性を有することが示され、考察から取り除かれた。

【０２１２】
残りの４０個のクローンを、図１に示されるものと同様のＥＬＩＳＡフォーマットを用いてスクリーニングした。４０個のクローンを、図中のｍｕＦＲ１－９の代わりに分析プレート上にコーティングし、得られた結合曲線を分析し、図５に示した。最も低い最大半量応答（ＥＣ５０）を含有した抗体は、ＦＯＬＲ１に対する最も高い結合特性を有すると考えられ、したがって分析のための上位候補として選択された。新規のより高品質な材料が試験のために利用可能であったので、この方法で分析した上位４個のクローンの結合親和性は、約１～５ｘ１０$^{-9}$Ｍの範囲にわたった。
【０２１３】
実施例３
マウスモノクローナル抗体精製
抗体を、標準的な方法、例えば、タンパク質ＡまたはＧクロマトグラフィー（ＨｉＴｒａｐ　Ｐｒｏｔｅｉｎ　ＡまたはＧ　ＨＰ、１ｍＬ、Ａｍｅｒｓｈａｍ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を用いて、ハイブリドーマサブクローン上清から精製した。手短に述べると、上清を、１／１０体積の１Ｍ　Ｔｒｉｓ／ＨＣｌ緩衝液、ｐＨ８．０の添加によって、クロマトグラフィー用に調製した。ｐＨ調整した上清を、０．２２μｍ濾過膜を通して濾過し、結合緩衝液（ＰＢＳ、ｐＨ７．３）と平衡化したカラム上に配置した。２８０ｎｍにて吸光度を有さない安定したベースラインが得られるまで、カラムを、結合緩衝液で洗浄した。抗体を、ｐＨ２．８、０．１５ＭのＮａＣｌを含有する０．１Ｍの酢酸緩衝液と共に、０．５ｍＬ／分の流速を用いて溶出させた。約０．２５ｍＬの画分を収集し、１／１０体積の１Ｍ　Ｔｒｉｓ／ＨＣｌ、ｐＨ８．０の添加によって中和した。ピーク画分（単数または複数）を、１ｘＰＢＳに対して２回、一晩透析し、０．２μｍ濾過膜を通して濾過することによって滅菌した。精製した抗体を、A_{280}にて吸光度によって定量化した。
【０２１４】
実施例４
フローサイトメトリーによる結合特徴評価
結合特異性を、精製した抗体を用いてフローサイトメトリーによって試験した。各抗体を、ＦＯＬＲ１発現３００－１９細胞か、または非形質導入３００－１９細胞（一試料あたり１ｘ１０^{5}細胞）かのいずれかと共に、０．１ｍｌのＦＡＣＳ緩衝液（２％の正常ヤギ血清を補充したＲＰＭＩ－１６４０培地）中で３時間定温放置した。次に、細胞を、ペレット化し、洗浄し、０．１ｍｌのＦＩＴＣ共役ヤギ抗マウスＩｇＧ－抗体（例えば、Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙから得られるもの、ＦＡＣＳ緩衝液中６μｇ／ｍＬ）と共に１時間定温放置した。細胞を、再びペレット化し、ＦＡＣＳ緩衝液で洗浄し、１％のホルムアルデヒドを含有する２００μＬのＰＢＳ中で再懸濁した。試料を、ＨＴＳマルチウエルサンプラーを有するＦＡＣＳＣａｌｉｂｕｒフローサイトメーターまたはＦＡＣＳ　ａｒｒａｙフローサイトメーターを用いて獲得し、ＣｅｌｌＱｕｅｓｔ　Ｐｒｏ（全て、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，　Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ、米国）を用いて分析した。抗ＦＯＬＲ１抗体のＦＡＣＳヒストグラムは、蛍光シフトを示し、それに対して親３００－１９細胞は示さなかった。同様に、細胞株のどちらかのみを単独でＦＩＴＣ共役ヤギ抗ヒトＩｇＧ－抗体と共に定温放置したとき、著しい蛍光シフトは検出されなかった。
【０２１５】
実施例５
ｍｕＦＲ１－９およびＦＲ１－５３のＶＬおよびＶＨ領域のクローン化および配列決定
全ての細胞ＲＮＡは、ＲＮｅａｓｙキット（ＱＩＡｇｅｎ）を用いて、製造者プロトコルに従って５ｘ１０^{6}ハイブリドーマ細胞から調製した。その後、ｃＤＮＡを、ＳｕｐｅｒＳｃｒｉｐｔ　ＩＩ　ｃＤＮＡ合成キット（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を用いて全ＲＮＡから合成した。　ハイブリドーマ細胞に由来するｃＤＮＡにおける第１ラウンド縮重ＰＣＲ反応に関する手順は、Ｗａｎｇ　ｅｔ　ａｌ．（２０００）Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｍｅｔｈｏｄｓ．Ｊａｎ １３；２３３（１－２）：１６７－７７およびＣｏ　ｅｔ　ａｌ．（１９９２）Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｆｅｂ １５；１４８（４）：１１４９－

５４に説明される方法に基づいた。ＶＨ配列を、以下の縮重プライマーを用いてＰＣＲによって増幅した：ＥｃｏＭＨ１　ＣＴＴＣＣＧＧＡＡＴＴＣＳＡＲＧＴＮＭＡＧＣＴＧＳＡＧＳＡＧＴＣ（配列番号４５）、ＥｃｏＭＨ２　ＣＴＴＣＣＧＧＡＡＴＴＣＳＡＲＧＴＮＭＡＧＣＴＧＳＡＧＳＡＧＴＣＷＧＧ（配列番号４１）、およびＢａｍＩｇＧ１　ＧＧＡＧＧＡＴＣＣＡＴＡＧＡＣＡＧＡＴＧＧＧＧＧＴＧＴＣＧＴＴＴＴＧＧＣ（配列番号４２）。ＶＬ配列を、以下の縮重プライマーを用いてＰＣＲによって増幅した：ＳａｃＩＭＫ　ＧＧＡＧＣＴＣＧＡＹＡＴＴＧＴＧＭＴＳＡＣＭＣＡＲＷＣＴＭＣＡ（配列番号４３）およびＨｉｎｄＫＬ　ＴＡＴＡＧＡＧＣＴＣＡＡＧＣＴＴＧＧＡＴＧＧＴＧＧＧＡＡＧＡＴＧＧＡＴＡＣＡＧＴＴＧＧＴＧＣ（配列番号４４）。（混合基は、以下の通り定義される：Ｎ＝Ｇ＋Ａ＋Ｔ＋Ｃ、Ｓ＝Ｇ＋Ｃ、Ｙ＝Ｃ＋Ｔ、Ｍ＝Ａ＋Ｃ、Ｒ＝Ａ＋Ｇ、Ｗ＝Ａ＋Ｔ）。

【０２１６】

次に、ＰＣＲ反応混合物を、１％の低融点アガロースゲル上で走らせ、３００～４００ｂｐバンドを切り取り、Ｚｙｍｏ　ＤＮＡ　ｍｉｎｉ　ｃｏｌｕｍｎを用いて精製し、配列決定のためにＡｇｅｎｃｏｕｒｔ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓに送った。それぞれの５’および３’ＰＣＲプライマーを配列決定プライマーとして用いて、双方向から可変領域ｃＤＮＡを配列決定した。ＶｅｃｔｏｒＮＴＩソフトウエアを用いてＤＮＡ配列決定結果を翻訳することによって、ＶＨおよびＶＬ領域のアミノ酸配列を得た。

【０２１７】

予備可変領域ｃＤＮＡ配列は、マウス抗体ｍＲＮＡよりもむしろ縮重ＰＣＲプライマーに由来する５’末端配列を含み、したがってマウス抗体生殖系列配列との配列比較は、これらの配列決定アーチファクトの同定および除去を促進した。ＮＣＢＩ　ＩｇＢｌａｓｔｓｉｔｅ（ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／ｉｇｂｌａｓｔ／）を利用して、予備抗体ｃＤＮＡ配列が由来するマウス生殖系列配列を検索し、５’末端配列を導き出したプライマーを、対応する生殖系列配列と置き換えた。次に、雑音を取り除いた可変領域配列を、マウスカッパおよびＩｇＧ１定常領域（それぞれ、受託番号ＡＪ２９４７３６．１およびＤ７８３４４．１）に関するＮＣＢＩ基準配列と組み合わせて、予想される全長マウス抗体配列を組み立てた。次に、予想されるマウスＦＲ１－９およびＦＲ１－５３の軽鎖および重鎖の分子量を算出し、液体クロマトグラフィー／質量分光光度分析（ＬＣ／ＭＳ）によって測定した質量と比較した。

【０２１８】

上述の方法の後、マウスＦＲ１－９軽鎖を配列決定するための初期の努力は不成功であることが判明し、したがって代替的方法を採用した。ＦＲ１－９に関連するハイブリドーマの軽鎖配列を用いて、ＦＲ１－９軽鎖フレームワークの推定リーダー配列をアニールするためのＫＳ７７ＬＣｌｅａｄ　ＰＣＲプライマー（ｔｔｔｔｇａｇｃｔｃｔｇｇａｔｔｃｃａｇｃｃｔｃｃａｇａｇｇｔ）を設計した。このリーダープライマーＰＣＲ反応および配列決定を、上述の通り実施し、ＬＣ／ＭＳによって測定したＦＲ１－９軽鎖質量に合致する軽鎖をコードする完全なｃＤＮＡ配列を得た。

【０２１９】

実施例６

ＦＯＬＲ１　Ｆｃ融合制御試料

ヒト葉酸受容体１　Ｆｃ融合分子を、典型的には人乳に由来するヒト葉酸結合タンパク質に対する代替的な可溶性抗原供給源として構築した。上述の免疫付与実施例に説明されるヒトＦＯＬＲ１　ｃＤＮＡのアミノ末端を、ＥｃｏＲＩおよびＰｓｔ１制限消化物を用いて全長配列から切り取った。この断片は、Ｎ末端シグナルペプチドからｈｕＦｏｌＲ１（ＮＣＢＩ受託番号ＮＭ＿０１６７３１．２）のＧＰＩ結合部位の直ぐ上流の残基までの２３３個のアミノ酸をコードするｃＤＮＡを含有した。ＢａｍＨＩオリゴヌクレオチドリンカーに対するＰｓｔ１は、ｐｍｕＦｃ２ＡＮＬ－ＥＫ哺乳類発現プラスミドにおいて、マウスＩｇＧ２Ａヒンジ、ＣＨ２、およびＣＨ３抗体定常領域配列（ＮＣＢＩ受託番号Ｐ０１８６３）を用いたインフレームのＦｏｌＲ１断片のクローン化を促進した。次に、ヒト

ＦＯＬＲ１－Ｆｃ融合タンパク質を、ＨＥＫ－２９３ＴまたはＣＨＯ細胞等の哺乳類宿主細胞株における一過性または安定形質導入によって発現させた。４７５アミノ酸融合タンパク質は、マウスＩｇＧ２Ａ定常領域を含有するため、分子は、上述の標準マウス抗体精製手順後に精製した。

【０２２０】

実施例７

脱落抗原ＥＬＩＳＡ分析

材料が、予想通りに継続して機能していることを確認するために、全抗体を、当該技術分野において既知であるＥＬＩＳＡおよびフローサイトメトリー法の双方によって結合に関してスクリーニングした。フローサイトメトリーは、当該技術分野において基地であるインビトロ細胞培養技術を用いて培養したＦＯＬＲ１発現ヒトＴ４７Ｄ細胞を用いて実施した。抗体を、これらの細胞に結合させ、ＦＡＣＳｃａｌｉｂｕｒ　ｍａｃｈｉｎｅ上でヤギ抗マウスＡｌｅｘａ－ｆｌｕｏｒ４８８検出抗体を用いて間接的に検出した（図６Ａ－Ｂ）。同一の方法を他の抗体に適用し、最終的な選択された抗体ＦＲ１－１３およびＦＲ１－９は、両方法によってそれぞれ約１－３ｘ１０$^{-9}$Ｍおよび２－４ｘ１０$^{-9}$の結合親和性を示すことが決定された。

【０２２１】

Ｍｏｖ１９はＦＯＬＲ１のみに特異的であるため、分析が、ＦＯＬＲ１のみを検出し、ＦＯＬＲ２、または特にはＦＯＬＲ３（一般的に、ヒト血漿中に脱落タンパク質として見出される）は検出しないことは、重要である。これを決定するために、上位４個のクローンを、市販のＥＬＩＳＡキットを用いてスクリーニングした（図７Ａ～Ｂ）。陽性対照検出抗体は、バックグラウンドを上回る陽性シグナルを示し、ＦＯＬＲ２またはＦＯＬＲ３の検出を示唆している。残りの抗体（ＦＲ１－９、ＦＲ１－５３、ＦＲ１－６２、ＦＲ１－６４、およびＭｏｖ１９）は、分析にてシグナルを産生せず、したがってＦＯＬＲ２またはＦＯＬＲ３に結合しない。

【０２２２】

それに加えて、ＦＯＬＲ１に結合した葉酸の存在は、選択された抗体のエピトープを潜在的に覆い隠した可能性があった。分析が、ヒト血液中の生理量の葉酸中のＦＯＬＲ１を検出することを確認するために、葉酸を、ＦＯＬＲ１標準精製タンパク質と共に予め定温放置し、分析プレートに添加した。図８に示される通り、葉酸の存在は、葉酸を含有しない陽性対照と比較して、分析の検出親和性にほとんど影響を及ぼさなった。したがって、分析は、結合した葉酸の存在下であってさえも、ＦＯＬＲ１を検出し得ることが結論付けられた。

【０２２３】

上位４個の抗体クローン（ＦＲ１－９、５３、６２、または６４）のうちのいずれも、Ｍｏｖ１９またはＦＲ１－１３の結合との干渉を示さなかったため、またＦＯＬＲ２、ＦＯＬＲ３、または葉酸の存在下で、不都合な結合特性が観察されなかったため、元の６４個のクローンのうち、これら４個の候補が、分析における使用のために実行可能であった。これらの４個のクローンのうち、クローンＦＲ１－９およびＦＲ１－５３は、ＦＲ１－６２およびＦＲ１－６４と比較してより高い結合親和性を有することが決定された。ＦＲ１－５３抗体の、その親ハイブリドーマからの産生は、一貫してより不良な生産量を生じ、したがってクローンＦＲ１－９を、その抗体産生の容易さ、より高い抗体純度およびモノマー割合を理由として選択した。

【０２２４】

分析を最適化するために、ＦＲ１－９、ビオチン化ＦＲ１－１３、Ｓｔｒｐ－ＨＲＰの濃度、およびそれぞれの定温放置時間を、ＦＯＬＲ１－Ｆｃ融合タンパク質を抗原標準として用いて最適化する体系的なアプローチが用いられた。ＦＯＬＲ１－Ｆｃ融合は、ｈｕＦＯＬＲ１とマウスＩｇＧ２Ａヒンジ、ＣＨ２、ＣＨ３との融合ペプチドである。最適化された条件を確立するための基準は、ノイズ比に対する高シグナルを伴う再現可能なシグナル、ヒト血漿試料における最少のマトリックス効果、高い反復性および精度、ならびに最

低の検出限界であった。

【０２２５】

より具体的には、分析は、分析プレートを２μｇ／ｍＬのｍｕＦＲ１－９を用いてコーティングし、定温放置することによって実施された。非特異タンパク質による遮断後、試料（抗原標準およびヒト血漿試料を含む）を分析プレートに添加して、定温放置した。次に、プレートを洗浄し、ｍｕＦＲ１－１３ｂ検出抗体（２μｇ／ｍＬ）を、各ウエルに添加した。モル過剰のストレプトアビジン共役西洋ワサビペルオキシダーゼ（１：５，０００）を添加する前に、プレートを再び洗浄した。３，３’，５，５’－テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）を添加する前に、プレートを再び洗浄した。ＴＭＢは、ペルオキシダーゼと反応して、試料中に存在するＦＯＬＲ１の量に応じた強度で、青色を形成した。反応を、酸含有溶液を用いて停止し、それは、次に黄色に変化した。次に、分析をｓｐｅｃｔｒａｍａｘプレートリーダ上で読み取り、各試料の色反応の強度（吸光度）を決定した。必要に応じて、Ｓ状用量応答（可変スロープ）曲線を、全ての希釈シリーズに関して、４ＰＬ等式：Ｙ＝Ｂｏｔｔｏｍ＋（Ｔｏｐ－Ｂｏｔｔｏｍ）／１＋１０＾（（ＬｏｇＥＣ５０－Ｘ）＊Ｈｉｌｌ　Ｓｌｏｐｅを用いて、Ｇｒａｐｈｐａｄ　Ｐｒｉｓｍ　ｖ５．０４ソフトウエアを用いて生成した。

【０２２６】

最終的なＥＬＩＳＡフォーマットの妥当性を決定するために、ヒト卵巣癌患者の血漿および非腫瘍由来のヒト腹水試料を試験した。腹水を有する非担腫瘍患者において、ＦＯＬＲ１の存在に関して１５個の試料を分析した。全ての１５個の試料において、ＦＯＬＲ１は、分析によって検出されず、マトリックス効果のため偽陽性は観察されなかった（図９）。別法として、これらの腹水試料は、その中に添加された精製されたヒトＦＯＬＲ１タンパク質を有し、その後の検出が実施された。このアッセイによって決定されたＦＯＬＲ１タンパク質の回収は、既知の追加量（図示されず）の８５％を上回った。従って、非腫瘍関連ヒト腹水中には、試料の希釈を伴わない場合でさえも、干渉タンパク質は存在しないことが仮定された。

【０２２７】

同一の分析を、プールした正常ヒト血漿において実施した（プールは、１ロットあたりｎ＝１０患者であった）。分析によって、内因性ＦＯＬＲ１は検出されず、また干渉タンパク質は、精製されたｈｕＦＯＬＲ１－Ｆｃタンパク質が添加されたヒト血漿の非希釈試料中に発見されなかった（図１０）。ヒト卵巣癌血漿の試料は、Ｄａｎａ　Ｆａｒｂｅｒ　Ｃａｎｃｅｒ　ＩｎｓｔｉｔｕｔｅまたはＭａｓｓ　Ｇｅｎｅｒａｌ　Ｈｏｓｐｉｔａｌによって提供された。今日までに分析した７２個の試料のうち、７個の試料が、０．７～３０．６ｎＭの範囲の検出可能なレベルのＦＯＬＲ１を有するとして同定された。このデータの代表的な分析は、１１に示される。ここで、８個の試料のうちの３個は、検出可能なレベルのＦＯＬＲ１を含有し、試料ＰＢ１０５、ＰＢ１０６、およびＰＢ１０９に関して、それぞれ０．７４、０．９１、および３０．６ｎＭを示した。ｈｕＦＯＬＲ１－Ｆｃを用いて生成された、関連する標準曲線からのこのデータの補間のための方法は、図１２に示される。

【０２２８】

実施例８

循環腫瘍細胞分析

種々のレベルのＦＯＬＲ１発現を有する３個の細胞株を、高発現（ＫＢ）、低発現（ＯＶＣＡＲ３）、および発現無し（Ａ５４９）の代表として選択した。非標識ＦＲ１－９およびＦＲ１－１３、ならびに商業用の抗ＦＯＬＲ１抗体（「商業用ＦＲＡ」）を滴定し、抗体の各々に関して、選択された細胞株においてレーザー走査サイトメトリー（ＬＳＣ）検出を用いて最適滴定を決定した。蛍光を、平均蛍光強度（ＭＦＩ）として測定し、図１３に示す。全ての３個の抗体は、ＫＢ細胞中に葉酸受容体の発現を示した。最適希釈は、各抗体に関して次の通りに同定された：商業用ＦＲＡに関して１：５、ｍｕＦＲ１－９に関して１：１００、およびｍｕＦＲ１－１３に関して１：２００。試験した抗体のうち、商

業用抗体は、バックグラウンド割当量に対して最良のシグナルを付与した（８．０対４．０７（ｍｕＦＲ１－９）および４．１９（ｍｕＦＲ１－１３））が、ｍｕＦＲ１－９だけは、ＯＶＣＡＲ３細胞においてシグナルを示した（Ａ５４９細胞よりも約３０％多いシグナル）。図１４を参照されたい。

【０２２９】

ＩＭＧＮ８５３を用いた治療または有効性の監視を含む適用のために、ＣＴＣ分析における使用のために選択される抗体は、ＦＯＬＲ１への結合に関して、ＩＭＧＮ８５３の抗体成分（即ち、ｈｕＭｏｖ１９（Ｍ９３４６Ａ））と競争すべきではない。抗体のうちのいずれかが、ＦＯＬＲ１への結合に関してＩＭＧＮ８５３と競争するかを決定するために、競合分析を実施した。これらの分析のために、Ａ５４９（陰性）およびＫＢ（高発現体（ｈｉｇｈ　ｅｘｐｒｅｓｓｏｒ））細胞を、Ｍ９３４６Ａ抗体、またはビヒクル単独と共に処理した。次に、細胞を洗浄し、３個の抗体の各々を用いて染色し、ＬＳＣを用いて発現を分析した。結果は、図１５に提供される。薄いバー（左）は、ビヒクル単独を表し、濃いバー（右）は、ＩＭＧＮ８５３処理細胞を表す。治療用ＩＭＧＮ８５３との競合が存在する場合、ＫＢ細胞において、濃いバー（右）は、薄いバー（左）よりも低くなる。図１５の結果は、商業用ＦＲＡ抗体は、結合に関してＩＭＧＮ８５３と競争し（ＦＲＡシグナルにおいて約６６％降下）、一方、ｍｕＦＲ１－９およびｍｕＦＲ１－１３抗体は、ＩＭＧＮ８５３治療によって影響を受けないことを示す。

【０２３０】

総じて、これらの結果は、ｍｕＦＲ１－９およびｍｕＦＲ１－１３は、ＩＭＧＮ８５３と競争しておらず、したがって、これらは、ＩＭＧＮ８５３を用いた治療後に、体液（例えば、血液または血漿）、循環腫瘍細胞、または組織試料中のＦＯＬＲ１レベルを監視する分析における使用のための、より望ましい候補となることを実証する。それに加えて、ｍｕＦＲ１－９は、より感受性が高く、低レベルの発現を有するＯＶＣＡＲ３細胞中の発現を検出する特有の能力を実証しており、これらの種類の分析のための好ましい候補抗体である。

【０２３１】

実施例９

ＮＳＣＬＣおよび卵巣癌患者から単離された循環腫瘍細胞（ＣＴＣ）中のＦＯＬＲ１の検出

血液試料を、以下の時点において、卵巣癌またはＮＳＣＬＣ癌患者から採血する：スクリーニング（ベースラインの最大２８日前）、ベースライン、サイクル３の前、およびサイクル４終了時。ＣＴＣを、試料から富化し、上述の実施例８に説明される抗体および希釈を用いてＣＫ、ＣＤ４５、核、およびＦＯＬＲ１に関して染色する。ＣＴＣの数（即ち、ＣＫ＋／ＣＤ４５－有核細胞）、ＣＫ－／ＣＤ４５－有核細胞の数、ＣＴＣ中のＦＯＬＲ１の発現、ＣＫ－／ＣＤ４５－有核細胞の数、ならびにＦＯＬＲ１陽性ＣＴＣおよびＣＫ－／ＣＤ４５－有核細胞の割合を、各試料に関してＬＳＣによって決定する。このデータは、ＩＭＧＮ８５３に関する第一相臨床試験中の種々の時点におけるＣＴＣ中のＦＯＬＲ１発現レベルを決定するために用いられる。

【０２３２】

本明細書に引用される全ての刊行物、特許、特許出願、インターネットサイト、および受託番号／データベースの配列（ポリヌクレオチド配列およびポリペプチド配列の両方を含む）は、各々の個々の刊行物、特許、特許出願、インターネットサイト、または受託番号／データベースの配列が、個別に、参照により組み込まれるのと同程度に、あらゆる目的で、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

本発明は以下の項目も提供する。

（項目１）

葉酸受容体１（ＦＯＬＲ１）媒介疾患を有する患者を治療する方法であって、

（ａ）　患者から採取した試料中の脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定することと、

（ｂ）　前記患者の脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベ

ルと比較して上昇している場合に、前記患者に、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を投与することと、を含み、
前記活性剤は、前記疾患または障害を効果的に治療する、方法。
（項目２）
ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者を治療する方法であって、
（ａ）　ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者に、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を投与することと、
（ｂ）　前記活性剤のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない抗体またはその抗原結合断片を用いて、前記患者の脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定することと、
（ｃ）　前記患者の脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量および／または頻度を増加させることと、を含み、
前記患者の脱落ＦＯＬＲ１レベルの減少は、治療有効性を示す、方法。
（項目３）
患者におけるＦＯＬＲ１タンパク質を減少させる方法であって、
（ａ）　ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者から採取した試料中の前記脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定することと、
（ｂ）　前記患者の脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、前記患者に、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を投与することと、を含み、
前記活性剤の前記投与は、前記患者における脱落ＦＯＬＲ１レベルを減少させる、方法。
（項目４）
患者におけるＦＯＬＲ１タンパク質を減少させる方法であって、
（ａ）　ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者に、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を投与することと、
（ｂ）　前記活性剤のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない抗体またはその抗原結合断片を用いて、患者の脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定することと、
（ｃ）　前記患者の脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量および／または頻度を増加させることと、を含み、
前記活性剤の前記投与は、前記患者における脱落ＦＯＬＲ１レベルを減少させる、方法。
（項目５）
葉酸受容体１（ＦＯＬＲ１）媒介疾患を有する患者における、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤の治療有効性を監視する方法であって、
（ａ）　ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者における第１の脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定することと、
（ｂ）　前記患者に、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を投与することと、
（ｃ）　活性剤投与後に、前記患者における第２の脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定することと、
（ｄ）　前記第２の脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルを前記第１の脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較することと、を含み、
前記第１および第２の脱落ＦＯＬＲ１レベルは、前記活性剤のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない抗体または抗原結合断片を用いて測定され、
前記第１および第２の脱落ＦＯＬＲ１レベルの間の減少は、治療有効性を示す、方法。
（項目６）
ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者を治療する方法であって、
（ａ）　ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者に、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を投与することと、

（ｂ）　脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルの測定のために、前記患者から採取した試料を提出することと、
（ｃ）　前記測定の結果から、前記患者の脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇しているかを決定することと、
（ｄ）　前記患者の脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルが上昇している場合に、その後の固定用量の量および／または頻度を増加させることと、を含み、
前記脱落ＦＯＬＲ１レベルは、前記活性剤のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない抗体を用いて測定される、方法。
（項目７）
ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者を治療する方法であって、
（ａ）　ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者に、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を投与することと、
（ｂ）　脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルの測定および基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルとの比較のために、前記患者から採取した試料を提出することと、
（ｃ）　前記患者の脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルが上昇している場合に、その後の固定用量の量および／または頻度を増加させることと、を含み、
前記患者の前記脱落ＦＯＬＲ１レベルの減少は、治療有効性を示す、方法。
（項目８）
ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者を治療する方法であって、
（ａ）　ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者から試料を得ることであって、前記患者は、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を受けている、得ることと、
（ｂ）　前記活性剤のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない抗体またはその抗原結合断片を用いて、前記試料から脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定することと、
（ｃ）　前記患者の脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇しているかを決定することと、
（ｄ）　前記患者の脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルが上昇している場合に、その後の固定用量の量および／または頻度を増加させるか、または増加させるようにヘルスケア提供者に指示することと、を含み、
前記患者の前記脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルの減少は、治療有効性を示す、方法。
（項目９）
ＦＯＬＲ１媒介疾患を有する患者を治療する方法であって、
（ａ）　患者から採取した循環腫瘍細胞中の前記ＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定することと、
（ｂ）　前記患者の循環腫瘍細胞中の前記ＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、前記患者に、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を投与することと、を含み、
前記活性剤は、前記疾患または障害を効果的に治療する、方法。
（項目１０）
ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者を治療する方法であって、
（ａ）　ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者に、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を投与することと、
（ｂ）　前記活性剤のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない抗体またはその抗原結合断片を用いて、循環腫瘍細胞中の患者のＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定することと、
（ｃ）　前記患者の循環腫瘍細胞中の前記ＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量および／または頻度を増加させることと、を含み、
前記患者の循環腫瘍細胞中のＦＯＬＲ１レベルの減少は、治療有効性を示す、方法。
（項目１１）
患者におけるＦＯＬＲ１タンパク質を減少させる方法であって、

（ａ）　抗体またはその抗原結合断片を用いて、ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者から採取した循環腫瘍細胞中の前記ＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定することと、
（ｂ）　前記患者の循環腫瘍細胞中の前記ＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、前記患者に、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を投与することと、を含み、
前記活性剤の前記投与は、前記患者におけるＦＯＬＲ１レベルを減少させる、方法。
（項目１２）
ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者におけるＦＯＬＲ１タンパク質を減少させる方法であって、
（ａ）　ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者に、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を投与することと、
（ｂ）　前記活性剤のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない抗体またはその抗原結合断片を用いて、循環腫瘍細胞中の患者のＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定することと、
（ｃ）　前記患者の循環腫瘍細胞中の前記ＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量または頻度を増加させることと、を含み、
前記活性剤の前記投与は、前記患者におけるＦＯＬＲ１レベルを減少させる、方法。
（項目１３）
患者におけるＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤の治療有効性を監視する方法であって、
（ａ）　ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者から採取した試料中の患者の循環腫瘍細胞中の第１のＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定することと、
（ｂ）　前記患者に、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を投与することと、
（ｃ）　活性剤投与後に、前記患者から採取した患者の循環腫瘍細胞中の第２のＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定することと、
（ｄ）　前記第２のＦＯＬＲ１タンパク質レベルを前記第１のＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較することと、を含み、
前記第１および第２のＦＯＬＲ１レベルは、前記活性剤のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない抗体または抗原結合断片を用いて測定され、
前記第１および第２のＦＯＬＲ１レベルの間の減少は、治療有効性を示す、方法。
（項目１４）
ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者を治療する方法であって、
（ａ）　ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者に、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を投与することと、
（ｂ）　ＦＯＬＲ１タンパク質レベルの測定のために、前記患者から採取した循環腫瘍細胞の試料を提出することと、
（ｃ）　前記測定の結果から、前記患者の循環腫瘍細胞中の前記ＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇しているかを決定することと、
（ｄ）　前記患者の循環腫瘍細胞中の前記ＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、前記基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量および／または頻度を増加させることと、を含み、
前記ＦＯＬＲ１レベルは、前記活性剤のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない抗体を用いて測定される、方法。
（項目１５）
ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者を治療する方法であって、
（ａ）　ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者に、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を投与することと、
（ｂ）　脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルの測定および基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルとの比較のために、前記患者から採取した循環腫瘍細胞の試料を提出することと、

（ｃ）　前記患者の循環腫瘍細胞中の前記ＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、前記基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量および／または頻度を増加させることと、を含み、
前記患者の循環腫瘍細胞中の前記ＦＯＬＲ１レベルの減少は、治療有効性を示す、方法。
（項目１６）
ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者を治療する方法であって、
（ａ）　ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者から循環腫瘍細胞の試料を得ることであって、前記患者は、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を受けている、得ることと、
（ｂ）　前記活性剤のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない抗体またはその抗原結合断片を用いて、前記試料からＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定することと、
（ｃ）　前記患者の循環腫瘍細胞中の前記ＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇しているかを決定することと、
（ｄ）　前記患者の循環腫瘍細胞中の前記ＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、前記基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量または頻度を増加させるか、または増加させるようにヘルスケア提供者に指示することと、を含み、
前記患者の循環腫瘍細胞中の前記ＦＯＬＲ１レベルの減少は、治療有効性を示す、方法。
（項目１７）
前記脱落ＦＯＬＲ１は、前記活性剤のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない抗体を用いて測定される、項目１または３に記載の方法。
（項目１８）
循環腫瘍細胞中の前記ＦＯＬＲ１は、前記活性剤のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない抗体を用いて測定される、項目９または１１に記載の方法。
（項目１９）
前記患者の脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルまたは前記患者の循環腫瘍細胞のＦＯＬＲ１レベルは、試料または前記患者から得られた試料において検出される、項目２、４、５、１０、１２、または１３のいずれか一項に記載の方法。
（項目２０）
前記測定されたＦＯＬＲ１タンパク質レベルは、体液において測定され、かつ／または前記試料は、体液試料である、項目１、３、６～９、１１、または１４～１９のいずれか一項に記載の方法。
（項目２１）
前記体液は、腹水である、項目２０に記載の方法。
（項目２２）
前記体液は、血清、血液、または血漿である、項目２０に記載の方法。
（項目２３）
前記測定されたＦＯＬＲ１タンパク質レベルは、末梢血液試料において測定され、かつ／または前記試料は、末梢血液試料である、項目１、３、６～９、１１、または１４～１９のいずれか一項に記載の方法。
（項目２４）
前記患者は、癌を有する、項目１～２３のいずれか一項に記載の方法。
（項目２５）
前記ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害は、癌である、項目１～２３のいずれか一項に記載の方法。
（項目２６）
前記癌は、卵巣癌、非小細胞肺癌、子宮癌、子宮内膜癌、膵臓癌、腎臓癌、肺癌、および乳癌からなる群から選択されるＦＯＬＲ１上昇癌である、項目２４または２５に記載の方法。
（項目２７）

前記卵巣癌は、白金耐性または白金不応性である、項目２６に記載の方法。
（項目２８）
前記肺癌は、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）である、項目２６に記載の方法。
（項目２９）
前記癌は、子宮内膜癌である、項目２６に記載の方法。
（項目３０）
ＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定するために用いられる前記抗体またはその抗原結合断片は、マウス抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、再表面化（ｒｅｓｕｒｆａｃｅｄ）抗体、もしくはヒト抗体、またはこれらの抗原結合断片である、項目２、４～８、１０、または１２～２９のいずれか一項に記載の方法。
（項目３１）
ＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定するために用いられる前記抗体またはその抗原結合断片は、約１．０ｎＭ～約１０ｎＭのＫｄを有するヒト葉酸受容体１に結合する、項目２、４～８、１０、または１２～３０のいずれか一項に記載の方法。
（項目３２）
ＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定するために用いられる前記抗体またはその抗原結合断片は、約０．５ｎＭ～約５ｎＭのＫｄを有するヒト葉酸受容体１に結合する、項目２、４～８、１０、または１２～３０のいずれか一項に記載の方法。
（項目３３）
前記結合親和性は、サイトメトリー、表面プラズモン共鳴分光法、ＥＬＩＳＡ、またはラジオイムノアッセイによって測定される、項目３１または３２に記載の方法。
（項目３４）
前記サイトメトリーは、フローサイトメトリーである、項目３３に記載の方法。
（項目３５）
ＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定するために用いられる前記抗体またはその抗原結合断片は、葉酸受容体２または葉酸受容体３に結合しない、項目２、４～８、１０、または１２～３４のいずれか一項に記載の方法。
（項目３６）
前記測定されたＦＯＬＲ１タンパク質レベルは、２つの異なる抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を用いて測定される、項目１～８、１６、または１８～３５のいずれか一項に記載の方法。
（項目３７）
ＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定するために用いられる少なくとも１つの抗体またはその抗原結合断片は、固体支持体に結合される、項目２、４～８、１０、または１２～３６のいずれか一項に記載の方法。
（項目３８）
前記固体支持体は、マイクロタイタープレートである、項目３７に記載の方法。
（項目３９）
ＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定するために用いられる少なくとも１つの抗体またはその抗原結合断片は、検出剤を含む、項目２、４～８、１０、または１２～３８のいずれか一項に記載の方法。
（項目４０）
前記検出剤は、発色検出剤、蛍光検出剤、免疫蛍光検出剤、酵素検出剤、または電気化学発光検出剤である、項目３９に記載の方法。
（項目４１）
前記検出剤は、西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）である、項目３９または４０に記載の方法。
（項目４２）
前記ＦＯＬＲ１タンパク質レベルは、酵素結合免疫吸着分析（ＥＬＩＳＡ）を用いて決定される、項目１～４１のいずれか一項に記載の方法。

（項目４３）
前記ＥＬＩＳＡは、サンドイッチＥＬＩＳＡである、項目４２に記載の方法。
（項目４４）
ＦＯＬＲ１タンパク質を測定するために用いられる少なくとも１つの抗体またはその抗原結合断片は、
（ａ）配列番号２５のポリペプチドおよび配列番号２９のポリペプチドを含む抗体、
（ｂ）配列番号２６のポリペプチドおよび配列番号３０のポリペプチドを含む抗体、
（ｃ）配列番号２７のポリペプチドおよび配列番号３１のポリペプチドを含む抗体、ならびに
（ｄ）配列番号２８のポリペプチドおよび配列番号３２のポリペプチドを含む抗体からなる群から選択される抗体と同一のＦＯＬＲ１エピトープに特異的に結合する、項目２、４～８、１０、または１２～４３のいずれか一項に記載の方法。
（項目４５）
ＦＯＬＲ１タンパク質を測定するために用いられる少なくとも１つの抗体またはその抗原結合断片は、
（ａ）配列番号２５のポリペプチドおよび配列番号２９のポリペプチドを含む抗体、
（ｂ）配列番号２６のポリペプチドおよび配列番号３０のポリペプチドを含む抗体、
（ｃ）配列番号２７のポリペプチドおよび配列番号３１のポリペプチドを含む抗体、ならびに
（ｄ）配列番号２８のポリペプチドおよび配列番号３２のポリペプチドを含む抗体からなる群から選択される抗体のＦＯＬＲ１結合を競合的に阻害する、項目２、４～８、１０、または１２～４４のいずれか一項に記載の方法。
（項目４６）
ＦＯＬＲ１タンパク質を測定するために用いられる少なくとも１つの抗体またはその抗原結合断片は、
（ａ）配列番号１、２、および３と配列番号１３、１４、および１５、
（ｂ）配列番号４、５、および６と配列番号１６、１７、および１８、
（ｃ）配列番号７、８、および９と配列番号１９、２０、および２１、
（ｄ）配列番号１０、１１、および１２と配列番号２２、２３、および２４、ならびに
（ｅ）１、２、３、または４つの保存的アミノ酸置換を含む（ａ）～（ｄ）の変異体からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、項目２、４～８、１０、または１２～４５のいずれか一項に記載の方法。
（項目４７）
前記活性剤は、前記ＦＯＬＲ１抗体ｈｕＭｏｖ１９を含む、項目１～４６のいずれか一項に記載の方法。
（項目４８）
前記ｈｕＭｏｖ１９抗体またはその抗原結合断片は、細胞毒性剤に共役される、項目４７に記載の方法。
（項目４９）
前記ｈｕＭｏｖ１９抗体またはその抗原結合断片は、メイタンシノイドＤＭ４と切断可能なスルホ－ＳＰＤＢリンカー（ＩＭＧＮ８５３）とをさらに含む抗体メイタンシノイド共役体として投与される、項目４８に記載の方法。
（項目５０）
（ａ）配列番号２５のポリペプチドおよび配列番号２９のポリペプチドを含む抗体、
（ｂ）配列番号２６のポリペプチドおよび配列番号３０のポリペプチドを含む抗体、
（ｃ）配列番号２７のポリペプチドおよび配列番号３１のポリペプチドを含む抗体、ならびに
（ｄ）配列番号２８のポリペプチドおよび配列番号３２のポリペプチドを含む抗体からなる群から選択される抗体と同一のＦＯＬＲ１エピトープに特異的に結合する、抗体またはその抗原結合断片。

（項目５１）
ＦＯＬＲ１に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片であって、前記抗体またはその抗原結合断片は、
（ａ）配列番号２５のポリペプチドおよび配列番号２９のポリペプチドを含む抗体、
（ｂ）配列番号２６のポリペプチドおよび配列番号３０のポリペプチドを含む抗体、
（ｃ）配列番号２７のポリペプチドおよび配列番号３１のポリペプチドを含む抗体、ならびに
（ｄ）配列番号２８のポリペプチドおよび配列番号３２のポリペプチドを含む抗体からなる群から選択される抗体のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害する、抗体またはその抗原結合断片。
（項目５２）
ＦＯＬＲ１に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片であって、前記抗体またはその抗原結合断片は、
（ａ）配列番号１、２、および３と配列番号１３、１４、および１５、
（ｂ）配列番号４、５、および６と配列番号１６、１７、および１８、
（ｃ）配列番号７、８、および９と配列番号１９、２０、および２１、
（ｄ）配列番号１０、１１、および１２と配列番号２２、２３、および２４、ならびに
（ｅ）１、２、３、または４つの保存的アミノ酸置換を含む（ａ）～（ｄ）の変異体からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、抗体またはその抗原結合断片。
（項目５３）
前記抗体またはその抗原結合断片は、
（ａ）配列番号２５および配列番号２９、
（ｂ）配列番号２６および配列番号３０、
（ｃ）配列番号２７および配列番号３１、ならびに
（ｄ）配列番号２８および配列番号３２からなる群から選択される２つのアミノ酸配列のうちの１つと各々少なくとも９０％同一の少なくとも２つのアミノ酸配列を含む、項目５２に記載の抗体またはその抗原結合断片。
（項目５４）
前記アミノ酸配列は各々、
（ａ）配列番号２５および配列番号２９、
（ｂ）配列番号２６および配列番号３０、
（ｃ）配列番号２７および配列番号３１、ならびに
（ｄ）配列番号２８および配列番号３２からなる群から選択される２つのアミノ酸配列のうちの１つと少なくとも９５％同一である、項目５３に記載の抗体またはその抗原結合断片。
（項目５５）
前記アミノ酸配列は各々、
（ａ）配列番号２５および配列番号２９、
（ｂ）配列番号２６および配列番号３０、
（ｃ）配列番号２７および配列番号３１、ならびに
（ｄ）配列番号２８および配列番号３２からなる群から選択される２つのアミノ酸配列のうちの１つと少なくとも９９％同一である、項目５４に記載の抗体またはその抗原結合断片。
（項目５６）
前記アミノ酸配列は、
（ａ）配列番号２５および配列番号２９、
（ｂ）配列番号２６および配列番号３０、
（ｃ）配列番号２７および配列番号３１、ならびに
（ｄ）配列番号２８および配列番号３２からなる群から選択される、項目５５に記載の抗体またはその抗原結合断片。

（項目５７）
前記抗体またはその抗原結合断片は、マウス、非ヒト、ヒト化、キメラ、再表面化、またはヒトである、項目５０～５６のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片。
（項目５８）
前記抗体は、ヒトＦＯＬＲ１に結合するが、ＦＯＬＲ２またはＦＯＬＲ３には結合しない、項目５０～５７のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片。
（項目５９）
全長抗体である、項目５０～５８のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片。
（項目６０）
抗原結合断片である、項目５０～５９のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片。
（項目６１）
前記抗体またはその抗原結合断片は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｄ、一本鎖ＦｖもしくはｓｃＦｖ、ジスフィルド結合Ｆｖ、Ｖ－ＮＡＲドメイン、ＩｇＮａｒ、細胞内抗体、ＩｇＧΔＣＨ２、小型抗体（ｍｉｎｉｂｏｄｙ）、Ｆ（ａｂ’）３、四重特異性抗体（ｔｅｔｒａｂｏｄｙ）、三重特異性抗体（ｔｒｉａｂｏｄｙ）、二重特異性抗体（ｄｉａｂｏｄｙ）、単一ドメイン抗体、ＤＶＤ－Ｉｇ、Ｆｃａｂ、ｍＡｂ２、（ｓｃＦｖ）２、またはｓｃＦｖ－Ｆｃを含む、項目６０に記載の抗体またはその抗原結合断片。
（項目６２）
前記抗体またはその抗原結合断片は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｄ、一本鎖ＦｖもしくはｓｃＦｖ、ジスフィルド結合Ｆｖ、Ｖ－ＮＡＲドメイン、ＩｇＮａｒ、細胞内抗体、ＩｇＧΔＣＨ２、小型抗体、Ｆ（ａｂ’）３、四重特異性抗体、三重特異性抗体、二重特異性抗体、単一ドメイン抗体、ＤＶＤ－Ｉｇ、Ｆｃａｂ、ｍＡｂ２、（ｓｃＦｖ）２、またはｓｃＦｖ－Ｆである、項目６１に記載の抗体またはその抗原結合断片。
（項目６３）
ＦＯＬＲ１に特異的に結合するポリペプチドであって、前記ポリペプチドは、
（ａ）配列番号１、２、および３と配列番号１３、１４、および１５、
（ｂ）配列番号４、５、および６と配列番号１６、１７、および１８、
（ｃ）配列番号７、８、および９と配列番号１９、２０、および２１、
（ｄ）配列番号１０、１１、および１２と配列番号２２、２３、および２４、ならびに
（ｅ）１、２、３、または４つの保存的アミノ酸置換を含む（ａ）～（ｄ）の変異体からなる群から選択される配列を含む、ポリペプチド。
（項目６４）
前記ポリペプチドは、
（ａ）配列番号２５および配列番号２９、
（ｂ）配列番号２６および配列番号３０、
（ｃ）配列番号２７および配列番号３１、ならびに
（ｄ）配列番号２８および配列番号３２からなる群から選択される２つの配列のうちの１つと各々少なくとも９０％同一の少なくとも２つの配列を含む、項目６３に記載のポリペプチド。
（項目６５）
前記配列は各々、
（ａ）配列番号２５および配列番号２９、
（ｂ）配列番号２６および配列番号３０、
（ｃ）配列番号２７および配列番号３１、ならびに
（ｄ）配列番号２８および配列番号３２からなる群から選択される２つの配列のうちの１つと少なくとも９５％同一である、項目６４に記載のポリペプチド。
（項目６６）
前記配列は各々、

（ａ）配列番号２５および配列番号２９、
（ｂ）配列番号２６および配列番号３０、
（ｃ）配列番号２７および配列番号３１、ならびに
（ｄ）配列番号２８および配列番号３２からなる群から選択される２つの配列のうちの１つと少なくとも９９％同一である、項目６５に記載のポリペプチド。
（項目６７）
前記配列は、
（ａ）配列番号２５および配列番号２９、
（ｂ）配列番号２６および配列番号３０、
（ｃ）配列番号２７および配列番号３１、ならびに
（ｄ）配列番号２８および配列番号３２からなる群から選択される、項目６６に記載のポリペプチド。
（項目６８）
前記抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドは、組換え産生される、項目５０～６７のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチド。
（項目６９）
約１．０ｎＭ～約１０ｎＭのＫｄを有するヒトＦＯＬＲ１に結合する、項目５０～６８のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチド。
（項目７０）
約１．０ｎＭまたはより良好なＫｄを有するヒトＦＯＬＲ１に結合する、項目５０～６８のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチド。
（項目７１）
前記結合親和性は、サイトメトリー、表面プラズモン共鳴分光法、ＥＬＩＳＡ、またはラジオイムノアッセイによって測定される、項目６９または７０に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチド。
（項目７２）
前記サイトメトリーは、フローサイトメトリーである、項目７１に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチド。
（項目７３）
項目５０～７２のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドをコードする、核酸分子。
（項目７４）
項目７３に記載の核酸分子を含む、ベクター。
（項目７５）
前記ベクターは、プロモーター結合部位と、任意に、エンハンサー配列とをさらに含む、項目７４に記載のベクター。
（項目７６）
前記ベクターは、プラスミド、ウイルス、ファージ、細菌、またはウイロイドである、項目７４または７５に記載のベクター。
（項目７７）
試料中のＦＯＬＲ１タンパク質を検出する方法であって、前記試料を、項目５０～７１のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドと接触させることを含む、方法。
（項目７８）
前記抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドは、検出可能に標識される、項目７７に記載の方法。
（項目７９）
前記標識は、免疫蛍光標識、化学発光標識、リン光標識、酵素標識、放射標識、アビジン／ビオチン、コロイド金粒子、着色粒子、および磁性粒子からなる群から選択される、項目７８に記載の方法。

（項目８０）
ＦＯＬＲ１タンパク質は、ラジオイムノアッセイ、ウエスタンブロット分析、免疫蛍光分析、酵素免疫分析、免疫沈降分析、化学発光分析、サイトメトリー、または免疫組織化学分析によって検出される、７７～７９のいずれか一項に記載の方法。
（項目８１）
前記サイトメトリーは、フローサイトメトリーである、項目８０に記載の方法。
（項目８２）
前記試料は、体液、細胞、または組織試料である、項目７７～８１のいずれか一項に記載の方法。
（項目８３）
前記細胞は、循環腫瘍細胞である、項目８２に記載の方法。
（項目８４）
前記体液は、血液、血漿、または血清である、項目８２に記載の方法。
（項目８５）
前記ＦＯＬＲ１タンパク質は、脱落ＦＯＬＲ１タンパク質である、項目７７～８２または８４のいずれか一項に記載の方法。
（項目８６）
ＦＯＬＲ１タンパク質は、前記試料中の循環腫瘍細胞において検出される、項目７７～８４のいずれか一項に記載の方法。
（項目８７）
項目５０～７１のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを産生する、細胞。
（項目８８）
前記細胞は、単離された細胞である、項目８７に記載の細胞。
（項目８９）
前記細胞は、項目６６に記載の核酸および／または項目７４～７６のいずれか一項に記載のベクターを含む、項目８７または８８に記載の細胞。
（項目９０）
前記細胞は、細菌細胞または真核細胞である、項目８７～８９のいずれか一項に記載の細胞。
（項目９１）
項目５０～７１のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを作製する方法であって、（ａ）項目８７～８９のいずれか一項に記載の細胞を培養することと、（ｂ）前記培養された細胞から、前記抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを単離することと、を含む、方法。
（項目９２）
試料中の脱落ＦＯＬＲ１タンパク質を検出するための免疫分析キットであって、（ａ）第１の試薬であって、前記第１の試薬は、ヒトＦＯＬＲ１に特異的に結合する抗体もしくはその抗原結合断片またはポリペプチドであり、前記抗体またはその抗原結合断片は、ｈｕＭｏｖ１９のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない、第１の試薬と、（ｂ）第２の試薬であって、前記第２の試薬は、検出試薬である、第２の試薬と、を含む、キット。
（項目９３）
前記第１の試薬は、捕捉試薬であり、前記キットは、前記捕捉試薬のための固体支持体をさらに含む、項目９２に記載のキット。
（項目９４）
前記捕捉試薬は、前記固体支持体上に固定される、項目９３に記載のキット。
（項目９５）
前記捕捉試薬は、マイクロタイタープレート上にコーティングされる、項目９３または９４のいずれか一項に記載のキット。
（項目９６）

前記キットは、ヒトＦＯＬＲ１に特異的に結合する第２の異なる抗体もしくはその抗原結合断片またはポリペプチドである検出試薬をさらに含む、項目９２～９５のいずれか一項に記載のキット。

（項目９７）

前記第１の試薬および／または前記第２の試薬は、

（ａ）配列番号１、２、および３と配列番号１３、１４、および１５、

（ｂ）配列番号４、５、および６と配列番号１６、１７、および１８、

（ｃ）配列番号７、８、および９と配列番号１９、２０、および２１、

（ｄ）配列番号１０、１１、および１２と配列番号２２、２３、および２４、ならびに

（ｅ）１、２、３、または４つの保存的アミノ酸置換を含む（ａ）～（ｄ）の変異体からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、項目９２～９６のいずれか一項に記載のキット。

（項目９８）

前記第２の試薬は、種特異的抗体を用いて検出される、項目９２～９７のいずれか一項に記載のキット。

（項目９９）

前記検出可能な試薬のための検出手段をさらに含む、項目９２～９８のいずれか一項に記載のキット。

（項目１００）

前記検出手段は、比色手段である、項目９９に記載のキット。

（項目１０１）

抗原標準としてＦＯＬＲ１ポリペプチドをさらに含む、項目９２～１００のいずれか一項に記載のキット。

（項目１０２）

前記ＦＯＬＲ１ポリペプチドは、ＦＯＬＲ１－Ｆｃである、項目１０１に記載のキット。

（項目１０３）

癌を治療するための方法における使用のための、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤であって、ＦＯＬＲ１タンパク質の増加した発現が、前記活性剤の投与前に、項目５０～７１、７８、または７９のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて前記対象由来の癌性試料において測定される、活性剤。

（項目１０４）

ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはそのその抗原結合断片を含む活性剤であって、前記方法は、

（ａ）項目５０～７１、７８、または７９のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて、患者試料中のＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定することと、

（ｂ）前記患者のＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、前記患者に固定用量の前記活性剤を投与することと、を含む、活性剤。

（項目１０５）

ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤であって、前記方法は、

（ａ）ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者に、固定用量の前記活性剤を投与することと、

（ｂ）項目５０～７１、７８、または７９のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて、前記患者のＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定することと、

（ｃ）前記患者のＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比

較して上昇している場合に、その後の固定用量の量または頻度を増加させることと、を含む、活性剤。
（項目１０６）
ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤であって、
（ａ）患者から採取した試料において測定される前記ＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、項目５０～７１、７８、または７９のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較され、
（ｂ）前記患者のＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、前記基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、固定用量の前記活性剤が、投与され、
前記活性剤の前記投与は、前記ＦＯＬＲ１タンパク質レベルを減少させる、活性剤。
（項目１０７）
ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤であって、患者におけるＦＯＬＲ１発現細胞は、減少され、
（ａ）固定用量の前記活性剤が、前記患者に投与され、
（ｂ）前記患者から得られた試料において測定される前記ＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、項目５０～７１、７８、または７９のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較され、
（ｃ）前記患者のＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、前記基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量または頻度が増加され、
前記活性剤の前記投与は、前記ＦＯＬＲ１タンパク質レベルを減少させる、活性剤。
（項目１０８）
ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤であって、患者における固定用量の前記活性剤の治療有効性を監視するための方法における使用のための活性剤であり、前記方法は、
（ａ）　項目５０～７１、７８、または７９のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて、ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者からの試料中の第１のＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定することと、
（ｂ）　前記患者に、固定用量の前記活性剤を投与することと、
（ｃ）　活性剤投与後に、項目５０～７１、７８、または７９のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて、前記患者から採取した試料中の第２のＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定することと、
（ｄ）　前記第２のＦＯＬＲ１タンパク質レベルを前記第１のＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較することと、を含み、
前記第１および第２のＦＯＬＲ１タンパク質レベルの間の減少は、治療有効性を示す、活性剤。
（項目１０９）
患者におけるＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤であって、前記方法は、
（ａ）　ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者に、固定用量の前記活性剤を投与することと、
（ｂ）　項目５０～７１、７８、または７９のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いたＦＯＬＲ１タンパク質レベルの測定のために、前記患者から採取した試料を提出することと、
（ｃ）　前記測定の結果から、前記患者のＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇しているかを決定することと、
（ｄ）　前記患者のＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、前記基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量および／または頻度を増加させ

ることと、を含む、活性剤。
（項目１１０）
ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤であって、前記方法は、
（ａ）　ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者に、固定用量の前記活性剤を投与することと、
（ｂ）　項目５０～７１、７８、または７９のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いたＦＯＬＲ１タンパク質レベルの測定、および前記測定されたＦＯＬＲ１タンパク質レベルの基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルとの比較のために、前記患者から採取した試料を提出することと、
（ｃ）　前記患者のＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、前記基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量および／または頻度を増加させることと、を含み、
前記患者のＦＯＬＲ１レベルの減少は、治療有効性を示す、活性剤。
（項目１１１）
ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤であって、前記方法は、
（ａ）　ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を有する患者から試料を得ることであって、前記患者は、固定用量の前記活性剤を受けている、ことと、
（ｂ）　項目５０～７１のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて、前記試料からＦＯＬＲ１タンパク質レベルを測定することと、
（ｃ）　前記患者のＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇しているかを決定することと、
（ｄ）　前記患者のＦＯＬＲ１タンパク質レベルが、前記基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量および／または頻度を増加させるか、または増加させるようにヘルスケア提供者に指示することと、を含み、
前記患者の前記ＦＯＬＲ１の減少は、治療有効性を示す、活性剤。
（項目１１２）
ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤であって、ＦＯＬＲ１の増加した発現が、前記活性剤の投与前に、項目５０～７１および７８～７９のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて対象からの試料において測定される、活性剤。
（項目１１３）
前記測定されたＦＯＬＲ１タンパク質は、脱落ＦＯＬＲ１である、項目１０３～１１２のいずれか一項に記載の使用のための活性剤。
（項目１１４）
前記測定されたＦＯＬＲ１タンパク質は、循環腫瘍細胞における、項目１０３～１１２のいずれか一項に記載の使用のための活性剤。
（項目１１５）
前記ＦＯＬＲ１タンパク質レベルは、体液において測定される、項目１０３～１１４のいずれか一項に記載の使用のための活性剤。
（項目１１６）
前記体液は、腹水である、項目１１５に記載の使用のための活性剤。
（項目１１７）
前記体液は、血清、血液、または血漿である、項目１１５に記載の使用のための活性剤。
（項目１１８）
前記ＦＯＬＲ１タンパク質レベルは、末梢血液試料において測定される、項目１０３～１１４のいずれか一項に記載の使用のための活性剤。

（項目１１９）
前記患者は、癌を有する、項目１０４～１１８のいずれか一項に記載の使用のための活性剤。
（項目１２０）
前記ＦＯＬＲ１媒介疾患または障害は、癌である、項目１０４～１１８のいずれか一項に記載の使用のための活性剤。
（項目１２１）
前記癌は、卵巣癌、非小細胞肺癌、子宮癌、子宮内膜癌、膵臓癌、腎臓癌、肺癌、および乳癌からなる群から選択されるＦＯＬＲ１上昇癌である、項目１０３、１１９、または１２０に記載の使用のための活性剤。
（項目１２２）
前記卵巣癌は、白金耐性または白金不応性である、項目１２１に記載の使用のための活性剤。
（項目１２３）
前記肺癌は、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）である、項目１２１に記載の使用のための活性剤。
（項目１２４）
前記癌は、子宮内膜癌である、項目１２１に記載の使用のための活性剤。
（項目１２５）
前記ＦＯＬＲ１タンパク質レベルは、ＦＯＬＲ１に特異的に結合する２つの異なる抗体もしくはその抗原結合断片またはポリペプチドを用いて測定される、項目１０３～１２４のいずれか一項に記載の使用のための活性剤。
（項目１２６）
ＦＯＬＲ１タンパク質を検出するために用いられる前記抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドは、固体支持体に結合される、項目１０４～１２５のいずれか一項に記載の使用のための活性剤。
（項目１２７）
前記固体支持体は、マイクロタイタープレートである、項目１２６に記載の使用のための活性剤。
（項目１２８）
ＦＯＬＲ１タンパク質を検出するために用いられる前記抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドは、検出剤を含む、項目１０４～１２７のいずれか一項に記載の使用のための活性剤。
（項目１２９）
前記検出剤は、発色検出剤、蛍光検出剤、酵素検出剤、または電気化学発光検出剤である、項目１２８に記載の使用のための活性剤。
（項目１３０）
前記検出剤は、西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）である、項目１２８または１２９に記載の使用のための活性剤。
（項目１３１）
前記ＦＯＬＲ１タンパク質レベルは、酵素結合免疫吸着分析（ＥＬＩＳＡ）を用いて決定される、項目１０３～１３０のいずれか一項に記載の使用のための活性剤。
（項目１３２）
前記ＥＬＩＳＡは、サンドイッチＥＬＩＳＡである、項目１３１に記載の使用のための活性剤。
（項目１３３）
前記活性剤は、前記ＦＯＬＲ１抗体ｈｕＭｏｖ１９を含む、項目１０３～１３２のいずれか一項に記載の使用のための活性剤。
（項目１３４）
前記ｈｕＭｏｖ１９は、細胞毒性剤に共役される、項目１３３に記載の使用のための活

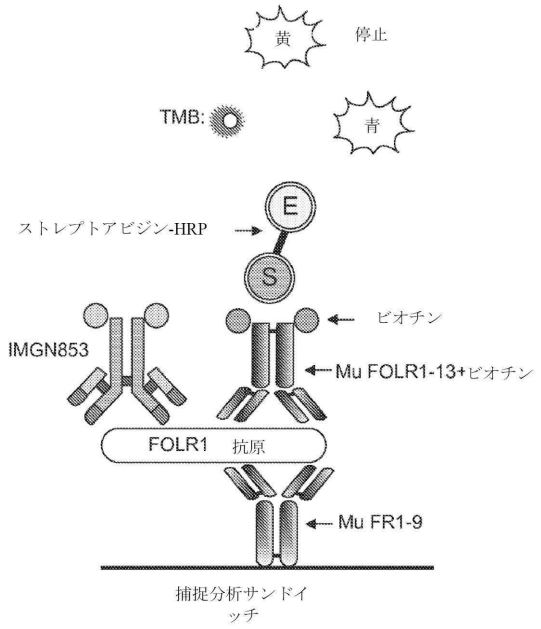
性剤。
（項目１３５）
前記ｈｕＭｏｖ１９は、メイタンシノイドＤＭ４と切断可能なスルホ－ＳＰＤＢリンカー（ＩＭＧＮ８５３）とをさらに含む抗体メイタンシノイド共役体として投与される、項目１３４に記載の使用のための活性剤。
（項目１３６）
診断剤としての使用のための、項目５０～７１、７８、または７９のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチド。
（項目１３７）
ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体もしくはその抗原結合断片を含む活性剤を用いたＦＯＬＲ１媒介疾患または障害の治療における使用のため、かつ／またはＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤の治療有効性を監視するための、
（ａ）　項目５０～７１および７８～７９のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、もしくはポリペプチド、または
（ｂ）　ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体もしくはその抗原結合断片を含む活性剤のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない抗体もしくはその抗原結合断片。
（項目１３８）
（ｉ）　ＦＯＬＲ１媒介疾患もしくは障害、および／または
（ｉｉ）　ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体もしくはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を用いた、ＦＯＬＲ１媒介疾患もしくは障害の治療に対する応答、および／または
（ｉｉｉ）　ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体もしくはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を用いた治療の治療有効性、を診断する方法における使用のための、項目５０～７１および７８～７９のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチド。
（項目１３９）
癌に罹患する患者における癌を診断するための方法における使用のための、項目５０～７１、７８、または７９のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチド。
（項目１４０）
前記癌は、ＦＯＬＲ１の上昇したレベルと関連している、項目１３９に記載の使用のための抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチド。
（項目１４１）
前記抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドは、検出剤を含む、項目１３６～１４０のいずれか一項に記載の使用のための抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチド。
（項目１４２）
前記検出剤は、発色検出剤、蛍光検出剤、酵素検出剤、または電気化学発光検出剤である、項目１４１に記載の使用のための抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチド。
（項目１４３）
前記ＦＯＬＲ－１媒介疾患は、癌であり、
前記活性剤は、ＩＭＧＮ８５３を含み、
前記脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルは、前記活性剤のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない少なくとも２つの抗ＦＯＬＲ１抗体を用いるＥＬＩＳＡ分析を用いて測定され、
前記少なくとも２つの抗ＦＯＬＲ１の各々は、
（ａ）配列番号１、２、および３と配列番号１３、１４、および１５、
（ｂ）配列番号４、５、および６と配列番号１６、１７、および１８、
（ｃ）配列番号７、８、および９と配列番号１９、２０、および２１、ならびに
（ｄ）配列番号１０、１１、および１２と配列番号２２、２３、および２４、からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、項目２、４～８、または１７のいずれか一項に記載

の方法。
（項目１４４）
前記ＦＯＬＲ－１媒介疾患は、癌であり、
前記活性剤は、ＩＭＧＮ８５３を含み、
前記活性剤のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない前記抗ＦＯＬＲ１抗体は、アミノ酸配列
（ａ）配列番号１、２、および３と配列番号１３、１４、および１５、
（ｂ）配列番号４、５、および６と配列番号１６、１７、および１８、
（ｃ）配列番号７、８、および９と配列番号１９、２０、および２１、または
（ｄ）配列番号１０、１１、および１２と配列番号２２、２３、および２４を含み、
前記ＦＯＬＲ１タンパク質は、サイトメトリーによって検出される、項目１０、１２～１６、または１８のいずれか一項に記載の方法。
（項目１４５）
前記癌は、卵巣癌である、項目１４３または１４４に記載の方法。
（項目１４６）
前記卵巣癌は、白金耐性または白金不応性である、項目１４５に記載の方法。
（項目１４７）
前記癌は、ＮＳＣＬＣである、項目１４３または１４４に記載の方法。
（項目１４８）
前記癌は、子宮内膜癌である、項目１４３または１４４に記載の方法。
（項目１４９）
前記ＦＯＬＲ－１媒介疾患は、癌であり、
前記活性剤は、ＩＭＧＮ８５３を含み、
前記脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルは、前記活性剤のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない少なくとも２つの抗ＦＯＬＲ１抗体を用いるＥＬＩＳＡ分析を用いて測定され、
前記少なくとも２つの抗ＦＯＬＲ１の各々は、
（ａ）配列番号１、２、および３と配列番号１３、１４、および１５、
（ｂ）配列番号４、５、および６と配列番号１６、１７、および１８、
（ｃ）配列番号７、８、および９と配列番号１９、２０、および２１、ならびに
（ｄ）配列番号１０、１１、および１２と配列番号２２、２３、および２４、からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、項目１０４～１１２のいずれか一項に記載の活性剤。
（項目１５０）
前記ＦＯＬＲ－１媒介疾患は、癌であり、
前記活性剤は、ＩＭＧＮ８５３を含み、
前記脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルは、前記活性剤のＦＯＬＲ１への結合を競合的に阻害しない少なくとも２つの抗ＦＯＬＲ１抗体を用いるＥＬＩＳＡ分析を用いて測定され、
前記少なくとも２つの抗ＦＯＬＲ１の各々は、
（ａ）配列番号１、２、および３と配列番号１３、１４、および１５、
（ｂ）配列番号４、５、および６と配列番号１６、１７、および１８、
（ｃ）配列番号７、８、および９と配列番号１９、２０、および２１、ならびに
（ｄ）配列番号１０、１１、および１２と配列番号２２、２３、および２４、からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、項目１０４～１１２のいずれか一項に記載の活性剤。
（項目１５１）
前記癌は、卵巣癌である、項目１４９または１５０に記載の使用のための活性剤。
（項目１５２）
前記卵巣癌は、白金耐性または白金不応性である、項目１５１に記載の使用のための活性剤。
（項目１５３）

前記癌は、ＮＳＣＬＣである、項目１４９または１５０に記載の使用のための活性剤。
（項目１５４）
前記癌は、子宮内膜癌である、項目１４９または１５０に記載の使用のための活性剤。
（項目１５５）
癌を治療する方法であって、基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して上昇した脱落ＦＯＬＲ１タンパク質レベルを有する患者に、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤を投与することを含み、前記患者のＦＯＬＲ１タンパク質レベルは、項目５０～７１のいずれか一項に記載の抗体、抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて測定される、方法。
（項目１５６）
癌を治療する方法であって、基準ＦＯＬＲ１タンパク質レベルと比較して循環腫瘍細胞中の上昇したＦＯＬＲ１タンパク質レベルを有する患者に、ＦＯＬＲ１活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤を投与することを含み、前記患者のＦＯＬＲ１タンパク質レベルは、項目５０～７１のいずれか一項に記載の抗体、抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて測定される、方法。
（項目１５７）
前記活性剤は、ＩＭＧＮ８５３を含む、項目１５５または１５６に記載の方法。
（項目１５８）
前記癌は、卵巣癌である、項目１５５～１５７のいずれか一項に記載の方法。
（項目１５９）
前記卵巣癌は、白金耐性または白金不応性である、項目１５８に記載の方法。
（項目１６０）
前記癌は、ＮＳＣＬＣである、項目１５５～１５７のいずれか一項に記載の方法。
（項目１６１）
前記癌は、子宮内膜癌である、項目１５５～１５７のいずれか一項に記載の方法。
（項目１６２）
インビトロの試料中のＦＯＬＲ１タンパク質レベルの測定のための、項目５０～７１および７８～７９のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドの使用。

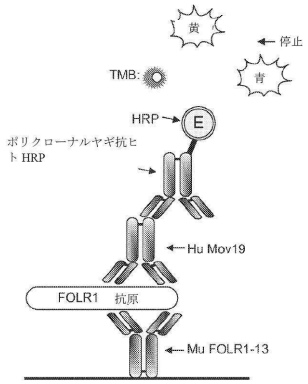
【図１】

【図１】



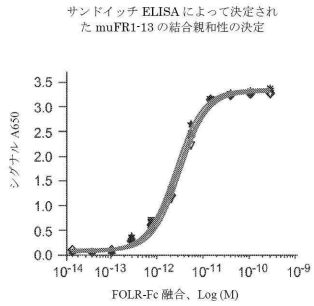
【図２Ａ】

【図２Ａ】



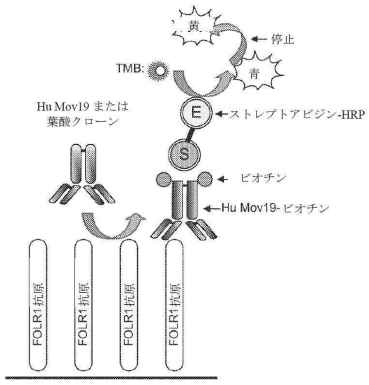
【図２Ｂ】

【図２Ｂ】



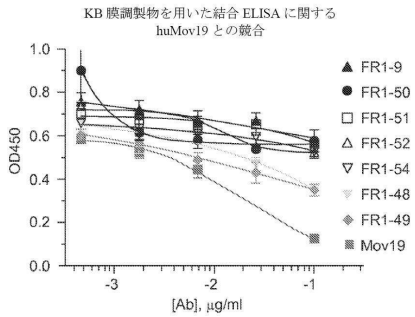
【図３Ａ】

【図３Ａ】



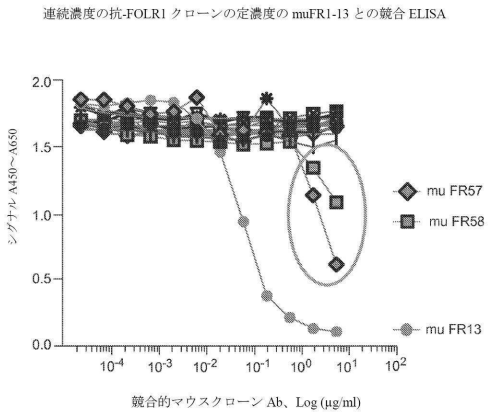
【図３Ｂ】

【図３Ｂ】

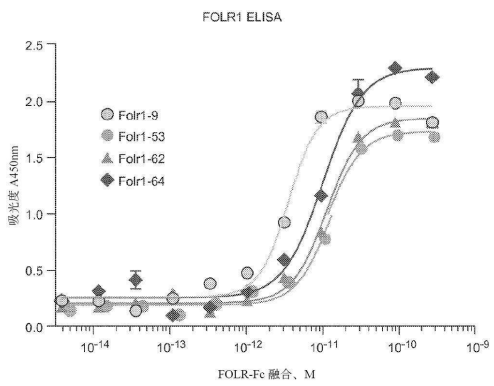


【図４】

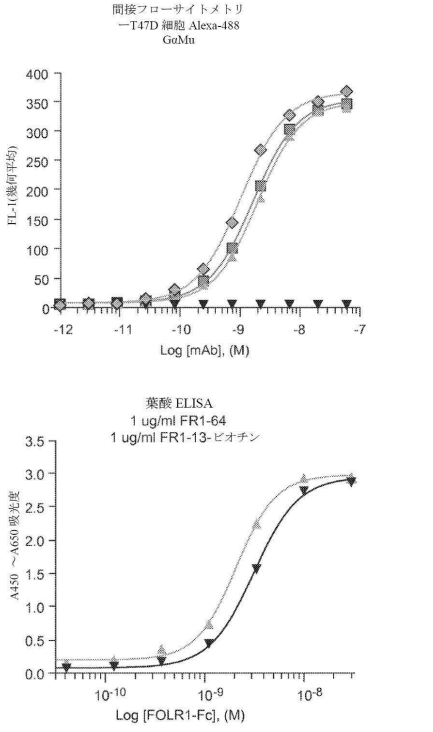
【図４】



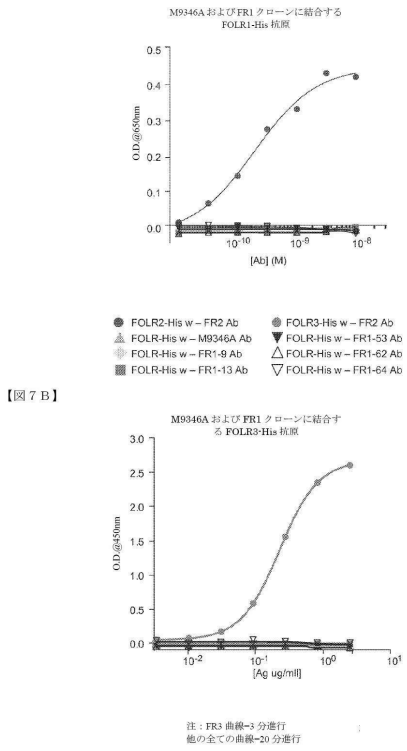
【図５】


【図５】
FOLR1 ELISA
Folr1-9
Folr1-53
Folr1-62
Folr1-64
吸光度 A450nm
FOLR-Fc 融合、M

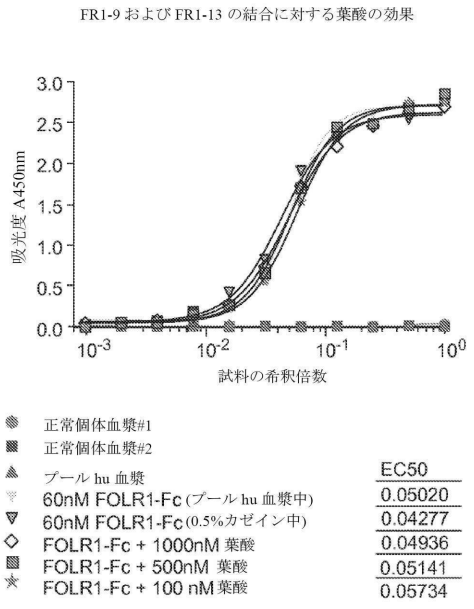
【図６】


【図６Ａ】
間接フローサイトメトリー
T47D 細胞 Alexa-488 GαMu
FL-1(幾何平均)
Log [mAb], (M)
【図６Ｂ】
葉酸 ELISA
1 ug/ml FR1-64
1 ug/ml FR1-13-ビオチン
A450 ～A650 吸光度
Log [FOLR1-Fc], (M)

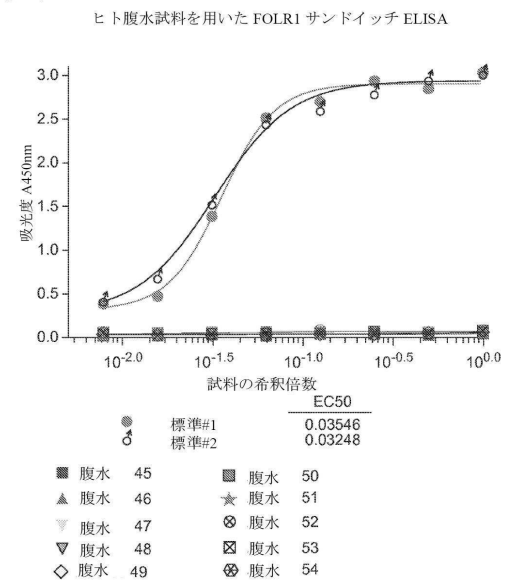
【図７】


【図７Ａ】
M9346A および FR1 クローンに結合する FOLR1-His 抗原
O.D.@650nm
[Ab] (M)
FOLR2-His w – FR2 Ab
FOLR3-His w – FR2 Ab
FOLR-His w – M9346A Ab
FOLR-His w – FR1-53 Ab
FOLR-His w – FR1-9 Ab
FOLR-His w – FR1-62 Ab
FOLR-His w – FR1-13 Ab
FOLR-His w – FR1-64 Ab
【図７Ｂ】
M9346A および FR1 クローンに結合する FOLR3-His 抗原
O.D.@450nm
[Ag ug/ml]
注：FR3 曲線−3 分進行
他の全ての曲線−20 分進行

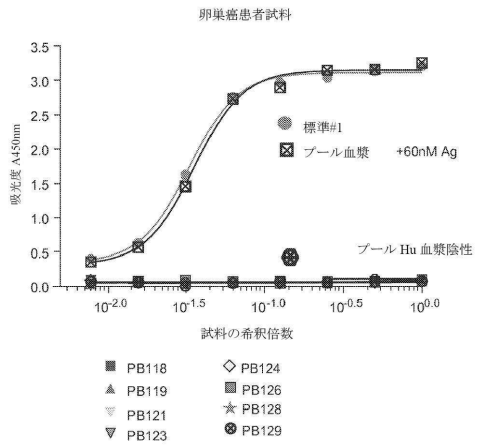
【図８】


【図８】
FR1-9 および FR1-13 の結合に対する葉酸の効果
吸光度 A450nm
試料の希釈倍数
正常個体血漿#1
正常個体血漿#2
プール hu 血漿
60nM FOLR1-Fc (プール hu 血漿中)
60nM FOLR1-Fc (0.5%カゼイン中)
FOLR1-Fc + 1000nM 葉酸
FOLR1-Fc + 500nM 葉酸
FOLR1-Fc + 100 nM 葉酸
EC50
0.05020
0.04277
0.04936
0.05141
0.05734

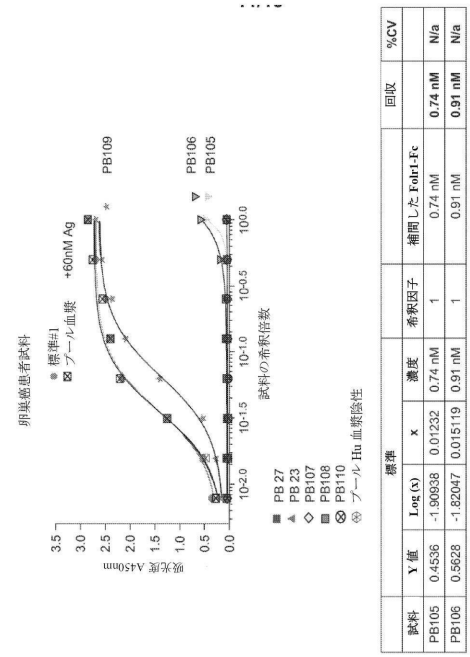
【図９】



【図１０】



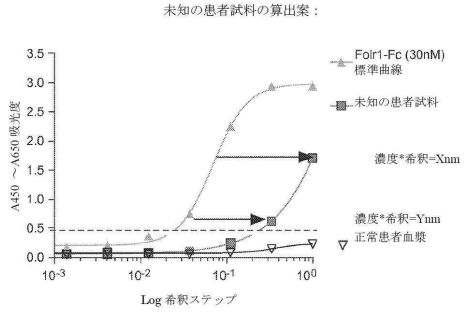
【図１１】



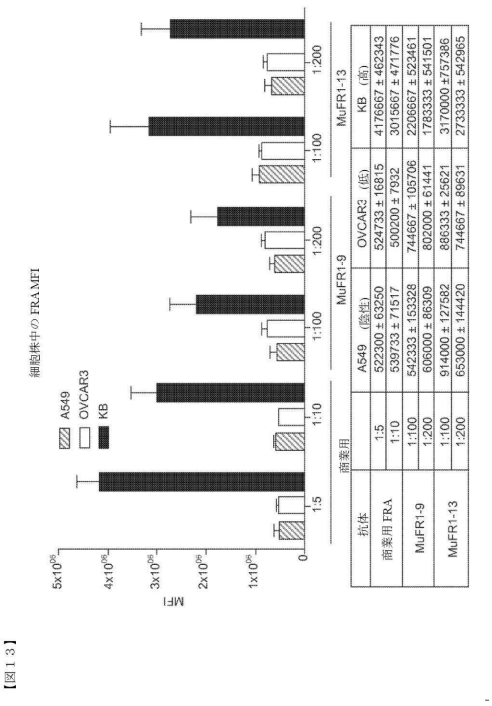
	試料	Y 値	標準 Log (x)	標準 x	濃度	希釈因子	補間した Folr1-Fc	回収	%CV
	PB105	0.4536	-1.90938	0.01232	0.74 nM	1	0.74 nM	**0.74 nM**	N/a
	PB106	0.5628	-1.82047	0.015119	0.91 nM	1	0.91 nM	**0.91 nM**	N/a

【図１１】

【図１２】

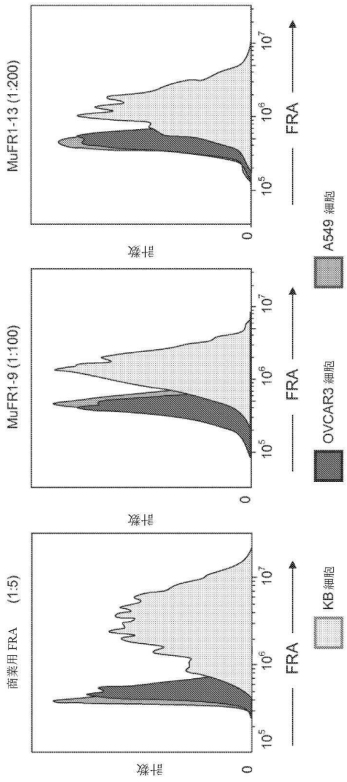


【図１３】

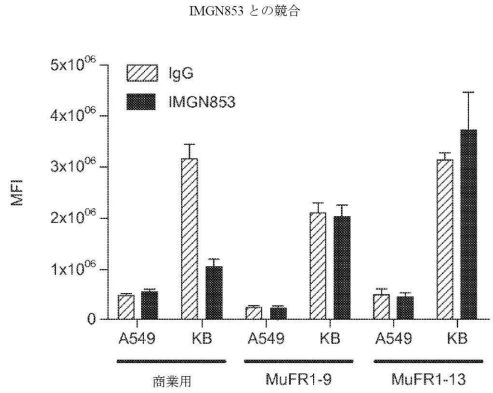


抗体			A549 (陰性)	OVCAR3 (低)	KB (高)
商業用 FRA		1:5	522300 ± 63250	524733 ± 16815	4176667 ± 462343
		1:10	539733 ± 71517	500200 ± 7932	3015667 ± 471776
MuFR1-9		1:100	542333 ± 153328	744667 ± 105706	2206667 ± 523461
		1:200	606000 ± 86309	802000 ± 61441	1783333 ± 541501
MuFR1-13		1:100	914000 ± 127582	886333 ± 25621	3170000 ± 757386
		1:200	653000 ± 144420	744667 ± 89631	2733333 ± 542965

【図１４】



【図１５】



抗体	細胞	処理	
		IgG (MFI)	IMGN853 (MFI)
商業用 FRA	A549	458333 ± 36085	524333 ± 62307
	KB	3173333 ± 298124	1006333 ± 195297
MuFR1-9	A549	224667 ± 27936	221667 ± 32380
	KB	2076667 ± 202759	2010000 ± 225167
MuFR1-13	A549	459000 ± 129230	404667 ± 117689
	KB	3113333 ± 190117	3726667 ± 768339

【配列表】
0006480558000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI		
C07K	*17/00*	*(2006.01)*	C07K	17/00	
C12P	*21/08*	*(2006.01)*	C12P	21/08	
C12N	*5/10*	*(2006.01)*	C12N	5/10	
C12Q	*1/28*	*(2006.01)*	C12Q	1/28	
G01N	*33/574*	*(2006.01)*	G01N	33/574	A
G01N	*33/543*	*(2006.01)*	G01N	33/543	595
G01N	*33/53*	*(2006.01)*	G01N	33/53	D
G01N	*33/483*	*(2006.01)*	G01N	33/543	545A
			G01N	33/543	575
			G01N	33/483	C

(72)発明者 ネイサン イー. テスタ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２４５３, ウォルサム, マートル ストリート ５３ ナンバー４
(72)発明者 クリスティーナ エヌ. キャリガン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２４７８, ベルモント, ダートマス ストリート ５３エー
(72)発明者 オルガ アブ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２０５４, ミリス, ベイベリー サークル ２６
(72)発明者 ダニエル タバレス
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０１７６０, ナティック, シルベスター ロード ２７
(72)発明者 ベニ ビー. ウォルフ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２４２１, レキシントン, フェアバンクス ロード ２９

審査官 福間 信子

(56)参考文献 国際公開第２０１１／１０６５２８（WO, A1）
国際公開第２０１２／０６１７５９（WO, A1）
国際公開第２０１１／０１６２３８（WO, A1）

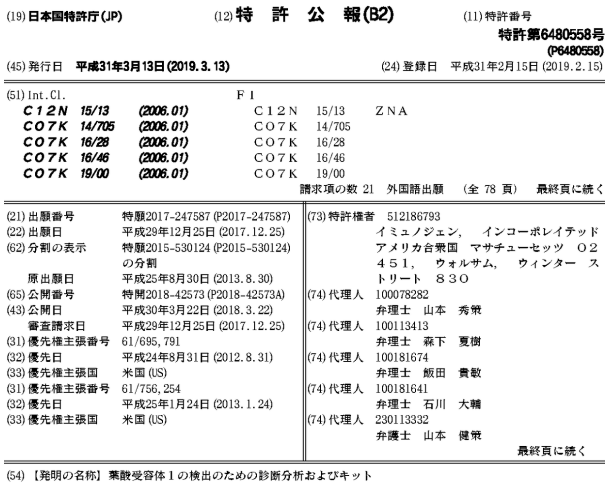
(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
C12N １５／００－９０
CAplus／REGISTRY／MEDLINE／EMBASE／BIOSIS（STN）

专利名称(译)	用于检测叶酸受体的诊断分析和试剂盒1		
公开(公告)号	JP6480558B2	公开(公告)日	2019-03-13
申请号	JP2017247587	申请日	2017-12-25
[标]申请(专利权)人(译)	伊缪诺金公司		
申请(专利权)人(译)	Imyunojen公司		
当前申请(专利权)人(译)	Imyunojen公司		
[标]发明人	ネイサンイーテスタ クリスティーナエヌキャリガン オルガアブ ダニエルタバレス ベニビーウォルフ		
发明人	ネイサン イー. テスタ クリスティーナ エヌ. キャリガン オルガ アブ ダニエル タバレス ベニ ビー. ウォルフ		
IPC分类号	C12N15/13 C07K14/705 C07K16/28 C07K16/46 C07K19/00 C07K17/00 C12P21/08 C12N5/10 C12Q1/28 G01N33/574 G01N33/543 G01N33/53 G01N33/483		
CPC分类号	A61P35/00 A61K47/6849 C07K16/28 C07K2317/33 C07K2317/76 C07K2317/92 G01N33/57492 G01N2333/705 G01N33/566 C07K16/30 C07K2317/21 C07K2317/41 C07K2317/565 C07K2317/73 C07K2317/732 C07K2317/77 C07K2317/80 G01N33/574 C07K16/3015 C07K16/3023 C07K16/303 C07K16/3069 C07K2317/24		
FI分类号	C12N15/13.ZNA C07K14/705 C07K16/28 C07K16/46 C07K19/00 C07K17/00 C12P21/08 C12N5/10 C12Q1/28 G01N33/574.A G01N33/543.595 G01N33/53.D G01N33/543.545.A G01N33/543.575 G01N33/483.C A61K39/395.E A61K39/395.T A61K47/68 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N15/00.C C12N15/00.CZN.A		
F-TERM分类号	2G045/AA26 2G045/CA25 2G045/CA26 2G045/DA36 2G045/FA37 4B063/QA01 4B063/QA13 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ03 4B063/QQ08 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B063/QR32 4B063/QR35 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS32 4B063/QX01 4B064/AG26 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CA20 4B064/CA31 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AA83X 4B065/AA86X 4B065/AA87X 4B065/AA90X 4B065/AA90Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA01 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C076/AA95 4C076/EE59 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/CC02 4C085/DD62 4C085/EE01 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA13 4H045/BA14 4H045/BA15 4H045/BA16 4H045/BA17 4H045/BA41 4H045/BA60 4H045/CA40 4H045/DA50 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74		
代理人(译)	夏木森下 饭田TakashiSatoshi 石川大介 山本健作		
优先权	61/695791 2012-08-31 US 61/756254 2013-01-24 US		
其他公开文献	JP2018042573A		

	JP2018042573A5
外部链接	Espacenet

摘要(译)

本发明提供了用于检测叶酸受体1的诊断测定和试剂盒。 本发明一般涉及结合人叶酸受体1的抗体和基于叶酸受体1的治疗的诊断测定。还提供了使用抗体监测治疗的方法。本发明提供了一种方法，该方法可用于检测样品中的FOLRI，例如，对患者进行分层。因此，在一个实施方案中，本发明提供治疗患有叶酸受体1介导的疾病的患者的方法，该方法包括：（a）从患者收集的样品中的乳酸受体1（FOLRI）测量循环肿瘤细胞的表达水平或FOLRI。【选择图表】无



(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第6480558号
(P6480558)

(45)発行日　平成31年3月13日(2019.3.13)　(24)登録日　平成31年2月15日(2019.2.15)

(51)Int.Cl.		F I		
C12N 15/13	(2006.01)	C12N	15/13	ZNA
C07K 14/705	(2006.01)	C07K	14/705	
C07K 16/28	(2006.01)	C07K	16/28	
C07K 16/46	(2006.01)	C07K	16/46	
C07K 19/00	(2006.01)	C07K	19/00	

請求項の数 21　外国語出願　(全 78 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号	特願2017-247587(P2017-247587)
(22)出願日	平成29年12月25日(2017.12.25)
(62)分割の表示	特願2015-530124(P2015-530124)の分割
原出願日	平成25年8月30日(2013.8.30)
(65)公開番号	特開2018-42573(P2018-42573A)
(43)公開日	平成30年3月22日(2018.3.22)
審査請求日	平成29年12月25日(2017.12.25)
(31)優先権主張番号	61/695,791
(32)優先日	平成24年8月31日(2012.8.31)
(33)優先権主張国	米国(US)
(31)優先権主張番号	61/756,254
(32)優先日	平成25年1月24日(2013.1.24)
(33)優先権主張国	米国(US)

(73)特許権者　512186793
イミュノジェン，　インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　マサチューセッツ　０２４５１，　ウォルサム，　ウィンター　ストリート　８３０
(74)代理人　100078282
弁理士　山本　秀策
(74)代理人　100113413
弁理士　森下　夏樹
(74)代理人　100181674
弁理士　飯田　貴敏
(74)代理人　100181641
弁理士　石川　大輔
(74)代理人　230113332
弁護士　山本　健策

最終頁に続く

(54)【発明の名称】葉酸受容体１の検出のための診断分析およびキット