(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2016-536330
(P2016-536330A)
(43)公表日　平成28年11月24日(2016.11.24)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C07K 16/30	(2006.01)	C07K	16/30	ZNA	2G045
C12Q 1/02	(2006.01)	C12Q	1/02		4B063
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	A	4C085
C07K 16/46	(2006.01)	C07K	16/46		4H045
G01N 33/543	(2006.01)	G01N	33/543	501A	

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 123 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2016-537910 (P2016-537910)
(86)(22)出願日　平成26年8月29日 (2014.8.29)
(85)翻訳文提出日　平成28年3月24日 (2016.3.24)
(86)国際出願番号　PCT/US2014/053512
(87)国際公開番号　WO2015/031815
(87)国際公開日　平成27年3月5日 (2015.3.5)
(31)優先権主張番号　61/872,407
(32)優先日　平成25年8月30日 (2013.8.30)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　61/875,475
(32)優先日　平成25年9月9日 (2013.9.9)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　61/940,184
(32)優先日　平成26年2月14日 (2014.2.14)
(33)優先権主張国　米国(US)

(71)出願人　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の検出用の抗体及びアッセイ

(57)【要約】
本発明は一般に、ヒト葉酸受容体に結合する抗体及び葉酸受容体１に基づく治療法のための診断アッセイに関する。治療法をモニターするのに抗体を使用する方法がさらに提供される。ＦＯＬＲ１の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であって、前記エピトープが少なくとも１つの、少なくとも２つのまたは３つのＮ－グリコシル化されたアミノ酸を含む、前記抗体またはその抗原結合断片。本発明の抗体、その抗原結合断片またはポリペプチドを産生する細胞もまた提供される。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
ＦＯＬＲ１の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であって、前記エピトープが少なくとも１つの、少なくとも２つのまたは３つのＮ－グリコシル化されたアミノ酸を含む、前記抗体またはその抗原結合断片。
【請求項２】
抗体またはその抗原結合断片であって、
（ａ）配列番号２７のポリペプチドと配列番号２８のポリペプチドを含む抗体；
（ｂ）配列番号２９のポリペプチドと配列番号３０のポリペプチドを含む抗体；
（ｃ）配列番号３１のポリペプチドと配列番号３２のポリペプチドを含む抗体；
（ｄ）配列番号６２のポリペプチドと配列番号６３または配列番号６４のポリペプチドを含む抗体；及び
（ｅ）配列番号６５のポリペプチドと配列番号６６または配列番号６７のポリペプチドを含む抗体から成る群から選択される抗体として同一のＦＯＬＲ１エピトープに特異的に結合する、前記抗体またはその抗原結合断片。
【請求項３】
前記エピトープがＮ－グリコシル化されたアミノ酸を含む請求項２に記載の前記抗体または抗原結合断片。
【請求項４】
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が
（ａ）配列番号２７のポリペプチドと配列番号２８のポリペプチドを含む抗体；
（ｂ）配列番号２９のポリペプチドと配列番号３０のポリペプチドを含む抗体；
（ｃ）配列番号３１のポリペプチドと配列番号３２のポリペプチドを含む抗体；
（ｄ）配列番号６２のポリペプチドと配列番号６３または配列番号６４のポリペプチドを含む抗体；及び
（ｅ）配列番号６５のポリペプチドと配列番号６６または配列番号６７のポリペプチドを含む抗体から成る群から選択される抗体のＦＯＬＲ１への結合を競合して阻害する、前記抗体またはその抗原結合断片。
【請求項５】
前記抗体またはその断片が、
（ａ）それぞれ配列番号３～８；
（ｂ）それぞれ配列番号９～１４；
（ｃ）それぞれ配列番号１５～２０；
（ｄ）それぞれ配列番号２１～２６；
（ｅ）それぞれ配列番号３～５と配列番号５９、７、及び８；
（ｆ）それぞれ配列番号３、６０、及び５と配列番号６～８；
（ｇ）それぞれ配列番号３、６１、及び５と配列番号６～８；
（ｈ）それぞれ配列番号３、６０、及び５と配列番号５９、７、及び８；並びに
（ｉ）それぞれ配列番号３、６１、及び５と配列番号：５９、７、及び８から成る群から選択されるＶＨのＣＤＲ１～３及びＶＬのＣＤＲ１～３のポリペプチド配列を含む請求項１～４のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【請求項６】
前記抗体またはその断片が、
（ａ）配列番号２７及び配列番号２８；
（ｂ）配列番号２９及び配列番号３０；
（ｃ）配列番号３１及び配列番号３２；
（ｄ）配列番号６２及び配列番号６３または配列番号６４；
（ｅ）配列番号６５及び配列番号６６または配列番号６７；
（ｆ）配列番号６８及び配列番号６９から成る群から選択されるポリペプチド配列に対

して少なくとも９０％同一である、少なくとも９５％同一である、または少なくとも９９％同一であるポリペプチド配列を含む請求項１～５のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項７】

前記ポリペプチド配列が

（ａ）配列番号２７及び配列番号２８；

（ｂ）配列番号２９及び配列番号３０；

（ｃ）配列番号３１及び配列番号３２；

（ｄ）配列番号６２及び配列番号６３または配列番号６４；

（ｅ）配列番号６５及び配列番号６６または配列番号６７；

（ｆ）配列番号６８及び配列番号６９から成る群から選択される配列のアミノ酸を含む請求項６に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項８】

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断片が、

それぞれ配列番号５１、配列番号５２または５３及び配列番号５４のアミノ酸を含むＣＤＲ１、ＣＤＲ２及びＣＤＲ３の領域を含むヒト化重鎖可変領域と

それぞれ配列番号４８、配列番号４９及び配列番号５０のアミノ酸を含むＣＤＲ１、ＣＤＲ２及びＣＤＲ３の領域を含むヒト化軽鎖可変領域と

マウスの定常領域とを含む、前記抗体またはその抗原結合断片。

【請求項９】

前記ヒト化重鎖可変領域が配列番号４５のアミノ酸を含み、前記ヒト化軽鎖可変領域が配列番号４７のアミノ酸を含む請求項８に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項１０】

前記抗体が組換えで作出される請求項１～９のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項１１】

前記抗体またはその抗原結合断片がマウス、非ヒト、ヒト化、キメラ、表面再構成、またはヒトのものである請求項１～１０のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項１２】

前記抗体またはその抗原結合断片が、ヒトのＦＯＬＲ１に結合するが、ＦＯＬＲ２またはＦＯＬＲ３には結合しない請求項１～１１のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項１３】

完全長の抗体である請求項１～１２のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項１４】

抗原結合断片である請求項１～１３のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項１５】

ＦＯＬＲ１に特異的に結合するポリペプチドであって、前記ポリペプチドが

（ａ）それぞれ配列番号３～８；

（ｂ）それぞれ配列番号９～１４；

（ｃ）それぞれ配列番号１５～２０；

（ｄ）それぞれ配列番号２１～２６；

（ｅ）それぞれ配列番号３～５と配列番号５９、７、及び８；

（ｆ）それぞれ配列番号３、６０、及び５と配列番号６～８；

（ｇ）それぞれ配列番号３、６１、及び５と配列番号６～８；

（ｈ）それぞれ配列番号３、６０、及び５と配列番号５９、７、及び８；

（ｉ）それぞれ配列番号３、６１、及び５と配列番号：５９、７、及び８；並びに
（ｊ）１、２、３、または４の保存的アミノ酸置換を含む（ａ）～（ｉ）の変異体から成る群から選択される配列を含む、前記ポリペプチド。
【請求項１６】
前記ポリペプチドが、
（ａ）配列番号２７及び配列番号２８；
（ｂ）配列番号２９及び配列番号３０；
（ｃ）配列番号３１及び配列番号３２；
（ｄ）配列番号６２及び配列番号６３または配列番号６４；
（ｅ）配列番号６５及び配列番号６６または配列番号６７；及び
（ｆ）配列番号６８及び配列番号６９から成る群から選択される配列に対して少なくとも９０％同一である、少なくとも９５％同一である、または少なくとも９９％同一である配列を含む請求項２０に記載のポリペプチド。
【請求項１７】
前記配列が、
（ａ）配列番号２７及び配列番号２８；
（ｂ）配列番号２９及び配列番号３０；
（ｃ）配列番号３１及び配列番号３２；
（ｄ）配列番号６２及び配列番号６３または配列番号６４；
（ｅ）配列番号６５及び配列番号６６または配列番号６７；及び
（ｆ）配列番号６８及び配列番号６９から成る群から選択される配列のアミノ酸を含む請求項１６に記載のポリペプチド。
【請求項１８】
約０．５～約１０ｎＭのＫｄでヒト葉酸受容体１に結合する請求項１～１７のいずれか１項に記載の抗体、その抗原結合断片またはポリペプチド。
【請求項１９】
約１．０ｎＭまたはそれより良好なＫｄでヒト葉酸受容体１に結合する請求項１～１８のいずれか１項に記載の抗体、その抗原結合断片またはポリペプチド。
【請求項２０】
前記抗体、断片またはポリペプチドがＮ－グリコシル化されるアミノ酸を含むＦＯＬＲ１のエピトープに結合する請求項４～７または１０～１９のいずれか１項に記載の抗体またはその断片またはポリペプチド。
【請求項２１】
前記抗原、その抗原結合断片またはポリペプチドが検出可能に標識される請求項１～２０のいずれか１項に記載の抗体、その抗原結合断片またはポリペプチド。
【請求項２２】
請求項１～２１のいずれか１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。
【請求項２３】
請求項１～２１のいずれか１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）請求項２２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、前記方法。
【請求項２４】
請求項１～２１のいずれか１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ＦＡＣＳ緩衝液、ＩＨＣ緩衝液及びＥＬＩＳＡ緩衝液から成る群から選択される緩衝液とを含む組成物。
【請求項２５】
試料におけるＦＯＬＲ１の発現の検出方法であって、請求項１～２１のいずれか１項に記載の抗体、その抗原結合断片またはポリペプチドまたは請求項２４に記載の組成物に前

記試料を接触させることを含む、前記検出方法。
【請求項２６】
前記抗体またはその抗原結合断片が検出可能に標識される請求項２５に記載の方法。
【請求項２７】
前記標識が、免疫蛍光標識、化学発光標識、リン発光標識、酵素標識、放射性標識、アビジン／ビオチン、コロイド状金粒子、着色粒子及び磁気粒子から成る群から選択される請求項２６に記載の方法。
【請求項２８】
ＦＯＬＲ１の発現が、放射性免疫アッセイ、ウエスタンブロットアッセイ、サイトメトリー、免疫蛍光アッセイ、酵素免疫アッセイ、免疫沈降アッセイ、化学発光アッセイ、または免疫組織化学アッセイによって測定される請求項２５～２７のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２９】
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２８に記載の方法。
【請求項３０】
ＦＯＬＲ１の発現がＩＨＣによって測定される請求項２８に記載の方法。
【請求項３１】
抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による癌療法の有効性を高める方法であって、前記方法が癌を有する対象に前記活性作用物質を投与することを含み、請求項１～２１のいずれか１項に記載の抗体、その抗原結合断片またはポリペプチドまたは請求項２４に記載の組成物を用いて前記対象に由来する癌性試料にてＦＯＬＲ１の増加した発現が検出されている、前記方法。
【請求項３２】
癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定する方法であって、前記方法が
（ａ）請求項１～２１のいずれか１項に記載の抗体、その抗原結合断片またはポリペプチドまたは請求項２４に記載の組成物に前記癌に由来する細胞を含む生体試料を接触させることと、
（ｂ）（ａ）の前記生体試料にてＦＯＬＲ１への前記抗体、抗体断片またはポリペプチドの結合を検出することと、
（ｃ）ステップ（ｂ）の前記結合にスコアを割り当て、前記スコアが１以上の参照試料との比較に基づいて割り当てられることと、
（ｄ）ステップ（ｃ）における前記スコアを参照組織または参照細胞のスコアと比較することとを含み、その際、正常なまたは低いＦＯＬＲ１を発現している参照試料についてのスコアよりも大きい前記癌のＦＯＬＲ１レベルについてのスコアまたは高いＦＯＬＲ１を発現している参照試料についてのスコアと同等またはそれより大きい前記癌のＦＯＬＲ１レベルについてのスコアは、前記癌が抗ＦＯＬＲ１抗体に応答する可能性があることを特定する、前記方法。
【請求項３３】
癌を有する患者を治療する方法であって、前記方法が
（ａ）前記患者から得た癌性試料におけるＦＯＬＲ１発現の検出からＦＯＬＲ１発現のスコアを決定し、前記検出が請求項１～２１のいずれか１項に記載の抗体、その抗原結合断片またはポリペプチドまたは請求項２４に記載の組成物を用いて行われることと、
（ｂ）前記スコアが前記患者は抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示すのであれば、前記患者に前記活性作用物質を投与することとを含む、前記方法。
【請求項３４】
癌を有する患者を治療する方法であって、前記方法が
（ａ）請求項１～２１のいずれか１項に記載の抗体、その抗原結合断片またはポリペプチドまたは請求項２４に記載の組成物を用いたＦＯＬＲ１発現の検出からＦＯＬＲ１発現

のスコアを決定するために癌を有する患者から採取した癌性試料を提出することと、
（ｂ）前記スコアが前記患者は抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示すのであれば、前記患者に前記活性作用物質を投与することとを含む、前記方法。
【請求項３５】
癌を有する患者を治療する方法であって、前記方法が
（ａ）前記患者から得られた癌性試料にてＦＯＬＲ１の発現を検出し、その際、前記検出は請求項１～２１のいずれか１項に記載の抗体、その抗原結合断片またはポリペプチドまたは請求項２４に記載の組成物を用いて実施されることと、
（ｂ）前記癌性試料についてのＦＯＬＲ１発現のスコアを決定することと、
（ｃ）前記スコアが前記患者は抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示すのであれば、患者に前記活性作用物質を投与することとを含む、前記方法。
【請求項３６】
癌患者にてＦＯＬＲ１を発現している癌細胞を減らす方法であって、
（ａ）請求項１～２１のいずれか１項に記載の抗体、その抗原結合断片またはポリペプチドまたは請求項２４に記載の組成物を用い、参照試料におけるＦＯＬＲ１のレベルと比べて、患者から採取した癌性試料におけるＦＯＬＲ１のレベルを検出することと、
（ｂ）前記患者のＦＯＬＲ１のレベルが前記参照試料に比べて上昇しているのであれば、固定用量の抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質を前記患者に投与することとを含み、前記活性作用物質の前記投与は前記患者においてＦＯＬＲ１を発現している癌細胞を減らす、前記方法。
【請求項３７】
癌が抗ＦＯＬＲ１活性作用物質による治療に感受性であることを特定する方法であって、前記方法が
（ａ）請求項１～２１のいずれか１項に記載の抗体、その抗原結合断片またはポリペプチドまたは請求項２４に記載の組成物を用いて、前記癌に由来する癌性試料にてＦＯＬＲ１発現のレベルを検出し、その際、前記検出は、１以上の参照試料における染色強度または染色均一性と比べてＦＯＬＲ１を発現している癌性試料における染色強度または染色均一性の間を区別する方法の使用を含むことと、
（ｂ）前記癌性試料についてＦＯＬＲ１の染色強度または染色均一性のスコアを決定することと、
（ｃ）ステップ（ｂ）で決定された前記ＦＯＬＲ１の染色強度または染色均一性のスコアを少なくとも１つの参照試料にてＦＯＬＲ１タンパク質の発現を測定することによって決定される相対値と比較することとを含み、その際、前記少なくとも１つの参照試料は抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療に感受性ではない組織、細胞または細胞ペレットの試料であり、前記相対値よりも高い、ステップ（ｂ）で決定された前記癌性試料についてのＦＯＬＲ１の染色強度のスコアが前記癌が前記活性作用物質による治療に感受性であることを特定する、前記方法。
【請求項３８】
癌が抗ＦＯＬＲ１活性作用物質による治療に感受性であることを特定する方法であって、前記方法が
（ａ）１以上の参照試料における膜ＦＯＬＲ１に比べて、請求項１～２１のいずれか１項に記載の抗体、その抗原結合断片またはポリペプチドまたは請求項２４に記載の組成物を用いて、前記癌に由来する癌性試料にて膜ＦＯＬＲ１発現のレベルを検出することと、
（ｂ）前記癌性試料についてＦＯＬＲ１のスコアを決定することと、
（ｃ）少なくとも１つの参照試料にて膜ＦＯＬＲ１を測定することによって決定される相対値とステップ（ｂ）で決定された前記ＦＯＬＲ１のスコアを比較することとを含み、その際、前記少なくとも１つの参照試料は抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療に感受性ではない組織、細胞または細胞ペレットの試料であり

、前記相対値よりも高い、ステップ（ｂ）で決定された前記癌性試料についてのＦＯＬＲ１のスコアが前記癌が前記活性作用物質による治療に感受性であることを特定する、前記方法。

【請求項３９】

癌が抗ＦＯＬＲ１活性作用物質による治療に感受性であることを特定する方法であって、前記方法が

（ａ）請求項１～２１のいずれか１項に記載の抗体、その抗原結合断片またはポリペプチドまたは請求項２４に記載の組成物を用いて、前記癌に由来する癌性試料にてＦＯＬＲ１発現のレベルを検出し、その際、前記検出は、１以上の参照試料における染色強度または染色均一性と比べてＦＯＬＲ１を発現している癌性試料における染色強度または染色均一性の間を区別する方法の使用を含むことと、

（ｂ）前記癌性試料についてＦＯＬＲ１の染色強度または染色均一性のスコアを決定することと、

（ｃ）ステップ（ｂ）で決定された前記ＦＯＬＲ１の染色強度または染色均一性のスコアを少なくとも１つの参照試料にてＦＯＬＲ１タンパク質の発現を測定することによって決定される相対値と比較することとを含み、その際、前記少なくとも１つの参照試料は抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療に感受性である組織、細胞または細胞ペレットの試料であり、前記相対値よりも大きいまたはそれと同等である、ステップ（ｂ）で決定された前記癌性試料についてのＦＯＬＲ１の染色強度のスコアは前記癌が前記活性作用物質による治療に感受性であることを特定する、前記方法。

【請求項４０】

癌が抗ＦＯＬＲ１活性作用物質による治療に感受性であることを特定する方法であって、前記方法が

（ａ）１以上の参照試料における膜ＦＯＬＲ１に比べて、請求項１～２１のいずれか１項に記載の抗体、その抗原結合断片またはポリペプチドまたは請求項２４に記載の組成物を用いて、前記癌に由来する癌性試料にて膜ＦＯＬＲ１の発現のレベルを検出することと、

（ｂ）前記癌性試料についてＦＯＬＲ１のスコアを決定することと、

（ｃ）少なくとも１つの参照試料にて膜ＦＯＬＲ１を測定することによって決定される相対値とステップ（ｂ）で決定された前記ＦＯＬＲ１のスコアを比較することとを含み、その際、前記少なくとも１つの参照試料は抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療に感受性である組織、細胞または細胞ペレットの試料であり、前記相対値よりも大きいまたはそれと同等である、ステップ（ｂ）で決定された前記癌性試料についてのＦＯＬＲ１のスコアは前記癌が前記活性作用物質による治療に感受性であることを特定する、前記方法。

【請求項４１】

前記癌性試料または生体試料が得られた前記対象に抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質を投与することをさらに含む請求項３２または３７～４０のいずれか１項に記載の方法。

【請求項４２】

前記癌性試料または生体試料が体液、細胞または組織の試料である請求項３１または３３～４１のいずれか１項に記載の方法。

【請求項４３】

前記細胞が循環している腫瘍細胞である請求項４２に記載の方法。

【請求項４４】

前記体液が血液、腹水、尿、血漿、血清、または末梢血である請求項４２に記載の方法。

【請求項４５】

前記ＦＯＬＲ１が膜ＦＯＬＲ１である請求項２５～３７、３９及び４１～４４のいずれか１項に記載の方法。

【請求項４６】
前記ＦＯＬＲ１が脱落ＦＯＬＲ１である請求項２５～３６、４１、４２または４４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項４７】
前記検出が酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）による請求項２５～２８、３１～３６または４１～４６のいずれか１項に記載の方法。
【請求項４８】
前記検出が免疫組織化学法（ＩＨＣ）による請求項２５～２８または３０～４２または４５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項４９】
前記ＩＨＣがＦＯＬＲ１発現の異なるレベルを区別することができる較正ＩＨＣである請求項４８に記載の方法。
【請求項５０】
前記ＩＨＣが、低いＦＯＬＲ１の細胞表面発現、中程度のＦＯＬＲ１の細胞表面発現または高いＦＯＬＲ１の細胞表面発現を有する試料について様々な染色強度を生じる請求項４８または４９に記載の方法。
【請求項５１】
前記ＩＨＣが参照試料と比べて、ＦＯＬＲ１を発現している癌性試料または生体試料における染色強度及び染色均一性の間を区別する請求項４８～５０のいずれか１項に記載の方法。
【請求項５２】
前記ＩＨＣが手動で実施される請求項４８～５１のいずれか１項に記載の方法。
【請求項５３】
前記ＩＨＣが自動化されたシステムを用いて実施される請求項４８～５１のいずれか１項に記載の方法。
【請求項５４】
ＦＯＬＲ１のスコアが前記ＩＨＣから決定される請求項４８～５３のいずれか１項に記載の方法。
【請求項５５】
少なくとも２のスコアが、前記癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す請求項５４に記載の方法。
【請求項５６】
少なくとも２ホモのスコアが、前記癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す請求項５４に記載の方法。
【請求項５７】
少なくとも２ヘテロのスコアが、前記癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す請求項５４に記載の方法。
【請求項５８】
前記癌が肺癌または子宮内膜癌である請求項５５～５７のいずれか１項に記載の方法。
【請求項５９】
少なくとも３のスコアが、前記癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す請求項５４に記載の方法。

【請求項６０】
少なくとも３ホモのスコアが、前記癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す請求項５４に記載の方法。
【請求項６１】
少なくとも３ヘテロのスコアが、前記癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す請求項５４に記載の方法。
【請求項６２】
前記癌が肺癌、子宮内膜癌または卵巣癌である請求項５９～６１のいずれか１項に記載の方法。
【請求項６３】
少なくとも５０のＨスコアが、前記癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す請求項５４に記載の方法。
【請求項６４】
前記癌が卵巣癌であり、少なくとも７５のＨスコアが、前記卵巣癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す請求項６３に記載の方法。
【請求項６５】
前記癌がＮＳＣＬＣまたは子宮内膜癌であり、少なくとも５０のＨスコアが、前記ＮＳＣＬＣまたは子宮内膜癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す請求項６３に記載の方法。
【請求項６６】
前記癌が卵巣癌であり、少なくとも３の強度での少なくとも２５％のＦＯＬＲ１の膜発現が、前記卵巣癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す請求項５４に記載の方法。
【請求項６７】
前記癌がＮＳＣＬＣまたは子宮内膜癌であり、少なくとも２の強度での少なくとも２５％のＦＯＬＲ１の膜発現が、前記ＮＳＣＬＣまたは子宮内膜癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す請求項５４に記載の方法。
【請求項６８】
前記参照試料が陽性の参照試料または陰性の参照試料である請求項３２及び３６～６７のいずれか１項に記載の方法。
【請求項６９】
前記参照試料が細胞、細胞ペレットまたは組織を含む請求項３２及び３６～６８のいずれか１項に記載の方法。
【請求項７０】
請求項１～２１のいずれか１項に記載の抗体、その抗原結合断片またはポリペプチドがさらに、酵素、蛍光団、放射性標識及び発光団から成る群から選択される検出試薬を含む

請求項３１～６９のいずれか１項に記載の方法。
【請求項７１】
前記検出試薬が、ビオチン、ジゴキシゲニン、フルオレセイン、トリチウム及びローダミンから成る群から選択される請求項７０に記載の方法。
【請求項７２】
前記癌がＦＯＬＲ１陽性の癌である請求項３１～７１のいずれか１項に記載の方法。
【請求項７３】
前記癌が、卵巣癌、脳腫瘍、乳癌、子宮癌、子宮内膜癌、膵臓癌、腎臓癌及び肺癌から成る群から選択される請求項３１～７２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項７４】
前記肺癌が、非小細胞肺癌または細気管支肺胞上皮癌である請求項７３に記載の方法。
【請求項７５】
前記卵巣癌が上皮性卵巣癌である請求項７３に記載の方法。
【請求項７６】
前記癌が、白金耐性である、再発性であるまたは難治性である請求項７５に記載の方法。
【請求項７７】
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前記ＦＯＬＲ１の発現が検出される請求項３１～７６のいずれか１項に記載の方法。
【請求項７８】
２つの抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を用いて前記ＦＯＬＲ１の発現が検出される請求項７７に記載の方法。
【請求項７９】
少なくとも１つの抗体またはその抗原結合断片が固相支持体に結合される請求項７７または７８に記載の方法。
【請求項８０】
少なくとも１つの抗体またはその抗原結合断片がマイクロタイタープレートに結合される請求項７７または７８に記載の方法。
【請求項８１】
少なくとも１つの追加の抗体またはその抗原結合断片が検出剤を含む請求項７７～８０のいずれか１項に記載の方法。
【請求項８２】
前記検出剤が、発色性検出剤、蛍光性検出剤、酵素性検出剤、または電気化学発光性検出剤である請求項８１に記載の方法。
【請求項８３】
前記検出剤が、西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）である請求項８１または８２に記載の方法。
【請求項８４】
前記ＥＬＩＳＡがサンドイッチＥＬＩＳＡである請求項４７に記載の方法。
【請求項８５】
前記活性作用物質がＦＯＬＲ１抗体ｈｕＭｏｖ１９を含む請求項３１～８４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項８６】
前記活性作用物質が、ＦＯＬＲ１抗体ｈｕＭｏｖ１９と、メイタンシノイドＤＭ４と、切断可能なスルホ－ＳＰＤＢリンカーとを含む抗体メイタンシノイド複合体（ＩＭＧＮ８５３）である請求項８５に記載の方法。
【請求項８７】
癌がＦＯＬＲ１抗体ｈｕＭｏｖ１９と、メイタンシノイドＤＭ４と、スルホ－ＳＰＤＢリンカーとを含む抗体メイタンシノイド複合体（ＩＭＧＮ８５３）による治療に応答する可能性があることを特定する方法であって、前記方法がＩＨＣアッセイにて配列番号２７

のアミノ酸を含む重鎖と配列番号２８のアミノ酸を含む軽鎖とを含む抗体を用いてＦＯＬＲ１を測定することを含み、少なくとも２ヘテロのスコアが前記癌は前記治療に応答する可能性があることを示す、前記方法。

【請求項８８】

癌がＦＯＬＲ１抗体ｈｕＭｏｖ１９と、メイタンシノイドＤＭ４と、スルホ－ＳＰＤＢリンカーとを含む抗体メイタンシノイド複合体（ＩＭＧＮ８５３）による治療に応答する可能性があることを特定する方法であって、前記方法がＩＨＣアッセイにて配列番号２７のアミノ酸を含む重鎖と配列番号２８のアミノ酸を含む軽鎖とを含む抗体を用いてＦＯＬＲ１を測定することを含み、少なくとも５０のＨスコアが前記癌は前記治療に応答する可能性があることを示す、前記方法。

【請求項８９】

癌がＦＯＬＲ１抗体ｈｕＭｏｖ１９と、メイタンシノイドＤＭ４と、スルホ－ＳＰＤＢリンカーとを含む抗体メイタンシノイド複合体（ＩＭＧＮ８５３）による治療に応答する可能性があることを特定する方法であって、前記方法がＩＨＣアッセイにて配列番号２７のアミノ酸を含む重鎖と配列番号２８のアミノ酸を含む軽鎖とを含む抗体を用いてＦＯＬＲ１を測定することを含み、少なくとも２の強度での少なくとも２５％のＦＯＬＲ１の膜発現が前記癌は前記治療に応答する可能性があることを示す、前記方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

本発明は一般に葉酸受容体１に基づく治療法のための診断アッセイ及びキット並びにヒト葉酸受容体１に結合する抗体に関する。

【背景技術】

【０００２】

癌は、先進国での死亡の主要な原因の１つであり、米国だけでも年間１００万人を超える人々が癌と診断され、５００，０００人が死亡している。概して、３人に１人を超える人が生涯で何らかの形態の癌を発症すると推定されている。２００を超える様々な種類の癌があり、そのうちの４つ－乳癌、肺癌、結腸直腸癌及び前立腺癌が新しい症例すべての過半数を占めている（Ｊｅｍａｌら，２００３，Ｃａｎｃｅｒ Ｊ．Ｃｌｉｎ．５３：５－２６）。

【０００３】

葉酸受容体αまたは葉酸結合タンパク質としても知られる葉酸受容体１（ＦＯＬＲ１）は細胞の原形質膜上に発現されるＮ－グリコシル化タンパク質である。ＦＯＬＲ１は葉酸及び幾つかの還元された葉酸誘導体に対して高い親和性を有する。ＦＯＬＲ１は生理的な葉酸である５－メチルテトラヒドロ葉酸の細胞内部への送達に介在する。

【０００４】

ＦＯＬＲ１は、卵巣癌の大半で、同様に多数の子宮癌、子宮内膜癌、膵臓癌、腎臓癌、肺癌及び乳癌で過剰発現している一方で、正常組織におけるＦＯＬＲ１の発現は腎臓の近位尿細管、肺の肺胞肺細胞、膀胱、精巣、脈絡叢及び甲状腺における上皮細胞の頂端膜に限定されている（Ｗｅｉｔｍａｎ，ＳＤら，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．５２：３３９６－３４０１（１９９２）；Ａｎｔｏｎｙ，ＡＣ，Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｎｕｔｒ．１６：５０１－５２１（１９９６）；Ｋａｌｌｉ，ＫＲら．Ｇｙｎｅｃｏｌ．Ｏｎｃｏｌ．１０８：６１９－６２６（２００８））。ＦＯＬＲ１のこの発現パターンによってＦＯＬＲ１を標的とする癌治療法にとってそれが望ましい標的となっている。

【０００５】

卵巣癌は進行した段階まで通常無症候性なので、遅い段階で診断されることが多く、現在利用できる処置、通常、外科的減量術の後、化学療法剤によって治療される場合、予後不良である（ｖｏｎ Ｇｒｕｅｎｉｇｅｎ，Ｖら，Ｃａｎｃｅｒ，１１２：２２２１－２２２７（２００８）；Ａｙｈａｎ，Ａら，Ａｍ．Ｊ．Ｏｂｓｔｅｔ．Ｇｙｎｅｃｏｌ．１９６：８１，ｅ８１－８６（２００７）；Ｈａｒｒｙ，ＶＮら，Ｏｂｓｔｅｔ．Ｇｙｎｅ

ｃｏｌ．Ｓｕｒｖ．６４：５４８－５６０（２００９））。従って、卵巣癌のさらに効果的な診断に対する明らかな満たされない医学的なニーズがある。

脱落したＦＯＬＲ１を検出するのに使用される幾つかの以前のアッセイはＦＯＬＲ１に対して十分に特異的であるわけではない。たとえば、一部のアッセイは、ＦＯＬＲ１と他の受容体ファミリーメンバー（ＦＯＬＲ２、３及び４）との間を区別せず、総ＦＢＰ（葉酸結合タンパク質）についての値を報告もしない。さらに、一部のアッセイは、ヒトの試料（たとえば、血漿）を軽い酸洗浄ステップで予備処理して葉酸を受容体から解離することを必要とする。一部のアッセイ結果は、抗体療法と診断用抗体の間での競合効果のために不正確さも有し得る。さらに、多数の市販のキットは従来、その試薬及びロット間の安定性の双方で頼りにならない。これらのキットの評価は非常に入り交じった結果を生じており、研究用途のみを対象としている。多数が、「マトリクス効果」による疑陽性の機会を減らすように分析の前にヒト試料を予備希釈することを求めている。従って、ＦＯＬＲ１に基づく治療法のための比較としてＦＯＬＲ１の臨床的に関連するダイナミック・レンジを検出することができる感度の高い且つ正確な診断用アッセイに対する明らかなニーズがある。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【０００６】

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

【非特許文献２】Ｗｅｉｔｍａｎ，ＳＤら，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ら．Ｇｙｎｅｃｏｌ．Ｏｎｃｏｌ．１０８：６１９－６２６（２００８）

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

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

【非特許文献７】Ｈａｒｒｙ，ＶＮら，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】

抗ＦＯＬＲ１抗体及びその抗原結合断片ならびにＦＯＬＲ１を検出する方法、ＦＯＬＲ１が介在する疾患及び障害（たとえば、癌）を診断する方法、抗ＦＯＬＲ１療法の有効性をモニターする方法、抗ＦＯＬＲ１療法を最適化する方法、及び患者を階層化する方法がすべて本明細書で提供される。

【０００８】

本明細書で提供される抗ＦＯＬＲ１抗体は診断の役割を有することができる。たとえば、腫瘍と非腫瘍細胞または非腫瘍組織の間を区別する、または腫瘍の型、亜型または等級を特定する抗ＦＯＬＲ１抗体が本明細書で提供される。一実施形態では、本明細書で提供される抗ＦＯＬＲ１抗体及び／または本明細書で提供されるＦＯＬＲ１検出アッセイを用いて本明細書で記載されるような腺癌及び扁平上皮細胞癌を含む非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）の亜型間を区別することができる。別の実施形態では、本明細書で提供される抗ＦＯＬＲ１抗体及び／または本明細書で提供されるＦＯＬＲ１検出アッセイを用いて癌の種類、たとえば、肉腫を除外する（たとえば、細胞または組織が癌の一種ではないことを決定する）ことができる。

【０００９】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体またはその抗原結合断片はＦＯＬＲ１のエピトープに特異的に結合することができ、その際、該エピトープは少なくとも１つ、少なくとも２つまたは３つのＮ－グリコシル化アミノ酸を含む。グリコシル化は膜の局在に決定的に重要であり得る。たとえば、Ｙａｎら，Ｊ．Ａｍ．Ｓｏｃ．Ｎｅｐｈｏｌ．１３：１３８５－１３８９（２００２）を参照のこと。有利なことに、本明細書の抗体及び抗原結合断片は細胞膜上でのＦＯＬＲ１の発現を検出することができ、且つＦＯＬＲ１の臨床的に関連するダイナミック・レンジを検出することができる。本明細書で提供される抗体及び抗原結合断片によって得られるさらに慎重な染色によって、異なるＦＯＬＲ１エピトープに結合し、十分な特異性を欠き、十分な感度を欠く抗体を用いて高い発現レベル（３のスコアを持つ）としてすべて一緒にグループ化された試料間での識別が可能になる。

【００１０】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体またはその抗原結合断片は、（ａ）配列番号２７のポリペプチドと配列番号２８のポリペプチドを含む抗体；（ｂ）配列番号２９のポリペプチドと配列番号３０のポリペプチドを含む抗体；（ｃ）配列番号３１のポリペプチドと配列番号３２のポリペプチドを含む抗体；（ｄ）配列番号６２のポリペプチドと配列番号６３または配列番号６４のポリペプチドを含む抗体；及び（ｅ）配列番号６５のポリペプチドと配列番号６６または配列番号６７のポリペプチドを含む抗体から成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ことができる。一部の実施形態では、エピトープはＮ－グリコシル化アミノ酸を含む。

【００１１】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体またはその抗原結合断片はＦＯＬＲ１に特異的に結合することができ、その際、前記抗体またはその断片は、（ａ）配列番号２７のポリペプチドと配列番号２８のポリペプチドを含む抗体；（ｂ）配列番号２９のポリペプチドと配列番号３０のポリペプチドを含む抗体；（ｃ）配列番号３１のポリペプチドと配列番号３２のポリペプチドを含む抗体；（ｄ）配列番号６２のポリペプチドと配列番号６３または配列番号６４のポリペプチドを含む抗体；及び（ｅ）配列番号６５のポリペプチドと配列番号６６または配列番号６７のポリペプチドを含む抗体から成る群から選択される抗体のＦＯＬＲ１への結合を競合して阻害する。

【００１２】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、（ａ）それぞれ配列番号３～８；（ｂ）それぞれ配列番号９～１４；（ｃ）それぞれ配列番号１５～２０；（ｄ）それぞれ配列番号２１～２６；（ｅ）それぞれ配列番号３～５と配列番号５９、７及び８；（ｆ）それぞれ配列番号３、６０及び５と配列番号６～８；（ｇ）それぞれ配列番号３、６１及び５と配列番号６～８；（ｈ）それぞれ配列番号３、６０及び５と配列番号５９、７及び８；並びに（ｉ）それぞれ配列番号３、６１及び５と配列番号５９、７及び８から成る群から選択されるＶＨのＣＤＲ１～３とＶＬのＣＤＲ１～３のポリペプチド配列を含む。

【００１３】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体またはその抗原結合断片は、ＦＯＬＲ１に特異的に結合することができ、その際、抗体またはその断片は、（ａ）それぞれ配列番号３～８；（ｂ）それぞれ配列番号９～１４；（ｃ）それぞれ配列番号１５～２０；（ｄ）それぞれ配列番号２１～２６；（ｅ）それぞれ配列番号３～５と配列番号５９、７、及び８；（ｆ）それぞれ配列番号：３、６０、及び５と配列番号６～８；（ｇ）それぞれ配列番号：３、６１及び５と配列番号６～８；（ｈ）それぞれ配列番号３、６０及び５と配列番号５９、７及び８；（ｉ）それぞれ配列番号３、６１及び５と配列番号５９、７、及び８；並びに（ｊ）１、２、３、または４の保存的アミノ酸置換を含む（ａ）～（ｉ）の変異体から成る群から選択されるＶＨのＣＤＲ１～３とＶＬのＣＤＲ１～３のポリペプチド配列を含む。

【００１４】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、（ａ）配列番号２７と配列番号

２８；（ｂ）配列番号２９と配列番号３０；（ｃ）配列番号３１と配列番号３２；（ｄ）配列番号６２と配列番号６３または配列番号６４；（ｅ）配列番号６５と配列番号６６または配列番号６７；（ｆ）配列番号６８と配列番号６９から成る群から選択されるポリペプチド配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９５％または少なくとも９９％同一であるポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、ポリペプチド配列は（ａ）配列番号２７と配列番号２８；（ｂ）配列番号２９と配列番号３０；（ｃ）配列番号３１と配列番号３２；（ｄ）配列番号６２と配列番号６３または配列番号６４；（ｅ）配列番号：６５と配列番号６６または配列番号６７；（ｆ）配列番号６８と配列番号６９から成る群から選択される配列のアミノ酸を含む、アミノ酸から本質的に成る、またはアミノ酸から成る。

【００１５】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体またはその抗原結合断片はＦＯＬＲ１に特異的に結合することができ、その際、抗体またはその断片はそれぞれ配列番号５１、配列番号５２または５３、及び配列番号５４のアミノ酸を含むＣＤＲ１、ＣＤＲ２及びＣＤＲ３領域を含むヒト化重鎖可変領域と、それぞれ配列番号４８、配列番号４９、及び配列番号５０のアミノ酸を含むＣＤＲ１、ＣＤＲ２及びＣＤＲ３領域を含むヒト化軽鎖可変領域と、マウス定常領域とを含む。一部の実施形態では、ヒト化重鎖可変領域は配列番号４５のアミノ酸を含み、ヒト化軽鎖可変領域は配列番号４７のアミノ酸を含む。

【００１６】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、組換えで作出される。一部の実施形態では、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、表面再構成またはヒト抗体である。一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ヒトＦＯＬＲ１に結合し、ＦＯＬＲ２またはＦＯＬＲ３には結合しない。一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は完全長の抗体である。一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、抗原結合断片である。一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｄ、単鎖Ｆｖ若しくはｓｃＦｖ、ジスルフィド結合Ｆｖ、Ｖ－ＮＡＲドメイン、ＩｇＮａｒ、細胞内発現抗体、ＩｇＧΔＣＨ２、ミニ抗体、Ｆ（ａｂ’）３、四価抗体、三価抗体、二重特異性抗体、単ドメイン抗体、ＤＶＤ－Ｉｇ、Ｆｃａｂ、ｍＡｂ２、（ｓｃＦｖ）２、またはｓｃＦｖ－Ｆｃを含む、それらから本質的に成る、またはそれらから成る。

【００１７】

一部の実施形態では、本明細書で提供されるポリペプチドはＦＯＬＲ１に特異的に結合することができ、その際、ポリペプチドは、（ａ）それぞれ配列番号３～８；（ｂ）それぞれ配列番号９～１４；（ｃ）それぞれ配列番号１５～２０；（ｄ）それぞれ配列番号２１～２６；（ｅ）それぞれ配列番号３～５と配列番号５９、７、及び８；（ｆ）それぞれ配列番号：３、６０、及び５と配列番号６～８；（ｇ）それぞれ配列番号：３、６１及び５と配列番号６～８；（ｈ）それぞれ配列番号３、６０及び５と配列番号５９、７及び８；（ｉ）それぞれ配列番号３、６１及び５と配列番号５９、７、及び８；並びに（ｊ）１、２、３、または４の保存的アミノ酸置換を含む（ａ）～（ｉ）の変異体から成る群から選択される配列を含む。一部の実施形態では、ポリペプチドは、（ａ）配列番号２７と配列番号２８；（ｂ）配列番号２９と配列番号３０；（ｃ）配列番号３１と配列番号３２；（ｄ）配列番号６２と配列番号６３または配列番号６４；（ｅ）配列番号６５と配列番号６６または配列番号６７；及び（ｆ）配列番号６８と配列番号６９から成る群から選択される配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９５％または少なくとも９９％同一である配列を含む。一部の実施形態では、ポリペプチドは、（ａ）配列番号２７と配列番号２８；（ｂ）配列番号２９と配列番号３０；（ｃ）配列番号３１と配列番号３２；（ｄ）配列番号６２と配列番号６３または配列番号６４；（ｅ）配列番号６５と配列番号６６または配列番号６７；または（ｆ）配列番号６８と配列番号６９のアミノ酸を含む。

【００１８】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片、またはポリペプチドは、約０．５

～約１０ｎＭのＫｄでＦＯＬＲ１に結合する。一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片、またはポリペプチドは、約１．０ｎＭまたはそれより良好なＫｄでＦＯＬＲ１に結合する。一部の実施形態では、結合親和性はフローサイトメトリー、Ｂｉａｃｏｒｅ、ＥＬＩＳＡまたは放射性免疫アッセイによって測定される。

【００１９】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片、またはポリペプチドは、Ｎ－グリコシル化アミノ酸を含むＦＯＬＲ１のエピトープに結合する。

【００２０】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片、またはポリペプチドは検出可能に標識される。

【００２１】

一部の実施形態では、本明細書で提供される細胞は抗体またはその抗原結合断片、またはポリペプチドを産生する。一部の実施形態では、細胞は単離される。

【００２２】

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も提供される。該方法は、（ａ）本明細書で提供される細胞を培養することと、（ｂ）培養した細胞から抗体、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。

【００２３】

抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを含む組成物も提供される。一部の実施形態では、組成物は、抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドと、ＦＡＣＳ緩衝液、ＩＨＣ緩衝液、及びＥＬＩＳＡ緩衝液から成る群から選択される緩衝液とを含む。

【００２４】

抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを使用する方法も提供される。

【００２５】

一部の実施形態では、試料にてＦＯＬＲ１の発現を検出する方法は試料を本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物に接触させることを含む。一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は検出可能に標識される。一部の実施形態では、標識は、免疫蛍光標識、化学発光標識、リン光性標識、酵素標識、放射性標識、アビジン／ビオチン、コロイド状金粒子、着色粒子及び磁気粒子から成る群から選択される。一部の実施形態では、ＦＯＬＲ１の発現は放射性免疫アッセイ、ウエスタンブロットアッセイ、サイトメトリー、免疫蛍光アッセイ、酵素免疫アッセイ、免疫沈降アッセイ、化学発光アッセイまたは免疫組織化学アッセイによって測定される。一部の実施形態では、サイトメトリーはフローサイトメトリーである、一部の実施形態では、ＦＯＬＲ１の発現はＩＨＣによって測定される。

【００２６】

一部の実施形態では、抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による癌治療法の有効性を高める方法は、癌を有する対象に該活性作用物質を投与することを含み、その際、ＦＯＬＲ１の増加した発現は、本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いて対象に由来する癌性試料にて検出されている。

【００２７】

一部の実施形態では、抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性がある癌を特定する方法は、（ａ）癌に由来する細胞を含む生体試料を本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物に接触させることと；（ｂ）（ａ）の生体試料にて抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドのＦＯＬＲ１への結合を検出することと；（ｃ）ステップ（ｂ）の結合にスコアを割り当て、その際、スコアは１以上の参照試料との比較に基づいて割り当てられることと、（ｄ）ステップ（ｃ）におけるスコアを参照組織または細胞のスコアと比較することとを含み、その際、正常な若しくは低いＦＯＬＲ１を発現する参照試料のスコアより大きい癌のＦＯＬＲ１レベルについてのスコア、または高いＦＯＬＲ１を発現する参照試料のスコアに等しい

またはそれよりも高い癌のＦＯＬＲ１レベルについてのスコアが、癌が抗ＦＯＬＲ１抗体に応答する可能性があることを特定する。

【００２８】

一部の実施形態では、癌を有する患者を治療する方法は、（ａ）患者から得た癌性試料におけるＦＯＬＲ１発現の検出からＦＯＬＲ１発現のスコアを決定することであって、その際、検出は本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いて行われる、決定することと、（ｂ）スコアが患者は活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示すのであれば、抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質を患者に投与することとを含む。

【００２９】

一部の実施形態では、癌を有する患者を治療する方法は、（ａ）患者から得た癌性試料におけるＦＯＬＲ１発現の検出からＦＯＬＲ１発現のスコアを決定することであって、その際、検出は本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いて行われる、決定することと、（ｂ）スコアが患者は活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示すのであれば、抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質を患者に投与するようにヘルスケア提供者を指導することとを含む。

【００３０】

一部の実施形態では、癌を有する患者を治療する方法は、（ａ）本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いたＦＯＬＲ１発現の検出からＦＯＬＲ１発現のスコアを決定するために癌を有する患者から採取した癌性試料を提出することと、（ｂ）スコアが患者は活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示すのであれば、抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質を患者に投与することとを含む。

【００３１】

一部の実施形態では、癌を有する患者を治療する方法は、（ａ）患者から得た癌性試料にてＦＯＬＲ１の発現を検出することであって、その際、検出は本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いて行われる、検出することと、（ｂ）癌性試料についてＦＯＬＲ１の発現スコアを決定することと、（ｃ）スコアが患者は活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示すのであれば、抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質を患者に投与することとを含む。

【００３２】

一部の実施形態では、癌を有する患者を治療する方法は、（ａ）抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の固定用量を患者に投与することと、（ｂ）参照試料におけるＦＯＬＲ１のレベルと比べた患者のＦＯＬＲ１のレベルを検出することであって、その際、検出は本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いて行われる、検出することと、（ｃ）患者のＦＯＬＲ１のレベルが上昇しているのであれば、その後の固定用量の量または回数を増やすこととを含む。

【００３３】

一部の実施形態では、癌を有する対象のために抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療計画を最適化する方法は、（ａ）対象におけるＦＯＬＲ１の増加した発現が本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いて検出されている癌を有する対象に高い用量の抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質を投与することと、（ｂ）対象におけるＦＯＬＲ１の低い発現が検出されている癌を有する対象に低下させた用量の活性作用物質を投与することとを含む。

【００３４】

一部の実施形態では、癌を有する対象のために抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療計画を最適化する方法は、（ａ）本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いて対象に由来する癌性試料にてＦＯＬＲ１発現のレベルを検出することと、（ｂ）癌性試料についてＦＯＬＲ１発現の

スコアを決定することと、（ｃ）スコアが低いのであれば、高い用量の抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合を含む活性作用物質を投与すること、またはスコアが高いのであれば、低下させた用量の活性作用物質を投与することとを含む。

【００３５】

一部の実施形態では、癌患者にてＦＯＬＲ１を発現する癌細胞を減らす方法は、（ａ）本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いて、参照試料におけるＦＯＬＲ１のレベルに比べた患者から採取した癌性試料にてＦＯＬＲ１のレベルを検出することと、（ｂ）参照試料に比べて患者のＦＯＬＲ１のレベルが上昇しているのであれば、抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合を含む、固定用量の活性作用物質を患者に投与することとを含み、その際、活性作用物質の投与は患者にてＦＯＬＲ１を発現する細胞の数を減らす。一部の実施形態では、患者にて癌を治療する方法は、（ａ）本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いて、参照試料におけるＦＯＬＲ１のレベルに比べた患者から採取した癌性試料にてＦＯＬＲ１のレベルを検出することと、（ｂ）参照試料に比べて患者のＦＯＬＲ１のレベルが上昇しているのであれば、抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合を含む、固定用量の活性作用物質を患者に投与することとを含み、その際、活性作用物質の投与はＦＯＬＲ１を発現する腫瘍のサイズを減らし、またはＣＡ１２５のレベルを低下させる。

【００３６】

一部の実施形態では、癌患者にてＦＯＬＲ１を発現する癌細胞を減らす方法は、（ａ）癌を有する患者に抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む、固定用量の活性作用物質を投与することと、（ｂ）本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いて、参照試料におけるＦＯＬＲ１のレベルに比べた患者のＦＯＬＲ１のレベルを検出することと、（ｃ）参照試料に比べて患者のＦＯＬＲ１のレベルが上昇しているのであれば、その後の固定用量の量または回数を増やすこととを含み、その際、活性作用物質の投与は患者にてＦＯＬＲ１を発現する癌細胞の数を減らす。一部の実施形態では、患者にて癌を治療する方法は、（ａ）癌を有する患者に抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む、固定用量の活性作用物質を投与することと、（ｂ）本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いて、参照試料におけるＦＯＬＲ１のレベルに比べた患者のＦＯＬＲ１のレベルを検出することと、（ｃ）参照試料に比べて患者のＦＯＬＲ１のレベルが上昇しているのであれば、その後の固定用量の量または回数を増やすこととを含み、その際、活性作用物質の投与はＦＯＬＲ１を発現する腫瘍のサイズを減らす、またはＣＡ１２５のレベルを低下させる。

【００３７】

一部の実施形態では、患者において抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む、固定用量の活性作用物質の治療上の有効性をモニターする方法は、（ａ）癌を有する患者に由来する生体試料にて本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いて第１のＦＯＬＲ１のレベルを検出することと、（ｂ）抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む、固定用量の活性作用物質を患者に投与することと、（ｃ）活性作用物質投与の後の患者に由来する生体試料にて第２のＦＯＬＲ１のレベルを検出し、検出は本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いて行われることと、（ｄ）第１のＦＯＬＲ１のレベルと第２のＦＯＬＲ１のレベルを比較することとを含み、第１のＦＯＬＲ１のレベルと第２のＦＯＬＲ１のレベルとの間での低下は治療上の有効性を示す。

【００３８】

一部の実施形態では、低用量の抗ＦＯＬＲ１治療計画に応答する可能性がある癌を有する対象を特定する方法は、（ａ）癌に由来する細胞を含む生体試料を本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物に接触させることと、（ｂ）（ａ）の生体試料への抗体、抗原結合断片、またはポリペプチドの結合を検出することと、（ｃ）ステップ（ｂ）の結合にスコアを割り当て、その際、スコアは１以上の参照試料との比較に基づいて割り当てられることと、（ｄ）ステップ（ｃ）におけるスコアを参照組織

または参照細胞のスコアと比較することとを含み、その際、正常な若しくは低いＦＯＬＲ１を発現する参照試料のスコアよりも大きい癌のＦＯＬＲ１レベルについてのスコア、または高いＦＯＬＲ１を発現する参照試料のスコアと同等である若しくはそれより大きい癌のＦＯＬＲ１レベルについてのスコアは、癌が低用量の抗ＦＯＬＲ１治療に応答する可能性があることを特定する。

【００３９】

一部の実施形態では、癌が抗ＦＯＬＲ１活性作用物質による治療に感受性であることを特定する方法は、（ａ）本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いて、癌に由来する癌性試料にてＦＯＬＲ１発現のレベルを検出することであって、その際、検出は１以上の参照試料における染色強度または染色均一性と比べてＦＯＬＲ１を発現する癌性試料にて染色強度または染色均一性を区別する方法の使用を含む、検出することと、（ｂ）癌性試料についてＦＯＬＲ１の染色強度または染色均一性のスコアを決定することと、（ｃ）少なくとも１つの参照試料におけるＦＯＬＲ１タンパク質の発現を測定することによって決定される相対値とステップ（ｂ）で決定されたＦＯＬＲ１の染色強度または染色均一性のスコアを比較することとを含み、その際、少なくとも１つの参照試料は、抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療に感受性ではない組織、細胞または細胞ペレット試料であり、相対値より高い、ステップ（ｂ）で決定された癌性試料についてのＦＯＬＲ１の染色強度スコアは、癌が活性作用物質による治療に感受性であることを特定する。

【００４０】

一部の実施形態では、癌が抗ＦＯＬＲ１活性作用物質による治療に感受性であることを特定する方法は、（ａ）本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いて、癌に由来する癌性試料にてＦＯＬＲ１発現のレベルを検出することであって、その際、検出は、１以上の参照試料における膜ＦＯＬＲ１に比べてＦＯＬＲ１を発現する癌性試料にて膜ＦＯＬＲ１を特異的に染色する方法の使用を含む、検出することと、（ｂ）癌性試料についてＦＯＬＲ１のスコアを決定することと、（ｃ）少なくとも１つの参照試料にてＦＯＬＲ１を測定することによって決定された相対値に対してステップ（ｂ）にて決定されたＦＯＬＲ１のスコアを比較することとを含み、その際、少なくとも１つの参照試料は、抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療に感受性ではない組織、細胞または細胞ペレット試料であり、相対値よりも高いステップ（ｂ）で決定された癌性試料についてのＦＯＬＲ１スコアは癌が活性作用物質による治療に感受性であることを特定する。

【００４１】

一部の実施形態では、癌が抗ＦＯＬＲ１活性作用物質による治療に感受性であることを特定する方法は、（ａ）本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いて、癌に由来する癌性試料にてＦＯＬＲ１発現のレベルを検出することであって、その際、検出は１以上の参照試料における染色強度または染色均一性と比べてＦＯＬＲ１を発現する癌性試料にて染色強度または染色均一性を区別する方法の使用を含む、検出することと、（ｂ）癌性試料についてＦＯＬＲ１の染色強度または染色均一性のスコアを決定することと、（ｃ）少なくとも１つの参照試料におけるＦＯＬＲ１タンパク質の発現を測定することによって決定される相対値とステップ（ｂ）で決定されたＦＯＬＲ１の染色強度または染色均一性のスコアを比較することとを含み、その際、少なくとも１つの参照試料は、抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療に感受性である組織、細胞または細胞ペレット試料であり、相対値より高いまたはそれに等しいステップ（ｂ）で決定された癌性試料についてのＦＯＬＲ１の染色強度スコアは癌が活性作用物質による治療に感受性であることを特定する。

【００４２】

一部の実施形態では、癌が抗ＦＯＬＲ１活性作用物質による治療に感受性であることを特定する方法は、（ａ）本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いて、癌に由来する癌性試料にてＦＯＬＲ１発現のレベルを検出すること

であって、その際、検出は、１以上の参照試料における膜ＦＯＬＲ１に比べてＦＯＬＲ１を発現する癌性試料にて膜ＦＯＬＲ１を特異的に染色する方法の使用を含む、検出することと、（ｂ）癌性試料についてＦＯＬＲ１のスコアを決定することと、（ｃ）少なくとも１つの参照試料にてＦＯＬＲ１を測定することによって決定された相対値に対してステップ（ｂ）にて決定されたＦＯＬＲ１のスコアを比較することとを含み、その際、少なくとも１つの参照試料は、抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療に感受性である組織、細胞または細胞ペレット試料であり、相対値よりも高いまたはそれに等しいステップ（ｂ）で決定された癌性試料についてのＦＯＬＲ１スコアは癌が活性作用物質による治療に感受性であることを特定する。

【００４３】

一部の実施形態では、方法はさらに、癌性試料または生体試料が得られた対象に、抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質を投与することとを含む。

【００４４】

一部の実施形態では、患者のＦＯＬＲ１のレベルは患者から得られる癌性試料または生体試料にて検出される。一部の実施形態では、癌性試料または生体試料は体液、細胞または組織の試料である。一部の実施形態では、細胞は循環している腫瘍細胞である。一部の実施形態では、体液は血液、腹水、尿、血漿、血清または末梢血である。

【００４５】

一部の実施形態では、ＦＯＬＲ１は膜に局在するＦＯＬＲ１である。

【００４６】

一部の実施形態では、ＦＯＬＲ１は脱落したＦＯＬＲ１である。

【００４７】

一部の実施形態では、検出は酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）による。

【００４８】

一部の実施形態では、検出は免疫組織化学法（ＩＨＣ）による。一部の実施形態では、ＩＨＣはＦＯＬＲ１発現の異なるレベルを区別することができる較正されたＩＨＣである。一部の実施形態では、ＩＨＣは、ＦＯＬＲ１の低い細胞表面発現、ＦＯＬＲ１の中程度の細胞表面発現またはＦＯＬＲ１の高い細胞表面発現を有する試料について様々な染色強度を生じる。一部の実施形態では、ＩＨＣは、参照試料と比べてＦＯＬＲ１を発現する癌性試料または生体試料における染色強度と染色均一性の間を区別する。一部の実施形態では、ＩＨＣは膜ＦＯＬＲ１を検出する。一部の実施形態では、ＩＨＣは手動で実施される。一部の実施形態では、ＩＨＣは自動化システムを用いて実施される。

【００４９】

一部の実施形態では、ＦＯＬＲ１のスコアはＩＨＣから決定される。

【００５０】

一部の実施形態では、少なくとも１のスコアはＦＯＬＲ１の増加した発現を示し、癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定する。

【００５１】

一部の実施形態では、少なくとも２、少なくとも２ホモ（７５％超の均一性）または少なくとも２ヘテロ（２５～７５％の均一性）のスコアは、癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定する。一部の実施形態では、癌は肺癌または子宮内膜癌である。一部の実施形態では、少なくとも３、少なくとも３ホモ（７５％超の均一性）または少なくとも３ヘテロ（２５～７５％の均一性）のスコアは、癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定する。一部の実施形態では、癌は肺癌、子宮内膜癌、または卵巣癌である。

【００５２】

一部の実施形態では、少なくとも５０のＨスコアは癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定する。一部の実施形態

では、少なくとも７５のＨスコアは卵巣癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定する。一部の実施形態では、少なくとも５０のＨスコアはＮＳＣＬＣが抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定する。一部の実施形態では、少なくとも５０のＨスコアは子宮内膜癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定する。一実施形態では、ＨスコアはＦＯＬＲ１－２．１抗体を用いて決定される。

【００５３】

一部の実施形態では、少なくとも３の強度を伴う卵巣腫瘍試料における少なくとも２５％のＦＯＬＲ１の膜発現は、卵巣癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定する。一部の実施形態では、少なくとも２の強度を伴うＮＳＣＬＣ試料における少なくとも２５％のＦＯＬＲ１の膜発現は、ＮＳＣＬＣが抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定する。一部の実施形態では、少なくとも２の強度を伴う子宮内膜腫瘍試料における少なくとも２５％のＦＯＬＲ１の膜発現は、子宮内膜癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定する。一実施形態では、発現スコアはＦＯＬＲ１－２．１抗体を用いて決定される。

【００５４】

一部の実施形態では、少なくとも１のスコアは、ＦＯＬＲ１の増加した発現と、患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうこととを示す。一部の実施形態では、少なくとも２、少なくとも２ホモ（７５％超の均一性）または少なくとも２ヘテロ（２５～７５％の均一性）のスコアは、患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す。一部の実施形態では、癌は肺癌または子宮内膜癌である。一部の実施形態では、少なくとも３、少なくとも３ホモ（７５％超の均一性）または少なくとも３ヘテロ（２５～７５％の均一性）のスコアは、患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す。一部の実施形態では、癌は、肺癌、子宮内膜癌、または卵巣癌である。

【００５５】

一部の実施形態では、少なくとも５０のＨスコアは、患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す。一部の実施形態では、少なくとも７５のＨスコアは、卵巣癌の患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す。一部の実施形態では、少なくとも５０のＨスコアは、ＮＳＣＬＣの患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す。一部の実施形態では、少なくとも５０のＨスコアは、子宮内膜癌の患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す。一実施形態では、ＨスコアはＦＯＬＲ１－２．１抗体を用いて決定される。

【００５６】

一部の実施形態では、少なくとも３の強度を伴う卵巣腫瘍試料における少なくとも２５％のＦＯＬＲ１の膜発現は、患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す。一部の実施形態では、少なくとも２の強度を伴うＮＳＣＬＣ試料における少なくとも２５％のＦＯＬＲ１の膜発現は、患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す。一部の実施形態では、少なくとも２の強度を伴う子宮内膜腫瘍試料における少なくとも２５％のＦＯＬＲ１の膜発現は、患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す。一実施形態では、発現スコアはＦＯＬＲ１－２．１抗体を用いて決定される。

【００５７】

一部の実施形態では、少なくとも１のスコアはＦＯＬＲ１の増加した発現を示す。一部

の実施形態では、少なくとも２、少なくとも２ホモ（７５％超の均一性）または少なくとも２ヘテロ（２５～７５％の均一性）のスコアは、低下させた用量の活性作用物質が投与されるべきであることを示す。一部の実施形態では、癌は肺癌または子宮内膜癌である。一部の実施形態では、少なくとも３、少なくとも３ホモ（７５％超の均一性）または少なくとも３ヘテロ（２５～７５％の均一性）のスコアは、低下させた用量の活性作用物質が投与されるべきであることを示す。一部の実施形態では、癌は肺癌、子宮内膜癌、または卵巣癌である。

【００５８】

一部の実施形態では、少なくとも１のスコアはＦＯＬＲ１の増加した発現を示す。一部の実施形態では、少なくとも２、少なくとも２ホモ（７５％超の均一性）または少なくとも２ヘテロ（２５～７５％の均一性）のスコアは、癌が低い用量の抗ＦＯＬＲ１治療に応答する可能性があることを特定する。一部の実施形態では、癌は肺癌または子宮内膜癌である。一部の実施形態では、少なくとも３、少なくとも３ホモ（７５％超の均一性）または少なくとも３ヘテロ（２５～７５％の均一性）のスコアは、癌が低い用量の抗ＦＯＬＲ１治療に応答する可能性があることを特定する。一部の実施形態では、癌は肺癌、子宮内膜癌、または卵巣癌である。

【００５９】

一部の実施形態では、少なくとも２、少なくとも２ホモ（７５％超の均一性）または少なくとも２ヘテロ（２５～７５％の均一性）のスコアは、癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療に感受性であることを特定する。一部の実施形態では、癌は肺癌または子宮内膜癌である。一部の実施形態では、少なくとも３、少なくとも３ホモ（７５％超の均一性）または少なくとも３ヘテロ（２５～７５％の均一性）のスコアは、癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療に感受性であることを特定する。一部の実施形態では、癌は肺癌、子宮内膜癌、または卵巣癌である。

【００６０】

一部の実施形態では、少なくとも５０のＨスコアは、癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療に感受性であることを特定する。一部の実施形態では、少なくとも７５のＨスコアは、卵巣癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療に感受性であることを特定する。一部の実施形態では、少なくとも５０のＨスコアは、ＮＳＣＬＣが抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療に感受性であることを特定する。一部の実施形態では、少なくとも５０のＨスコアは、子宮内膜癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療に感受性であることを特定する。一実施形態では、Ｈ－スコアはＦＯＬＲ１－２．１抗体を用いて決定される。

【００６１】

一部の実施形態では、少なくとも３の強度を伴う卵巣腫瘍試料における少なくとも２５％のＦＯＬＲ１の膜発現は、癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療に感受性であることを特定する。一部の実施形態では、少なくとも２の強度を伴うＮＳＣＬＣ試料における少なくとも２５％のＦＯＬＲ１の膜発現は、癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療に感受性であることを特定する。一部の実施形態では、少なくとも２の強度を伴う子宮内膜腫瘍試料における少なくとも２５％のＦＯＬＲ１の膜発現は、癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療に感受性であることを特定する。一実施形態では、発現スコアはＦＯＬＲ１－２．１抗体を用いて決定される。

【００６２】

一部の実施形態では、参照試料は陽性の参照試料または陰性の参照試料である。一部の実施形態では、参照試料は細胞、細胞のペレットまたは組織を含む。

【００６３】

一部の実施形態では、抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドは、酵素、蛍光団

、放射性標識及び発光団から成る群から選択される検出試薬を含む。一部の実施形態では、検出試薬は、ビオチン、ジゴキシゲニン、フルオレセイン、トリチウム及びローダミンから成る群から選択される。

【００６４】

一部の実施形態では、癌はＦＯＬＲ１陽性の癌である。一部の実施形態では、癌は、卵巣癌、脳腫瘍、乳癌、子宮癌、子宮内膜癌、膵臓癌、腎臓癌及び肺癌から成る群から選択される。一部の実施形態では、肺癌は非小細胞肺癌または細気管支肺胞上皮癌である。一部の実施形態では、卵巣癌は上皮性卵巣癌である。一部の実施形態では、卵巣癌は、白金耐性、再発性または難治性である。

【００６５】

一部の実施形態では、ＦＯＬＲ１の発現は少なくとも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検出される。一部の実施形態では、ＦＯＬＲ１の発現は、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。一部の実施形態では、少なくとも１つの抗体またはその抗原結合断片が固相支持体に結合される。一部の実施形態では、少なくとも１つの抗体またはその抗原結合断片がマイクロタイタープレートに結合される。

【００６６】

一部の実施形態では、少なくとも１つの追加の抗体またはその抗原結合断片は検出試薬を含む。一部の実施形態では、検出試薬は、発色性検出試薬、蛍光性検出試薬、酵素検出試薬または電気化学発光検出試薬である。一部の実施形態では、検出試薬は、西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）である。

【００６７】

一部の実施形態では、ＥＬＩＳＡはサンドイッチＥＬＩＳＡである。

【００６８】

一部の実施形態では、活性作用物質はＦＯＬＲ１抗体ｈｕＭｏｖ１９を含む。一部の実施形態では、活性作用物質は、ＦＯＬＲ１抗体ｈｕＭｏｖ１９（配列番号４５の重鎖可変領域と配列番号４７の軽鎖可変領域を含む）と、メイタンシノイドＤＭ４と、切断可能なスルホ－ＳＰＤＢリンカーを含む抗体メイタンシノイド複合体（ＩＭＧＮ８５３）である。

【００６９】

一部の実施形態では、ＦＯＬＲ１抗体ｈｕＭｏｖ１９とメイタンシノイドＤＭ４とスルホ－ＳＰＤＢリンカーとを含む抗体メイタンシノイド複合体（ＩＭＧＮ８５３）による治療に癌が応答する可能性があることを特定する方法は、ＩＨＣアッセイにて配列番号２７のアミノ酸を含む重鎖と配列番号２８のアミノ酸を含む軽鎖を含む抗体を用いてＦＯＬＲ１を測定することを含み、その際、少なくとも２ヘテロのスコアは癌が治療に応答する可能性があることを示す。

【００７０】

一部の実施形態では、癌がＦＯＬＲ１抗体ｈｕＭｏｖ１９とメイタンシノイドＤＭ４とスルホ－ＳＰＤＢリンカーとを含む抗体メイタンシノイド複合体（ＩＭＧＮ８５３）による治療に応答することが可能であることを特定する方法は、ＩＨＣアッセイにて配列番号２７のアミノ酸を含む重鎖と配列番号２８のアミノ酸を含む軽鎖を含む抗体を用いてＦＯＬＲ１を測定することを含み、その際、少なくとも１のスコアは癌が治療に応答する可能性があることを示す。

【００７１】

一部の実施形態では、本明細書で提供される製造物品は、本明細書で記載される抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む治療用活性作用物質と、容器と、ＦＯＬＲ１の増加した発現を特徴とする癌を治療するのに該活性作用物質を使用することができることを示す添付文書またはラベルとを含む。本明細書で提供される製造物品は、本明細書で記載される抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む治療用活性作用物質と、容器と、本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチド、または組成物を用いて

測定される２または３のレベルでのＦＯＬＲ１の発現を特徴とする癌を治療するのに該活性作用物質を使用することができることを示す添付文書またはラベルとを含む。一部の実施形態では、活性作用物質の抗ＦＯＬＲ１抗体は細胞毒素に結合される。一部の実施形態では、添付文書またはラベルは、少なくとも１のレベルでのＦＯＬＲ１の発現を特徴とする癌を治療するのに活性作用物質を使用することができることを示す。一部の実施形態では、添付文書またはラベルは、少なくとも２、少なくとも２ホモ（７５％超の均一性）または少なくとも２ヘテロ（２５～７５％の均一性）のレベルでのＦＯＬＲ１の発現を特徴とする癌を治療するのに活性作用物質を使用することができることを示す。一部の実施形態では、癌は肺癌または子宮内膜癌である。一部の実施形態では、添付文書またはラベルは、少なくとも３、少なくとも３ホモ（７５％超の均一性）または少なくとも３ヘテロ（２５～７５％の均一性）のレベルでのＦＯＬＲ１の発現を特徴とする癌を治療するのに活性作用物質を使用することができることを示す。一部の実施形態では、癌は肺癌、子宮内膜癌または卵巣癌である。

【００７２】

一部の実施形態では、本明細書で提供される併用診断医薬キットは、診断で使用するための本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチド、または組成物と、治療で使用するための抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質とを含む。一部の実施形態では、検出抗体はＩＨＣによってＦＯＬＲ１の発現を検出することができる。一部の実施形態では、検出抗体はＥＬＩＳＡによってＦＯＬＲ１の発現を検出することができる。一部の実施形態では、活性作用物質における抗ＦＯＬＲ１抗体は細胞毒素に結合される。

【００７３】

一部の実施形態では、本明細書で提供される診断用キットは、本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片またはポリペプチドと、免疫組織化学法（ＩＨＣ）のための試薬と、１以上の標準化された参照試料とを含み、その際、標準化された参照試料は、細胞、細胞ペレットまたはホルマリン固定され、パラフィン包埋された組織試料を含み、１以上の標準化された参照試料は、ＦＯＬＲ１を発現しない、低いＦＯＬＲ１を発現するまたは高いＦＯＬＲ１を発現する細胞、細胞ペレットまたは組織に由来する。

【００７４】

一部の実施形態では、試料にて脱落したＦＯＬＲ１を検出するための免疫アッセイキットは、（ａ）本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物と、（ｂ）検出試薬とを含む。一部の実施形態では、キットはさらに捕捉試薬のための固相支持体を含む。一部の実施形態では、捕捉試薬は固相支持体に不動化される。一部の実施形態では、捕捉試薬はマイクロタイタープレートに被覆される。一部の実施形態では、検出試薬は第２のＦＯＬＲ１抗体である。一部の実施形態では、検出試薬は、種特異的な抗体を用いて検出される。一部の実施形態では、キットはさらに検出試薬のための検出手段を含む。一部の実施形態では、検出手段は比色分析である。一部の実施形態では、キットはさらに抗原標準としてのＦＯＬＲ１ポリペプチドを含む。一部の実施形態では、ＦＯＬＲ１ポリペプチドは、ＦＯＬＲ１－Ｆｃである。

【００７５】

活性作用物質も本明細書で提供される。一部の実施形態では、活性作用物質は、癌を治療する方法で使用するための抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含み、その際、前記活性作用物質は癌を有する対象に投与され、ＦＯＬＲ１の増加した発現は、本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いて、前記対象から得られた癌性試料にて検出されている。

【００７６】

一部の実施形態では、活性作用物質は、（ａ）患者から得られた癌性試料におけるＦＯＬＲ１発現の検出からＦＯＬＲ１の発現スコアを決定し、その際、検出は本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いて実施されることと、（ｂ）該スコアが患者は活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示すのであれ

ば、抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質を患者に投与することとを含む、癌を治療する方法において使用するための抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む。

【００７７】

一部の実施形態では、活性作用物質は、（ａ）患者から得られた癌性試料におけるＦＯＬＲ１発現の検出からＦＯＬＲ１の発現スコアを決定し、検出は本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いて実施されることと、（ｂ）該スコアが患者は活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示すのであれば、抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質を患者に投与するようにヘルスケア提供者を指導することとを含む、癌を治療する方法において使用するための抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む。

【００７８】

一部の実施形態では、活性作用物質は、（ａ）本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いてＦＯＬＲ１の発現の検出からＦＯＬＲ１の発現スコアを決定するために癌を有する患者から得られた癌性試料を提出することと、（ｂ）該スコアが患者は活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示すのであれば、抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質を患者に投与することとを含む、癌を治療する方法において使用するための抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む。

【００７９】

一部の実施形態では、活性作用物質は、（ａ）前記患者から得られた癌性試料にてＦＯＬＲ１の発現を検出し、検出は本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いて実施されることと、（ｂ）前記癌性試料についてＦＯＬＲ１の発現スコアを決定することと、（ｃ）該スコアが患者は活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示すのであれば、抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質を患者に投与することとを含む、癌を治療する方法において使用するための抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む。

【００８０】

一部の実施形態では、活性作用物質は、（ａ）抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む、固定用量の活性作用物質を患者に投与することと、（ｂ）参照試料におけるＦＯＬＲ１のレベルに比べた患者から得られた癌性試料におけるＦＯＬＲ１の発現レベルを検出し、その際、検出は本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いて実施されることと、（ｃ）患者のＦＯＬＲ１のレベルが上昇しているのであれば、その後の固定用量の量または回数を増やすこととを含む、癌を治療する方法において使用するための抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む。

【００８１】

一部の実施形態では、活性作用物質は、（ａ）癌を有する対象に由来する癌性試料におけるＦＯＬＲ１の増加した発現が本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いて検出されている前記対象に抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む、高い用量の活性作用物質を投与すること、または（ｂ）癌を有する対象に由来する癌性試料におけるＦＯＬＲ１の低下した発現が検出されている前記対象に、低下させた用量の活性作用物質を投与することを含む、前記活性作用物質の治療計画を最適化するステップを含む、癌を治療する方法において使用するための抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む。

【００８２】

一部の実施形態では、活性作用物質は、（ａ）本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いて前記対象に由来する癌性試料におけるＦＯＬＲ１発現のレベルを検出することと、（ｂ）前記癌性試料についてＦＯＬＲ１発現のスコアを決定することと、（ｃ）スコアが低ければ、抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む、高い用量の活性作用物質を対象に投与し、またはスコアが高ければ低下させた

用量の活性作用物質を投与することとを含む、前記活性作用物質の治療計画を最適化するステップを含む、癌を治療する方法において使用するための抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む。

【００８３】

一部の実施形態では、活性作用物質は癌を治療する方法において使用するための抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含み、その際、癌患者におけるＦＯＬＲ１を発現する癌細胞は減少し、（ａ）患者から得られた癌性試料におけるＦＯＬＲ１のレベルは、本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いて参照試料におけるＦＯＬＲ１のレベルとそれを比較することによって検出され、且つ（ｂ）患者のＦＯＬＲ１のレベルが上昇しているのであれば、固定用量の活性作用物質が患者に投与され、活性作用物質の投与は患者におけるＦＯＬＲ１発現癌細胞の数を低下させる。

【００８４】

一部の実施形態では、活性作用物質は癌を治療する方法において使用するための抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含み、その際、癌患者におけるＦＯＬＲ１を発現する癌細胞は減少し、（ａ）固定用量の活性作用物質が癌を有する患者に投与され、（ｂ）患者から得られた癌性試料におけるＦＯＬＲ１のレベルは、本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いて、参照試料におけるＦＯＬＲ１のレベルに比べて検出され、（ｃ）参照試料に比べて患者のＦＯＬＲ１のレベルが上昇しているのであれば、その後の固定用量の量または回数を増やし、活性作用物質の投与は患者におけるＦＯＬＲ１発現癌細胞の数を低下させる。

【００８５】

モニタリング方法及び診断方法で使用するための抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片も本明細書で提供される。一部の実施形態では、患者における活性作用物質の固定用量の治療有効性のモニタリング方法で使用するための抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片は、（ａ）癌を有する患者に由来する生体試料にて本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いて、第１のＦＯＬＲ１のレベルを検出することと、（ｂ）固定用量の活性作用物質を患者に投与することと、（ｃ）活性作用物質の投与に続いて患者に由来する生体試料にて第２のＦＯＬＲ１のレベルを検出し、その際、検出は本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いて実施されることと、（ｄ）第２のＦＯＬＲ１のレベルを第１のＦＯＬＲ１のレベルと比べることとを含み、その際、第１のＦＯＬＲ１のレベルと第２のＦＯＬＲ１のレベルとの間での低下は治療有効性を示す。

【００８６】

一部の実施形態では、癌を有する対象が低用量の抗ＦＯＬＲ１治療計画に応答する可能性があるかどうかを診断する方法で使用するための抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片は、（ａ）前記癌に由来する細胞を含む生体試料を本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物に接触させることと、（ｂ）（ａ）の生体試料への前記抗体、抗原結合断片またはポリペプチドの結合を検出することと、（ｃ）ステップ（ｂ）の前記結合に対してスコアを割り当て、その際、前記スコアが１以上の参照試料との比較に基づいて割り当てられることと、（ｄ）ステップ（ｃ）の前記スコアを参照組織または参照細胞のスコアと比較することとを含み、その際、正常な若しくは低いＦＯＬＲ１を発現する参照試料についてのスコアよりも大きい前記癌のＦＯＬＲ１レベルについてのスコア、または高いＦＯＬＲ１を発現する参照試料についてのスコアと等しい若しくはそれよりも大きい前記癌のＦＯＬＲ１レベルについてのスコアは、癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む低い用量の活性作用物質に応答する可能性のあることを特定する。

【００８７】

一部の実施形態では、癌が抗ＦＯＬＲ１療法による治療に感受性であるかどうかを診断する方法で使用するための抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片は、（ａ）前記癌に由来する癌性試料にて、本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドま

たは組成物を用いてＦＯＬＲ１の発現のレベルを検出し、その際、前記検出は、１以上の参照試料における染色強度または染色均一性と比べてＦＯＬＲ１を発現する癌性試料における染色強度または染色均一性の間を区別する方法の使用を含むことと、（ｂ）前記癌性試料についてＦＯＬＲ１の染色強度または染色均一性のスコアを決定することと、（ｃ）少なくとも１つの参照試料にてＦＯＬＲ１タンパク質発現を測定することによって決定された相対値に対してステップ（ｂ）で決定されたＦＯＬＲ１の染色強度または染色均一性のスコアを比較することとを含み、その際、少なくとも１つの参照試料は抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療に感受性ではない組織、細胞、細胞ペレットの試料であり、前記相対値よりも高い、ステップ（ｂ）で決定された前記癌性試料についてのＦＯＬＲ１の染色強度スコアは、前記癌が活性作用物質による治療に感受性であることを特定する。

【００８８】

一部の実施形態では、（ａ）前記癌に由来する癌性試料にて、本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物を用いてＦＯＬＲ１の発現のレベルを検出し、その際、前記検出は、１以上の参照試料における染色強度または染色均一性と比べてＦＯＬＲ１を発現する癌性試料における染色強度または染色均一性の間を区別する方法の使用を含むことと、（ｂ）前記癌性試料についてＦＯＬＲ１の染色強度または染色均一性のスコアを決定することと、（ｃ）少なくとも１つの参照試料にてＦＯＬＲ１タンパク質発現を測定することによって決定された相対値に対してステップ（ｂ）で決定されたＦＯＬＲ１の染色強度または染色均一性のスコアを比較することとを含み、その際、少なくとも１つの参照試料は抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療に感受性である組織、細胞、細胞ペレットの試料であり、前記相対値よりも高い、ステップ（ｂ）で決定された前記癌性試料についてのＦＯＬＲ１の染色強度スコアは、前記癌が活性作用物質による治療に感受性であることを特定する、癌が抗ＦＯＬＲ１療法による治療に感受性であるかどうかを診断する方法で使用するための抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片。

【００８９】

一部の実施形態では、活性作用物質または抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片の使用はさらに、癌性試料または生体試料が得られた対象に抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質を投与することを含む。

【００９０】

一部の実施形態では、癌性試料または生体試料は体液、細胞または組織の試料である。一部の実施形態では、細胞は循環している腫瘍細胞である。一部の実施形態では、体液は血液、腹水、尿、血漿、血清または末梢血である。

【００９１】

活性作用物質または抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片の一部の実施形態では、検出は酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）による及び／または免疫組織化学法（ＩＨＣ）による。一部の実施形態では、ＩＨＣは異なるレベルのＦＯＬＲ１の発現を区別することができる較正ＩＨＣである。一部の実施形態では、ＩＨＣは低いＦＯＬＲ１の細胞表面発現、中程度のＦＯＬＲ１の細胞表面発現または高いＦＯＬＲ１の細胞表面発現を有する試料について様々な染色強度を生じる。一部の実施形態では、ＩＨＣは、参照試料と比べてＦＯＬＲ１を発現している癌性試料または生体試料にて染色強度と染色均一性の間を区別する。一部の実施形態では、ＩＨＣは手動で実施される。一部の実施形態では、ＩＨＣは自動化されたシステムを用いて実施される。一部の実施形態では、ＦＯＬＲ１のスコアはＩＨＣから決定される。一部の実施形態では、本明細書で記載される抗体またはその抗原結合断片によるＩＨＣは高いＦＯＬＲ１の発現を有する細胞、特に２以上の染色のレベルの範囲内であるものについて様々な染色を生じる。

【００９２】

一部の実施形態では、少なくとも２のスコアは、患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す。一部の実施形

態では、少なくとも２ホモ（７５％超の均一性）または少なくとも２ヘテロ（２５～７５％の均一性）のスコアは、患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す。一部の実施形態では、癌は肺癌または子宮内膜癌である。

【００９３】

一部の実施形態では、少なくとも３のスコアは、患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す。一部の実施形態では、少なくとも３ホモ（７５％超の均一性）または少なくとも３ヘテロ（２５～７５％の均一性）のスコアは、患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す。一部の実施形態では、癌は肺癌、子宮内膜癌または卵巣癌である。

【００９４】

一部の実施形態では、少なくとも２のスコアは、患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す。一部の実施形態では、少なくとも２ホモ（７５％超の均一性）または少なくとも２ヘテロ（２５～７５％の均一性）のスコアは、患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質を投与から利益を得るであろうことを示す。一部の実施形態では、癌は肺癌、子宮内膜癌または卵巣癌である。

【００９５】

一部の実施形態では、少なくとも２のスコアは、低下させた用量の活性作用物質が投与されるべきであることを示す。一部の実施形態では、少なくとも２ホモ（７５％超の均一性）または少なくとも２ヘテロ（２５～７５％の均一性）のスコアは低下させた用量の活性作用物質が投与されるべきであることを示す。一部の実施形態では、癌は肺癌、子宮内膜癌または卵巣癌である。

【００９６】

一部の実施形態では、少なくとも２のスコアは、癌が低用量の抗ＦＯＬＲ１治療に応答する可能性があることを特定する。一部の実施形態では、少なくとも２ホモ（７５％超の均一性）または少なくとも２ヘテロ（２５～７５％の均一性）のスコアは、癌が低用量の抗ＦＯＬＲ１治療に応答する可能性があることを特定する。一部の実施形態では、癌は肺癌または子宮内膜癌である。

【００９７】

一部の実施形態では、少なくとも３のスコアは、癌が低用量の抗ＦＯＬＲ１治療に応答する可能性があることを特定する。一部の実施形態では、少なくとも３ホモ（７５％超の均一性）または少なくとも３ヘテロ（２５～７５％の均一性）のスコアは、癌が低用量の抗ＦＯＬＲ１治療に応答する可能性があることを特定する。一部の実施形態では、癌は肺癌、子宮内膜癌または卵巣癌である。

【００９８】

一部の実施形態では、少なくとも２のスコアは、癌が低用量の抗ＦＯＬＲ１治療に応答する可能性があることを特定する。一部の実施形態では、少なくとも２ホモ（７５％超の均一性）または少なくとも２ヘテロ（２５～７５％の均一性）のスコアは、癌が低用量の抗ＦＯＬＲ１治療に応答する可能性があることを特定する。一部の実施形態では、癌は肺癌、子宮内膜癌または卵巣癌である。

【００９９】

一部の実施形態では、少なくとも２のスコアは、癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療に感受性であることを特定する。一部の実施形態では、少なくとも２ホモ（７５％超の均一性）または少なくとも２ヘテロ（２５～７５％の均一性）のスコアは、癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療に感受性であることを特定する。一部の実施形態では、癌は肺癌、または子宮内膜癌である。

【０１００】

一部の実施形態では、少なくとも３のスコアは、癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療に感受性であることを特定する。一部の実施形態では、少なくとも３ホモ（７５％超の均一性）または少なくとも３ヘテロ（２５～７５％の均一性）のスコアは、癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療に感受性であることを特定する。一部の実施形態では、癌は肺癌、子宮内膜癌または卵巣癌である。

【０１０１】

一部の実施形態では、少なくとも２のスコアは、癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療に感受性であることを特定する。一部の実施形態では、少なくとも２ホモ（７５％超の均一性）または少なくとも２ヘテロ（２５～７５％の均一性）のスコアは、癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療に感受性であることを特定する。一部の実施形態では、癌は肺癌、子宮内膜癌または卵巣癌である。

【０１０２】

一部の実施形態では、参照試料は陽性の参照試料または陰性の参照試料である。一部の実施形態では、参照試料は細胞、細胞ペレットまたは組織を含む。

【０１０３】

本明細書で提供される使用のための活性作用物質または抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片の一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体、抗原結合断片またはポリペプチドはさらに酵素、蛍光団、放射性標識及び発光団から成る群から選択される検出試薬を含む。一部の実施形態では、検出試薬はビオチン、ジゴキシゲニン、フルオレセイン、トリチウム及びローダミンから成る群から選択される。

【０１０４】

本明細書で提供される使用のための活性作用物質または抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片の一部の実施形態では、癌はＦＯＬＲ１陽性の癌である。一部の実施形態では、癌は、卵巣癌、脳腫瘍、乳癌、子宮癌、子宮内膜癌、膵臓癌、腎臓癌及び肺癌から成る群から選択される。一部の実施形態では、肺癌は非小細胞肺癌または細気管支肺胞上皮癌である。一部の実施形態では、卵巣癌は上皮性卵巣癌である。一部の実施形態では、卵巣癌は、白金耐性、再発性または難治性である。

【０１０５】

本明細書で提供される使用のための活性作用物質または抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片の一部の実施形態では、ＦＯＬＲ１の発現は少なくとも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検出される。一部の実施形態では、ＦＯＬＲ１の発現は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。一部の実施形態では、少なくとも１つの抗体またはその抗原結合断片が固相支持体に結合される。一部の実施形態では、少なくとも１つの抗体またはその抗原結合断片がマイクロタイタープレートに結合される。一部の実施形態では、少なくとも１つの抗体またはその抗原結合断片が検出試薬を含む。一部の実施形態では、検出試薬は、発色性検出試薬、蛍光性検出試薬、酵素性検出試薬、または電気化学発光検出試薬である。一部の実施形態では、検出試薬は西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）である。一部の実施形態では、ＥＬＩＳＡはサンドイッチＥＬＩＳＡである。

【０１０６】

本明細書で提供される使用のための活性作用物質または抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片の一部の実施形態では、活性作用物質はＦＯＬＲ１抗体ｈｕＭｏｖ１９を含むまたはＦＯＬＲ１抗体ｈｕＭｏｖ１９である。一部の実施形態では、活性作用物質はさらにメイタンシノイドＤＭ４と切断可能なスルホ－ＳＰＤＢリンカーを含む抗体メイタンシノイド複合体（ＩＭＧＮ８５３）として投与される。

【０１０７】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体、抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物は診断剤として使用するためのものである。

【０１０８】
一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体、抗原結合断片、ポリペプチドまたは組成物は、癌を患う患者にてそれを診断する方法において使用するためのものである。一部の実施形態では、癌は上昇したレベルのＦＯＬＲ１に関連する。
【０１０９】
一部の実施形態では、抗体、抗原結合断片、またはポリペプチドの結合親和性は実施例３で得られる及び／または図４、５及び／または６で示される結合親和性である。
【図面の簡単な説明】
【０１１０】
【図１】３５３．２－１抗体及び３５３．９－２０抗体を用いたＮＳＣＬＣ及び卵巣類内膜腺癌の試料のＩＨＣ染色の画像である。
【図２】３５３．２－１抗体及び３５３．９－２０抗体を用いた正常な唾液腺及び膵臓の試料のＩＨＣ染色の画像である。
【図３】３５３．９－２１、３５３．２－１、３５３．３－８及び３５３．５－７の抗体を用いた細胞溶解物のウエスタンブロットの画像である。
【図４Ａ】図４は、蛍光活性化細胞選別器（ＦＡＣＳ）を用いた変性ＫＢ細胞（Ａ）及び非変性Ｔ４７Ｄ細胞（Ｂ）への３５３．２－１、３５３．３－１、３５３．５－７及び３５３．９－２１の抗体の結合を示すグラフである。
【図４Ｂ】図４は、蛍光活性化細胞選別器（ＦＡＣＳ）を用いた変性ＫＢ細胞（Ａ）及び非変性Ｔ４７Ｄ細胞（Ｂ）への３５３．２－１、３５３．３－１、３５３．５－７及び３５３．９－２１の抗体の結合を示すグラフである。
【図５】ＥＬＩＳＡを用いた組換えヒトＦＯＬＲ１への３５３．２－１、３５３．３－１、３５３．５－７及び３５３．９－２１の抗体の結合を示すグラフである。
【図６Ａ】図６は、ＥＬＩＳＡによるＦＯＬＲ２への抗ＦＯＬＲ２抗体及び３５３．２－１、３５３．３－１、３５３．５－７及び３５３．９－２１の抗体の結合（Ａ）及びＦＯＬＲ３への抗ＦＯＬＲ３抗体及び３５３．２－１、３５３．３－１、３５３．５－７及び３５３．９－２１の抗体の結合（Ｂ）を示すグラフである。
【図６Ｂ】図６は、ＥＬＩＳＡによるＦＯＬＲ２への抗ＦＯＬＲ２抗体及び３５３．２－１、３５３．３－１、３５３．５－７及び３５３．９－２１の抗体の結合（Ａ）及びＦＯＬＲ３への抗ＦＯＬＲ３抗体及び３５３．２－１、３５３．３－１、３５３．５－７及び３５３．９－２１の抗体の結合（Ｂ）を示すグラフである。
【図７】ＥＬＩＳＡによる、脱グリコシル化し、未処理の組換えヒトＦＯＬＲ１への抗ＦＯＬＲ１抗体２．１及びｈｕＭｏｖ１９の結合を示すグラフである。
【図８】ウエスタンブロット解析による、ＫＢ細胞及びＩｇｒｏｖ－１細胞の脱グリコシル化し、未処理の溶解物への抗ＦＯＬＲ１抗体２．１、ｈｕＭｏｖ１９及びＢＮ３．２の結合を示す図である。
【図９】抗ＦＯＬＲ１ＦＲＩＨＣ２－１抗体の表面再構成のための関連するアミノ酸及び各残基に相当するカバット位置を示す表である。
【図１０】表面再構成のためのマウスの及びヒト化されたＦＲＩＨＣ２－１抗体の配列の配列比較を示す図である。マウスの重鎖及び軽鎖の配列はそれぞれ配列番号２７及び配列番号２８に相当する。表面再構成されたヒト化重鎖配列は配列番号６２に相当し、表面再構成されたヒト軽鎖バージョン１．０及びバージョン１．１の配列はそれぞれ配列番号６３及び配列番号６４に相当する。軽鎖配列におけるリーダー「Ｓ」（フレームワーク位置－１）はヒト化には考慮されず、ヒト化抗体配列では使用されないので図には示されない。
【図１１】抗ＦＯＬＲ１ＦＲＩＨＣ２－１抗体のＣＤＲ移植のための関連するアミノ酸及び各残基に相当するカバット位置を示す表である。
【図１２】ＣＤＲ移植のためのマウスの及びヒト化されたＦＲＩＨＣ２－１の配列の配列比較を示す図である。マウスの重鎖及び軽鎖の配列はそれぞれ配列番号２７及び配列番号２８に相当する。移植されたヒト化重鎖配列は配列番号６５に相当し、移植されたヒト軽

鎖バージョン１．０及びバージョン１．１の配列はそれぞれ配列番号６６及び配列番号６７に相当する。軽鎖配列におけるリーダー「Ｓ」（フレームワーク位置－１）はヒト化には考慮されず、ヒト化抗体配列では使用されないので図には示されない。
【図１３】種々の希釈でのＦＯＬＲ－２．１（３５３－２．１）抗体を用いた肺腺癌組織のＩＨＣ染色の画像である。
【図１４Ａ】図１４は、ＦＯＬＲ－２．１（３５３－２．１）抗体を用いた陽性の正常の組織（卵管）（Ａ）及び細胞（ＦＯＬＲ１を形質移入した細胞（Ｂ））及び陰性の細胞（形質移入しなかった細胞（Ｃ））のＩＨＣ染色の画像である。
【図１４Ｂ】図１４は、ＦＯＬＲ－２．１（３５３－２．１）抗体を用いた陽性の正常の組織（卵管）（Ａ）及び細胞（ＦＯＬＲ１を形質移入した細胞（Ｂ））及び陰性の細胞（形質移入しなかった細胞（Ｃ））のＩＨＣ染色の画像である。
【図１４Ｃ】図１４は、ＦＯＬＲ－２．１（３５３－２．１）抗体を用いた陽性の正常の組織（卵管）（Ａ）及び細胞（ＦＯＬＲ１を形質移入した細胞（Ｂ））及び陰性の細胞（形質移入しなかった細胞（Ｃ））のＩＨＣ染色の画像である。
【図１５Ａ】図１５は、ＦＯＬＲ－２．１（３５３－２．１）抗体を用いた卵巣癌組織（Ａ）及び肺腺癌組織（Ｂ）の試料のＩＨＣ染色の画像である。
【図１５Ｂ】図１５は、ＦＯＬＲ－２．１（３５３－２．１）抗体を用いた卵巣癌組織（Ａ）及び肺腺癌組織（Ｂ）の試料のＩＨＣ染色の画像である。
【図１６】ＦＯＬＲ１－２．１アッセイによる子宮内膜癌試料における腫瘍細胞の膜染色を示す画像である。間質細胞は染色されない。
【図１７】（Ａ）ＦＯＬＲ１－２．１アッセイと（Ｂ）ＢＮ３．２アッセイの間での染色及びスコア化の差異の比較を示す図である。
【発明を実施するための形態】
【０１１１】
本開示は、膜ＦＯＬＲ１、脱落したＦＯＬＲ１及び循環する腫瘍細胞上のＦＯＬＲ１を含むヒト葉酸受容体１（ＦＯＬＲ１）を検出する方法、並びにＦＯＬＲ１の過剰発現を特徴とする癌の治療に応答する有効性または可能性を改善する方法を提供する。検出方法は臨床的に関連するダイナミック・レンジのＦＯＬＲ１を検出することができるので、患者の階層化に使用してＦＯＬＲ１の過剰発現を特徴とする癌の治療に応答する治療上の有効性または可能性をモニターするまたは決定することができる。ＦＯＬＲ１の検出方法（たとえば、膜結合の及び細胞に会合したＦＯＬＲ１のためのＩＨＣ）にて有用である抗体のような新規のＦＯＬＲ１結合ポリペプチドも開示される。ＦＯＬＲ１結合作用物質を含む関連するポリペプチド及びポリヌクレオチド、組成物、並びにＦＯＬＲ１結合作用物質を作製する方法も提供される。
【０１１２】
Ｉ．定義
本発明の理解を円滑にするために多数の用語及び語句を以下で定義する。
【０１１３】
用語「ヒト葉酸受容体１」、「ＦＯＬＲ１」または「葉酸受容体α（ＦＲ－α）」は本明細書で使用されるとき、特に指示されない限り、いずれのネイティブのヒトＦＯＬＲ１をも指す。従って、これらの用語すべては本明細書で指示されるようなタンパク質または核酸の配列を指すことができる。用語「ＦＯＬＲ１」は「完全長の」処理されていないＦＯＬＲ１ならびに細胞内でのプロセシングから生じるＦＯＬＲ１の任意の形態を包含する。その用語はまた、ＦＯＬＲ１タンパク質または核酸の天然に存在する変異体、たとえば、スプライス変異体、対立遺伝子変異体及びアイソフォームも包含する。本明細書で記載されるＦＯＬＲ１ポリペプチド及びポリヌクレオチドは、種々の供給源から、たとえば、ヒトの組織型からまたは別の供給源から単離することができ、または組換え法若しくは合成法によって調製される。ＦＯＬＲ１配列の例にはＮＣＢＩ参照番号Ｐ１５３２８、ＮＰ＿００１０９２２４２．１、ＡＡＸ２９２６８．１、ＡＡＸ３７１１９．１、ＮＰ＿０５７９３７．１、及びＮＰ＿０５７９３６．１が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１１４】
用語「脱落した抗原」及び「脱落したＦＯＬＲ１」は本明細書では相互交換可能に使用される。これらの用語は可溶性であり、細胞に会合していないＦＯＬＲ１タンパク質を指す。一部の実施形態では、それには、細胞外ドメイン（ＥＣＤ）及びグリコシルホスファチジルイノシトール（ＧＰＩ）リンカーが含まれる。一実施形態では、脱落したＦＯＬＲ１にはＥＣＤのみが含まれる。ＦＯＬＲ１タンパク質には、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）及び切断することができるプロペプチド（アミノ酸２３５～２５７）が含まれる。成熟ＦＯＬＲ１タンパク質はシグナルペプチドを欠く。脱落したＦＯＬＲ１は、アミノ酸１～２５７、１～２３３、１～２３４、２５～２３３、２５～２３４、またはそれらのいかなる他の断片をも含むことができる。一部の実施形態では、シグナル配列は切断される。他の実施形態では、ＥＣＤ及びＧＰＩのタンパク質は膜に埋め込まれることができる（たとえば、可溶性の脂質ラフト）。一実施形態では、脱落したＦＯＬＲ１はアミノ酸１～２３３またはその断片を含むことができる。

【０１１５】
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介して、たとえば、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、脂質または前述の組み合わせのような標的を認識し、それに特異的に結合する免疫グロブリン分子を意味する。本明細書で使用されるとき、用語「抗体」は、インタクトなポリクローナル抗体、インタクトなモノクローナル抗体、抗体断片（たとえば、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２及びＦｖ断片）、単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）変異体、多重特異性抗体、たとえば、二重特異性抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、抗体の抗原決定部位を含む融合タンパク質、抗体が所望の生物活性を示す限り、抗原認識部位を含むいかなる他の修飾された免疫グロブリン分子をも包含する。抗体は、それぞれα、δ、ε、γ及びμと呼ばれる重鎖定常領域の固有性に基づいて免疫グロブリンの５つの主要なクラス：ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ及びＩｇＭ、またはそのサブクラス（アイソタイプ）（たとえば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１及びＩｇＡ２）のいずれかであることができる。異なるクラスの免疫グロブリンは異なる周知のサブユニット構造及び三次元構造を有する。抗体はネイキッドであることができ、または毒素、放射性同位元素等のような他の分子に結合され得る。

【０１１６】
一部の実施形態では、抗体は天然に存在しない抗体である。一部の実施形態では、抗体は天然成分から精製される。一部の実施形態では、抗体は組換えで作出される。一部の実施形態では、抗体はハイブリドーマによって産生される。

【０１１７】
「ブロッキング」抗体または「アンタゴニスト」抗体は、それが結合する抗原、たとえば、ＦＯＬＲ１の生物活性を阻害するまたは低下させるものである。ある特定の実施形態では、ブロッキング抗体またはアンタゴニスト抗体は抗原の生物活性を実質的にまたは完全に阻害する。望ましくは、生物活性は、１０％、２０％、３０％、５０％、７０％、８０％、９０％、９５％、または１００％さえも低下させられる。

【０１１８】
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及び／または治療剤として有用であるように十分な親和性でＦＯＬＲ１に結合することが可能である抗体を指す。別段特定されない限り、無関係の非ＦＯＬＲ１タンパク質への抗ＦＯＬＲ１抗体の結合の程度は、たとえば、放射性免疫アッセイ（ＲＩＡ）によって測定するとき、ＦＯＬＲ１への抗体の結合の約１０％未満である。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。ＦＯＬＲ１抗体の例は当該技術で周知であり、それぞれ参照によって本明細書に組み入れ

られる米国特許出願公開第２０１２／０００９１８１号及び同第２０１２／０２８２１７５号及び米国仮特許出願第６１／６９５，７９１号及び同第６１／７５６，２５４号及びＰＣＴ公開ＷＯ２０１１／１０６５２８にて開示されている。抗ＦＯＬＲ１抗体及びその抗原結合断片の配列は表１～８にて提供される。

【０１１９】

用語「抗体断片」はインタクトな抗体の一部を指し、インタクトな抗体の抗原決定可変領域を指す。抗体断片の例にはＦａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、及びＦｖ断片、線形抗体、単鎖抗体、及び抗体断片から形成される多重特異性抗体が挙げられるが、これらに限定されない。用語、抗体の「抗原結合断片」には、抗原に特異的に結合する能力を保持する抗体の１以上の断片が挙げられる。抗体の抗原結合機能は完全長抗体のある特定の断片によって実施することができることが示されている。抗体の用語「抗原結合断片」の範囲内に包含される結合断片の例には、（限定しないで）（ｉ）ＶＬ、ＶＨ、ＣＬ及びＣＨ１のドメインから成るＦａｂ断片、一価の断片（たとえば、パパインによって消化された抗体は３つの断片：２つの抗原結合Ｆａｂ断片と抗原に結合しない１つのＦｃ断片を生じる）；（ｉｉ）ヒンジ領域にてジスルフィド結合によって連結される２つのＦａｂ断片を含む二価の断片であるＦ（ａｂ’）$_2$断片（たとえば、ペプシンによって消化された抗体は２つの断片：二価の抗原結合Ｆ（ａｂ’）$_2$断片と抗原に結合しないｐＦｃ’断片を生じる）及びその関連するＦ（ａｂ’）一価単位；（ｉｉｉ）ＶＨドメインとＣＨ１ドメインとから成るＦｄ断片（すなわち、Ｆａｂに含まれる重鎖のその部分）；（ｉｖ）抗体の単一アームのＶＬ及びＶＨのドメインから成るＦｖ断片、及び関連するジスルフィド結合したＦｖ；（ｖ）ＶＨドメインから成るｄＡｂ（ドメイン抗体）またはｓｄＡｂ（単一ドメイン抗体）の断片（Ｗａｒｄら，Ｎａｔｕｒｅ，３４１：５４４－５４６，１９８９）；並びに（ｖｉ）単離された相補性決定領域（ＣＤＲ）が挙げられる。

【０１２０】

「モノクローナル抗体」は、単一の抗原決定基またはエピトープの高度に特異的な認識と結合に関与する均質な抗体集団を指す。これは、通常様々な抗原決定基に向けられた様々な抗体を含むポリクローナル抗体とは対照的である。用語「モノクローナル抗体」は、インタクトなモノクローナル抗体と完全長のモノクローナル抗体の双方ならびに抗体断片（たとえば、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ）、単鎖（ｓｃＦｖ）変異体、抗体部分を含む融合タンパク質、及び抗原認識部位を含む任意の他の修飾された免疫グロブリン分子を包含する。さらに「モノクローナル抗体」は、ハイブリドーマ、ファージ選択、組換え発現及びトランスジェニック動物を含むが、これらに限定されない幾つもの方法で作製されるような抗体を指す。

【０１２１】

用語「ヒト化抗体」は、最少限の非ヒト（たとえば、マウス）の配列を含有する特異的な免疫グロブリン鎖、キメラ免疫グロブリンまたはその断片である非ヒト（たとえば、マウス）抗体の形態を指す。通常、ヒト化抗体は、相補性決定領域（ＣＤＲ）の残基が、所望の特異性、親和性及び能力を有する非ヒト種（たとえば、マウス、ラット、ウサギ、ハムスター）のＣＤＲに由来する残基で置き換えられるヒト免疫グロブリンである（Ｊｏｎｅｓら，１９８６，Ｎａｔｕｒｅ，３２１：５２２－５２５；Ｒｉｅｃｈｍａｎｎら，１９８８，Ｎａｔｕｒｅ，３３２：３２３－３２７；Ｖｅｒｈｏｅｙｅｎら，１９８８，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２３９：１５３４－１５３６）。一部の例では、ヒト免疫グロブリンのＦｖフレームワーク領域（ＦＲ）の残基が、所望の特異性、親和性及び能力を有する非ヒト種に由来する抗体の相当する残基によって置き換えられる。ヒト化抗体は、Ｆｖフレームワーク領域にて及び／または置き換えられた非ヒト残基の範囲内で追加の残基の置換を行うことによってさらに修飾されて抗体の特異性、親和性及び／または能力を改良し、最適化することができる。一般に、ヒト化抗体は、非ヒト免疫グロブリンに相当するＣＤＲ領域のすべてまたは実質的にすべてを含有する少なくとも１つ、通常、２または３の可変ドメインの実質的にすべてを含むであろうのに対して、ＦＲ領域のすべてまたは実質的にすべてはヒト免疫グロブリンのコンセンサス配列のものである。ヒト化抗体はまた、通常ヒ

ト免疫グロブリンのものである免疫グロブリンの定常領域または定常ドメイン（Ｆｃ）の少なくとも一部を含むことができる。ヒト化抗体を生成するのに使用される方法の例は、米国特許第５，２２５，５３９号及び同第５，６３９，６４１号、Ｒｏｇｕｓｋａら，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，ＵＳＡ，９１（３）：９６９－９７３（１９９４），及びＲｏｇｕｓｋａら，Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．９（１０）：８９５－９０４（１９９６）にて記載されている。一部の実施形態では、「ヒト化抗体」は表面再構成抗体である。一部の実施形態では、「ヒト化抗体」はＣＤＲ移植抗体である。

【０１２２】

抗体の「可変領域」は、単独でまたは組み合わせで、抗体軽鎖の可変領域または抗体重鎖の可変領域を指す。重鎖及び軽鎖の可変領域はそれぞれ、超可変領域としても知られる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から成る。各鎖におけるＣＤＲは、ＦＲと非常に接近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つの技法：（１）異種間配列の多様性に基づくアプローチ（すなわち、Ｋａｂａｔら Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，（第５版，１９９１，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，Ｍｄ．））及び（２）抗原／抗体複合体の結晶学的な研究に基づくアプローチ（Ａｌ－ｌａｚｉｋａｎｉら（１９９７），Ｊ．Ｍｏｌｅｃ．Ｂｉｏｌ．２７３：９２７－９４８））がある。加えて、当該技術ではこれら２つのアプローチの組み合わせを用いてＣＤＲを決定することもある。

【０１２３】

可変ドメインの残基（近似的には軽鎖の残基１～１０７及び重鎖の残基１～１１３）を参照する場合、一般にＫａｂａｔの番号付け方式が使用される（Ｋａｂａｔら，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ．第５版．Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，Ｍｄ．（１９９１））。

【０１２４】

Ｋａｂａｔにおけるようなアミノ酸の位置の番号付けは、Ｋａｂａｔら，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆＩｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ．第５版．Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，Ｍｄ．（１９９１）における抗体を整理する際の重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインのために使用される番号付け方式を指す。この番号付け方式を用いて、実際の線形アミノ酸配列は、可変ドメインのＦＲまたはＣＤＲを縮めることまたはそれに挿入することに相当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。たとえば、重鎖可変ドメインはＨ２の残基５２の後に単一のアミノ酸挿入物（Ｋａｂａｔに従って残基５２ａ）を含むことができ、重鎖ＦＲの残基８２の後に残基を挿入することができる（Ｋａｂａｔに従って残基８２ａ、８２ｂ及び８２ｃ等）。「標準の」Ｋａｂａｔ番号付け配列との抗体の配列の相同性の領域での配列比較によって所与の抗体について残基のＫａｂａｔ番号付けを決定することができる。Ｃｈｏｔｈｉａは代わりに構造上のループの位置を参照する（Ｃｈｏｔｈｉａ及びＬｅｓｋ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１－９１７（１９８７））。Ｋａｂａｔの番号付け変換を用いて番号付けする場合、ＣｈｏｔｈｉａのＣＤＲ－Ｈ１ループの末端はループの長さに応じてＨ３２～Ｈ３４の間で変化する（これは、Ｋａｂａｔの番号付けスキームがＨ３５ＡとＨ３５Ｂにて挿入を配置するためであり、３５Ａも３５Ｂも存在しなければループは３２で終了し、３５Ａだけが存在するのであればループは３３で終了し、３５Ａと３５Ｂの双方が存在するのであればループは３４で終了する）。ＡｂＭの超可変領域はＫａｂａｔのＣＤＲとＣｈｏｔｈｉａの構造ループの間での妥協を表し、Ｏｘｆｏｒｄ ＭｏｌｅｃｕｌａｒのＡｂＭ抗体モデル化ソフトウエアによって使用される

【表１８】

ループ	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

【０１２５】
用語「ヒト抗体」はヒトによって産生される抗体またはヒトによって産生される抗体に相当するアミノ酸配列を有し、当該技術で既知の技法を用いて作製される抗体を意味する。ヒト抗体のこの定義には、インタクトなまたは完全長の抗体、その断片、及び／または少なくとも１つのヒト重鎖及び／または軽鎖のポリペプチドを含む抗体、たとえば、マウス軽鎖とヒト重鎖のポリペプチドを含む抗体が含まれる。
【０１２６】
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以上の種に由来する抗体を指す。通常、軽鎖及び重鎖双方の可変領域は所望の特異性、親和性及び能力を持つ哺乳類の種の１つ（たとえば、マウス、ラット、ウサギ等）に由来する抗体の可変領域に相当する一方で、定常領域は別の種（普通、ヒト）に由来する抗体の配列に相同であってその種において免疫応答を引き出すのを回避する。
【０１２７】
用語「エピトープ」または「抗原決定基」は本明細書では相互交換可能に使用され、特定の抗体によって認識され、特異的に結合されることが可能である抗原の部分を指す。抗原がポリペプチドである場合、エピトープはタンパク質の三次折り畳みによって並置される隣接するアミノ酸及び隣接しないアミノ酸の双方から形成されることができる。隣接するアミノ酸から形成されるエピトープは通常タンパク質の変性の際に保持されるのに対して、三次折り畳みによって形成されるエピトープはタンパク質の変性の際に失われる。エピトープは通常、独特の空間構成の中で少なくとも３、さらに普通では少なくとも５または８～１０のアミノ酸を含む。
【０１２８】
「結合親和性」は一般に、分子（たとえば、抗体）の単一の結合部位とその結合相手（たとえば、抗原）との間の非共有結合の相互作用の合計の強さを指す。特に指示されない限り、本明細書で使用されるとき、「結合親和性」は、結合対のメンバー（たとえば、抗体と抗原）間の１：１の相互作用を反映する固有の結合親和性を指す。その相手Ｙに対する分子Ｘの親和性は一般に解離定数（Ｋｄ）または５０％効果濃度（ＥＣ５０）によって表すことができる。親和性は本明細書で記載されているものを含めて当該技術で既知の一般的な方法によって測定することができる。親和性の低い抗体は一般にゆっくり抗原に結合し、迅速に解離する傾向があるのに対して親和性が高い抗体は一般に速く抗原に結合し、長く結合したままでいる傾向がある。結合親和性を測定する種々の方法が当該技術で既知であり、そのいずれかを本発明の目的に使用することができる。特定の説明に役立つ実施形態が本明細書で記載される。
【０１２９】

結合親和性を指すのに本明細書で使用されるときの「それより良好な」は分子とその結合相手との間のさらに強い結合を指す。本明細書で使用されるときの「それより良好な」はさらに小さいＫｄ数値によって表されるさらに強い結合を指す。たとえば、「０．６ｎＭ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未満、すなわち、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、Ｋｄによって決定されるような抗体の親和性は約10^{-3}～約10^{-12}Ｍの間、約10^{-6}～約10^{-11}Ｍの間、約10^{-6}～約10^{-10}Ｍの間、約10^{-6}～約10^{-9}Ｍの間、約10^{-6}～約10^{-8}Ｍの間、または約10^{-6}～約10^{-7}Ｍの間であるであろう。

【０１３０】

語句「実質的に類似する」または「実質的に同一である」は本明細書で使用されるとき、２つの数値（一般に一方が本発明の抗体に関連し、他方が参照／比較抗体に関連する）によって測定される生物学的特徴の文脈の範囲内で当業者がこの２つの値の間の差異に生物学的な及び／または統計的な有意性がほとんどないまたはないと見なすことになるような前記の値（たとえば、Ｋｄ値）の間での有意に高い程度の類似性を意味する。前記２つの値の間の差異は、参照／比較抗体の値の関数として約５０％未満、約４０％未満、約３０％未満、約２０％未満、または約１０％未満である。

【０１３１】

用語「免疫複合体」または「複合体」は本明細書で使用されるとき、細胞結合作用物質（すなわち、抗ＦＯＬＲ１抗体はその断片）に連結される化合物またはその誘導体を指し、一般式：Ａ－Ｌ－Ｃによって定義され、式中、Ｃ＝細胞毒素、Ｌ＝リンカー及びＡ＝細胞結合作用物質または抗ＦＯＬＲ１抗体または抗体断片である。免疫複合体は逆順の一般式：Ｃ－Ｌ－Ａによっても定義することができる。

【０１３２】

「リンカー」は、安定した共有結合で化合物、普通メイタンシノイドのような薬剤を抗ＦＯＬＲ１抗体またはその断片のような細胞結合作用物質に連結することが可能である任意の化学部分である。リンカーは、化合物または抗体の活性があるままの条件下で酸が誘導する切断、光が誘導する切断、ペプチダーゼが誘導する切断、エステラーゼが誘導する切断、及びジスルフィド結合の切断に感受性であることができ、または実質的に耐性であることができる。好適なリンカーは当該技術で周知であり、それには、たとえば、ジスルフィド基、チオエーテル基、酸不安定基、光不安定基、ペプチダーゼ不安定基、及びエステラーゼ不安定基が挙げられる。リンカーにはまた、本明細書で記載され、当該技術で既知であるような荷電リンカー及びその親水性形態も含まれる。

【０１３３】

「単離される」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、自然界では見いだされない形態であるポリペプチド、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、細胞または組成物には、それらがもはや自然界で存在する形態ではない程度に精製されているものが挙げられる。一部の実施形態では、単離されている抗体、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。

【０１３４】

本明細書で使用されるとき、「実質的に純粋」は少なくとも５０％純粋（すなわち、混入物を含まない）、少なくとも９０％純粋、少なくとも９５％純粋、少なくとも９８％純粋または少なくとも９９％純粋である物質を指す。

【０１３５】

用語「上昇した」ＦＯＬＲ１、ＦＯＬＲ１の「増加した発現」及びＦＯＬＲ１の「過剰発現」は上昇したレベルのＦＯＬＲ１発現を含有する試料を指す。ＦＯＬＲ１は、対照の値（たとえば、癌ではない対象に由来する生体試料、組織または細胞、ＦＯＬＲ１を発現しないまたは低く発現することが知られている試料または癌、正常な試料、または上昇したＦＯＬＲ１値を有さない癌における発現レベル）に比べて上昇する、増加するまたは過

剰発現することができる。たとえば、増加した発現の試料は、対照の値に比べて少なくとも２倍、少なくとも３倍または少なくとも５倍の増加を含有することができる。

【０１３６】

ＦＯＬＲ１の発現は免疫組織化学法によって測定することができ、定義された値（たとえば、３の強度スコアは強度がレベル３の較正された対照に匹敵するのであれば試験試料に与えられ、２の強度は強度がレベル２の較正された対照に匹敵するのであれば試験試料に与えられる）を示す較正された対照との比較によって染色強度スコアまたは染色均一性スコアが与えられ得る。たとえば、免疫組織化学法による１、２、または３（３＋）のスコア、好ましくは２または３（３＋）のスコアはＦＯＬＲ１の増加した発現を示す。非均質であるまたは均質である染色均一性もＦＯＬＲ１の発現を示す。染色強度と染色均一性のスコアは単独でまたは組み合わせで（たとえば、２ホモ、２ヘテロ、３ホモ、３ヘテロ等）使用することができる。表１１を参照のこと。別の例では、ＦＯＬＲ１の発現における上昇は、対照の値（たとえば、上昇したＦＯＬＲ１の値を有さない癌ではない対象または癌の対象に由来する組織または細胞における発現レベル）に比べて少なくとも２倍、少なくとも３倍、または少なくとも５倍の上昇の検出によって測定することができる。

【０１３７】

「参照試料」は本発明の方法にて試験試料から得られた結果を相互に関係付け、比較するのに使用することができる。参照試料は細胞（たとえば、細胞株または細胞ペレット）または組織であることができる。「参照試料」におけるＦＯＬＲ１のレベルは、ＦＯＬＲ１の絶対量または相対量、量の範囲、最小量及び／または最大量、平均量及び／または中央値の量であることができる。「参照試料」は試験試料が比較されるＦＯＬＲ１の発現のベースラインとしても役立つことができる。「参照試料」には、同一患者に由来する以前の試料またはベースライン試料、既知のレベルのＦＯＬＲ１の発現を伴った正常参照、または既知のレベルのＦＯＬＲ１の発現を伴った関連する患者集団に由来する参照を挙げることができる。ＦＯＬＲ１のレベルは検量線における値として表すこともできる。検量線はアッセイデータをプロットして試料におけるＦＯＬＲ１の濃度を決定する定量法である。一実施形態では、参照試料は精製されたＦＯＬＲ１またはＦＯＬＲ１－Ｆｃを含む抗原標準である。本発明の診断法には、試験試料におけるＦＯＬＲ１の発現レベルと「参照値」との間での比較が関与し得る。一部の実施形態では、参照値は参照試料におけるＦＯＬＲ１の発現レベルである。参照値は所定の値であることができ、試験試料と並行して調べられる参照試料（たとえば、対照の生体試料または参照試料）から決定することもできる。参照値は、中央値若しくは平均値のような単一のカットオフ値、または信頼区間のような値の範囲であることができる。参照値は、たとえば、癌にかかりやすい人々、早期または後期の癌を有する人々、男性及び／または女性の人々、または癌療法を受けている人々のような人々の種々の亜群について確立することができる。正常な参照試料または参照値及び陽性の参照試料または参照値の例は本明細書で記載され、参照によって本明細書に組み入れられるＷＯ２０１２／１３５６７５の実施例１及び実施例８～１０にも記載されている。

【０１３８】

一部の実施形態では、参照試料は、健常な組織、特に、癌に冒されていない相当する組織またはＦＯＬＲ１を過剰発現する癌に冒されていない相当する組織または検出可能なレベルのＦＯＬＲを発現しないことが知られる相当する健常な組織に由来する試料である。これらの種類の参照試料は陰性対照試料または「正常」参照試料と呼ばれる。他の実施形態では、参照試料は、検出可能なＦＯＬＲ１を発現している腫瘍または健常組織に由来する試料である。これらの種類の参照試料は陽性対照試料または陽性参照試料と呼ばれる。陽性の対照試料もＦＯＬＲ１発現のレベルと相関する種類（ヘテロ対ホモ）及び／または染色強度の指標（０、１、２、３）の比較指標としても使用することができる。陽性対照比較試料は較正参照試料とも呼ばれる。低いＦＯＬＲ１を発現するまたはＦＯＬＲ１を発現しない参照物が実施例にて本明細書で記載され、それには、食道、膵臓の腺房細胞／島細胞、肺の肺胞間結合組織及び唾液腺の腺房細胞の構造すべても含まれる。細胞株につい

ては、例となる非発現株にはＢｘＰＣ３、Ｐａｎｃ－１及びＡＳＰＣ１が挙げられる。陽性のＦＯＬＲ１の参照物は本明細書で、たとえば、実施例にて記載され、それには、膵管、正常な肺の呼吸上皮、及び唾液腺の介在導管が挙げられる。一部の実施形態では、陽性のＦＯＬＲ１の参照物には膵管及び唾液腺の介在導管が挙げられる。細胞株については、例となるＦＯＬＲ１の高い発現株は本明細書で、たとえば、実施例にて記載され、それには、ＫＢ、ＨｅＬａ、ＦＯＬＲ１で形質移入した３００．１９細胞、Ｉｇｒｏｖ－１及びＷｉｓｈも挙げられ、例となるＦＯＬＲ１の低い発現株には、Ｏｖｃａｒ－３、Ｃａｏｖ－３、ＳＷ６２０、Ｔ４７Ｄ及びＳｋｏｖ－３が挙げられる。別の陽性のＦＯＬＲ１が高い参照物は、ＦＯＬＲ１で安定してまたは一時的に形質移入した細胞である。ＦＯＬＲ１についての追加の陽性及び陰性の試料は表１３にて記載されている。特定の癌についてのＦＯＬＲ１の適当な陽性及び陰性の参照のレベルは、１以上の適当な対象にてＦＯＬＲ１のレベルを測定することによって決定することができ、そのような参照レベルを対象の特定の集団に対して誂えることができる（たとえば、ある特定の年齢の対象に由来する試料におけるＦＯＬＲ１のレベルとある特定の年齢群における特定の疾患の状態、表現型またはその欠如についての参照レベルとの間で比較を行うことができるように参照レベルを年齢で一致させることができる）。生体試料にてＦＯＬＲ１のレベルを測定する（たとえば、免疫アッセイ等）のに使用される技法に対してそのような参照レベルを誂えることもできる。

【０１３９】

本明細書で使用されるとき、「免疫組織化学法」は、たとえば、細胞または組織を分析するのに使用される組織化学的な且つ免疫的な方法である。従って、用語「免疫組織化学法」、「免疫細胞化学法」及び「免疫化学法」は相互交換可能に使用される。

【０１４０】

用語「一次抗体」は本明細書では試料にて標的タンパク質抗原に特異的に結合する抗体を指す。一次抗体は一般にＥＬＩＳＡアッセイまたはＩＨＣ手順で使用される最初の抗体である。一実施形態では、一次抗体はＩＨＣ手順で使用される唯一の抗体である。用語「二次抗体」は本明細書では一次抗体に特異的に結合する抗体を指し、それによって一次抗体と、もしあれば、その後の試薬との間の架橋または連結を形成する。二次抗体は一般に免疫組織化学法で使用される２番目の抗体である。

【０１４１】

本発明の「試料」または「生体試料」は生物起源の、特定の実施形態では、たとえば、真核生物に由来するものである。一部の実施形態では、試料はヒトの試料であるが、動物の試料も使用されてもよい。本発明で使用するための試料の非限定の供給源には、たとえば、固形組織、生検吸引物、腹水、流体抽出物、血液、血漿、血清、脊髄液、リンパ液、皮膚、呼吸器、腸管及び尿生殖管の外切片、涙液、唾液、乳、腫瘍、臓器、細胞培養物及び／または細胞培養構成物が挙げられる。「癌性試料」は癌性細胞を含有する試料である。細胞または試料の様々な種類を比較すること、様々な発生段階を比較すること、及び疾患または異常の存在及び／または種類を検出するまたは判定することを含むが、これらに限定されない方法を用いてＦＯＬＲ１の発現の態様または試料の状態を調べることができる。

【０１４２】

本明細書の目的では、組織試料の「切片」は組織試料の単一部分または一片、たとえば、組織試料から切り出された組織または細胞の薄片と見なす。複数の組織試料切片を採取して本発明に係る分析に供してもよいことが理解される。場合によっては、組織の選択された部分または切片は細胞の均質な集団を含む。他の場合では、選択された部分は組織の領域、たとえば、非限定例としての内腔を含む。選択された部分は１個の細胞若しくは２個の細胞ほど小さくてもよく、または、たとえば、何千もの細胞を表してもよい。ほとんどの場合、細胞の採取が重要であり、本発明が細胞性成分の検出での使用のために記載されている一方で、方法は生物の非細胞性成分（たとえば、非限定例としての血液における可溶性成分）を検出するのにも使用されてもよい。

【０１４３】
本明細書で使用されるとき、用語「捕捉試薬」は、好適な条件下で捕捉試薬／標的分子の複合体が試料の残りから分離することができるように試料にて標的分子に結合し、それを捕捉することが可能である試薬を指す。一実施形態では、捕捉試薬は不動化される。一実施形態では、サンドイッチ免疫アッセイにおける捕捉試薬は標的抗原に対する抗体または様々な抗体の混合物である。
【０１４４】
本明細書で使用されるとき、用語「検出可能な抗体」は、検出手段によって増幅される標識を介して直接的に、または標識されている、たとえば、別の抗体を介して間接的に検出されることが可能である抗体を指す。直接標識については、抗体は通常、何らかの手段によって検出可能である部分に結合される。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。
【０１４５】
本明細書で使用されるとき、用語「検出手段」は検出可能な抗体の存在を検出するのに使用される部分または技法を指し、それにはマイクロタイタープレート上に捕捉された標識のような不動化された標識を増幅する検出試薬が含まれる。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のような蛍光検出剤である。
【０１４６】
一般に、「サンドイッチＥＬＩＳＡ」は以下のステップ：（１）マイクロタイタープレートを捕捉抗体で被覆する；（２）試料を加え、存在する任意の抗原が捕捉抗体に結合する；（３）検出抗体が加えられ、抗原に結合する；（４）酵素を連結した二次抗体が加えられ、検出抗体に結合する；（５）基質が加えられ、酵素によって検出可能な形態に変換される、を採用する。
【０１４７】
単語「標識」は本明細書で使用されるとき、「標識された」抗体を生成するように抗体に直接または間接的に結合される検出可能な化合物または組成物を指す。標識は、それ自体で（たとえば、放射性同位元素標識または蛍光標識）検出可能であることができ、酵素標識の場合、検出可能である基質の化合物または組成物の化学変化を触媒することができる。
【０１４８】
「相関する」または「相関すること」は、どんな方法であれ、第１の分析の成績及び／または結果を第２分析の成績及び／または結果と比較することを意味する。たとえば、第２の分析を行うことにおいて第１の分析の結果を使用してもよく、第１の分析の結果を用いて第２の分析を行うべきであるかどうかを決定してもよく、及び／または第１の分析の結果を第２の分析の結果と比較してもよい。一実施形態では、ＦＯＬＲ１の増加した発現はＦＯＬＲ１を標的とする抗癌療法の有効性の上昇した可能性と相関する。
【０１４９】
用語「癌」及び「癌性」は細胞の集団が無秩序な細胞増殖を特徴とする、哺乳類における生理的な状態を指すまたは説明する。癌の例には癌腫、リンパ腫、芽腫、肉腫及び白血病が挙げられるが、これらに限定されない。そのような癌のさらに特定の例には、内皮、間葉、または表皮の起源の癌、たとえば、肺癌（たとえば、扁平上皮癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺の腺癌、中皮腫、及び肺の扁平上皮癌）、腹膜の癌（たとえば、原発性腹膜癌）、肝細胞癌、消化器癌、膵臓癌、膠芽細胞腫、子宮頸癌、卵巣癌（漿液性または類内膜性）、肝臓癌、膀胱癌、肝癌、乳癌、直腸癌、直腸結腸癌、類内膜性（たとえば、類内膜性腺癌）または子宮癌、唾液腺癌、腎臓癌、肝臓癌、前立腺癌、外陰部癌、甲状腺癌、肝臓癌、脳腫瘍（たとえば、膠芽細胞腫、脈絡叢の腫瘍）及び種々の型の頭頚部の癌、並びに血管及び卵管の腫瘍が挙げられる。癌はまた上昇したＦＯＬＲ１の発現レベルを有する細胞を含有する癌も包含する。そのようなＦＯＬＲ１が上昇した癌には、卵巣癌、非小細胞肺癌（腺癌）、子宮癌、子宮内膜癌、膵臓癌、腎臓癌、肺癌及び乳癌が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１５０】
「腫瘍」及び「新生物」は、前癌性病変を含む良性（非癌性）または悪性（癌性）のいずれかの過剰な細胞の成長または増殖の結果生じる組織の任意の塊を指す。
【０１５１】
用語「癌細胞」、「腫瘍細胞」及び文法的な同等物は、腫瘍細胞集団の大半を含む非腫瘍形成性細胞及び腫瘍形成性幹細胞（癌幹細胞）の双方を含む、腫瘍または前癌性病変に由来する細胞の全集団を指す。本明細書で使用されるとき、用語「腫瘍細胞」は、再生し、分化する能力を欠くそれら腫瘍細胞を単に指して癌幹細胞からそれら腫瘍細胞を区別する場合、用語「非腫瘍形成性」によって修飾されるであろう。
【０１５２】
用語「対象」は、特定の治療のレシピエントとなるヒト、非ヒト霊長類、齧歯類等を含むが、これらに限定されない任意の動物（たとえば、哺乳類）を指す。通常、用語「対象」及び「患者」は、ヒト対象を参照して本明細書では相互交換可能に使用される。
【０１５３】
用語「医薬製剤」は、有効成分の生物活性を有効にするような形態であり、製剤が投与される対象にとって許容できない毒性である追加成分を含有しない調製物を指す。そのような製剤は無菌であることができる。
【０１５４】
本明細書で開示されるような抗体または免疫複合体の「有効量」は、具体的に言及される目的を実施するのに十分な量である。「有効量」は言及される方法に関して日常的な方法で経験的に決定することができる。
【０１５５】
用語「治療上の有効な量」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剤の量を指す。癌の場合、治療上の有効な量の薬剤は、癌細胞の数を減らすことができ；腫瘍のサイズを小さくすることができ；癌細胞の末梢臓器への浸潤を抑制する（すなわち、ある程度遅らせ、ある特定の実施形態では、停止させる）ことができ；腫瘍の転移を抑制する（すなわち、ある程度遅らせ、ある特定の実施形態では、停止させる）ことができ；腫瘍の増殖をある程度抑制することができ；癌に関連する症状の１以上を緩和することができ；及び／または上昇した無増悪生存率（ＰＦＳ）、無病生存率（ＤＦＳ）または全生存率（ＯＳ）、完全応答（ＣＲ）、部分応答（ＰＲ）または場合によっては安定疾患（ＳＤ）、進行性疾患（ＰＤ）の低下、低下した無増悪期間（ＴＴＰ）、卵巣癌の場合ＣＡ１２５の低下、またはそれらの任意の組み合わせを生じることができる。「治療すること」の本明細書での定義を参照のこと。薬剤が増殖を妨げ及び／または存在する癌細胞を殺傷する程度まで、薬剤は細胞増殖抑制性であり、及び／または細胞毒性であることができる。ある特定の実施形態では、増加したＦＯＬＲ１のレベルを特定することによって、少ない量のＦＯＬＲ１を標的とする治療剤を投与して高い投与量で見られるのと同じ治療効果を達成することが可能になる。「予防上有効な量」は、必要な投与量と時間で所望の予防成績を達成するのに有効な量を指す。通常、しかし、必然的ではなく、予防上の用量は疾患に先立ってまたは疾患の早期に対象にて使用されるので、予防上有効な量は治療上有効な量よりも少ないであろう。
【０１５６】
用語「有利に応答する」は一般に対象にて有益な状態を生じることを指す。癌の治療に関してその用語は対象に対して治療効果を提供することを指す。癌における好ましい治療効果は多数の方法によって測定することができる（Ｗ．Ａ．Ｗｅｂｅｒ，Ｊ．Ｎｕｃｌ．Ｍｅｄ．５０：１Ｓ－１０Ｓ（２００９）を参照のこと）。たとえば、腫瘍増殖の抑制、分子マーカーの発現、血清マーカーの発現及び分子画像化法をすべて用いて抗癌療法の治療効果を評価することができる。腫瘍増殖の抑制に関して、ＮＣＩ基準によれば、Ｔ／Ｃ≦４２％が抗腫瘍活性の最小レベルである。Ｔ／Ｃ１０％未満は高い抗腫瘍活性レベルと見なされ、Ｔ／Ｃ（％）＝治療した場合の腫瘍容積中央値／対照の腫瘍容積中央値×１００である。有利な応答は、たとえば、増加した無増悪生存率（ＰＦＳ）、無病生存率（Ｄ

ＦＳ）または全生存率（ＯＳ）、完全応答（ＣＲ）、部分応答（ＰＲ）または場合によっては安定疾患（ＳＤ）、進行性疾患（ＰＤ）の低下、低下した無増悪期間（ＴＴＰ）、卵巣癌の場合ＣＡ１２５の低下、またはそれらの組み合わせによって評価することができる。

【０１５７】

ＰＦＳ、ＤＦＳ及びＯＳは、新薬の認可について国立癌研究所及び米国食品医薬品局によって設定された基準によって測定することができる。Ｊｏｈｎｓｏｎら，（２００３）Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｏｎｃｏｌ．２１（７）：１４０４－１４１１を参照のこと。

【０１５８】

無増悪生存率（ＰＦＳ）は登録から疾患の進行または死亡までの時間を指す。ＰＦＳは一般にＫａｐｌａｎ－Ｍｅｉｅｒ法及び固形腫瘍における応答評価基準（ＲＥＣＩＳＴ）１．１標準を用いて測定される。一般に、無増悪生存率は癌が悪化することなく患者が生き続ける状況を指す。

【０１５９】

無増悪期間（ＴＴＰ）は登録から疾患の進行までの時間として定義される。ＴＴＰは一般にＲＥＣＩＳＴ１．１基準を用いて測定される。

【０１６０】

「完全応答」または「完全寛解」または「ＣＲ」は治療に応答して腫瘍または癌の兆候すべてが消失することを示す。このことは癌が治癒していることを必ずしも意味するものではない。

【０１６１】

「部分応答」または「ＰＲ」は治療に応答して１以上の腫瘍若しくは病変のサイズ若しくは容積が低下すること、または体内での癌の程度が低下することを指す。

【０１６２】

「安定疾患」は進行または再発のない疾患を指す。安定な疾患では、部分応答と見なすほど十分な腫瘍の委縮もなければ、進行性疾患とみなすほど十分な腫瘍の増大もない。

【０１６３】

「進行性疾患」は、もう１つの新しい病変若しくは腫瘍の出現及び／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、塊の増大または腫瘍の広がりの増大のいずれかによる、治療が始まって以来２０％を超える腫瘍の増殖も指すことができる。

【０１６４】

「無病生存率（ＤＦＳ）」は、患者が無病のままでいる治療中及び治療後の時間の長さを指す。

【０１６５】

「全生存率（ＯＳ）」は、患者の登録から死亡または判明している最後の生存の日に打ち切られたときまでの時間を指す。ＯＳには投薬を受けていないまたは未治療の人または患者と比べた平均余命の延長が含まれる。全生存率は、患者が、たとえば、診断または治療のときから、たとえば、１年、５年等のような規定された時間、生き続ける状況を指す。

【０１６６】

「ＣＡ１２５レベルの低下」は、Ｇｙｎｅｃｏｌｏｇｉｃ Ｃａｎｃｅｒ Ｉｎｔｅｒｇｒｏｕｐ（ＧＣＩＧ）の指針に従って評価することができる。たとえば、治療に先立ってＣＡ１２５レベルを測定してベースラインＣＡ１２５レベルを確立することができる。治療中または治療後１以上の回数、ＣＡ１２５レベルを測定することができ、ベースラインのレベルに比べて経時的なＣＡ１２５レベルの低下はＣＡ１２５レベルの減少と見なされる。

【０１６７】

「治療すること（ｔｒｅａｔｉｎｇ）」または「治療」または「治療すること（ｔｏ ｔｒｅａｔ）」または「緩和すること（ａｌｌｅｖｉａｔｉｎｇ）」または「緩和すること（ｔｏ ａｌｌｅｖｉａｔｅ）」のような用語は、診断された病態または疾病の症状を

治癒させる、減速する、減らす、及び／または進行を停止させる治療手段を指す。従って治療を必要とする者にはすでに疾病があると診断された者または疾病を有すると疑われた者が含まれる。ある特定の実施形態では、患者が、以下：癌細胞の数の減少または癌細胞の完全な非存在；腫瘍サイズの低下；たとえば、癌の軟組織及び骨への拡散を含む末梢臓器への癌細胞の浸潤の阻害または非存在；腫瘍転移の阻害または非存在；腫瘍増殖の阻害または非存在；特定の癌に関連する１以上の症状の緩和；有病率及び死亡率の低下；生活の質の改善；腫瘍の腫瘍形成性、腫瘍形成性頻度または腫瘍形成性能力の低下；腫瘍における癌幹細胞の数または頻度の低下；腫瘍形成性細胞の非腫瘍形成性状態への分化；増加した無増悪生存率（ＰＦＳ）、無病生存率（ＤＦＳ）または全生存率（ＯＳ）、完全応答（ＣＲ）、部分応答（ＰＲ）、安定疾患（ＳＤ）、進行性疾患（ＰＤ）の低下、低下した無増悪期間（ＴＴＰ）、卵巣癌の場合ＣＡ１２５の低下、またはそれらの組み合わせの１以上を示すのであれば、本発明の方法に従って癌について対象は上手く「治療されている」。

【０１６８】

予防的手段または予防手段は、標的とされる病態または疾病の発症を防ぐ及び／または遅らせる治療手段を指す。従って、予防的手段または予防手段を必要とする者には、疾病を有する傾向のある者及び疾病が防がれるべきである者が含まれる。

【０１６９】

本明細書で使用されるとき、用語「ヘルスケア提供者」は、生きている対象、たとえば、ヒト患者と直接交流し、それに投与する個人または機関を指す。ヘルスケア提供者の非限定例には、医師、看護師、技師、セラピスト、薬剤師、カウンセラー、代替医療医師、医療施設、診療所、病院、救急室、クリニック、緊急処置センター、代替医療のクリニック／施設、及び、一般医療、特殊医療、外科及び／または他の種類の治療、評価、維持、治療法、投薬及び／または助言を含むが、これらに限定されない、患者の健康状態のすべてまたは一部に関する一般的な及び／または特殊化した治療、評価、維持、治療法、投薬及び／または助言を提供する任意の他の実体が挙げられる。

【０１７０】

一部の態様では、ヘルスケア提供者は、癌を治療するための療法を施すことができ、またはそれを施すように別のヘルスケア提供者を指導することができる。療法の「施行」には本明細書で使用されるとき、対象に療法を処方することならびに対象に療法を送達する、適用するまたは与えることが含まれる。ヘルスケア提供者は、以下の行動：試料を入手する、試料を処理する、試料を提出する、試料を受け取る、試料を輸送する、試料を分析するまたは測定する、試料を定量する、試料を分析し／測定し／定量した後得られる結果を提供する、試料を分析し／測定し／定量した後得られる結果を受け取る、１以上の試料を分析し／測定し／定量した後得られる結果を比較し／スコア化する、１以上の試料に由来する比較／スコアを提供する、１以上の試料に由来する比較／スコアを入手する、療法または治療剤（たとえば、ＦＯＬＲ１結合作用物質）を投与する、療法の施行を開始する、療法の施行を中止する、療法の施行を継続する、療法の施行を一時的に中断する、投与される治療剤の量を増やす、投与される治療剤の量を減らす、ある量の治療剤の投与を継続する、治療剤の投与の回数を増やす、治療剤の投与の回数を減らす、治療剤の同じ投与回数を維持する、療法または治療剤を少なくともう１つの療法または治療剤で置き換える、療法または治療剤を少なくともう１つの療法または追加の治療剤と組み合わせるように実施する、を行うまたはそのようにするように別のヘルスケア提供者または患者を指導することができる。これらの行動は、コンピュータが実施する方法（たとえば、ウェブサービスを介してまたは単独型のコンピュータシステムを介して）を用いて自動的にヘルスケア提供者によって実施され得る。

【０１７１】

「ポリヌクレオチド」または「核酸」は本明細書で相互交換可能に使用されるとき、任意の長さのヌクレオチドのポリマーを指し、ＤＮＡ及び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、修飾されたヌクレオチドまたは塩基、及

び／またはその類似体、またはＤＮＡポリメラーゼ若しくはＲＮＡポリメラーゼによってポリマーの中に取り込むことができる任意の基質であることができる。ポリヌクレオチドは、たとえば、メチル化ヌクレオチド及びその類似体のような修飾されたヌクレオチドを含むことができる。存在するならば、ヌクレオチド構造に対する修飾はポリマーのアセンブリ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することができる。ポリヌクレオチドは、たとえば、標識成分による結合によって重合の後さらに修飾することができる。修飾の他の型には、たとえば、「キャップ」、天然に存在するヌクレオチドの１以上の類似体による置換、荷電しない結合（たとえば、メチルホスホネート、ホスホロトリエステル、ホスホロアミデート、カバメート等）を伴う及び荷電した結合（たとえば、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエート等）を伴うもの、たとえば、タンパク質（たとえば、ヌクレアーゼ、毒素、抗体、シグナルペプチド、ポリ－Ｌ－リジン等）のようなペンダント部分を含有するもの、挿入剤（たとえば、アクリジン、プソラレン等）を伴うもの、キレート剤（たとえば、金属、放射性金属、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もの、修飾された結合（たとえば、αアノマー核酸等）を伴うものなどのヌクレオチド間修飾ならびにポリヌクレオチドの未修飾の形態が挙げられる。さらに、普通、糖に存在するヒドロキシル基のいずれかを、たとえば、ホスホネート基、リン酸基によって置き換えることができ、標準の保護基によって保護することができ、または活性化して追加のヌクレオチドへの追加の結合を調製することができ、または固相支持体に結合することができる。５’及び３’末端のＯＨは、リン酸化することができ、またはアミン若しくは１～２０の炭素原子の有機キャッピング基部分で置換することができる。他のヒドロキシルも標準の保護基に誘導体化することもできる。ポリヌクレオチドは、たとえば、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、カルボン酸糖類似体、αアノマー糖、エピマー糖、たとえば、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、非環式類似体及び、たとえば、メチルリボシドのような脱塩基ヌクレオシド類似体を含む、当該技術で一般に既知であるリボース糖またはデオキシリボース糖の類似の形態も含有することができる。１以上のホスホジエステル結合を代替の結合基によって置き換えることができる。これらの代替の結合基には、リン酸がＰ（Ｏ）Ｓ（「チオエート」）、Ｐ（Ｓ）Ｓ（「ジチオエート」）、（Ｏ）NR_2（「アミデート」）、Ｐ（Ｏ）Ｒ、Ｐ（Ｏ）ＯＲ’、ＣＯまたはCH_2（「ホルマセタル」）によって置き換えられる実施形態が挙げられるが、これらに限定されず、式中、ＲまたはＲ’は独立してＨまたは置換されたまたは非置換の、任意でエーテル結合（－Ｏ－）を含有するアルキル（１～２０Ｃ）、アリール、アルケニル、シクロアルキル、シクロアルケニルまたはアラルジルである。ポリヌクレオチドにおける結合のすべてが同一である必要があるわけではない。先行する記載は、ＲＮＡ及びＤＮＡを含む本明細書で言及されるポリヌクレオチドすべてに適用される。

【０１７２】

用語「ベクター」は、宿主細胞にて１以上の当該遺伝子または配列を送達し、且つ発現させることが可能である構築物を意味する。ベクターの例には、ウイルスベクター、ネイキッドの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、カチオン性縮合剤に会合したＤＮＡまたはＲＮＡ発現ベクター、リポソーム及び産生細胞のようなある特定の真核細胞に被包されたＤＮＡまたはＲＮＡ発現ベクターが挙げられるが、これらに限定されない。

【０１７３】

用語「ポリペプチド」、「ペプチド」及び「タンパク質」は本明細書では相互交換可能に使用されて任意の長さのアミノ酸のポリマーを指す。ポリマーは直鎖であることができ、または分岐することができ、それは、修飾されたアミノ酸を含むことができ、非アミノ酸によって中断することができる。その用語はまた、天然に修飾されている、または介入、たとえば、ジスルフィド結合の形成、グリコシル化、脂質化、アセチル化、リン酸化または任意の他の操作または修飾、たとえば、標識成分による結合によって修飾されている

アミノ酸ポリマーも包含する。定義の中に含められるのはまた、たとえば、アミノ酸の１以上の類似体（たとえば、非天然のアミノ酸等を含む）ならびに当該技術で既知の他の修飾を含有するポリペプチドである。本発明のポリペプチドは抗体に基づくので、ある特定の実施形態では、ポリペプチドは単鎖または会合した鎖として存在し得ることが理解される。一部の実施形態では、ポリペプチド、ペプチドまたはタンパク質は天然に存在しない。一部の実施形態では、ポリペプチド、ペプチドまたはタンパク質は他の天然に存在する成分から精製される。一部の実施形態では、ポリペプチド、ペプチドまたはタンパク質は組換えで作出される。

【０１７４】

２以上の核酸またはポリペプチドの文脈での用語「同一の」またはパーセント「同一性」は、配列同一性の一部として保存的なアミノ酸置換を考慮せずに最大の一致について比較し、（必要に応じてギャップを導入して）並べた場合、同じである２以上の配列若しくは部分配列、または同じであるヌクレオチド若しくはアミノ酸残基の特定された比率を有する２以上の配列若しくは部分配列を指す。パーセント同一性は、配列比較ソフトウエアまた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の配列の配列比較を得るのに使用することができる種々のアルゴリズム及びソフトウエアが当該技術で既知である。配列比較アルゴリズムのそのような非限定例の１つは、Ｋａｒｌｉｎら，１９９０，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，８７：２２６４－２２６８にて記載されており、Ｋａｒｌｉｎら，１９９３，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，９０：５８７３－５８７７にて修正され、ＮＢＬＡＳＴ及びＸＢＬＡＳＴプログラム（Ａｌｔｓｃｈｕｌら，１９９１，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，２５：３３８９－３４０２）に組み入れられている。ある特定の実施形態では、ギャップのあるＢＬＡＳＴはＡｌｔｓｃｈｕｌら，１９９７，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２５：３３８９－３４０２にて記載されたように使用することができる。ＢＬＡＳＴ－２、ＷＵ－ＢＬＡＳＴ－２（Ａｌｔｓｃｈｕｌら，１９９６，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ，２６６：４６０－４８０）、ＡＬＩＧＮ、ＡＬＩＧＮ－２（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ，Ｓｏｕｔｈ Ｓａｎ Ｆｒａｎｃｉｓｃｏ，Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａ）またはＭｅｇａｌｉｇｎ（ＤＮＡＳＴＡＲ）は、配列を並べるのに使用することができる追加の公的に利用可能なソフトウエアのプログラムである。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（たとえば、ＮＷＳｇａｐｄｎａ．ＣＭＰマトリクス及び４０、５０、６０、７０、または９０のギャップ加重及び１、２、３、４、５、または６の長さ加重を用いた）におけるＧＡＰプログラムを用いて測定される。ある特定の代替実施形態では、Ｎｅｅｄｌｅｍａｎ及びＷｕｎｓｃｈ（Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．（４８）：４４４－４５３（１９７０））のアルゴリズムを組み入れるＧＣＧソフトウエアパッケージにおけるＧＡＰプログラムを用いて２つのアミノ酸配列間のパーセント同一性を測定することができる（Ｂｌｏｓｓｕｍ６２マトリクスまたはＰＡＭ２５０マトリクス及び１６、１４、１２、１０、８、６、または４のギャップ加重及び１、２、３、４、５の長さ加重を用いて）。或いは、ある特定の実施形態では、ヌクレオチドまたはアミノ酸の配列間でのパーセント同一性は、Ｍｙｅｒｓ及びＭｉｌｌｅｒ（ＣＡＢＩＯＳ，４：１１－１７（１９８９））のアルゴリズムを用いて決定される。たとえば、ＡＬＩＧＮプログラム（バージョン２．０）を用いて、且つ、残基表、１２のギャップ長さペナルティ及び４のギャップペナルティと共にＰＡＭ１２０を用いてパーセント同一性を決定することができる。特定の配列比較ソフトウエアによる最大配列比較のための適当なパラメータは当業者によって決定され得る。ある特定の実施形態では、配列比較ソフトウエアの初期設定パラメータが使用される。あ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パーセント同一性「Ｘ」は、１００×（Ｙ／Ｚ）として算出され、その際、Ｙは第１と第２の配列の配列比較（目視検査または特定の配列比較プログラムによって並べられた）において同一の一致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の配列における残基の総数である。第１の配列の長さが第２の配列よりも長いのであれば、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の配列の第１の配列に対するパーセント同一性よりも長いであろう。

【０１７５】

非限定例として、任意の特定のポリヌクレオチドが参照配列に対してある特定の比率の配列同一性を有する（たとえば、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、及び一部の実施形態では、少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％または９９％同一である）かどうかは、ある実施形態において、Ｂｅｓｔｆｉｔプログラム（Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ Ｐａｃｋａｇｅ，Ｕｎｉｘ（登録商標）用バージョン８，Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ｇｒｏｕｐ，Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｐａｒｋ，５７５ Ｓｃｉｅｎｃｅ Ｄｒｉｖｅ，Ｍａｄｉｓｏｎ，ＷＩ５３７１１）を用いて決定することができる。Ｂｅｓｔｆｉｔは、Ｓｍｉｔｈ及びＷａｔｅｒｍａｎ，Ａｄｖａｎｃｅｓ ｉｎ Ａｐｐｌｉｅｄ Ｍａｔｈｅｍａｔｉｃｓ，２：４８２，４８９（１９８１）のローカル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なセグメントを見いだす。Ｂｅｓｔｆｉｔまたは任意の他の配列比較プログラムを用いて特定の配列が本発明に係る参照配列に対して、たとえば、９５％同一性であるかどうかを決定する場合、パラメータは、同一性の比率が参照ヌクレオチド配列の完全長にわたって算出され、且つ参照配列におけるヌクレオチドの総数の５％までの相同性におけるギャップが許容されるように設定される。

【０１７６】

一部の実施形態では、本発明の２つの核酸またはポリヌクレオチドが実質的に同一であり、これは、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するとき、最大の一致について比較し、並べた場合、それらが、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％、及び一部の実施形態では、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の同一性を有することを意味する。ある特定の実施形態では、同一性は、長さ少なくとも約１０、約２０、約４０～６０の残基またはその間の整数値である配列の領域にわたって、または６０～８０残基、少なくとも約９０～１００残基より長い領域にわたって存在し、または配列は、たとえば、ヌクレオチド配列のコーディング領域のような、比較される配列の完全長にわたって実質的に同一である。

【０１７７】

「保存的なアミノ酸置換」は、アミノ酸残基１つが類似する側鎖を有するもう１つのアミノ酸残基で置き換えられるものである。塩基性側鎖（たとえば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖（たとえば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖（たとえば、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（たとえば、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分岐側鎖（たとえば、スレオニン、バリン、イソロイシン）及び芳香族側鎖（たとえば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）を含む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で定義されている。たとえば、フェニルアラニンのチロシンへの置換は保存的置換である。ある特定の実施形態では、本発明のポリペプチド及び抗体の配列における保存的な置換は、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への、すなわち、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。抗原結合を排除しないヌクレオチド及びアミノ酸の保存的置換を特定する方法は当該技術で周知である（たとえば、Ｂｒｕｍｍｅｌｌら，Ｂｉｏｃｈｅｍ．３２：１１８０－１，１８７（１９９３）；Ｋｏｂａｙａｓｈｉら．Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．１２（１０）：８７９－８８４（１９９９）；及びＢｕｒｋｓら．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，９４：．４１２－４１７（１９９７）を参照のこと）。

【０１７８】

本開示及びクレームで使用されるとき、単数形態「ａ」、「ａｎ」及び「ｔｈｅ」は文脈が明瞭に指示しない限り、複数形態を含む。

【０１７９】
実施形態が言語「ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ（含む）」と共に本明細書にて記載される箇所はどこでも、「ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｏｆ（から成る）」及び／または「ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｅｓｓｅｎｔｉａｌｌｙ　ｏｆ（から本質的に成る）」という点で記載された別の類似の実施形態も提供されることが理解される。
【０１８０】
本明細書にて「Ａ及び／またはＢ」のような語句で使用されるとき、用語「及び／または」は「Ａ及びＢ」、「ＡまたはＢ」、「Ａ」及び「Ｂ」の双方を含むように意図される。同様に、用語「及び／または」は「Ａ、Ｂ及び／またはＣ」のような語句で使用されるとき、以下の実施形態：Ａ、Ｂ及びＣ；Ａ、ＢまたはＣ；ＡまたはＣ；ＡまたはＢ；ＢまたはＣ；Ａ及びＣ；Ａ及びＢ；Ｂ及びＣ；Ａ（単独）；Ｂ（単独）；Ｃ（単独）のそれぞれを包含するように意図される。
【０１８１】
ＩＩ．ＦＯＬＲ１結合作用物質
本発明はヒトのＦＯＬＲ１に特異的に結合する作用物質を提供する。これらの作用物質は本明細書では「ＦＯＬＲ１結合作用物質」と呼ばれる。ある特定の実施形態では、ＦＯＬＲ１結合作用物質は抗体、免疫複合体またはポリペプチドである。ヒトＦＯＬＲ１のアミノ酸及びヌクレオチドの配列は当該技術で既知であり、配列番号１及び配列番号２によって表されるように本明細書でも提供される。
ヒトの葉酸受容体１：
ＭＡＱＲＭＴＴＱＬＬＬＬＬＶＷＶＡＶＶＧＥＡＱＴＲＩＡＷＡＲＴＥＬＬＮＶＣＭＮＡ
ＫＨＨＫＥＫＰＧＰＥＤＫＬＨＥＱＣＲＰＷＲＫＮＡＣＣＳＴＮＴＳＱＥＡＨＫＤＶＳＹ
ＬＹＲＦＮＷＮＨＣＧＥＭＡＰＡＣＫＲＨＦＩＱＤＴＣＬＹＥＣＳＰＮＬＧＰＷＩＱＱＶ
ＤＱＳＷＲＫＥＲＶＬＮＶＰＬＣＫＥＤＣＥＱＷＷＥＤＣＲＴＳＹＴＣＫＳＮＷＨＫＧＷ
ＮＷＴＳＧＦＮＫＣＡＶＧＡＡＣＱＰＦＨＦＹＦＰＴＰＴＶＬＣＮＥＩＷＴＨＳＹＫＶＳ
ＮＹＳＲＧＳＧＲＣＩＱＭＷＦＤＰＡＱＧＮＰＮＥＥＶＡＲＦＹＡＡＡＭＳＧＡＧＰＷＡ
ＡＷＰＦＬＬＳＬＡＬＭＬＬＷＬＬＳ（配列番号１）
ヒトの葉酸受容体１核酸配列
ａｔｇｇｃｔｃａｇｃｇｇａｔｇａｃａａｃａｃａｇｃｔｇｃｔｇｃｔｃｃｔｔｃｔａｇ
ｔｇｔｇｇｇｔｇｇｃｔｇｔａｇｔａｇｇｇｇａｇｇｃｔｃａｇａｃａａｇｇａｔｔｇｃ
ａｔｇｇｇｃｃａｇｇａｃｔｇａｇｃｔｔｃｔｃａａｔｇｔｃｔｇｃａｔｇａａｃｇｃｃ
ａａｇｃａｃｃａｃａａｇｇａａａａｇｃｃａｇｇｃｃｃｃｇａｇｇａｃａａｇｔｔｇｃ
ａｔｇａｇｃａｇｔｇｔｃｇａｃｃｃｔｇｇａｇｇａａｇａａｔｇｃｃｔｇｃｔｇｔｔｃ
ｔａｃｃａａｃａｃｃａｇｃｃａｇｇａａｇｃｃｃａｔａａｇｇａｔｇｔｔｔｃｃｔａｃ
ｃｔａｔａｔａｇａｔｔｃａａｃｔｇｇａａｃｃａｃｔｇｔｇｇａｇａｇａｔｇｇｃａｃ
ｃｔｇｃｃｔｇｃａａａｃｇｇｃａｔｔｔｃａｔｃｃａｇｇａｃａｃｃｔｇｃｃｔｃｔａ
ｃｇａｇｔｇｃｔｃｃｃｃｃａａｃｔｔｇｇｇｇｃｃｃｔｇｇａｔｃｃａｇｃａｇｇｔｇ
ｇａｔｃａｇａｇｃｔｇｇｃｇｃａａａｇａｇｃｇｇｇｔａｃｔｇａａｃｇｔｇｃｃｃｃ
ｔｇｔｇｃａａａｇａｇｇａｃｔｇｔｇａｇｃａａｔｇｇｔｇｇｇａａｇａｔｔｇｔｃｇ
ｃａｃｃｔｃｃｔａｃａｃｃｔｇｃａａｇａｇｃａａｃｔｇｇｃａｃａａｇｇｇｃｔｇｇ
ａａｃｔｇｇａｃｔｔｃａｇｇｇｔｔｔａａｃａａｇｔｇｃｇｃａｇｔｇｇｇａｇｃｔｇ
ｃｃｔｇｃｃａａｃｃｔｔｔｃｃａｔｔｔｃｔａｃｔｔｃｃｃｃａｃａｃｃｃａｃｔｇｔ
ｔｃｔｇｔｇｃａａｔｇａａａｔｃｔｇｇａｃｔｃａｃｔｃｃｔａｃａａｇｇｔｃａｇｃ
ａａｃｔａｃａｇｃｃｇａｇｇｇａｇｔｇｇｃｃｇｃｔｇｃａｔｃｃａｇａｔｇｔｇｇｔ
ｔｃｇａｃｃｃａｇｃｃｃａｇｇｇｃａａｃｃｃｃａａｔｇａｇｇａｇｇｔｇｇｃｇａｇ
ｇｔｔｃｔａｔｇｃｔｇｃａｇｃｃａｔｇａｇｔｇｇｇｇｃｔｇｇｇｃｃｃｔｇｇｇｃａ
ｇｃｃｔｇｇｃｃｔｔｔｃｃｔｇｃｔｔａｇｃｃｔｇｇｃｃｃｔａａｔｇｃｔｇｃｔｇｔ
ｇｇｃｔｇｃｔｃａｇｃ（配列番号２）
【０１８２】
従って、一部の実施形態では、ＦＯＬＲ１結合作用物質は配列番号１のエピトープに結

合することができる。

【０１８３】

一部の実施形態では、抗ＦＯＬＲ１抗体はＦＯＬＲ１（配列番号１）のエピトープに特異的に結合することができ、その際、エピトープはＮ－グリコシル化されたアミノ酸を含む。従って、そのような抗体はそれがグリコシル化される場合ＦＯＬＲ１に結合し、それがグリコシル化されない場合ＦＯＬＲ１に結合しないであろう。言い換えれば、これらの抗体の結合はグリコール依存性である。これらの抗体は、それらがＦＯＬＲ１のグリコシル化形態と非グリコシル化形態を区別するのに使用され得るという点で有利である。グリコシル化が膜の局在化に必要とされることを考えると、該抗体は膜特異的な染色に有利に使用することができる。

【０１８４】

一部の実施形態では、抗ＦＯＬＲ１抗体はＦＯＬＲ１のＮ－グリコシル化されたアミノ酸６９を含むＦＯＬＲ１のエピトープに特異的に結合することができる。一部の実施形態では、抗ＦＯＬＲ１抗体はＦＯＬＲ１のＮ－グリコシル化されたアミノ酸１６１を含むＦＯＬＲ１のエピトープに特異的に結合することができる。一部の実施形態では、抗ＦＯＬＲ１抗体はＦＯＬＲ１のＮ－グリコシル化されたアミノ酸２０１を含むＦＯＬＲ１のエピトープに特異的に結合することができる。

【０１８５】

ある特定の実施形態では、抗ＦＯＬＲ１抗体は、ブダペスト条約の条項のもとで２０１３年４月１６日に１０８０１　Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　Ｂｏｕｌｅｖａｒｄ、Ｍａｎａｓｓａｓ、ＶＡ２０１１０に位置するＡｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ（ＡＴＣＣ）に寄託され、ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２０１９６（「ＩＭＧＮ３５３．９－２０」、「３５３．９－２０」、または「９．２０」とも呼ばれる「ＦＯＬＲ１－９．２０」）を有するハイブリドーマによって産生される抗体である。ある特定の実施形態では、抗ＦＯＬＲ１抗体は、２０１３年４月１６日にＡＴＣＣに寄託され、ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２０１９７（「ＩＭＧＮ３５３．２－１」、「３５３．２－１」、「２．１」または「ｍｕＦＲＩＨＣ２－１」とも呼ばれる「ＦＯＬＲ１－２．１」）を有するハイブリドーマによって産生される抗体である。

【０１８６】

ＦＯＬＲ１結合作用物質には、以下の表１及び表２で提供される（ｉ）「ＦＯＬＲ１－２．１」、「ＩＭＧＮ３５３．２－１」、「３５３．２－１」、または「２．１」としても知られるｍｕＦＲＩＨＣ２－１、（ｉｉ）「ＩＭＧＮ３５３．５－７」、「３５３．５－７」または「５．７」としても知られるｍｕＦＲＩＨＣ５－７、（ｉｉｉ）「ＦＯＬＲ１－９．２０」、「ＩＭＧＮ３５３．９－２０」、「３５３．９－２０」または「９．２０」としても知られる「ｍｕＦＲＩＨＣ９－２０」、（ｉｖ）表面再構成したｈｕＦＲＩＨＣ２－１バージョン１．０若しくは１．０１、または（ｖ）ＣＤＲ移植したｈｕＦＲＩＨＣ２－１バージョン１．０若しくは１．０１の重鎖及び軽鎖のＣＤＲ配列を含むＦＯＬＲ１結合作用物質が挙げられる。ＦＯＬＲ１結合作用物質には、以下の表１及び表２で提供される複合ＣＤＲの重鎖及び軽鎖のＣＤＲ配列を含むＦＯＬＲ１結合作用物質も挙げられる。

【表１】

表１．可変重鎖ＣＤＲのアミノ酸配列

抗体	VH-CDR1	VH-CDR2	VH-CDR3
muFRIHC2-1（「2.1」）	NSYIH（配列番号3）	WIYPESLNTQYNEKFKA（配列番号4）	RGIYYYSPYALDH（配列番号5）
muFRIHC5-7（「5.7」）	NYYIH（配列番号9）	WIYPGSFNVEYNEKFKA（配列番号10）	RGIYFYSPYALDY（配列番号11）
muFRIHC9-20（「9.20」）	NYYIH（配列番号15）	WIYPENVNVRYNDKFKA（配列番号16）	RGIYYYSPYAMDY（配列番号17）
複合	N(Y/S)YIH（配列番号21）	WIYP(G/E)(S/N)(F/V/L)N(V/T)(E/R/Q)YN(E/D)KFKA（配列番号22）	RGIY(F/Y)YSPYA(L/M)D(Y/H)（配列番号23）

【表２】

表２．可変軽鎖ＣＤＲのアミノ酸配列

抗体	VL-CDR1	VL-CDR2	VL-CDR3
muFRIHC2-1（「2.1」）	KSSKSLLNSDGFTYLD（配列番号6）	LVSNHFS（配列番号7）	FQSNYLPLT（配列番号8）
muFRIHC5-7（「5.7」）	KSTESLLNSDGFTYLD（配列番号12）	LVSNHFS（配列番号13）	FQSNYLPLT（配列番号14）
muFRIHC9-20（「9.20」）	KSTKSLLNSDGFTYLD（配列番号18）	LVSNHFS（配列番号19）	FQSNYLPLT（配列番号20）
複合	KS(T/S)(K/E)SLLNSDGFTYLD（配列番号24）	LVSNHFS（配列番号25）	FQSNYLPLT（配列番号26）

【０１８７】

ＦＯＬＲ１結合分子は、ＣＤＲ当たり４までの（すなわち、０、１、２、３または４）保存的アミノ酸置換と共に、抗体２．１（すなわち、配列番号３～８）、５．７（すなわち、配列番号９～１４）または９．２０（すなわち、配列番号１５～２０）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ることができる。ＦＯＬＲ１結合分子は、ＣＤＲ当たり４までの（すなわち、０、１、２、３または４）保存的アミノ酸置換と共に、上記で示した複合配列（配列番号２１～２６）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ることができる。

【０１８８】

ＦＯＬＲ１結合分子は、ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２０１９６またはＰＴＡ－１２０１９７のハイブリドーマによって産生される抗体の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ることができる。

【０１８９】

ポリペプチドは、本明細書で記載される個々の可変軽鎖及び可変重鎖の１つを含むことができる。抗体及びポリペプチドは可変軽鎖及び可変重鎖の双方を含むこともできる。マウス抗体２．１、５．７及び９．２０並びにヒト化２．１の可変軽鎖及び可変重鎖の配列は以下の表３及び表４にて提供される。

【表３】

表３．可変重鎖のアミノ酸配列

抗体	VH アミノ酸配列(配列番号)
muFRIHC2-1（「2.1」）	QVQLQQSGPELVKPGASVRISCKASGYTFTNSYIHWVKKRPGQGLEWIGWIYP ESLNTQYNEKFKAKATLTADKSSSTSYMQLSSLTSEDSAVYFCARRGIYYYSP YALDHWGQGASVTVSS（配列番号 27）
muFRIHC5-7（「5.7」）	QVQLQQSGPEVVKPGASVRISCKASGYTFTNYYIHWVKQRPGQGLEWIGWIYP GSFNVEYNEKFKAKATLTADKSSSTVYMQLSSLTSEDSAVYFCARRGIYFYSP YALDYWGQGASVTVSS（配列番号 29）
muFRIHC9-20（「9.20」）	QVQLQQSGPDLVKPGASVRISCKASGFTFTNYYIHWVKQRPGQGLEWIGWIYP ENVNVRYNDKFKAKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARRGIYYYSP YAMDYWGQGASVTVSS（配列番号 31）
huFRIHC2-1（表面再構成した）	QVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGYTFTNSYIHWVKKRPGQGLEWIGWIYP ESLNTQYNQKFQGKATLTADKSSSTSYMQLSSLTSEDSAVYFCARRGIYYYSP YALDHWGQGASVTVSS（配列番号 62）
huFRIHC2-1（移植した）	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNSYIHWVRQAPGQGLEWMGWIYP ESLNTQYNEKFKARVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARRGIYYYSP YALDHWGQGTLVTVSSAST（配列番号 65）

【表４】

表４．可変軽鎖のアミノ酸配列

抗体	VL アミノ酸配列（配列番号）
muFRIHC2-1（「2.1」）	SDVVLTQTPLSLPVNIGDQASISCKSSKSLLNSDGFTYLDWYLQKPGQSPQL LIYLVSNHFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQSNYLPLTF GGGTKLEIKR（配列番号 28）
muFRIHC5-7（「5.7」）	SDVVLTQTPLSLPVNIGDQASISCKSTESLLNSDGFTYLDWYLQKPGQSPQL LIYLVSNHFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQSNYLPLTF GGGTKLEVKR（配列番号 30）
muFRIHC9-20（「9.20」）	SDVVLTQTPLSLPVNLGDQASISCKSTKSLLNSDGFTYLDWYLQKPGQSPQL LIYLVSNHFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQSNYLPLTF GGGTKLEIKR（配列番号 32）
huFRIHC2-1 v.1.0（表面再構成した）	DVVLTQSPLSLPVNLGQPASISCRSSRSLLNSDGFTYLDWYLQKPGQSPRLL IYLVSNHFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQSNYLPLTFG QGTKLEIKR（配列番号 63）
huFRIHC2-1 v.1.01（表面再構成した）	DVVLTQSPLSLPVNLGQPASISCKSSKSLLNSDGFTYLDWYLQKPGQSPRLL IYLVSNHFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQSNYLPLTFG QGTKLEIKR（配列番号 64）
huFRIHC2-1 v.1.0（移植した）	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSRSLLNSDGFTYLDWYLQKPGQSPQLL IYLVSNHFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQSNYLPLTFG QGTKLEIK（配列番号 66）
huFRIHC2-1 v.1.01（移植した）	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSKSLLNSDGFTYLDWYLQKPGQSPQLL IYLVSNHFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQSNYLPLTFG QGTKLEIK（配列番号 67）

【０１９０】

提供されるのはまた、（ａ）配列番号２７、２９、３１、６２または６５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及び／または（ｂ）配列番号２８、３０、３２、６３、６４、６６または６７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である。ある特定の実施形態では、ポリペプチドは、配列番号２７～３２または６２～６７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％、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。従って、ある特定の実施形態では、ポリペプチドは、（ａ）配列番号２７、２９、３１、６２または６５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及び／または（ｂ）配列番号２８、３０、３２、６３、６４、６６または６７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。ある特定の実施形態では、ポリペプチドは、（ａ）配列番号２７、２９、３１、６２または６５のアミノ酸配列を有するポリペプチド及び／または（ｂ）配列番号２８、３０、３２、６３、６４、６６または６７のアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む。ある特定の実施形態では、ポリペプチドは抗体であり、及び／またはポリペプチドはＦＯＬＲ１に特異的に結合する。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。ある特定の実施形態では、配列番号２７～３２または６２～６７に対してある特定の比率の配列同一性を有するポリペプチドは、保存的なアミノ酸置換によってのみ配列番号２７～３２または６２～６７とは異なる。

【０１９１】

提供されるのはまた、ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２０１９６またはＰＴＡ－１２０１９７を有するハイブリドーマによって産生される抗体の可変軽鎖の配列に対して少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％または少なくとも約９９％同一であるまたは同一である可変軽鎖を含むポリペプチドである。

【０１９２】

提供されるのはまた、ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２０１９６またはＰＴＡ－１２０１９７を有するハイブリドーマによって産生される抗体の可変重鎖の配列に対して少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％または少なくとも約９９％同一であるまたは同一である可変重鎖を含むポリペプチドである。

【０１９３】

提供されるのはまた、ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２０１９６またはＰＴＡ－１２０１９７を有するハイブリドーマによって産生される抗体の可変重鎖及び可変軽鎖の配列に対して少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％または少なくとも約９９％同一であるまたは同一である可変重鎖及び可変軽鎖の配列を含む抗体及びその抗原結合断片である。

【０１９４】

ある特定の実施形態では、抗体または抗原結合断片は、ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２０１９６を有するハイブリドーマによって産生される抗体またはその抗原結合断片である。

【０１９５】

ある特定の実施形態では、抗体または抗原結合断片は、ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２０１９７を有するハイブリドーマによって産生される抗体またはその抗原結合断片である。

【０１９６】

ポリペプチドは、本明細書で記載される個々の軽鎖及び重鎖の１つを含むことができる。抗体及びポリペプチドは軽鎖及び重鎖の双方を含むこともできる。抗体２．１、５．７及び９．２０の軽鎖及び重鎖の配列を以下の表５及び表６にて提供する。

【表５】

表５．完全長重鎖のアミノ酸配列

抗体	完全長重鎖のアミノ酸配列(配列番号)
muFRIHC2-1 (「2.1」)	QVQLQQSGPELVKPGASVRISCKASGYTFTNSYIHWVKKRPGQGLEWIGWIYP ESLNTQYNEKFKAKATLTADKSSSTSYMQLSSLTSEDSAVYFCARRGIYYYSP YALDHWGQGASVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPV TVTWNSGSLSSGVHTFPAVLESDLYTLSSSVTVPSSMRPSETVTCNVAHPASS TKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDI SKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEF KCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDF FPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMNTNGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTFTC SVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK (配列番号 33)
muFRIHC5-7 (「5.7」)	QVQLQQSGPEVVKPGASVRISCKASGYTFTNYYIHWVKQRPGQGLEWIGWIYP GSFNVEYNEKFKAKATLTADKSSSTVYMQLSSLTSEDSAVYFCARRGIYFYSP YALDYWGQGASVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPV TVTWNSGSLSSGVHTFPAVLESDLYTLSSSVTVPSSMRPSETVTCNVAHPASS TKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDI SKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEF KCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDF FPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMNTNGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTFTC SVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK (配列番号 35)
muFRIHC9-20 (「9.20」)	QVQLQQSGPDLVKPGASVRISCKASGFTFTNYYIHWVKQRPGQGLEWIGWIYP ENVNVRYNDKFKAKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARRGIYYYSP YAMDYWGQGASVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPV TVTWNSGSLSSGVHTFPAVLESDLYTLSSSVTVPSSMRPSETVTCNVAHPASS TKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDI SKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEF KCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDF FPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMNTNGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTFTC SVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK (配列番号 37)
muhuMov19	QVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGYTFTGYFMNWVKQSPGQSLEWIGRIHP YDGDTFYNQKFQGKATLTVDKSSNTAHMELLSLTSEDFAVYYCTRYDGSRAMD YWGQGTTVTVSSASTKGPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTW NSGSLSSGVHTFPAVLESDLYTLSSSVTVPSSMRPSETVTCNVAHPASSTKVD KKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISKDD PEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRV NSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPED ITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMNTNGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTFTCSVLH EGLHNHHTEKSLSHSPGK (配列番号 68)

【表６】
表６．完全長軽鎖のアミノ酸配列

抗体	完全長軽鎖のアミノ酸配列(配列番号)
muFRIHC2-1 (「2.1」)	SDVVLTQTPLSLPVNIGDQASISCKSSKSLLNSDGFTYLDWYLQKPGQSP QLLIYLVSNHFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQSNYL PLTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDI NVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTC EATHKTSTSPIVKSFNRNEC (配列番号 34)
muFRIHC5-7 (「5.7」)	SDVVLTQTPLSLPVNIGDQASISCKSTESLLNSDGFTYLDWYLQKPGQSP QLLIYLVSNHFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQSNYL PLTFGGGTKLEVKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDI NVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTC EATHKTSTSPIVKSFNRNEC (配列番号 36)
muFRIHC9-20 (「9.20」)	SDVVLTQTPLSLPVNLGDQASISCKSTKSLLNSDGFTYLDWYLQKPGQSP QLLIYLVSNHFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQSNYL PLTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDI NVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTC EATHKTSTSPIVKSFNRNEC (配列番号 38)
muhuMov19	DIVLTQSPLSLAVSLGQPAIISCKASQSVSFAGTSLMHWYHQKPGQQPRL LIYRASNLEAGVPDRFSGSGSKTDFTLTISPVEAEDAATYYCQQSREYPY TFGGGTKLEIKRTDAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINV KWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEA THKTSTSPIVKSFNRNEC (配列番号 69)

【０１９７】
提供されるのはまた、（ａ）配列番号３３、３５または３７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及び／または（ｂ）配列番号３４、３６または３８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である。ある特定の実施形態では、ポリペプチドは、配列番号３３～３８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％、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。従って、ある特定の実施形態では、ポリペプチドは、（ａ）配列番号３３、３５または３７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及び／または（ｂ）配列番号３４、３６または３８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。ある特定の実施形態では、ポリペプチドは、（ａ）配列番号３３、３５または３７のアミノ酸配列を有するポリペプチド及び／または（ｂ）配列番号３４、３６または３８のアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む。ある特定の実施形態では、ポリペプチドは抗体であり、及び／またはポリペプチドはＦＯＬＲ１に特異的に結合する。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。ある特定の実施形態では、配列番号３３～３８に対してある特定の比率の配列同一性を有するポリペプチドは、保存的なアミノ酸置換によってのみ配列番号３３～３８とは異なる。

【０１９８】
提供されるのはまた、ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２０１９６またはＰＴＡ－１２０１９７を有するハイブリドーマによって産生される抗体の軽鎖の配列に対して少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％または少なくとも約９９％同一であるまたは同一である軽鎖を含むポリペプチドである。

【０１９９】
提供されるのはまた、ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２０１９６またはＰＴＡ－１２０１９７を有するハイブリドーマによって産生される抗体の重鎖の配列に対して少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％または少なくとも約９９％同一である

または同一である重鎖を含むポリペプチドである。

【０２００】

提供されるのはまた、ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２０１９６またはＰＴＡ－１２０１９７を有するハイブリドーマによって産生される抗体の重鎖及び軽鎖の配列に対して少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％または少なくとも約９９％同一であるまたは同一である重鎖及び軽鎖の配列を含む抗体及びその抗原結合断片である。

【０２０１】

抗原に対する抗体の親和性または結合活性は、当該技術で周知の好適な方法、たとえば、フローサイトメトリー、酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）または放射性免疫アッセイ（ＲＩＡ）または速度論（たとえば、ＢＩＡＣＯＲＥ（商標）分析）を用いて実験的に測定することができる。直接結合アッセイならびに競合結合アッセイ方式を容易に採用することができる（たとえば、Ｂｅｒｚｏｆｓｋｙら，”Ａｎｔｉｂｏｄｙ－Ａｎｔｉｇｅｎ Ｉｎｔｅｒａｃｔｉｏｎｓ，”Ｉｎ Ｆｕｎｄａｍｅｎｔａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，Ｐａｕｌ，Ｗ．Ｅ．編，Ｒａｖｅｎ Ｐｒｅｓｓ：Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．（１９８４）；Ｋｕｂｙ，Ｊａｎｉｓ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ ａｎｄ Ｃｏｍｐａｎｙ：Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．（１９９２）；及び本明細書で記載される方法を参照のこと）。特定の抗体／抗原の相互作用の測定された親和性は、異なる条件下（たとえば、塩濃度、ｐＨ、温度）で測定されれば変化し得る。従って、親和性及び他の抗原結合パラメータ（たとえば、ＫＤまたはＫｄ、K_{on}、K_{off}）の測定は、抗体及び抗原の標準化した溶液及び本明細書で記載される緩衝液のような当該技術で既知であるような標準化した緩衝液で行う。

【０２０２】

態様の１つでは、結合アッセイは、表面にＦＯＬＲ１抗原を発現している細胞にてフローサイトメトリーを用いて行うことができる。たとえば、１００μＬのＦＡＣＳ緩衝液（２％正常ヤギ血清で補完したＲＰＭＩ－１６４０培地）にて試料当たり1×10^{5}個の細胞を用いて抗ＦＯＬＲ１抗体の濃度を変化させてＦＯＬＲ１陽性細胞、たとえば、ＳＫＯＶ３をインキュベートすることができる。次いで、細胞をペレットにし、洗浄し、１００μＬのＦＩＴＣ結合のヤギ抗マウスまたはヤギ抗ヒトのＩｇＧ（たとえば、Ｊａｃｋｓｏｎ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙから入手可能である、ＦＡＣＳ緩衝液中で６μｇ／ｍＬ）と共に１時間インキュベートすることができる。次いで、細胞を再びペレットにし、ＦＡＣＳ緩衝液で洗浄し、１％ホルムアミドを含有する２００μＬのＰＢＳに再懸濁させる。たとえば、ＨＴＳマルチウェルサンプラーを伴ったＦＡＣＳＣａｌｉｂｕｒフローサイトメータを用いて試料を捕捉することができ、ＣｅｌｌＱｕｅｓｔ Ｐｒｏ（すべてＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，ＵＳからの）を用いて分析することができる。各試料について、ＦＬ１の平均蛍光強度（ＭＦＩ）を取り出し、半対数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することができる。Ｓ字用量反応曲線を結合曲線に当てはめ、たとえば、初期設定パラメータのＧｒａｐｈＰａｄ Ｐｒｉｓｍ ｖ４（ＧｒａｐｈＰａｄ ｓｏｆｔｗａｒｅ，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）のようなプログラムを用いてＥＣ５０値を算出する。各抗体についての見かけの解離定数「Ｋｄ」または「ＫＤ」についての評価基準としてＥＣ５０値を使用することができる。

【０２０３】

Ｋｏｈｌｅｒ及びＭｉｌｓｔｅｉｎ（１９７５），Ｎａｔｕｒｅ，２５６：４９５によって記載されたもののようなハイブリドーマ法を用いてモノクローナル抗体を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当な宿主動物を免疫して、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出す。リンパ球も試験管内で免疫することができる。免疫に続いて、リンパ球を単離し、たとえば、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せてハイブリドーマ細胞を形成し、その後、それを融合しなかったリンパ球及び骨髄腫細胞から選別することができる。免疫沈降、免疫ブロットによって、または試験管内の結合アッセイ（たとえば、放射性免疫アッセイ（ＲＩＡ）、酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ））によって決定され

るような選択された抗原に対して特異的に向けられたモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマを次いで、常法（Ｇｏｄｉｎｇ，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，１９８６）を用いた試験管内の培養にて、または動物における腹水腫瘍として生体内で増殖させることができる。次いでポリクローナル抗体について記載されたように、モノクローナル抗体を培養培地または腹水液から精製することができる。

【０２０４】

或いは、米国特許第４，８１６，５６７号にて記載されたような組換えＤＮＡ法を用いてモノクローナル抗体を作製することができる。たとえば、抗体の重鎖及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たＲＴ－ＰＣＲによって、モノクローナル抗体をコードするポリヌクレオチドを成熟Ｂ細胞またはハイブリドーマ細胞から単離し、従来の手順を用いてその配列を決定する。次いで、重鎖及び軽鎖をコードする単離されたポリヌクレオチドを好適な発現ベクターにクローニングし、別様であれば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にそれを形質移入すると、宿主細胞によってモノクローナル抗体が産生される。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、記載された（ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙら，１９９０，Ｎａｔｕｒｅ，３４８：５５２－５５４；Ｃｌａｃｋｓｏｎら，１９９１，Ｎａｔｕｒｅ，３５２：６２４－６２８；及びＭａｒｋｓら，１９９１，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２２２：５８１－５９７）ように所望の種のＣＤＲを発現するファージディスプレライブラリから単離することができる。

【０２０５】

組換えＤＮＡ法を用いた多数の異なる方法にて、モノクローナル抗体をコードするポリヌクレオチドをさらに修飾して代替抗体を生成することができる。一部の実施形態では、たとえば、マウスのモノクローナル抗体の軽鎖及び重鎖の定常ドメインを、（１）たとえば、ヒト抗体のその領域に置換してキメラ抗体を生成することができ、または（２）非免疫グロブリンタンパク質に置換して融合抗体を生成することができる。一部の実施形態では、定常領域を切り詰め、または取り除いてモノクローナル抗体の所望の抗体断片を生成する。可変領域の部位特異的なまたは高密度の変異誘発を用いてモノクローナル抗体の特異性、親和性等を最適化することができる。

【０２０６】

一部の実施形態では、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。ある特定の実施形態では、そのような抗体を治療上用いて、ヒト対象に投与した場合抗原性及びＨＡＨＡ（ヒト抗マウス抗体）反応を軽減する。

【０２０７】

非ヒト抗体またはヒト抗体を操作する、ヒト化するまたは表面再構成する方法を使用することができ、それらは当該技術で周知である。ヒト化された、表面再構成した、または同様に操作された抗体は、非ヒトであるが、たとえば、マウス、ラット、ウサギ、非ヒト霊長類または他の哺乳類に限定されない供給源に由来する１以上のアミノ酸残基を有することができる。これらの非ヒトのアミノ酸残基は「移入」残基と呼ばれることが多い残基によって置き換えられ、それは通常、既知のヒト配列の「移入」の可変、定常または他のドメインから選び取られる。

【０２０８】

そのような移入された配列を用いて免疫原性を減らすことができ、または当該技術で知られるように結合、親和性、オン速度、オフ速度、結合活性、特異性、半減期、または任意の他の好適な特性を軽減する、向上させるまたは修飾することができる。一般に、ＣＤＲ残基が直接、且つ最も実質的にＦＯＬＲ１結合に影響を及ぼすことに関与する。従って、非ヒトまたはヒトのＣＤＲ配列の一部またはすべてが維持される一方で、可変領域及び定常領域の非ヒト配列はヒトのアミノ酸または他のアミノ酸で置き換えることができる。

【０２０９】

抗原ＦＯＬＲ１に対する高い親和性及び他の好都合な生物特性を保持しながら、抗体は任意でヒト化され、表面再構成され、操作されることもでき、またはヒト抗体が操作されることもできる。この目標を達成するために、親配列、操作された配列、及びヒト化された配列の三次元モデルを用いた親配列及び種々の概念的なヒト化産物及び操作した産物の解析プロセスによって、ヒト化した（ヒトの）または操作した抗ＦＯＬＲ１抗体及び表面再構成した抗体を任意で調製することができる。三次元の免疫グロブリンモデルは市販されており、当業者に精通している。選択された候補免疫グロブリン配列の考えられる三次元立体構造を説明し、表示するコンピュータプログラムが利用可能である。これらの表示の調査によって候補免疫グロブリン配列の機能における残基の可能性の高い役割の分析が可能になり、すなわち、候補免疫グロブリンのＦＯＬＲ１のような抗原に結合する能力に影響を及ぼす残基の分析が可能になる。このように、フレームワーク（ＦＲ）残基を選択し、所望の抗体の特徴、たとえば、標的抗原に対する増加した親和性が達成されるようにコンセンサス配列及び移入配列と組み合わせることができる。

【０２１０】

本発明の抗体のヒト化、表面再構成または操作は、たとえば、そのそれぞれが参照によって本明細書に組み入れられ、その中で引用された参考文献を含む、Ｗｉｎｔｅｒ（Ｊｏｎｅｓら，Ｎａｔｕｒｅ，３２１：５２２（１９８６）；Ｒｉｅｃｈｍａｎｎら，Ｎａｔｕｒｅ，３３２：３２３（１９８８）；Ｖｅｒｈｏｅｙｅｎら，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２３９：１５３４（１９８８））、Ｓｉｍｓら，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５１：２２９６（１９９３）；Ｃｈｏｔｈｉａ及びＬｅｓｋ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１（１９８７）、Ｃａｒｔｅｒら，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．８９：４２８５（１９９２）；Ｐｒｅｓｔａら，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５１：２６２３（１９９３）、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／ＵＳ９８／１６２８０；ＵＳ９６／１８９７８；ＵＳ９１／０９６３０；ＵＳ９１／０５９３９；ＵＳ９４／０１２３４；ＧＢ８９／０１３３４；ＧＢ９１／０１１３４；ＧＢ９２／０１７５５；ＷＯ９０／１４４４３；ＷＯ９０／１４４２４；ＷＯ９０／１４４３０；ＥＰ２２９２４６；７，５５７，１８９；７，５３８，１９５；及び７，３４２，１１０にて記載されたもののような、しかし、これらに限定されない既知の方法を用いて実施することができる。

【０２１１】

ある特定の代替の実施形態では、ＦＯＬＲ１に対する抗体はヒト抗体である。ヒト抗体は当該技術で既知の種々の技法を用いて直接調製することができる。試験管内で免疫された、または標的抗原に対して向けられた抗体を産生する免疫された個体から単離された不死化したヒトＢリンパ球を生成することができる（たとえば、Ｃｏｌｅら，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ，Ａｌａｎ Ｒ．Ｌｉｓｓ，ｐ．７７（１９８５）；Ｂｏｅｍｅｒら，１９９１，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１４７（１）：８６－９５；及び米国特許第５，７５０，３７３号を参照のこと）。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、その際、ファージライブラリは、たとえば、Ｖａｕｇｈａｎら，１９９６，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．，１４：３０９－３１４、Ｓｈｅｅｔｓら，１９９８，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，９５：６１５７－６１６２、Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ及びＷｉｎｔｅｒ，１９９１，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２２７：３８１、並びにＭａｒｋｓら，１９９１，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２２２：５８１にて記載されたようにヒト抗体を発現する。抗体ファージライブラリの生成及び使用は、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；及び同第７，２６４，９６３号；並びにＲｏｔｈｅら，２００７，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏ．，ｄｏｉ：１０．１０１６／ｊ．ｊｍｂ．２００７．１２．０１８（そのそれぞれはその全体が参照によって本明細書に組み入れられる）においても記載されている。親和性成熟戦略及び鎖シャッフリング戦略（その全体が参照によって組み入れられるＭａｒｋｓら，１９９２，Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，１０：７７９－７８３）は当該技術で既知であり、それらを採用して高親和性のヒト抗体を生成することができる。

【０２１２】

内在性の免疫グロブリン産生の非存在下で免疫の際にヒト抗体の完全なレパトアを産生することが可能である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もヒト化抗体を作製することができる。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；及び同第５，６６１，０１６号にて記載されている。

【０２１３】

ある特定の実施形態では、提供されるのは、たとえば、腫瘍浸潤を高める抗体断片である。抗体断片の作製について種々の技法が知られている。従来、これらの断片はインタクトな抗体のタンパク分解消化を介して導き出される（たとえば、Ｍｏｒｉｍｏｔｏら，１９９３，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｃａｌ ａｎｄ Ｂｉｏｐｈｙｓｉｃａｌ Ｍｅｔｈｏｄｓ，２４：１０７－１１７；Ｂｒｅｎｎａｎら，１９８５，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２２９：８１）。ある特定の実施形態では、抗体断片は組換えで作製される。Ｆａｂ、Ｆｖ及びｓｃＦｖ抗体断片はすべて大腸菌または他の宿主細胞にて発現され、それから分泌されるので、これらの断片の大量生産が可能になる。そのような抗体断片は抗体ファージライブラリからも単離することができる。抗体断片は、たとえば、米国特許第５，６４１，８７０号にて記載された線状抗体であることもでき、単一特異性または二重特異性であることができる。抗体断片の作製についての他の技法は技量のある実践者には明らかであろう。

【０２１４】

本発明の目的で、修飾された抗体は抗体のヒトＦＯＬＲ１のポリペプチドとの会合を提供する任意の型の可変領域を含むことができることが十分に理解されるべきである。この点で、可変領域は、所望の腫瘍関連抗原に対する液性免疫を備え、免疫グロブリンを生成するように誘導することができる任意の種類の哺乳類を備えることができ、またはそれに由来することができる。したがって、修飾された抗体の可変領域は、たとえば、ヒト、マウス、非ヒト霊長類（たとえば、カニクイザル、マカク等）またはオオカミの起源のものであることができる。一部の実施形態では、修飾された免疫グロブリンの可変領域及び定常領域の双方がヒトのものである。他の実施形態では、適合する抗体（普通、非ヒト供給源に由来する）の可変領域が結合特性を改善し、分子の免疫原性を減らすように操作され、または特に誂えられ得る。この点で、本発明で有用な可変領域はヒト化することができ、またはさもなければ、移入されるアミノ酸配列の包含を介して変えることができる。

【０２１５】

ある特定の実施形態では、重鎖及び軽鎖双方における可変ドメインは、１以上のＣＤＲの少なくとも部分的な置き換えによって、必要に応じて部分的なフレームワーク領域の置き換え及び配列変化によって変えられる。ＣＤＲは、フレームワーク領域が由来する抗体と同じクラスまたはさらにサブクラスの抗体に由来することができるが、ＣＤＲは異なるクラスに由来し、ある特定の実施形態では、異なる種の抗体に由来することが想定される。ドナーの可変領域に由来する完全なＣＤＲでＣＤＲのすべてを置き換えて１つの可変ドメインの抗原結合能を別に移すことが必要でなくてもよい。むしろ、抗原結合部位の活性を維持するのに必要である残基を移すことが必要であるに過ぎない可能性がある。米国特許第５，５８５，０８９号；同第５，６９３，７６１号及び同第５，６９３，７６２号にて言及された説明を考えると、日常の実験を行うことによって、または試行錯誤の試験を

行うことによって、低下した免疫原性を持つ機能的な抗体を得ることは、十分に当業者の力量の範囲内であろう。

【０２１６】

可変領域に対する変化にもかかわらず、当業者は、ネイティブのまたは未変化の定常領域を含むほぼ同じ免疫原性の抗体と比べた場合、たとえば、より高い腫瘍の局在化または低下した血清半減期のような所望の生化学的特徴を提供するように、定常領域ドメインの１以上の少なくとも一部が欠失している、またはさもなければ変化している抗体（たとえば、完全長の抗体またはその免疫反応性の断片）を本発明の修飾された抗体が含むことを十分に理解するであろう。一部の実施形態では、修飾された抗体の定常領域はヒトの定常領域を含むであろう。本発明に適合する定常領域に対する修飾は１以上のドメインにて１以上のアミノ酸の付加、欠失または置換を含む。すなわち、本明細書で開示される修飾された抗体は３つの重鎖定常ドメイン（ＣＨ１、ＣＨ２またはＣＨ３）の１以上及び／または軽鎖定常ドメイン（ＣＬ）に対する変化または修飾を含むことができる。一部の実施形態では、１以上のドメインを部分的にまたは全体的に欠失させる修飾された定常領域が熟考される。一部の実施形態では、修飾された抗体はＣＨ２ドメイン全体が取り除かれているドメイン欠失の構築物または変異体（ΔＣＨ２構築物）を含むであろう。一部の実施形態では、省略された定常領域ドメインは、存在しない定常領域によって通常付与される分子柔軟性の一部を提供する短いアミノ酸スペーサー（たとえば、１０残基）によって置き換えられるであろう。

【０２１７】

ある特定の実施形態では、修飾された抗体は各修飾された抗体のヒンジ領域にＣＨ３ドメインを直接融合させるように操作することができることが言及されるであろう。他の構築物では、ヒンジ領域と修飾されたＣＨ２及び／またはＣＨ３領域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可能性がある。たとえば、ＣＨ２ドメインが欠失しており、残りのＣＨ３ドメイン（修飾されたまたは未修飾の）が５～２０アミノ酸のスペーサーを伴ってヒンジ領域に連結される適合性の構築物が発現され得る。そのようなスペーサーを付加して、たとえば、定常ドメインの調節要素が自由でアクセス可能なままであり、またはヒンジ領域が柔軟なままであることを保証することができる。しかしながら、アミノ酸スペーサーは場合によっては、免疫原性であり、構築物に対する望ましくない免疫応答を引き出すことを明確に示し得ることが言及されるべきである。従って、ある特定の実施形態では、構築物に付加されるスペーサーは、修飾された抗体の所望の生化学的な質を維持するように相対的に非免疫原性であり、またはさらに完全に省かれるであろう。

【０２１８】

定常領域ドメイン全体の欠失に加えて、本発明の抗体は２、３のまたはさらには単一のアミノ酸の部分的な欠失または置換によって提供され得ることが十分に理解されるであろう。たとえば、ＣＨ２ドメインの選択された領域における単一アミノ酸の変異はＦｃ結合を実質的に減らすのに十分であり得、それによって腫瘍の局在化を増やし得る。同様に、調節されるエフェクター機能（たとえば、補体Ｃ１Ｑの結合）を制御する１以上の定常領域ドメインのその部分を単に欠失させることが望ましい可能性がある。定常領域のそのような部分的な欠失は抗体の選択された特徴（血清の半減期）を改善し得る一方で、対象の定常領域に関連する他の望ましい機能はインタクトのままである。さらに、上記について暗に示されるように、開示される抗体の定常領域は、得られる構築物のプロファイルを向上させる１以上のアミノ酸の変異または置換を介して修飾することができる。この点で、保存された結合部位（たとえば、Ｆｃ結合）によって提供される活性を崩壊させることが可能である一方で修飾された抗体の立体構造及び免疫原性プロファイルは維持される。ある特定の実施形態は、定常領域への１以上のアミノ酸の付加を含み得、たとえば、エフェクター機能の増減のような望ましい特徴を向上させ、またはさらなる細胞毒素若しくは炭水化物の連結を提供することができる。そのような実施形態では、選択された定常領域ドメインに由来する特定の配列を挿入するまたは反復することが望ましいことであり得る。

【０２１９】

本発明はさらに、本明細書で言及されるキメラ抗体、ヒト化抗体及びヒト抗体またはそれらの抗体断片に対して実質的に相同である変異体及び等価体を含む。これらは、たとえば、保存的な置換変異、すなわち、類似のアミノ酸による１以上のアミノ酸の置換を含有することができる。たとえば、保存的な置換は、たとえば、別の酸性アミノ酸による酸性アミノ酸１つ、別の塩基性アミノ酸による塩基性アミノ酸１つ、または別の中性アミノ酸による中性アミノ酸１つのような同一一般クラスの範囲内での別のアミノ酸によるアミノ酸の置換を指す。保存的なアミノ酸置換によって意図されるものは当該技術で周知である。

【０２２０】

本発明のポリペプチドは、ヒトのＦＯＬＲ１に対する抗体を含む組換えポリペプチド、天然のポリペプチド、または合成のポリペプチド、またはその断片であることができる。本発明の一部のアミノ酸配列はタンパク質の構造または機能に有意に影響することなく変化し得ることが当該技術で認識されるであろう。従って、本発明はさらに、ヒトの葉酸受容体タンパク質に対する抗体の実質的な活性を示す、または抗体の領域を含むポリペプチドの変異、またはその断片を含む。そのような変異体には、欠失、挿入、逆位、反復及び類型置換が含まれる。

【０２２１】

ポリペプチド及び類似体は、正常ではタンパク質の一部ではない追加の化学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タンパク質の溶解性、生物学的半減期または吸収を改善することができる。その部分はタンパク質等の在るべき副作用を軽減するまたは排除することができる。これらの部分の概観はＲＥＭＩＮＧＴＯＮ’Ｓ　ＰＨＡＲＭＡＣＥＵＴＩＣＡＬ　ＳＣＩＥＮＣＥＳ，第２０版，Ｍａｃｋ　Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ　Ｃｏ．，Ｅａｓｔｏｎ，ＰＡ（２０００）にて見いだすことができる。

【０２２２】

本明細書で記載される単離されたポリペプチドは当該技術で既知の好適な方法によって作出することができる。そのような方法は直接的なタンパク質の合成法から、単離されたポリペプチド配列をコードするＤＮＡ配列を構築し、好適な形質転換宿主にてそれらの配列を発現させることまで及ぶ。一部の実施形態では、ＤＮＡ配列は野生型の当該タンパク質をコードするＤＮＡ配列を単離することまたは合成することによる組換え法を用いて構築される。任意で、配列を部位特異的な変異誘発によって変異させ、その機能的類似体を提供することができる。たとえば、Ｚｏｅｌｌｅｒら，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８１：５６６２－５０６６（１９８４）及び米国特許第４，５８８，５８５号を参照のこと。

【０２２３】

一部の実施形態では、当該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機を用いた化学合成によって構築されることになる。そのような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及び組換えの当該ポリペプチドが産生される宿主細胞にて好まれるそれらのコドンを選択することに基づいて設計することができる。標準の方法を適用して単離された当該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ことができる。たとえば、完全なアミノ酸配列を用いて逆翻訳し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オリゴマーを合成することができる。たとえば、所望のポリペプチドの一部をコードする幾つかの小さなオリゴヌクレオチドを合成し、次いで連結することができる。個々のオリゴヌクレオチドは通常、相補性のアセンブリに対して５’または３’のオーバーハングを含有する。

【０２２４】

（合成、部位特異的な変異誘発または別の方法によって）いったん組み立てられると、特定の単離された当該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、所望の宿主におけるタンパク質の発現に適する発現制御配列に操作可能に連結

される。適切なアセンブリはヌクレオチドの配列決定、制限マッピング、好適な宿主における生物活性のあるポリペプチドの発現によって確認することができる。当該技術で周知のように、宿主にて形質移入された遺伝子の高レベルの発現を得るために、遺伝子は、選択された発現宿主にて機能的である転写及び翻訳の発現制御配列に操作可能に連結されなければならない。

【０２２５】

ある特定の実施形態では、組換え発現ベクターを用いて、ヒトのＦＯＬＲ１に対する抗体またはその断片をコードするＤＮＡを増幅し、発現させる。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する合成のまたはｃＤＮＡに由来するＤＮＡ断片を有し、哺乳類、微生物、ウイルスまたは昆虫の遺伝子に由来する好適な転写または翻訳の調節要素に操作可能に連結される複製可能なＤＮＡ構築物である。転写単位は一般に（１）遺伝子発現にて調節の役割を有する遺伝要素（単数）または要素（複数）、たとえば、転写プロモータまたはエンハンサと、（２）ｍＲＮＡに転写され、タンパク質に翻訳される構造配列またはコーディング配列と、（３）適当な転写及び翻訳の開始及び終結の配列とのアセンブリを含む。そのような調節要素には転写を制御するオペレータ配列を挙げることができる。宿主において複製する能力は普通、複製開始点によって付与され、形質転換体の認識を円滑にする選抜遺伝子をさらに組み込むことができる。ＤＮＡ領域はそれらが互いに機能的に関連する場合、操作可能に連結される。たとえば、シグナルペプチド（分泌リーダー）のための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のであればＤＮＡに操作可能に連結され；プロモータは、それが配列の転写を制御するのであればコーディング配列に操作可能に連結され；または、リボソーム結合部位は、それが翻訳を許容するように位置づけられるのであればコーディング配列に操作可能に連結される。酵母発現系での使用が意図される構造要素には、翻訳されたタンパク質の宿主細胞による細胞外分泌を可能にするリーダー配列が含まれる。或いは、リーダー配列または輸送配列なしで組換えタンパク質を発現させる場合、それにはＮ末端メチオニンが含まれ得る。その後、この残基は発現された組換えタンパク質から任意で切断されて最終産物を提供する。

【０２２６】

発現制御配列及び発現ベクターの選択は宿主の選択に左右されるであろう。多種多様な発現宿主／ベクターの組み合わせを採用することができる。真核細胞宿主にとって有用な発現ベクターには、たとえば、ＳＶ４０、ウシパピローマウイルス、アデノウイルス及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。細菌宿主にとって有用な発現ベクターには、ｐＣＲ１、ｐＢＲ３２２、ｐＭＢ９またはそれらの誘導体を含む大腸菌に由来するプラスミド、Ｍ１３及びフィラメント状一本鎖ＤＮＡファージのような広い宿主範囲のプラスミドのような既知の細菌プラスミドが挙げられる。

【０２２７】

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ＦＯＬＲ１タンパク質）の発現にとって好適な宿主には、適当なプロモータの制御下での原核細胞、酵母細胞、昆虫細胞または高等真核細胞が挙げられる。原核細胞にはグラム陰性またはグラム陽性の生物、たとえば、大腸菌または桿菌が挙げられる。高等真核細胞には哺乳類起源の樹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、酵母及び哺乳類の細胞宿主と共に使用するのに適したクローニングベクター及び発現ベクターは、Ｐｏｕｗｅｌｓら（Ｃｌｏｎｉｎｇ　Ｖｅｃｔｏｒｓ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ，Ｅｌｓｅｖｉｅｒ，Ｎ．Ｙ．，１９８５）によって記載されており、その関連する開示は参照によって本明細書に組み入れられる。抗体産生を含むタンパク質産生の方法に関する追加の情報は、そのそれぞれが全体として参照によって本明細書に組み入れられる、たとえば、米国特許出願公開第２００８／０１８７９５４号、米国特許第６，４１３，７４６号及び同第６，６６０，５０１号及びＷＯ０４００９８２３にて見いだすことができる。

【０２２８】

種々の哺乳類または昆虫の培養系も有利に用いて組換えタンパク質を発現させる。哺乳類細胞における組換えタンパク質の発現を、そのようなタンパク質が一般に正しく折り畳まれ、適宜修飾され、完全に機能的であるので、実施することができる。好適な哺乳類の宿主細胞株の例には、ＨＥＫ－２９３及びＨＥＫ－２９３Ｔ、Ｇｌｕｚｍａｎ（Ｃｅｌｌ、２３：１７５、１９８１）によって記載されたサルの腎臓細胞のＣＯＳ－７株、及び、たとえば、Ｌ細胞、Ｃ１２７、３Ｔ３、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）、ＨｅＬａ及びＢＨＫの細胞株を含む他の細胞株が挙げられる。哺乳類の発現ベクターは、複製開始点のような非転写要素、発現される遺伝子に連結された好適なプロモータとエンハンサ、及び他の５’または３’隣接非転写配列及び５’または３’非翻訳配列、たとえば、必要なリボソーム結合部位、ポリアデニル化部位、スプライスのドナーとアクセプターの部位及び転写終結配列を含むことができる。昆虫細胞における非相同のタンパク質の産生用のバキュロウイルス系はＬｕｃｋｏｗ及びＳｕｍｍｅｒｓ，Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，６：４７（１９８８）によって概説されている。

【０２２９】

形質転換された細胞によって産生されたタンパク質を好適な方法に従って精製することができる。そのような標準的な方法には、クロマトグラフィ（たとえば、イオン交換、アフィニティ、及びサイズ決定カラムクロマトグラフィ）、遠心分離、示差溶解性、またはタンパク質精製用の他の常法が挙げられる。たとえば、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及びグルタチオン－Ｓ－トランスフェラーゼのような親和性タグをタンパク質に連結させて適当なアフィニティカラムの通過による容易な精製を可能にすることができる。タンパク質分解、核磁気共鳴及びＸ線結晶学のような技法を用いて、単離されたタンパク質を物理的に特徴付けることもできる。

【０２３０】

たとえば、市販のタンパク質濃縮フィルター、たとえば、ＡｍｉｃｏｎまたはＭｉｌｌｉｐｏｒｅ　Ｐｅｌｌｉｃｏｎの限外濾過ユニットを用いて、培養培地に組換えタンパク質を分泌する系に由来する上清を先ず濃縮することができる。濃縮ステップに続いて、濃縮物を好適な精製マトリクスに適用することができる。或いは、アニオン交換樹脂、たとえば、ペンダントジエチルアミノエチル（ＤＥＡＥ）基を有するマトリクスまたは基質を採用することができる。マトリクスは、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に採用される他の種類であることができる。或いは、カチオン交換ステップを採用することができる。好適なカチオン交換体にはスルホプロピル基またはカルボキシメチル基を含む種々の不溶性のマトリクスが挙げられる。最終的には、疎水性のＲＰ－ＨＰＬＣ媒体、たとえば、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を採用する１以上の逆相高速液体クロマトグラフィ（ＲＰ－ＨＰＬＣ）を採用してＦＯＬＲ１結合作用物質をさらに精製することができる。種々の実施形態では、前述の精製ステップの一部または全部を採用して均質な組換えタンパク質を提供することもできる。

【０２３１】

たとえば、細胞ペレットからの当初の抽出、その後の１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のステップによって、細菌培養にて産生された組換えタンパク質を単離することができる。最終精製ステップには高速液体クロマトグラフィ（ＨＰＬＣ）を採用することができる。凍結融解の繰り返し、超音波処理、機械的粉砕、または細胞溶解剤の使用を含む従来の方法によって、組換えタンパク質の発現に採用された微生物細胞を粉砕することもできる。

【０２３２】

抗体または他のタンパク質を精製するための当該技術で既知の方法には、たとえば、そのそれぞれが全体として参照によって本明細書に組み入れられる米国特許出願公開第２００８／０３１２４２５号、同第２００８／０１７７０４８号及び同第２００９／０１８７００５号にて記載されたものも挙げられる。

【０２３３】

ＩＩＩ．ポリヌクレオチド

ある特定の実施形態では、本発明はヒトのＦＯＬＲ１受容体を特異的に結合するポリペプチドまたはそのような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。たとえば、本発明はヒトのＦＯＬＲ１に対する抗体をコードする、またはそのような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の形態であることができる。ＤＮＡには、ｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ、及び合成ＤＮＡが挙げられ、二本鎖または一本鎖であることができ、一本鎖はコーディング鎖または非コーディング（アンチセンス）鎖であることができる。一部の実施形態では、ポリヌクレオチドは１以上の内在性のイントロンを欠くｃＤＮＡまたはＤＮＡである。

【０２３４】

一部の実施形態では、ポリヌクレオチドは天然に存在しないポリヌクレオチドである。一部の実施形態では、ポリヌクレオチドは組換えで作出される。

【０２３５】

ある特定の実施形態では、ポリヌクレオチドは単離される。あ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。一部の実施形態では、ポリヌクレオチドは天然の成分から精製される。

【０２３６】

本発明は、配列番号３～３８及び５９～６７から成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。提供されるのはまた、配列番号３～３８及び５９～６７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である。

【０２３７】

本発明はさらに、以下の表７及び表８で示されるものから選択される配列を含むポリヌクレオチドを提供する。

【表７】

表７．可変重鎖のポリヌクレオチド配列

抗体	可変重鎖のポリヌクレオチド配列(配列番号)
muFRIHC2-1 (「2.1」)	caggtccaactgcagcagtctggacctgagctggtgaagcctggggcttcag tgaggatatcctgcaaggcttctggctacaccttcacaaactcctatattca ctgggtgaaaaagaggcctggacagggacttgagtggattggatggatttat cctgaaagtcttaatactcaatacaatgagaagttcaaggccaaggccacac tgactgctgacaagtcctccagcacatcctacatgcagctcagcagtctgac ctctgaggactctgcggtctatttctgtgcaagaaggggtatttattactac tctccctatgctctggaccactggggtcaaggagcctcagtcaccgtctcct ca（配列番号 39）
muFRIHC5-7 (「5.7」)	caggtccaactgcagcagtctggacctgaggtggtgaagcctggggcttcag tgaggatatcctgcaaggcttctggctacaccttcacaaactactatataca ctgggtgaagcagaggcctggacagggacttgagtggattggatggatttat cctggaagttttaatgttgagtacaatgagaagttcaaggccaaggccacac tgactgcagacaaatcctccagcacagtctacatgcaactcagcagcctgac ctctgaggactctgcggtctatttctgtgcaagaaggggtatttatttctac tctccctatgctttggactactggggtcaaggagcctcagtcaccgtctcct ca（配列番号 41）
muFRIHC9-20 (「9.20」)	caggtccaactgcagcagtctggacctgacctggtgaagcctggggcttcag tgaggatatcctgcaaggcttctggcttcaccttcacaaactactatataca ctgggtgaagcagaggcctggacagggacttgagtggattggatggatttat cctgaaaatgttaatgttaggtacaatgacaagttcaaggccaaggccacac tgactgcagacaaatcctccagcacagcctacatgcagctcagcagcctgac ctctgaggactctgcggtctatttctgtgcaagaaggggtatttattactac tctccctatgctatggactactggggtcaaggagcctcagtcaccgtctcct ca（配列番号 43）
huFRIHC2-1 (表面再構成した)	aagcttgccaccATGGGTTGGAGCTGCATTATCCTTTTCCTTGTGGCTACAG CTACTGGCGTTCACTCTCAGGTACAATTGGTTCAGTCAGGAGCCGAGGTCGT AAAGCCCGGTGCCAGTGTGAAGATCTCATGCAAGGCAAGCGGTTATACTTTT ACAAACTCTTACATTCATTGGGTGAAAAAGCGGCCCGGCCAGGGTCTCGAAT GGATCGGCTGGATCTACCCAGAAAGTCTGAACACTCAATACAACCAGAAGTT TCAGGGTAAGGCAACTCTCACTGCCGACAAGAGCTCTAGCACAAGCTATATG CAGTTGTCTAGTTTGACAAGCGAGGATAGCGCAGTTTACTTTTGTGCTCGGC GTGGTATTTATTACTACTCACCTTATGCTCTGGATCACTGGGGACAGGGTGC CTCTGTTACCGTTTCCAGTGCATCCACCaagggccc（配列番号 70）
huFRIHC2-1 (移植した)	aagcttgccaccATGGGCTGGAGCTGCATAATCCTCTTCCTCGTAGCTACCG CCACTGGGGTGCATTCTCAAGTACAGTTGGTGCAGTCCGGAGCTGAAGTCAA GAAGCCAGGGGCTTCTGTTAAGGTGAGCTGTAAGGCTTCCGGATATACCTTC ACAAACAGTTATATCCATTGGGTGAGGCAAGCTCCAGGCCAGGGTCTCGAAT GGATGGGATGGATCTACCCCGAGAGTCTGAACACCCAGTACAACGAGAAGTT CAAGGCACGTGTGACCATGACAAGAGACACCTCCATCAGTACAGCCTATATG GAATTGAGCCGTCTCAGAAGTGATGATACAGCAGTGTACTACTGCGCCAGGC GGGGCATCTACTACTACAGCCCATACGCTCTCGACCACTGGGGACAAGGAAC ACTGGTAACCGTAAGCTCAGCTTCTACAaagggccc（配列番号 71）

【表８－１】
表８．可変軽鎖のポリヌクレオチド配列

抗体	可変軽鎖のポリヌクレオチド配列(配列番号)
muFRIHC2-1 (「2.1」)	agtgatgttgttctgacccaaactccactctctctgcctgtcaatattgg agatcaagcctctatctcttgcaagtcttctaagagtcttctgaatagtg atggattcacttatttggactggtacctgcagaagccaggccagtctcca cagctcctaatatatttggtttctaatcatttttctggagttccagacag gttcagtggcagtgggtcaggaacagatttcacactcaagatcagcagag tggaggctgaggatttgggagtttattattgcttccagagtaactatctt cctctcacgttcggaggggggaccaagctggaaataaaacgg（配列番号40）
muFRIHC5-7 (「5.7」)	agtgatgttgttctgacccaaactccactctctctgcctgtcaatattgg agatcaagcctctatctcttgcaagtctactgagagtcttctgaatagtg atggattcacttatttggactggtacctgcagaagccaggccagtctcca cagctcctaatatatttggtttctaatcatttttctggagttccagacag gttcagtggcagtgggtcaggaacagatttcacactcaagatcagcagag tggaggctgaggatttgggagtttattattgcttccagagtaactatctt cctctcacgttcggaggggggaccaagctggaagtaaaacgg（配列番号42）

【表８－２】

muFRIHC9-20（「9.20」）	agtgatgttgttctgacccaaactccactctctctgcctgtcaatcttgg agatcaagcctctatctcttgcaagtctactaagagtcttctgaatagtg atggattcacttatttggactggtacctgcagaagccaggccagtctcca cagctcctaatatatttggtttctaatcatttttctggagttccagacag gttcagtggcagtgggtcaggaacagatttcaccctcaagatcagcagag tggaggctgaggatttgggagtttattattgcttccagagtaactatctt cctctcacgttcggaggggggaccaagctggaaataaaacgg（配列番号 44）
huFRIHC2-1 v. 1.0（表面再構成した）	gaattcgccaccATGGGTTGGTCATGTATAATACTTTTCCTGGTAGCTAC TGCTACTGGTGTGCATTCAGATGTGGTGCTGACTCAGTCACCCTTGTCTC TCCCAGTCAATCTTGGGCAGCCAGCATCTATCAGCTGCCGAAGCAGCAGG TCTCTCCTGAACTCCGATGGCTTTACTTATCTTGACTGGTATCTCCAGAA GCCAGGACAGTCCCCCCGGCTGCTCATCTACCTGGTTTCTAATCATTTTA GTGGCGTCCCTGACCGCTTCTCTGGGAGTGGAAGTGGGACCGATTTTACA CTGAAGATCTCCAGGGTCGAAGCTGAGGACCTTGGGGTTTACTACTGTTT CCAGAGCAACTACCTTCCCTTGACATTCGGCCAGGGAACCAAGCTGGAAA TCAAGcgtacg（配列番号 72）
huFRIHC2-1 v. 1.01（表面再構成した）	gaattcgccaccATGGGTTGGTCTTGTATCATTCTGTTCCTGGTCGCCAC TGCCACAGGAGTTCACTCAGACGTGGTACTCACACAATCTCCCCTTTCCC TGCCTGTGAACCTGGGACAGCCAGCCTCAATCAGTTGCAAGAGCTCTAAA TCTCTGCTCAATAGCGATGGCTTTACCTACTTGGATTGGTACCTCCAGAA GCCCGGCCAGTCTCCTCGGCTCCTGATTTACCTTGTTTCAAATCACTTTT CAGGCGTGCCTGACCGGTTCTCCGGATCTGGCTCAGGGACAGACTTCACC CTGAAGATCTCCCGCGTCGAGGCAGAGGATCTCGGCGTGTATTACTGTTT CCAAAGTAACTACCTGCCATTGACTTTTGGACAAGGAACTAAACTGGAAA TCAAAcgtacg（配列番号:73）
huFRIHC2-1 v. 1.0（移植した）	gaattcgccaccATGGGATGGAGTTGTATTATTCTGTTCTTGGTCGCTAC TGCAACAGGCGTTCATTCTGACATCGTAATGACCCAGACACCTCTGAGTC TGAGTGTCACTCCCGGCCAGCCCGCCTCTATTTCATGTCGTAGCTCTCGC TCCCTGCTCAATTCCGACGGTTTTACCTACTTGGACTGGTATCTTCAGAA ACCTGGGCAGAGCCCTCAGCTTCTGATCTATCTGGTGTCCAATCACTTCA GTGGCGTCCCAGACCGATTTTCCGGAAGCGGAAGCGGAACCGACTTTACC CTGAAGATATCCCGCGTCGAAGCAGAGGACGTGGGCGTGTATTATTGCTT TCAAAGCAATTACTTGCCATTGACTTTCGGACAAGGCACAAAACTGGAGA TTAAGcgtacg（配列番号 74）
huFRIHC2-1 v. 1.01（移植した）	gaattcgccaccATGGGCTGGTCATGCATCATACTGTTCCTGGTGGCTAC AGCAACCGGGGTGCACAGCGATATTGTTATGACACAGACACCACTGAGTT TGTCAGTGACCCCCGGCCAGCCAGCCTCTATATCCTGCAAGTCCTCAAAA AGTCTCCTGAATAGCGATGGCTTTACCTACCTCGACTGGTATCTTCAGAA GCCCGGTCAAAGCCCTCAGCTGCTGATATATCTGGTGTCTAACCATTTTA GCGGAGTCCCCGACCGCTTTTCAGGCTCCGGCAGTGGCACCGACTTCACC CTTAAGATTTCTCGCGTGGAGGCTGAAGATGTAGGGGTCTACTACTGTTT CCAGTCAAACTACCTGCCACTGACCTTTGGTCAAGGCACTAAGCTCGAAA TTAAGcgtacg（配列番号 75）

【０２３８】

提供されるのはまた、配列番号３９～４４のいずれか１つ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である。

【０２３９】

提供されるのはまた、ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２０１９６またはＰＴＡ－１２０１９７を有するハイブリドーマによって産生される抗体の可変軽鎖の配列に対して少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％または少なくとも約９９％同一であるまたは同一である可変軽鎖をコードするポリヌクレオチドである。

【０２４０】

提供されるのはまた、ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２０１９６またはＰＴＡ－１２０１９７を有するハイブリドーマによって産生される抗体の可変軽鎖をコードする可変軽鎖コード配列に対して少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％または少なくとも約９９％同一であるまたは同一である可変軽鎖コード配列を含むポリヌクレオチドである。

【０２４１】

提供されるのはまた、ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２０１９６またはＰＴＡ－１２０１９７を有するハイブリドーマによって産生される抗体の可変重鎖の配列に対して少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％または少なくとも約９９％同一であるまたは同一である可変重鎖をコードするポリヌクレオチドである。

【０２４２】

提供されるのはまた、ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２０１９６またはＰＴＡ－１２０１９７を有するハイブリドーマによって産生される抗体の可変重鎖をコードする可変重鎖コード配列に対して少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％または少なくとも約９９％同一であるまたは同一である可変重鎖コード配列を含むポリヌクレオチドである。

【０２４３】

ある特定の実施形態では、ポリヌクレオチドは、たとえば、宿主細胞からのポリペプチドの発現及び分泌に役立つポリヌクレオチド（たとえば、細胞からポリペプチドの輸送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）に同じ読み取りフレームで融合される成熟ポリペプチドのためのコーディング配列を含む。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、宿主細胞によって切断されてポリペプチドの成熟形態を形成す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、成熟タンパク質プラス５’アミノ酸残基であるプロタンパク質もコードすることもできる。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形態である。プロ配列がいったん切断されると活性のある成熟タンパク質が残る。

【０２４４】

ある特定の実施形態では、ポリヌクレオチドは、たとえば、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じ読み取りフレームで融合された成熟ポリペプチドのためのコーディング配列を含む。たとえば、マーカー配列は、細菌宿主の場合、ｐＱＥ－９ベクターによって供給されてマーカーに融合された成熟ポリペプチドの精製を提供するヘキサヒスチジンタグであることができ、またはマーカー配列は、哺乳類宿主（たとえば、ＣＯＳ－７細胞）が使用される場合、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）タグであることができる。

【０２４５】

本発明はさらに、たとえば、断片、類似体及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。

【０２４６】

ポリヌクレオチド変異体は、コーディング領域、非コーディング領域またはその双方にて変化を含有することができる。一部の実施形態では、ポリヌクレオチド変異体は、サイレントな置換、付加または欠失を生じる変化を含有するが、コードされるポリペプチドの特性または活性を変化させることはない。一部の実施形態では、ヌクレオチド変異体は遺伝子コードの縮重によるサイレントな置換によって作出される。ポリヌクレオチド変異体は、種々の理由で作出されて、たとえば、コドン発現を特定の宿主に対して最適化することができる（ヒトｍＲＮＡにおけるコドンを大腸菌のような細菌宿主によって好まれるも

のに変える）。
【０２４７】
本明細書で記載されるポリヌクレオチドを含むベクター及び細胞も提供される。
【０２４８】
ＩＶ．生体試料
生体試料は固定剤で固定されることが多い。ホルマリン（ホルムアルデヒド）及びグルタールアルデヒドのようなアルデヒド固定剤が通常使用される。たとえば、アルコール浸漬（Ｂａｔｔｉｆｏｒａ及びＫｏｐｉｎｓｋｉ，Ｊ．Ｈｉｓｔｏｃｈｅｍ．Ｃｙｔｏｃｈｅｍ．（１９８６）３４：１０９５）のような他の固定法を用いて固定された組織も好適である。使用される試料はパラフィンに包埋されてもよい。一実施形態では、試料はホルマリン固定され、且つパラフィン包埋される（ＦＦＰＥ）。別の実施形態では、ＦＦＰＥコア試料について特定の領域を選ぶために分析のための１以上の部分を選択することに先立って、ＦＦＰＥブロックをヘマトキシリンとエオシンで染色する。これら粒子状物質の検体から組織ブロックを調製する方法は種々の予後因子の以前のＩＨＣ試験で使用されており、及び／または当業者に周知である（たとえば、Ａｂｂｏｎｄａｎｚｏら，Ａｍ．Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｐａｔｈｏｌ．１９９０，Ｍａｙ；９３（５）：６９８－７０２；Ａｌｌｒｅｄら，Ａｒｃｈ．Ｓｕｒｇ．１９９０，Ｊａｎ；１２５（１）：１０７－１３を参照のこと）。
【０２４９】
手短には、任意のインタクトな臓器または組織をかなり小さな小片に切断し、組織が「固定される」まで種々の時間、種々の固定剤（たとえば、ホルマリン、アルコール等）にてインキュベートしてもよい。試料は実際、生体から外科的に取り出した任意のインタクトな組織であってもよい。組織を、組織病理の研究室で日常使用される器具に適合する理に適った小片に切断してもよい。切断片の大きさは通常、数ミリメートルから数センチメートルに及ぶ。生体試料はまた流体抽出物、血液、血漿、血清、脊髄液、リンパ液、及び／または脾臓調製物であることができる。
【０２５０】
Ｖ．ＦＯＬＲ１の発現と治療有効性の相関
抗体メイタンシノイド複合体（ＡＭＣ）ＩＭＧＮ８５３は、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）リンカーを介して連結されたメイタンシノイド、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）に結合されたＦＯＬＲ１－結合モノクローナル抗体、ｈｕＭｏｖ１９（Ｍ９３４６Ａ）を含む。
ＩＭＧＮ８５３（ｈｕＭｏｖ１９）の抗体配列は配列番号４５及び４７として以下で提供され、ＩＭＧＮ８５３及びｈｕＭｏｖ１９は、その全体が参照によって本明細書に組み入れられる米国特許出願公開第２０１２／０００９１８１号（現在は８，５５７，９６６）にて記載されている。
配列番号４５－ｈｕＭｏｖ１９　ｖＨＣ
ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＶＫＰＧＡＳＶＫＩＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＧＹＦＭＮＷＶＫＱＳ
ＰＧＱＳＬＥＷＩＧＲＩＨＰＹＤＧＤＴＦＹＮＱＫＦＱＧＫＡＴＬＴＶＤＫＳＳＮＴＡＨ
ＭＥＬＬＳＬＴＳＥＤＦＡＶＹＹＣＴＲＹＤＧＳＲＡＭＤＹＷＧＱＧＴＴＶＴＶＳＳ
配列番号４６－ｈｕＭｏｖ１９　ｖＬＣｖ１．００
ＤＩＶＬＴＱＳＰＬＳＬＡＶＳＬＧＱＰＡＩＩＳＣＫＡＳＱＳＶＳＦＡＧＴＳＬＭＨＷＹ
ＨＱＫＰＧＱＱＰＲＬＬＩＹＲＡＳＮＬＥＡＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＫＴＤＦＴＬＮＩＳ
ＰＶＥＡＥＤＡＡＴＹＹＣＱＱＳＲＥＹＰＹＴＦＧＧＧＴＫＬＥＩＫＲ
配列番号４７－ｈｕＭｏｖ１９　ｖＬＣｖ１．６０
ＤＩＶＬＴＱＳＰＬＳＬＡＶＳＬＧＱＰＡＩＩＳＣＫＡＳＱＳＶＳＦＡＧＴＳＬＭＨＷＹ
ＨＱＫＰＧＱＱＰＲＬＬＩＹＲＡＳＮＬＥＡＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＫＴＤＦＴＬＴＩＳ
ＰＶＥＡＥＤＡＡＴＹＹＣＱＱＳＲＥＹＰＹＴＦＧＧＧＴＫＬＥＩＫＲ
配列番号４８－ｈｕＭｏｖ１９　ｖＬＣ　ＣＤＲ１

ＫＡＳＱＳＶＳＦＡＧＴＳＬＭＨ
配列番号４９－ｈｕＭｏｖ１９　ｖＬＣ　ＣＤＲ２
ＲＡＳＮＬＥＡ
配列番号５０－ｈｕＭｏｖ１９　ｖＬＣ　ＣＤＲ３
ＱＱＳＲＥＹＰＹＴ
配列番号５１－ｈｕＭｏｖ１９　ｖＨＣ　ＣＤＲ１
ＧＹＦＭＮ
配列番号５２－ｈｕＭｏｖ１９　ｖＨＣ　ＣＤＲ２－Ｋａｂａｔで定義された
ＲＩＨＰＹＤＧＤＴＦＹＮＱＫＦＱＧ
配列番号５３－ｈｕＭｏｖ１９　ｖＨＣ　ＣＤＲ２－Ａｂｍで定義された
ＲＩＨＰＹＤＧＤＴＦ
配列番号５４－ｈｕＭｏｖ１９　ｖＨＣ　ＣＤＲ３
ＹＤＧＳＲＡＭＤＹ
配列番号５５－ｈｕＭｏｖ１９　ＨＣアミノ酸配列
ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＶＫＰＧＡＳＶＫＩＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＧＹＦＭＮＷＶＫＱＳ
ＰＧＱＳＬＥＷＩＧＲＩＨＰＹＤＧＤＴＦＹＮＱＫＦＱＧＫＡＴＬＴＶＤＫＳＳＮＴＡＨ
ＭＥＬＬＳＬＴＳＥＤＦＡＶＹＹＣＴＲＹＤＧＳＲＡＭＤＹＷＧＱＧＴＴＶＴＶＳＳＡＳ
ＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴＶＳＷＮ
ＳＧＡＬＴＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳＳＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰＳＳＳＬＧＴＱＴＹＩ
ＣＮＶＮＨＫＰＳＮＴＫＶＤＫＫＶＥＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰＳ
ＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶ
ＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹ
ＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＤＥＬＴ
ＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤ
ＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫ
ＳＬＳＬＳＰＧＫ
配列番号５６－ｈｕＭｏｖ１９　ＬＣｖ１．００
ＤＩＶＬＴＱＳＰＬＳＬＡＶＳＬＧＱＰＡＩＩＳＣＫＡＳＱＳＶＳＦＡＧＴＳＬＭＨＷＹ
ＨＱＫＰＧＱＱＰＲＬＬＩＹＲＡＳＮＬＥＡＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＫＴＤＦＴＬＮＩＳ
ＰＶＥＡＥＤＡＡＴＹＹＣＱＱＳＲＥＹＰＹＴＦＧＧＧＴＫＬＥＩＫＲＴＶＡＡＰＳＶＦ
ＩＦＰＰＳＤＥＱＬＫＳＧＴＡＳＶＶＣＬＬＮＮＦＹＰＲＥＡＫＶＱＷＫＶＤＮＡＬＱＳ
ＧＮＳＱＥＳＶＴＥＱＤＳＫＤＳＴＹＳＬＳＳＴＬＴＬＳＫＡＤＹＥＫＨＫＶＹＡＣＥＶ
ＴＨＱＧＬＳＳＰＶＴＫＳＦＮＲＧＥＣ
配列番号５７－ｈｕＭｏｖ１９　ＬＣｖ１．６０
ＤＩＶＬＴＱＳＰＬＳＬＡＶＳＬＧＱＰＡＩＩＳＣＫＡＳＱＳＶＳＦＡＧＴＳＬＭＨＷＹ
ＨＱＫＰＧＱＱＰＲＬＬＩＹＲＡＳＮＬＥＡＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＫＴＤＦＴＬＴＩＳ
ＰＶＥＡＥＤＡＡＴＹＹＣＱＱＳＲＥＹＰＹＴＦＧＧＧＴＫＬＥＩＫＲＴＶＡＡＰＳＶＦ
ＩＦＰＰＳＤＥＱＬＫＳＧＴＡＳＶＶＣＬＬＮＮＦＹＰＲＥＡＫＶＱＷＫＶＤＮＡＬＱＳ
ＧＮＳＱＥＳＶＴＥＱＤＳＫＤＳＴＹＳＬＳＳＴＬＴＬＳＫＡＤＹＥＫＨＫＶＹＡＣＥＶ
ＴＨＱＧＬＳＳＰＶＴＫＳＦＮＲＧＥＣ
配列番号：５８－ｍｕＭｏｖ１９　ｖＨＣ　ＣＤＲ２－Ｋａｂａｔで定義された
ＲＩＨＰＹＤＧＤＴＦＹＮＱＮＦＫＤ

【０２５１】

ＩＭＧＮ８５３は、ＦＯＬＲ１陽性の卵巣癌、非小細胞肺癌、子宮内膜癌、腎臓癌及び他の上皮性悪性腫瘍を含む種々の治療適応について現在臨床開発中である。卵巣癌は、ＦＯＬＲ１の最大の浸透率を示し、ＩＭＧＮ８５３による治療について主要な適応であると見なされている（Ａｎｔｏｎｙ，ＡＣ．Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｎｕｔｒ．１６：５０１-２１（１９９６）；Ｙｕａｎ，Ｙら　Ｈｕｍ．Ｐａｔｈｏｌ．４０（１０）：１４５３－１４６０（２００９））。患者の血漿試料にてＦＯＬＲ１のレベルを測定することはＡＭＣ治療に応答する可能性がより高い患者集団を特定するのに役立ち得る。

【０２５２】
ある特定の実施形態では、本発明は、特に、たとえば、ＩＨＣにおいてＦＯＬＲ１の発現レベルのダイナミック・レンジを検出することができる本明細書で提供される抗体及びその抗原結合断片を用いて、対象にて発現される上昇した発現レベルのＦＯＬＲ１の故にＦＯＬＲ１を標的とする抗癌療法に好都合に応答する可能性がある対象を特定する方法を提供する。
【０２５３】
患者の試料及び異種移植モデルを用いた生体内有効性に対する相関の評価は、治療に応答する可能性がより高い対象を選択するための発現分析の力を明らかにしている。ＩＨＣは腫瘍細胞上でのＦＯＬＲ１の発現に対するスコア：０（発現なし）～３（または３＋）（非常に高いレベルの発現）を提供する。異種移植モデルを用いた生体内のデータは、ＦＯＬＲ１の発現についての２または３（または３＋）のスコアの試料が、ＦＯＬＲ１免疫複合体の臨床的に関連する用量でＦＯＬＲ１を標的とする抗癌療法に応答する増加した可能性を有することを明らかにしている（たとえば、そのすべてが全体として参照によって本明細書に組み入れられる米国仮特許出願第６１／８２３，３１７号及び同第６１／８２８，５８６号及び国際出願ＰＣＴ／ＵＳ２０１４／０３７９１１を参照のこと）。従って、上昇したＦＯＬＲ１スコアを有する個人の特定は、臨床的に関連する投与量に応答し得る個人を特定するのに役立つことになる。さらに、一層均一なレベルのＦＯＬＲ１の発現は治療上の利益とのより良好な相関を提供する。従って、均質な染色均一性または増加した染色の不均質な染色均一性との組み合わせは高いＦＯＬＲ１の発現を示す。たとえば、２ヘテロを超えるスコアはＦＯＬＲ１治療剤による治療についての患者の選択基準として使用され得る（たとえば、その全体が参照によって本明細書に組み入れられる米国特許出願公開第２０１２／０２８２１７５号を参照のこと）。
【０２５４】
ＦＯＬＲ１の発現分析は、低いレベルのＦＯＬＲ１を標的とする抗癌療法（「低用量療法」）が抗腫瘍応答を引き起こすのに有効であり得る患者も特定する。当該技術で十分に理解されているように、化合物は一般に、所望の治療応答を達成する最少の投与量で投与される。このことは臨床的な副作用を生じる治療剤には特に重要である。上昇したＦＯＬＲ１の発現レベルのそれら対象を認識する能力によってＦＯＬＲ１を標的とする治療剤の投与量を出来るだけ抑えることが可能になるので、考えられる副作用を減らす一方で治療有効性を維持する。
【０２５５】
従って、本明細書で提供される抗体及び抗原結合断片は、たとえば、ＩＨＣにおいてＦＯＬＲ１の発現レベルのダイナミック・レンジを検出することが可能であるのでそのような方法での使用に特に有利である。
【０２５６】
ＶＩ．脱落抗原アッセイ
患者の血漿試料にて循環する抗原（脱落抗原）のレベルを測定することは、たとえば、抗体メイタンシノイド複合体（ＡＭＣ）治療に応答する可能性がより高い患者集団を特定するのに役立ち得る。高いレベルの脱落抗体は治療用抗体の薬物動態に顕著に影響することが報告されている（Ｔｏｌｃｈｅｒ，Ａ．ら　２０ｔｈ　Ｓｙｍｐｏｓｉｕｍ　ｏｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｔａｒｇｅｔｓ　ａｎｄ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ；Ｏｃｔｏｂｅｒ，２１－２４，２００８；Ｇｅｎｅｖａ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ：ＥＯＲＴＣ－ＮＣＩ－ＡＡＣＲ，ｐ１６３，＃５１４；Ｂａｓｅｌｇａ，Ｊら　Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｏｎｃｏｌ．１４：７３７－７４４（１９９６））。患者の血漿試料に由来する脱落抗原のレベルは、たとえば、抗原の標的、疾患の適応及び疾患の経過に応じて可変であると思われる。現在、抗ＦＯＬＲ１免疫複合体ＩＭＧＮ８５３についての疾患の適応における脱落抗原のレベルは不十分にしか調べられていない一方で、固形腫瘍での発現との相関は限定されている。ＦＯＬＲ１の上昇が卵巣腺癌で報告されている一方で、データは、たとえば、小細胞肺癌のような他のＦＯＬＲ１＋腫瘍の適応ではそれは上昇しないことを

示唆している（Ｍａｎｔｏｖａｎｉ，ＬＴら Ｅｕｒ.Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ，３０Ａ（３）：３６３－９（１９９４）；Ｂａｓａｌ，Ｅら ＰＬｏＳ ＯＮＥ，４（７）：ｅ６２９２（２００９））。本方法は、本明細書で提供され、脱落ＦＯＬＲ１のダイナミック・レンジを検出することが可能である抗体及びその抗原結合断片を用いて高い葉酸の存在下でＦＯＬＲ１受容体の検出を可能にする。以前のアッセイはアッセイの設計にてＭｏｖ１９を利用していた。ＩＭＧＮ８５３はＭｏｖ１９を含有し、一実施形態では、本発明の標的療法であるので、Ｍｏｖ１９の存在下または非存在下で方法がＦＯＬＲ１を検出することは必須である。Ｍｏｖ１９を利用する以前のアッセイは競合効果を有し、ＩＭＧＮ８５３治療を受けている患者にてＦＯＬＲ１を有意に少なく検出するまたはまったく検出しないであろう。

【０２５７】

一実施形態では、ヒトを供給源とする流体試料におけるＦＯＬＲ１を検出する本方法は従来のサンドイッチＥＬＩＳＡ方式を使用する。一実施形態では、方法は固相支持体に連結されたＦＯＬＲ１に対する捕捉試薬（すなわち、抗体）を使用する。一実施形態では、固相支持体はマイクロタイタープレートである。これに試料（腹水液、血漿等）を希釈せずに加え、第１の捕捉試薬の結合を妨害しない異なる検出剤（異なる抗体）によって検出する。次いで、第１の検出剤に１回を超えて結合するので検出のシグナルを増幅する二次検出剤（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抗体またはポリクローナル抗体等）の使用を介して検出剤を検出する。次いで幾つかの他の手段（たとえば、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）の使用によって二次検出剤を定量する。さらに、アッセイは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否定的な影響を受けない。

【０２５８】

本発明のアッセイには、ＦＯＬＲ１に基づく治療法を受けるのに適格な患者を選択するアッセイ及び患者の応答をモニターするアッセイの双方が含まれる。応答予測のアッセイが治療法選択の前に実行され、ＦＯＬＲ１のレベルは治療法の決定に影響し得る。患者の応答をモニターすることについては、アッセイは治療法の開始時に実行されて試料におけるＦＯＬＲ１のベースライン（または所定の）レベルを確立する。次いで同じ試料をアッセイして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。本明細書で使用されるとき、用語「所定のレベル」は一般に、所定のレベルに対してアッセイ結果を比較することによって診断結果を評価するのに使用されるアッセイのカットオフ値を指し、所定のレベルはすでに種々の臨床パラメータと結び付けられまたは関連している（たとえば、薬剤で治療されている対象が薬剤の有効な血中レベルを達成しているかどうかをモニターすること、抗癌剤による癌の治療を受けている対象の応答をモニターすること、腫瘍の治療を受けている対象における前記腫瘍の応答をモニターすること等）。所定のレベルは絶対的な値であってもよいし、または治療の開始に先立って患者から得た値を差し引くことによって正規化された値であってもよい。使用することができる所定のレベルの例は、任意で１以上の疾患または病気を患っていてもよい１以上の対象から得られるベースラインレベルである。アッセイした生体マーカーのレベルのベースラインまたは所定のレベルとの比較（または情報解析）は、アッセイが行われる機器（たとえば、コンピュータプラットホーム）の一部であるまたはそれと互換性であるソフトウエアプログラムまたは知能システムのような自動システムによって行うことができる。或いは、比較または情報解析は医師によって行われ得る。一実施形態では、レベルが同じままであるまたは低下する場合、治療法は有効であり得、継続され得る。ベースラインレベル（または所定のレベル）を超える有意な増加が生じた場合、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、細胞死の増加及び脱落ＦＯＬＲ１の解放の増加を示し得る。この実施形態では、脱落ＦＯＬＲ１の上昇は治療の有効性を示す。

【０２５９】

本発明のアッセイは任意のタンパク質アッセイ法によって行うことができる。本発明で

有用なタンパク質アッセイ法は当該技術で周知であり、それにはＦＯＬＲ１の発現されたタンパク質または断片への特異的な未標識または標識抗体またはタンパク質の結合が関与する免疫アッセイ法が挙げられる。有用な免疫アッセイ法には、Ｂｉａｃｏｒｅ、時間分解蛍光エネルギー移動（ＴＲ－ＦＲＥＴ）、ＥＬＩＳＡ方式（サンドイッチ、順行及び逆行の競合阻害）または蛍光偏光方式のような当該技術で既知の方式を用いて実施される溶液相アッセイ、及び免疫組織化学法のような固相アッセイの双方が含まれる。本明細書で提供されるＦＯＬＲ１抗体及びその抗原結合断片は、たとえば、それらがＦＯＬＲ１のダイナミック・レンジを検出することができるので、これらの免疫アッセイ法には特に有用である。

【０２６０】

ＶＩＩ．循環する腫瘍細胞のアッセイ

本明細書で記載される抗ＦＯＬＲ１抗体は循環している腫瘍細胞のアッセイにてＦＯＬＲ１を検出するのに使用することもできる。循環している腫瘍細胞（ＣＴＣ）は腫瘍から血管系に脱落して血流を循環する細胞である。循環系に存在するＣＴＣは極めてすくない数である。一般に、当該技術で既知の種々の技法によってＣＴＣは患者の血液または血漿から濃縮される。フローサイトメトリーに基づく方法及び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で既知の方法を用いて特異的なマーカーについてＣＴＣを染色することができる。ＣＴＣは腫瘍細胞に独特のタンパク質マーカーについて染色されてもよく、それは正常な血液細胞からのＣＴＣの特定及び区別を可能にする。ＣＴＣはまた、２．１、５．７及び９．２０を含むが、これらに限定されない本明細書で提供される抗体を用いてＦＯＬＲ１について染色することもできる。ＣＴＣの解析には、ＣＴＣの数及び／またはＦＯＬＲ１陽性のＣＴＣの数の定量的解析も含まれ得る。本明細書で記載されるＦＯＬＲ１抗体を用いて癌を有する対象から単離されたＣＴＣを染色してＣＴＣに存在するＦＯＬＲ１を測定することができる。ＦＯＬＲ１を発現しているＣＴＣの増加は、ＦＯＬＲ１に基づいた治療法に応答する可能性がある癌を有する対象を特定するのに役立ち、またはＦＯＬＲ１抗体若しくは免疫複合体による治療計画の最適化を可能にすることができる。ＣＴＣＦＯＬＲ１の定量は、腫瘍のステージ、治療法への応答、及び／または疾患の進行に関する情報を提供することができる。それは、予後診断、予測または薬物力学の生体マーカーとして使用することもできる。加えて、本明細書で提供される抗体を用いてＦＯＬＲ１についてＣＴＣを染色することは、単独で、または固形生検試料の追加の腫瘍マーカーの解析と組み合わせて液体生検として使用することができる。

【０２６１】

ＶＩＩＩ．検出

本発明はさらに、一般的にはモノクローナル型の、少なくとも１つの作用物質に連結されて検出抗体複合体を形成する、ＦＯＬＲ１に対する抗体を提供する。診断剤としての抗体分子の有効性を高めるために、少なくとも１つの所望の分子または部分を連結するまたは共有結合するまたは複合体形成することが定型である。そのような分子または部分は少なくとも１つのレポーター分子であってもよいが、これらに限定されない。レポーター分子はアッセイを用いて検出され得る任意の部分として定義される。抗体に結合されているレポーター分子の非限定例には、酵素、放射性標識、ハプテン、蛍光標識、リン光性分子、化学発光分子、発光団、発光分子、光親和性分子、着色粒子、及び／またはビオチンのようなリガンドが挙げられる。

【０２６２】

抗体複合体のある特定の例は本明細書で提供される抗体またはその抗原結合断片が検出可能な標識に連結される複合体である。「検出可能な標識」はその特異的な機能特性及び／または化学的特徴ゆえに検出され得る化合物及び／または要素であり、その使用は、それらが連結される抗体または抗原結合断片が検出され、及び／または所望であればさらに定量されるのを可能にする。

【０２６３】

多数の適当な造影剤が、抗体へのその連結方法ならびに当該技術で既知である（たとえ

ば、それぞれ参照によって本明細書に組み入れられる米国特許第５，０２１，２３６号；同第４，９３８，９４８号；及び同第４，４７２，５０９号を参照のこと）。使用される画像化部分はたとえば、常磁性体イオン、放射性同位元素、蛍光色素、ＮＭＲで検出可能な物質及び／またはＸ線画像化であることができる。

【０２６４】

結合作用物質（たとえば、抗体）複合体として使用するために企図される例となる蛍光標識には、たとえば、Ａｌｅｘａ３５０、Ａｌｅｘａ４３０、Ａｌｅｘａ４８８、ＡＭＣＡ、ＢＯＤＩＰＹ６３０／６５０、ＢＯＤＩＰＹ６５０／６６５、ＢＯＤＩＰＹ－ＦＬ、ＢＯＤＩＰＹ－Ｒ６Ｇ、ＢＯＤＩＰＹ－ＴＭＲ、ＢＯＤＩＰＹ－ＴＲＸ、スケードブルー、Ｃｙ３、Ｃｙ５、６－ＦＡＭ、Ｄｙｌｉｇｈｔ４８８、フルオレセインイソチオシアネート（ＦＩＴＣ）、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）、ＨＥＸ、６－ＪＯＥ、オレゴングリーン４８８、オレゴングリーン５００、オレゴングリーン５１４、パシフィックブルー、フィコエリスリン、ＲＥＧ、ローダミングリーン、ローダミンレッド、テトラメチルローダミン（ＴＭＲ）、レノグラフィン、ＲＯＸ、ＴＡＭＲＡ、ＴＥＴ、テトラメチルローダミン、テキサスレッド、及びこれらの標識の誘導体（すなわち、ハロゲン化した類似体、結合のためにイソチオシアネートまたは他のリンカーで修飾したもの等）が挙げられる。例となる放射性標識はトリチウムである。

【０２６５】

本発明で企図される抗体または抗原結合断片の検出複合体には試験管内で使用するためものが挙げられ、その際、抗体または断片は、発色性基質と接触した際、着色された生成物を生成する二次結合リガンド及び／または酵素（酵素タグ）に連結される。本明細書で提供されるＦＯＬＲ１抗体及びその抗原結合断片は、たとえば、それらがＦＯＬＲ１のダイナミック・レンジを検出することができるので複合体の方法に特に有用である。好適な酵素の例には、ウレアーゼ、アルカリホスファターゼ、（西洋ワサビ）水素ペルオキシダーゼ、及び／またはグルコースオキシダーゼが挙げられる。一部の実施形態では、二次結合リガンドはビオチン及び／またはアビジン及びストレプトアビジン化合物である。そのような標識の使用は当業者に周知であり、たとえば、それぞれ参照によって本明細書に組み入れられる米国特許第３，８１７，８３７号；同第３，８５０，７５２号；同第３，９３９，３５０号；同第３，９９６，３４５号；同第４，２７７，４３７号；同第４，２７５，１４９号及び同第４，３６６，２４１号にて記載されている。

【０２６６】

アジド基を含有する分子を用いて低強度の紫外線によって生成される反応性ニトレン中間体を介してタンパク質に対する共有結合を形成してもよい（Ｐｏｔｔｅｒ及びＨａｌｅｙ，１９８３）。特に、プリンヌクレオチドの２－及び８－アジド類似体を部位特異的なリンプローブとして用いて粗細胞抽出物にてヌクレオチド結合タンパク質を特定している（Ｏｗｅｎｓ及びＨａｌｅｙ，１９８７；Ａｔｈｅｒｔｏｎら，１９８５）。また、２－及び８－アジドヌクレオチドを用いて精製タンパク質のヌクレオチド結合ドメインをマッピングしており（Ｋｈａｔｏｏｎら，１９８９；Ｋｉｎｇら，１９８９；及びＤｈｏｌａｋｉａら，１９８９）、抗体結合作用物質として使用することができる。

【０２６７】

抗体を複合体部分に連結するまたは結合するための幾つかの方法が当該技術で既知である。一部の連結方法には、結合作用物質（たとえば、抗体）に連結される、たとえば、無水ジエチレントリアミンペンタ酢酸（ＤＴＰＡ）；エチレントリアミンテトラ酢酸；Ｎ－クロロ－ｐ－トルエンスルホンアミド；及び／またはテトラクロロ－３α－６α－ジフェニルグリコウリル－３のような有機キレート剤を採用する金属キレート錯体の使用が関与する（それぞれ参照によって本明細書に組み入れられる米国特許第４，４７２，５０９号及び同第４，９３８，９４８号）。たとえば、グルタールアルデヒドまたは過ヨウ素酸塩のようなカップリング剤の存在下でモノクローナル抗体を酵素と反応させてもよい。フルオレセインマーカーを伴ったタンパク質結合（たとえば、抗体）複合体は、それらのカップリング剤の存在下でまたはイソチオシアネートとの反応によって調製される。米国特許

第４，９３８，９４８号では、たとえば、モノクローナル抗体を用いて乳癌の画像化が達成され、たとえば、メチル－ｐ－ヒドロキシベンジミデートまたはＮ－スクシンイミジル－３－（４－ヒドロキシフェニル）プロピオネートのようなリンカーを用いて検出可能な画像化部分を抗体に結合させる。

【０２６８】

他の実施形態では、抗体結合部位を変えない反応条件を用いて免疫グロブリンのＦｃ領域におけるスルフヒドリル基を選択的に導入することによる免疫グロブリンの誘導体化が企図される。この方法に従って作出された抗体複合体は改善された寿命、特異性及び感受性を示すことが開示されている（参照によって本明細書に組み入れられる米国特許第５，１９６，０６６号）。レポーターまたはエフェクター分子がＦｃ領域における炭水化物残基に結合されるエフェクターまたはレポーター分子の部位特異的な連結も文献（Ｏ’Ｓｈａｎｎｅｓｓｙら，１９８７）にて開示されている。

【０２６９】

本発明の他の実施形態では、免疫グロブリンはトリチウムのような核種によって放射性標識される。追加の実施形態では、ナノ金粒子（たとえば、約０．５ｎｍ～４０ｎｍのサイズ）及び／または量子ドット（Ｈａｙｗａｒｄ，Ｃａｌｉｆ．）が採用される。

【０２７０】

サンドイッチアッセイ方式を使用する場合、捕捉抗体は標識されないであろう。検出抗体は直接標識されるであろう、または第１の抗体に向けられた第２の標識された抗体のモル過剰での添加（過剰な検出抗体を洗い流した後）によって間接的に検出されるであろう。

【０２７１】

検出抗体に使用される標識は、ＦＯＬＲ１抗体の結合を妨害しない任意の検出可能な官能基である。好適な標識の例は、直接検出され得る部分、たとえば、蛍光色素標識、化学発光標識及び放射性標識ならびに検出されるには反応させなければならない、または誘導体化されなければならない酵素のような部分を含む、免疫アッセイでの使用で知られる多数の標識である。そのような標識の例には、放射性同位元素^{32}Ｐ、^{14}Ｃ、^{125}Ｉ、^{3}Ｈ、及び^{131}Ｉ、蛍光団、たとえば、希土類キレート剤またはフルオレセイン及びその誘導体、ローダミン及びその誘導体、ダンシル、ウンベリフェロン、ルシフェラーゼ、たとえば、ホタルルシフェラーゼ及び細菌ルシフェラーゼ（米国特許第４，７３７，４５６号）、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、糖類オキシダーゼ、たとえば、グルコースオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ、及びグルコース－６－リン酸脱水素酵素、複素環オキシダーゼ、たとえば、ウリカーゼ及びキサンチンオキシダーゼ、ＨＲＰのような色素前駆体を酸化するための過酸化水素を用いる酵素を伴ったもの、ラクトペルオキシダーゼ、またはミクロペルオキシダーゼ、ビオチン／アビジン、ビオチン／ストレプトアビジン、ＭＵＧを伴ったビオチン／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、安定な遊離のラジカル等が挙げられる。本明細書で言及されるように、蛍光分析による検出は一例である。

【０２７２】

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従来の方法が利用可能である。たとえば、ジアルデヒド、カルボジイミド、ジマレイミド、ビス－イミデート、ビス－ジアゾ化ベンジジン等のようなカップリング剤を用いて、本明細書で記載される蛍光標識、化学発光標識及び酵素標識で抗体にタグを付けてもよい。たとえば、米国特許第３，９４０，４７５号（蛍光分析）及び同第３，６４５，０９０号（酵素）；Ｈｕｎｔｅｒら Ｎａｔｕｒｅ，１４４：９４５（１９６２）；Ｄａｖｉｄら Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，１３：１０１４－１０２１（１９７４）；Ｐａｉｎら Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ，４０：２１９－２３０（１９８１）；及びＮｙｇｒｅｎ，Ｊ．Ｈｉｓｔｏｃｈｅｍ．ａｎｄ Ｃｙｔｏｃｈｅｍ．３０：４０７－４１２（１９８２）を参照のこと。

ある特定の実施形態では、本明細書の標識は、増幅及び感度を８ｐｇ／ｍＬまで高める蛍光、さらに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－ガラクトシダーゼ及びＭＵＧを伴ったビオチンである。ある特定の実施形態では、たとえば、検出抗体がビオチン化され、検出手段がアビジンまたはストレプトアビジン／ペルオキシダーゼと３，３’，５，５’－テトラメチルベンジジンである比色分析標識が使用される。

【０２７３】

酵素を含むそのような標識の抗体への結合は免疫アッセイ法の当業者にとって標準の操作手順である。たとえば、Ｏ’Ｓｕｌｌｉｖａｎら．”Ｍｅｔｈｏｄｓ ｆｏｒ ｔｈｅ Ｐｒｅｐａｒａｔｉｏｎ ｏｆ Ｅｎｚｙｍｅ－ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｃｏｎｊｕｇａｔｅｓ ｆｏｒ Ｕｓｅ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｅ Ｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ，”ｉｎ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ，ｅｄ．Ｊ．Ｊ．Ｌａｎｇｏｎｅ及びＨ．Ｖａｎ Ｖｕｎａｋｉｓ，Ｖｏｌ．７３（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．，１９８１），ｐｐ．１４７－１６６を参照のこと。

【０２７４】

最後の標識抗体の添加に続いて、洗浄を介して過剰な未結合の標識抗体を取り除き、次いで標識に適した検出方法を用いて結合した標識の量を測定し、生体試料における脱落ＦＯＬＲ１の量によって測定された量を補正することによって、結合した抗体の量を決定する。たとえば、酵素の場合、発色し、測定した色の量が存在する脱落ＦＯＬＲ１の量の直接的な測定であろう。特に、ＨＲＰが標識であるならば、４５０ｎｍの吸光度で基質、３,３’，５,５’－テトラメチルベンジジンを用いて色を検出することができる。

【０２７５】

ＩＸ．基質及び指示薬

ＦＯＬＲ１の検出について基質及び指示薬の使用が企図される。

【０２７６】

西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）は、過酸化水素と先ず複合体を形成し、次いでそれを分解させ、水と原子酸素を生じる酵素である。多くの他の酵素のように、ＨＲＰ及び一部のＨＲＰ様の活性は過剰な基質によって阻害することができる。ＨＲＰと過剰な過酸化水素との間で形成された複合体は触媒的に不活性であり、電子供与体（たとえば、発色性基質）の非存在下で可逆的に阻害される。内在性のＨＲＰ活性のクエンチをもたらすのは、過剰な過酸化水素と電子供与体の非存在である。アッセイ系で使用されると、ＨＲＰは、定義された基質を活性化された色原体に変換するので色変化を生じるために使用することもできる。ＨＲＰ酵素は、当該技術で既知である多数の方法によって抗体、ペプチド、ポリマーまたは他の分子に結合することができる。ＨＲＰと抗体の混和物を含有する溶液にグルタールアルデヒドを添加することは、酵素以外に互いに結合されるさらに多くの抗体分子を生じる。２ステップ手順では、ＨＲＰは先ず二官能性試薬と反応する。第２のステップで、活性化されたＨＲＰのみを抗体と混和し、はるかに多くの効率的な標識を生じ、重合を生じない。ＨＲＰはまた、２ステップグルタールアルデヒド手順を用いて（ストレプト）アビジンにも結合される。この形態は、たとえば、ＬＡＢとＬＳＡＢが基質である手順で使用される。ビオチンとの結合も、ビオチンがＨＲＰ酵素のイプシロンアミノ基と反応し得る前に、それが先ずビオチニル－Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドエステルまたはビオチンヒドラジドに誘導体化されなければならないので、２ステップが関与する。

【０２７７】

３,３’－ジアミノベンジジン（ＤＡＢ）はアルコール及び他の有機溶媒に高度に不溶性である茶色の最終生成物を生じる、ＨＲＰのような酵素の基質である。ＤＡＢの酸化は重合も引き起こし、四酸化オスミウムと反応する能力を生じるので染色強度及び電子密度を高める。重合したＤＡＢの光学密度を強化するのに使用される幾つかの金属及び方法のうちで、硫化銀と組み合わせた塩化金が最も上手く行くと思われる。

【０２７８】

３－アミノ－９－エチルカルバゾール（ＡＥＣ）はＨＲＰのような酵素の基質であり、

酸化の際、アルコールに可溶性である深紅色の最終生成物を形成する。従って、ＡＥＣで処理される検体はアルコールまたはアルコール性溶液（たとえば、Ｈａｒｒｉｓのヘマトキシリン）に浸漬してはならない。代わりに、水性の対比染色及び封入剤が使用されるべきである。

【０２７９】

４－クロロ－１－ナフトール（ＣＮ）は、青色の最終生成物として沈殿する、ＨＲＰのような酵素の基質である。ＣＮはアルコール及び他の有機溶媒に可溶性なので、検体は脱水してはならず、アルコール性対比染色にさらしてはならず、有機溶媒を含有する封入剤でカバーグラスをかけてはならない。ＤＡＢとは異なって、ＣＮは沈殿の部位から拡散する傾向がある。

【０２８０】

ｐ－フェニレンジアミンジヒドロ塩化物／ピロカテコール（Ｈａｎｋｅｒ－Ｙａｔｅｓ試薬）は、アルコール及び他の有機溶媒に不溶性である青黒色の反応生成物を生じる、ＨＲＰのような酵素の基質である。重合したＤＡＢのように、この反応生成物は、オスミン酸によって染色することができる。免疫ペルオキシダーゼ法におけるＨａｎｋｅｒ－Ｙａｔｅｓ試薬によって様々な結果が達成されている。

【０２８１】

仔ウシ腸管アルカリホスファターゼ（ＡＰ）（分子量１００ｋＤ）はＰ－０結合を切断することによって有機エステルから（加水分解により）リン酸基を取り外し、移動させる；中間体酵素と基質の結合が束の間に形成される。ＡＰの主要な金属活性化因子はＭｇ＋＋、Ｍｎ＋＋及びＣａ＋＋である。

【０２８２】

ＡＰは、非標識のアルカリホスファターゼ／抗アルカリホスファターゼ（ＡＰＡＡＰ）法の公開まで免疫組織化学法ではあまり使用されていなかった。この手順で利用される可溶性の免疫複合体はおよそ５６０ｋＤの分子量を有する。ペルオキシダーゼ／抗ペルオキシダーゼ（ＰＡＰ）法に比べたＡＰＡＡＰ法の主な利点は内在性のペルオキシダーゼ活性によってもたらされる妨害の欠如である。内在性のペルオキシダーゼは過酸化水素の希釈溶液によって遮断することができる。ＰＡＰ染色の際の内在性ペルオキシダーゼ活性に対する妨害の可能性のために、血液及び骨髄の塗抹標本で使用するにはＡＰＡＡＰ法が推奨される。骨、腎臓、肝臓及び一部の白血球に由来する内在性のアルカリホスファターゼ活性は、５ｍＭがさらに有効であることが見いだされているが、１ｍＭのレバミソールの基質溶液への添加によって阻害することができる。腸管アルカリホスファターゼはレバミソールによって適当には阻害されない。

【０２８３】

免疫アルカリホスファターゼ染色法では、酵素はリン酸ナフトールエステル（基質）をフェノール化合物とリン酸イオンに加水分解する。フェノールは無色のジアゾニウム塩（色原体）に結合して不溶性の着色したアゾ色素を生じる。基質と色原体の幾つかの異なる組み合わせが上手く使用されている。

【０２８４】

ナフトールＡＳ－ＭＸリン酸ＡＰ基質は酸の形態でまたはナトリウム塩として使用することができる。発色性基質、ファストレッドＴＲ及びファストブルーＢＢはそれぞれ明るい赤色または青色の最終生成物を生じる。双方ともアルコール性溶媒及び他の有機溶媒に可溶性なので、水性の封入剤が使用されなければならない。細胞塗抹標本を染色する場合、ファストレッドＴＲが好まれる。

【０２８５】

追加の例となる基質には、ナフトールＡＳ－ＢＩリン酸、ナフトールＡＳ－ＴＲリン酸、及び５－ブロモ－４－クロロ－３－インドキシルリン酸（ＢＣＩＰ）が挙げられる。他の考えられる色原体には、たとえば、ファストレッドＬＢ、ファストガーネットＧＢＣ、ニトロブルーテトラゾリウム（ＮＢＴ）及びヨードニトロテトラゾリウムバイオレット（ＩＮＴ）が挙げられる。

【０２８６】
Ｘ．免疫検出法
その上さらなる実施形態では、本発明は、本発明によって企図されるようなリガンドのような生物成分を結合する、精製する、取り除く、定量する及び／またはさもなければ一般に検出するための免疫検出法に関する。本発明に従って調製される抗体が採用されてもよい。一部の免疫検出法には少し記述するだけでも、免疫組織化学法、フローサイトメトリー、酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）、放射性免疫アッセイ（ＲＩＡ）、免疫放射測定アッセイ、蛍光免疫アッセイ、化学発光アッセイ、生物発光アッセイ、及びウエスタンブロットが挙げられる。種々の有用な免疫検出法のステップは、たとえば、それぞれ参照によって本明細書に組み入れられるＤｏｏｌｉｔｔｌｅ，Ｍ.Ｈ.及びＢｅｎ－Ｚｅｅｖ，Ｏ，Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９９９；１０９：２１５－３７；Ｇｕｌｂｉｓ，Ｂ及びＧａｌａｎｄ，Ｐ，Ｈｕｍ．Ｐａｔｈｏｌ．１９９３，Ｄｅｃ；２４（１２）：１２７１－８５；並びにＤｅ　Ｊａｇｅｒ，Ｒら，Ｓｅｍｉｎ．Ｎｕｃｌ．Ｍｅｄ．１９９３，Ａｐｒ；２３（２）：１６５－７９のような科学文献に記載されている。
【０２８７】
一般に、免疫結合法には、リガンドのタンパク質、ポリペプチド及び／またはペプチドを含むことが疑われる試料を入手することと、場合によっては免疫複合体の形成を可能にするのに有効な条件下で本発明に従って第１のリガンド結合作用物質（たとえば、抗リガンド抗体）に試料を接触させることとが含まれる。
【０２８８】
抗原の検出という点で、分析される生体試料は、その中でＦＯＬＲ１を検出することが望ましい、たとえば、流体抽出物、血液、血漿、血清、脊髄液、リンパ液、組織切片または組織検体、ホモジネートした組織抽出物、生検吸引物、細胞、分離した及び／または精製した形態のＦＯＬＲ１含有組成物、または任意の生物流体のような任意の試料であってもよい。一部の実施形態では、血液、血漿またはリンパ試料または抽出物が使用される。
【０２８９】
免疫複合体（一次免疫複合体）の形成を可能にするのに十分な時間、有効な条件下で抗体に選択した生体試料を接触させることは一般に、試料に抗体組成物を単に加え、抗体が存在するリガンドタンパク質抗原との免疫複合体を形成する、すなわち、それに結合するのに十分な長い時間、混合物をインキュベートすることである。この時間の後、たとえば、組織切片、ＥＬＩＳＡプレート、ドットブロットまたはウエスタンブロットのような試料／抗体の組成物を一般に洗浄して非特異的に結合した抗体種を取り除き、一次免疫複合体の中で特異的に結合した抗体だけが検出されるようにする。
【０２９０】
一般に、免疫複合体形成の検出は当該技術で周知であり、多数のアプローチの適用を介して達成し得る。これらの方法は一般に、たとえば、放射性の、蛍光の、生物学的な及び酵素のタグのような標識またはマーカーの検出に基づく。そのような標識の使用に関する米国特許には、それぞれ参照によって本明細書に組み入れられる米国特許第３，８１７，８３７号；同第３，８５０，７５２号；同第３，９３９，３５０号；同第３，９９６，３４５号；同第４，２７７，４３７号；同第４，２７５，１４９号及び同第４，３６６，２４１号が挙げられる。当然、当該技術で既知であるように、たとえば、二次抗体及び／またはビオチン／アビジンリガンド結合のような二次リガンド結合の配置を介して追加の利点を見いだし得る。
【０２９１】
検出で採用される抗リガンド抗体はそれ自体、検出可能な標識に連結されてもよく、その際、この標識が単純に検出され、それによって一次免疫複合体の量を測定することが可能になる。或いは、一次免疫複合体の中で結合するようになる第１の抗体が抗体に対する結合親和性を有する第２の結合作用物質によって検出されてもよい。この場合、第２の結合作用物質は検出可能な標識に連結されてもよい。第２の結合作用物質はそれ自体抗体であることが多いので、「二次抗体」と呼ばれてもよい。二次免疫複合体の形成を可能にす

るのに十分な時間、有効な条件下で一次免疫複合体を標識された二次の結合作用物質または抗体と接触させる。次いで二次免疫複合体を一般に洗浄して非特異的に結合した標識された二次抗体または二次リガンドを取り除き、次いで二次免疫複合体における残りの標識を検出する。

【０２９２】

さらなる方法には、２ステップアプローチによる一次免疫複合体の検出が含まれる。抗体に対する結合親和性を有する抗体のような第２の結合作用物質を用いて本明細書で記載されるような二次免疫複合体を形成する。洗浄した後、再び免疫複合体（三次免疫複合体）の形成を可能にするのに十分な時間、有効な条件下で第２の抗体に対する結合親和性を有する第３の結合作用物質または抗体に二次免疫複合体を接触させる。第３のリガンドまたは抗体を検出可能な標識に連結させて、こうして形成される三次免疫複合体の検出を可能にする。これが所望であるならば、この系はシグナル増幅を提供し得る。

【０２９３】

別の実施形態では、ビオチン化されたモノクローナル抗体またはポリクローナル抗体を用いて標的抗原を検出し、次いで第２ステップの抗体を用いて複合体化されたビオチンに連結されたビオチンを検出する。その方法では、調べられる試料は先ず第１ステップの抗体を含む溶液にてインキュベートされる。標的抗原が存在するならば、抗体の一部は抗原に結合してビオチン化された抗体／抗原の複合体を形成する。次いでストレプトアビジン（またはアビジン）、ビオチン化ＤＮＡ及び／または相補性のビオチン化ＤＮＡの連続溶液におけるインキュベートによって抗体／抗原の複合体を増幅し、各ステップは抗体／抗原の複合体に追加のビオチン部位を付加する。好適なレベルの増幅が達成されるまで増幅ステップを繰り返し、その時点でビオチンに対する第２ステップの抗体を含む溶液にて試料をインキュベートする。発色性基質を用いた組織酵素学により抗体／抗原の複合体の存在を検出するのに使用することができる、たとえば、酵素によって第２ステップの抗体を標識する。好適な増幅に伴って、肉眼的に眼に見える複合体を作出することができる。

【０２９４】

一実施形態では、免疫学的な検出には免疫組織化学法（ＩＨＣ）が使用される。ＩＨＣを用いて、プローブ、たとえば、抗ＦＯＬＲ１抗体により試料を標的とすることによって試料におけるＦＯＬＲ１の検出を達成することができる。プローブは検出可能な標識に直接または間接的に連結することができ、または検出可能な標識に直接または間接的に連結される別のプローブによって検出することができる。

【０２９５】

一部の実施形態では、ＩＨＣ、たとえば、較正ＩＨＣはタンパク質発現の異なるレベル間を区別することができる。一部の実施形態では、ＩＨＣは、低いＦＯＬＲ１発現、中程度のＦＯＬＲ１発現または高いＦＯＬＲ１発現を有する試料について染色強度を区別することができる。

【０２９６】

一実施形態では、ＦＯＬＲ１の免疫学的な検出（免疫組織化学法による）は強度及び均一性（染色された細胞の比率－膜だけ）の双方についてスコア化される。強度についてのＦＯＬＲ１発現の相対的スコアは、０：陰性、０～１：非常に弱い、１：弱い、１～２：弱い～中程度、２：中程度、２～３：中程度～強い、３：強い、３＋：非常に強いとして相互に関連する。定量的にスコア０は膜染色が認められないことを表す。スコア１はかすかな／どうにか知覚できる膜染色が検出されることを表す。スコア２については、弱い～中程度の完全な膜染色が認められる。最後に、スコア３（または３＋）は、中程度～完全な膜染色が認められることを表す。ＦＯＬＲ１発現についての０または１のスコアのそれら試料は上昇したＦＯＬＲ１発現を有さないことを特徴とし得るのに対して２または３のスコアを持つ試料はＦＯＬＲ１を過剰発現するまたは上昇したＦＯＬＲ１を有することを特徴とし得る。別の実施形態では、本明細書で提供される抗体、その抗原結合断片またはポリペプチドを用いて、ＦＯＬＲ１発現について０のスコアを持つ試料は上昇したＦＯＬＲ１発現を有さないことを特徴とすることができ、１のスコアを持つ試料はＦＯＬＲ１の

増加した発現を有することを特徴とすることができ、２または３のスコアを持つ試料はＦＯＬＲ１を過剰発現するまたは上昇したＦＯＬＲ１を有することを特徴とすることができる。

【０２９７】

ＦＯＬＲ１を過剰発現している試料は、細胞当たり発現されるＦＯＬＲ１分子のコピーの数または細胞当たり結合する抗体（ＡＢＣ）の数に相当する免疫組織化学的スコアによっても格付けすることができ、生化学的に測定することができる。ＦＯＬＲ１の均一性（パーセント細胞膜染色）についての相対的なスコアは以下のとおりである：陰性＝０％、巣状≦２５％、不均質（ヘテロ）＝２５～７５％及び均質（ホモ）≧７５％。

【０２９８】

一実施形態では、ＦＯＬＲ１の免疫学的な検出（免疫組織化学法による）はＨスコアを用いてスコア化される。Ｈスコアは、染色強度のスコア（０が染色なしを表し、３が強い染色を表す０～３）を膜染色について陽性である（すなわち、均一性）細胞の比率と組み合わせる。Ｈスコアは以下のように算出することができる。

Ｈスコア＝［０＊（強度０での細胞染色の比率］＋［１＊（強度１での細胞染色の比率］＋［２＊（強度２での細胞染色の比率］＋［３＊（強度３での細胞染色の比率］。従って、Ｈスコアは０（細胞膜染色なし）から３００（強度３にてすべての細胞膜が染色）までに及ぶことができる。

【０２９９】

一実施形態では、癌を有する対象は、対象に由来する腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも５０である場合、抗ＦＯＬＲ１治療計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。一実施形態では、癌を有する対象は、対象に由来する腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも７５である場合、抗ＦＯＬＲ１治療計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。一実施形態では、癌を有する対象は、対象に由来する腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも１００である場合、抗ＦＯＬＲ１治療計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。一実施形態では、癌を有する対象は、対象に由来する腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも１２５である場合、抗ＦＯＬＲ１治療計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。一実施形態では、癌を有する対象は、対象に由来する腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも１５０である場合、抗ＦＯＬＲ１治療計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。一実施形態では、癌を有する対象は、対象に由来する腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも１７５である場合、抗ＦＯＬＲ１治療計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。一実施形態では、癌を有する対象は、対象に由来する腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも２００である場合、抗ＦＯＬＲ１治療計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、癌を有する対象は、対象に由来する腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも２２５である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、癌を有する対象は、対象に由来する腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも２５０である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、癌を有する対象は、対象に由来する腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも２７５である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、癌を有する対象は、対象に由来する腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも３００である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。

【０３００】

別の実施形態では、卵巣癌を有する対象は、対象に由来する卵巣腫瘍試料におけるＦＯ

ＬＲ発現についてのＨスコアが７５～３００である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、卵巣癌を有する対象は、対象に由来する卵巣腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも７５である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、卵巣癌を有する対象は、対象に由来する卵巣腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも１００である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、卵巣癌を有する対象は、対象に由来する卵巣腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも１２５である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、卵巣癌を有する対象は、対象に由来する卵巣腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも１５０である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、卵巣癌を有する対象は、対象に由来する卵巣腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも１７５である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、卵巣癌を有する対象は、対象に由来する卵巣腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも２００である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、卵巣癌を有する対象は、対象に由来する卵巣腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも２２５である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、卵巣癌を有する対象は、対象に由来する卵巣腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも２５０である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、卵巣癌を有する対象は、対象に由来する卵巣腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも２７５である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、卵巣癌を有する対象は、対象に由来する卵巣腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも３００である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。

【０３０１】

別の実施形態では、ＮＳＣＬＣを有する対象は、対象に由来するＮＳＣＬＣ腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが５０～３００である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、ＮＳＣＬＣを有する対象は、対象に由来するＮＳＣＬＣ腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも５０である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、ＮＳＣＬＣを有する対象は、対象に由来するＮＳＣＬＣ腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも７５である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、ＮＳＣＬＣを有する対象は、対象に由来するＮＳＣＬＣ腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも１００である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、ＮＳＣＬＣを有する対象は、対象に由来するＮＳＣＬＣ腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも１２５である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、ＮＳＣＬＣを有する対象は、対象に由来するＮＳＣＬＣ腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも１５０である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、ＮＳＣＬＣを有する対象は、対象に由来するＮＳＣＬＣ腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも１７５である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、ＮＳＣ

ＬＣを有する対象は、対象に由来するＮＳＣＬＣ腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも２００である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、ＮＳＣＬＣを有する対象は、対象に由来するＮＳＣＬＣ腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも２２５である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、ＮＳＣＬＣを有する対象は、対象に由来するＮＳＣＬＣ腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも２５０である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、ＮＳＣＬＣを有する対象は、対象に由来するＮＳＣＬＣ腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも２７５である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、ＮＳＣＬＣを有する対象は、対象に由来するＮＳＣＬＣ腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも３００である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。

【０３０２】

別の実施形態では、子宮内膜癌を有する対象は、対象に由来する子宮内膜腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが５０～３００である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、子宮内膜癌を有する対象は、対象に由来する子宮内膜腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも５０である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、子宮内膜癌を有する対象は、対象に由来する子宮内膜腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも７５である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、子宮内膜癌を有する対象は、対象に由来する子宮内膜腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも１００である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、子宮内膜癌を有する対象は、対象に由来する子宮内膜腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも１２５である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、子宮内膜癌を有する対象は、対象に由来する子宮内膜腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも１５０である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、子宮内膜癌を有する対象は、対象に由来する子宮内膜腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも１７５である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、子宮内膜癌を有する対象は、対象に由来する子宮内膜腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも２００である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、子宮内膜癌を有する対象は、対象に由来する子宮内膜腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも２２５である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、子宮内膜癌を有する対象は、対象に由来する子宮内膜腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも２５０である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、子宮内膜癌を有する対象は、対象に由来する子宮内膜腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも２７５である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。別の実施形態では、子宮内膜癌を有する対象は、対象に由来する子宮内膜腫瘍試料におけるＦＯＬＲ発現についてのＨスコアが少なくとも３００である場合、抗ＦＯＬＲ１投薬計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。

【０３０３】

例として、卵巣癌を有する対象におけるＨスコアは以下のとおり：
Ｈスコア＝（強度０にて７５％）＋（強度１にて０％）＋（強度２にて０％）＋（強度３にて２５％）＝７５；または
Ｈスコア＝（強度０にて０％）＋（強度１にて７５％）＋（強度２にて０％）＋（強度３にて２５％）＝１５０であってもよい。
別の例では、子宮内膜癌を有する対象におけるＨスコアは以下のとおり：
Ｈスコア＝（強度０にて７５％）＋（強度１にて０％）＋（強度２にて２５％）＋（強度３にて０％）＝５０；または
Ｈスコア＝（強度０にて０％）＋（強度１にて７５％）＋（強度２にて２５％）＋（強度３にて０％）＝１２５であってもよい。
上記４つの例すべてにおいて、対象は抗ＦＯＬＲ１治療計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定され得る。

【０３０４】

一実施形態では、ＦＯＬＲ１の免疫学的な検出（免疫組織化学法による）は試料全体にわたるパーセント陽性と強度を用いてスコア化される。この実施形態では、抗ＦＯＬＲ１治療計画による治療のための選択は、染色強度（たとえば、１、２または３）及び染色均一性（たとえば、均質または不均質（表１１を参照））の双方を反映する特定されたレベルで膜ＦＯＬＲ１を発現することが見いだされる試料における細胞の比率に基づく。たとえば、少なくとも２５％（すなわち、２５～７５％または７５％超）の３でＦＯＬＲ１陽性に染まる細胞を有する試料は、「３ヘテロ」及び「３ホモ」またはまとめて「３で少なくとも２５％陽性」として特徴付けられ得る。

【０３０５】

一実施形態では、卵巣癌を有する対象は、対象に由来する腫瘍試料におけるＦＯＬＲ１膜発現の少なくとも２５％がＩＨＣによる３の強度スコアを有する場合、抗ＦＯＬＲ１治療計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。一実施形態では、ＩＨＣはＦＯＬＲ１－２．１抗体を用いて実施される。

【０３０６】

別の実施形態では、子宮内膜癌を有する対象は、対象に由来する腫瘍試料におけるＦＯＬＲ膜発現の少なくとも２５％がＩＨＣによる少なくとも２の強度スコアを有する場合、抗ＦＯＬＲ１治療計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。一実施形態では、ＩＨＣはＦＯＬＲ１－２．１抗体を用いて実施される。

【０３０７】

別の実施形態では、ＮＳＣＬＣを有する対象は、対象に由来する腫瘍試料におけるＦＯＬＲ膜発現の少なくとも２５％がＩＨＣによる少なくとも２の強度スコアを有する場合、抗ＦＯＬＲ１治療計画（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療の候補として特定される。一例では、ＩＨＣはＩＨＣ用のＦＯＬＲ１－２．１抗体を用いて実施される。

【０３０８】

ＩＨＣは手動でまたは自動化されたシステムを用いて（たとえば、自動染色器を用いて）実施することができる。ＩＨＣは細胞、細胞ペレット、組織、血液からの調製物、血漿、血清、またはリンパ液等で実施することができる。一部の実施形態では、試料は固定された試料である。一部の実施形態では、試料はパラフィン包埋された試料である。一部の実施形態では、試料はホルマリン固定し、パラフィン包埋された試料である。

【０３０９】

一実施形態では、免疫学的な検出にフローサイトメトリーが使用される。従って、たとえば、フローサイトメトリーを用いて細胞当たりの結合した抗体（ＡＢＣ）の数を評価することができる。細胞当たりの結合した抗ＦＯＬＲ１抗体の高い数は高いＦＯＬＲ１の発現及び抗ＦＯＬＲ１抗体またはその免疫複合体による治療に感受性である高い可能性を示し得る。

【０３１０】

ＸＩ．組成物及びキット

本発明によって提供されるのはまた、本明細書で開示されるような本発明の実践で使用するための組成物及びキットである。そのようなキットは、たとえば、すでにマーカーに連結されたまたは抗体（ならびにマーカー自体）に結合作用物質を結合させるための試薬を伴った１以上の結合作用物質（抗体）、緩衝液及び／または試薬及び本発明の実践を支援する単離（任意で微細切開によって）のための器具類を含む、方法で利用される種々の試薬（通常濃縮された形態で）の１以上をそれぞれ伴った容器を含んでもよい。本発明のリガンド検出方法におけるキット成分を記載するラベル若しくは指針、またはその使用のための一揃いの指示書も通常含まれ、その際、指示書はキットまたはその成分の添付文書及び／または包装に関連してもよい。

【０３１１】

その上さらなる実施形態では、本発明は本明細書で記載される免疫検出法と共に使用するための免疫検出キットに関する。抗体は一般にＦＯＬＲ１を検出するのに使用されるので、抗体は一般にキットに含まれるであろう。従って、免疫検出キットは好適な容器手段にて、ＦＯＬＲ１に結合する第１の抗体及び／または任意で免疫検出試薬及び／またはさらに任意でＦＯＬＲ１タンパク質またはＦＯＬＲ１を含有する細胞試料を含むであろう。

【０３１２】

キットの免疫検出試薬は、所与の抗体に会合する及び／または連結される検出可能な標識を含む種々の形態の任意の１つを取ってもよい。二次結合リガンドに会合する及び／または連結される検出可能な標識も企図される。例となる二次リガンドは第１の抗体に対して結合親和性を有する二次抗体である。

【０３１３】

本キットで使用するためのさらなる好適な免疫検出試薬には、第２の抗体に対して結合親和性を有する第３の抗体と共に第１の抗体に対して結合親和性を有する第２の抗体を含む２成分試薬が挙げられ、第３の抗体は検出可能な標識に連結される。本明細書で言及されるように、多数の例となる標識が当該技術で既知であり、及び／またはそのような標識はすべて本発明との関連で好適に採用され得る。

【０３１４】

キットはさらに、たとえば、抗ＦＯＬＲ１免疫複合体のような、癌を治療するための治療剤を含んでもよい。

【０３１５】

キットはさらに、ＦＯＬＲ１検出試薬を含む対象にてＦＯＬＲ１の発現を測定するのに使用されるＦＯＬＲ１検出試薬、及び使用のための指示書を含んでもよい。一実施形態では、ＦＯＬＲ１検出試薬はＦＯＬＲ１結合ペプチドまたは抗ＦＯＬＲ１抗体を含む。別の実施形態では、キットはさらに抗ＦＯＬＲ１抗体に結合する二次抗体を含む。

【０３１６】

一実施形態では、ＦＯＬＲ１に特異的な抗体は、約０．１～約２０μｇ／ｍＬ、約０．１～約１５μｇ／ｍＬ、約０．１～約１０μｇ／ｍＬ、約０．５～約２０μｇ／ｍＬ、約０．５～約１５μｇ／ｍＬ、約０．５～約１０μｇ／ｍＬ、約１～約２０μｇ／ｍＬ、約１～約１５μｇ／ｍＬ、約１～約１０μｇ／ｍＬ、約２～約２０μｇ／ｍＬ、約２～約１５μｇ／ｍＬ、または約２～約１０μｇ／ｍＬの濃度で含まれる。別の実施形態では、ＦＯＬＲ１に特異的な抗体は、約１．５μｇ／ｍＬ、約２μｇ／ｍＬ、約３μｇ／ｍＬ、約４μｇ／ｍＬ、約５μｇ／ｍＬ、約６μｇ／ｍＬ、約７μｇ／ｍＬ、約８μｇ／ｍＬ、約９μｇ／ｍＬ、または約１０μｇ／ｍＬの濃度で含まれる。別の実施形態では、ＦＯＬＲ１に特異的な抗体は、約２μｇ／ｍＬの濃度で含まれる。別の実施形態では、ＦＯＬＲ１に特異的な抗体は、約１０μｇ／ｍＬの濃度で含まれる。

【０３１７】

別の実施形態では、抗体は、約１～約２０μｇ／ｍＬ、約１～約１５μｇ／ｍＬ、約１～約１０μｇ／ｍＬ、約２～約２０μｇ／ｍＬ、約２～約１５μｇ／ｍＬ、または約２～約１０μｇ／ｍＬの最終濃度を達成するための希釈の指示書を伴う濃縮された溶液に含まれる。別の実施形態では、抗体は、約１．５μｇ／ｍＬ、約２μｇ／ｍＬ、約３μｇ／ｍ

Ｌ、約４μｇ／ｍＬ、約５μｇ／ｍＬ、約６μｇ／ｍＬ、約７μｇ／ｍＬ、約８μｇ／ｍＬ、約９μｇ／ｍＬ、または約１０μｇ／ｍＬの最終濃度を達成するための希釈の指示書を伴う濃縮された溶液に含まれる。別の実施形態では、抗体は、約２μｇ／ｍＬの最終濃度を達成するための希釈の指示書を伴う濃縮された溶液に含まれる。別の実施形態では、抗体は、約１０μｇ／ｍＬの最終濃度を達成するための希釈の指示書を伴う濃縮された溶液に含まれる。

【０３１８】

別の実施形態では、キットはさらに、酵素、蛍光団、放射性標識及び発光団から成る群から選択される検出試薬を含む。別の実施形態では、検出試薬はビオチン、ジゴキシゲニン、トリチウム及びローダミンから成る群から選択される。

【０３１９】

キットはまた、ＦＯＬＲ１の発現の検出及びスコア化のための指示書を含むこともできる。キットはまた、対照試料または参照試料を含むこともできる。対照試料または参照試料の非限定例には、正常（正常対照）試料または腫瘍（陽性対照）試料に由来する細胞ペレットまたは組織培養細胞株が挙げられる。例となる細胞株には、ＦＯＬＲ１を発現する発現ベクターで安定的にまたは一時的に形質移入した細胞株が挙げられる。追加の例には実施例にて記載される細胞ペレット及び組織試料が挙げられる。

【０３２０】

一部の実施形態では、キットは、（ａ）ヒトのＦＯＬＲ１に対するモノクローナル抗体で構成される捕捉試薬と、（ｂ）ＦＯＬＲ１モノクローナル抗体も含むことができる検出試薬の基本要素を含む包装された組み合わせであるが、ＦＯＬＲ１に結合する検出可能な（標識されたまたは非標識の）抗体も含むことができる。これらの基本要素は本明細書で定義される。

【０３２１】

一実施形態では、キットはさらに捕捉試薬のための固相支持体を含み、それ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すでに不動化されている。従って、キットにおける捕捉抗体は固相支持体に不動化することができ、またはそれらはキットと共に含まれる若しくはキットとは別に提供されるそのような支持体に不動化することができる。

【０３２２】

一実施形態では、捕捉抗体はマイクロタイタープレートに被覆される。検出試薬は、直接検出される標識された抗体、または異なる種で作られた非標識抗体に向けられた標識された抗体によって検出される非標識抗体であることができる。標識が酵素である場合、キットは普通、酵素によって求められる基質及び補因子を含み、標識が蛍光団である場合、キットは普通、発光団を提供する色素前駆体を含む。検出試薬が非標識である場合、キットはさらに、たとえば、蛍光測定で検出する方式にて、非標識の抗体に向けられた標識された抗体のような検出可能な抗体のための検出手段を含むことができる。標識が酵素である場合、キットは普通、酵素によって求められる基質及び補因子を含み、標識が蛍光団である場合、キットは普通、発光団を提供する色素前駆体を含み、標識がビオチンである場合、キットは普通、アビジン、ストレプトアビジン、またはＨＲＰ若しくはβ－ガラクトシダーゼにＭＵＧで結合されたストレプトアビジンのようなアビジンを含む。

【０３２３】

一実施形態では、捕捉抗体はＦＯＬＲ１抗体２．１、５．７または９．２０、または抗体２．１、５．７若しくは９．２０の配列を含む抗体である。一実施形態では、検出試薬はＦＯＬＲ１抗体２．１、５．７または９．２０、または抗体２．１、５．７若しくは９．２０の配列を含む抗体である。別の実施形態では、検出試薬、ＦＯＬＲ１抗体２．１、５．７または９．２０、または抗体２．１、５．７若しくは９．２０の配列を含む抗体はビオチン化される。

【０３２４】

キットはまた通常、アッセイを行うための指示書、及び／または抗原標準としてのＦＯ

ＬＲ１タンパク質またはその断片（たとえば、ＦＯＬＲ１細胞外ドメインまたはＦＯＬＲ１細胞外ドメインとＧＰＩ結合ドメインのすべて若しくは一部）ならびに安定剤のような他の添加剤、洗浄緩衝液及びインキュベート緩衝液等も含有する。一実施形態では、ＦＯＬＲ１抗原標準はＦＯＬＲ１－Ｆｃ免疫付着因子である。キットはまたＦＯＬＲ１発現の検出及びスコア化のための指示書を含むこともできる。

【０３２５】

キットの成分は所定の比で提供することができ、種々の試薬の各量はアッセイの感度を実質的に最大化する試薬の溶液での濃度を提供するように好適に変化する。特に、試薬は普通、賦形剤を含む凍結乾燥された乾燥粉末として提供され、それは溶解の際、調べられる試料と組み合わせるために適当な濃度を有する試薬溶液を提供する。

【０３２６】

本明細書で記載される抗体または抗原結合断片を含む組成物も提供される。一実施形態では、組成物は本明細書で記載される抗ＦＯＬＲ１抗体または抗原結合断片と緩衝液、たとえば、ＦＡＣＳ、ＩＨＣまたはＥＬＩＳＡのような検出アッセイで使用することができる緩衝液とを含む。そのような緩衝液は当業者に既知であり、希釈剤を含む。例として、ある特定のＦＡＣＳ緩衝液が実際に使える例にて本明細書で提供される。ＦＡＣＳ緩衝液はまた、たとえば、血清またはアルブミン（たとえば、仔ウシ血清、ヤギ血清またはＢＳＡ）及び／またはアジ化ナトリウムも含有することができる。ＦＡＣＳ緩衝液はまた、ＰＢＳ、ＥＤＴＡ及び／またはＤＮＡ分解酵素またはそれらの任意の組み合わせも含有することができる。ＩＨＣ緩衝液も本明細書で提供され、当業者に既知である。ＩＨＣ緩衝液は、たとえば、カゼイン血清またはアルブミン（たとえば、仔ウシ血清、ヤギ血清またはＢＳＡ）、ＴｗｅｅｎまたはＴｒｉｔｏｎ、ＰＢＳ及び／またはアジ化ナトリウムまたはそれらの任意の組み合わせを含有することができる。ＥＬＩＳＡ緩衝液も本明細書で提供され、当業者に既知である。ＥＬＩＳＡ緩衝液は、たとえば、血清またはアルブミン（たとえば、仔ウシ血清、ヤギ血清またはＢＳＡ）、脱脂粉乳、カゼイン及び／またはゼラチンまたはそれらの組み合わせを含有することができる。

【０３２７】

本開示の実施形態は以下の非限定の実施例を参照してさらに定義することができ、それは本開示のある特定の抗体の調製及び本開示の抗体を用いる方法を詳細に記載している。本開示の範囲から逸脱することなく、材料及び方法の双方に対する多数の改変を実践することができることが当業者に明らかであろう。

【０３２８】

実施例

本明細書で記載される実施例及び実施形態は説明目的のみのためのものであり、その観点での種々の改変または変更が当業者に提案され、本出願の範囲及び管轄の中に含められるべきであることが理解される。

【実施例１】

【０３２９】

ＦＯＬＲ１ハイブリドーマの生成

免疫組織化学法（ＩＨＣ）染色に好適である抗ヒトＦＯＬＲ１モノクローナル抗体（本発明の抗体）を産生するハイブリドーマを１６，０００を超えるハイブリドーマから選択した。ハイブリドーマは、ヒトＦＯＬＲ１、ヒトＦＯＬＲ１／マウスＩｇＧ２ａ　Ｆｃ組換えタンパク質及びヒトＦＯＬＲ１組換えタンパク質を形質移入したホルマリン固定した３００－１９細胞を含む様々な抗原で野生型Ｂａｌｂ／ｃマウスを免疫することによって作出した。固定した３００－１９細胞による免疫は、アジュバントの非存在下でのＰＢＳ中の形質移入した３００－１９細胞（５Ｅ６細胞／マウス／注射）の皮下注射によって行った。ＦＯＬＲ１組換えタンパク質による免疫は完全フロイントアジュバント（ＣＦＡ）または追加免疫用の不完全フロイントアジュバント（Ｓｉｇｍａ）またはＭａｇｉｃマウスアジュバント（Ｃｒｅａｔｉｖｅ　Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ）にて乳化したタンパク質の皮下注射によって行った。一般に、２週間間隔で５回マウスを免疫した後、融合の３日

前に免疫源の腹腔内注射によって最後の追加免疫を行った。

【０３３０】

免疫した野生型のＢａｌｂ／ｃマウスを起源とする脾臓細胞とマウス骨髄腫Ｐ３Ｘ６３Ａｇ８．６５３細胞（Ｐ３細胞）を用いて合計１６の独立した融合（融合３５２、３５３、及び３５４を含む）を行った。細胞融合は、標準のプロトコールに従ってＥＣＭ２００電気融合器（ＢＴＸ　Ｈａｒｖａｒｄ　Ａｐｐａｒａｔｕｓ）を用いて行った。各融合によって１，０００を超えるハイブリドーマを得た。変性ＦＯＬＲ１陽性細胞及びＦＯＬＲ１陰性細胞を用いる方法に基づくＦＡＣＳによって、これらのハイブリドーマにより産生される抗体をスクリーニングし、確認した。スクリーニングした１,６０００を超えるハイブリドーマのうち、ＦＡＣＳスクリーニングによって陽性である１４のハイブリドーマが発見された。陽性ハイブリドーマはすべてヒトＦＯＬＲ１／マウスＩｇＧ２ａＦｃ組換えタンパク質で免疫したマウスを起源とした。

【０３３１】

当初ＦＡＣＳスクリーニングによって陽性であった１４ハイブリドーマのうち、１０のみがさらなる解析に十分なＩｇＧ濃度を示した。

【実施例２】

【０３３２】

ハイブリドーマ上清の免疫組織化学的な評価

当初の１４ハイブリドーマのうち１０をＩＨＣによって解析した。Ｌｅｉｃａ　Ｂｏｎｄ　ＲＸ自動染色器及び表９に載せた試薬及び条件を用いて解析を行った。

【表９】

表９．ＩＨＣ試薬及びアッセイ条件

ステップ	作用/試薬（供給業者）	時間
乾燥	温度：60° C	30 分
脱ワックス	Bond 脱ワックス溶液（Leica） 100%エタノール(Pharmco Aaper)	固定した
抗原回復	Bond エピトープ回復 2（エチレンジアミン四酢酸に基づく pH 9.0 の溶液）	20 分
内在性ペルオキシダーゼの遮断	過酸化物（Leica）	5 分
被験物質	Leica 抗体希釈液中に希釈して調製した種々の濃度での ImmunoGen, Inc.が生成した抗体	15 分
検出	一次後試薬（Leica）	8 分
	ポリマー（Leica）	8 分
	混合 DAB（Leica）	10 分
対比染色	ヘマトキシリン(Leica)	5 分

【０３３３】

ホルマリン固定し、パラフィン包埋した（ＦＦＰＥ）細胞、正常組織、患者の肺癌生検及び患者の卵巣癌生検を含有するスライドを６０℃で乾燥させ、Ｂｏｎｄ脱ワックス溶液と１００％エタノールを用いて脱ワックスした。Ｂｏｎｄエピトープ回復２（エチレンジアミン四酢酸に基づくｐＨ９．０の溶液）を用いて熱が誘導するエピトープ回復を２０分間行い、内在性ペルオキシダーゼを過酸化物によって５分間遮断した。種々の濃度のＩｍｍｕｎｏＧｅｎ，Ｉｎｃ．が生成した抗体またはＬｅｉｃａ／Ｎｏｖｏｃａｓｔｒａ　ｍｕＩｇＧ１対照抗体と共にスライドを１５分間インキュベートした。Ｌｅｉｃａ　Ｂｏｎｄ　Ｒｅｆｉｎｅ検出システムによるインキュベートによって結合した抗体を検出した。抗体の適用に続いて、スライドを一次後試薬（ウサギ抗マウスＩｇＧ）と共に８分間、ポリマー（ヤギ抗ウサギポリマー）と共に８分間、及びＤＡＢ（３,３－ジアミノベンジジ

ンテトラヒドロ塩化物）と共に１０分間インキュベートして、茶色のシグナルを生じた。スライドをヘマトキシリンで５分間対比染色した。

【０３３４】

ＦＦＰＥ組織試料は以下で概説するようなＰｒｏｔｅｏｇｅｎｅｘ ａｎｄ ｔｈｅ Ｃｏｏｐｅｒａｔｉｖｅ Ｈｕｍａｎ Ｔｉｓｓｕｅ Ｎｅｔｗｏｒｋ（ＣＨＴＮ）から得たヒト組織のブロックに由来した。ＦＦＰＥ細胞試料はＡｍｅｒｉｃａｎ Ｔｉｓｓｕｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎによって供給されるＫＢ細胞株に由来した。試料の切片を含有するスライドは５μｍに設定したミクロトームを用いてＦＦＰＥブロックから調製し、正に荷電したスライドに載せた。染色に先立ってこれらのスライドを一晩風乾させた。

【表１０】

表１０．ＦＦＰＥ試験試料

ヒトの組織の種類	商業的供給源
正常肺	CHTN
正常膵臓	CHTN
正常唾液腺	CHTN
卵巣漿液性乳頭状腺癌	Proteogenex
肺腺癌	CHTN

【０３３５】

ＦＯＬＲ１の染色強度及び分布パターンを対照ＩｇＧの染色（非特異的）に比べてスコア化した。強度は０～３のスコアにスコア化し、その際、０＝染色なし、１＝弱い染色、２＝中程度の染色、３＝強い染色だった。染色の均一性は、陰性（陽性染色を示す細胞がない）、巣状（２５％未満の染色された細胞）、不均質（２５～７５％の染色された細胞）及び均質（７５％超の染色された細胞）としてスコア化した。染色強度及びスコア化スケールを以下に記載する。染色はすべて委員会が認証した病理学者によって評価された。

【表１１】

表１１．染色の強度及び均一性

強度（膜染色の量）	
0	陰性
1	弱い
2	中程度
3	強い

均一性（陽性細胞の比率）	
0	陰性
巣状	<25%
不均質(ヘテロ)	25-75%
均質(ホモ)	>75%

【０３３６】

ＦＦＰＥのＦＯＬＲ１のＩＨＣにためにハイブリドーマを特定するＩＨＣ選択法

ＦＯＬＲ１陽性の変性細胞上でＦＡＣＳにより陽性の一次クローン（合計１０クローン）をＩＨＣによって評価した。クローン２つは融合３５２から得られた（クローン３５２．１及び３５２．２）。６つのクローンは融合３５３から得られ（クローン３５３．１、３５３．２、３５３．３、３５３．５、３５３．９、３５３．１５）、２つのクローンは融合３５４から得られた（クローン３５４．１及び３５４．２）。培養したハイブリドーマ細胞からハイブリドーマ上清を回収し、解析に使用した。上清からマウスモノクローナル抗体を捕捉するための抗マウスＬ鎖特異的ポリクローナル抗体及び捕捉抗体を検出するための抗マウスＦｃ特異的なポリクローナル抗体を用いたＥＬＩＳＡによってハイブリドーマ上清における抗体濃度を測定し、既知の濃度のマウスモノクローナルＩｇＧ１試料をＩｇＧ濃度を算出する基準として用いた。細胞培養培地（非希釈）はＩＨＣ染色法を妨害しないことが示された（一次抗体の代わりに培地が使用された場合、バックグランド染色／非特異的染色がないことを確認した）。Ｌｅｉｃａ抗体希釈液中１０μｇ／ｍＬまでの種々の濃度に希釈した１０の上清（ＩＭＧＮ３５２．１、３５２．２、３５３．１、３５３．２、３５３．３、３５３．５、３５３．９、３５３．１５、３５４．１、及び３５４

．２）を、ＦＯＬＲ１の既知の陽性対照試料（ヒト正常肺、患者に由来する卵巣漿液性乳頭状腺癌及びＫＢ細胞）を用いて染色し、評価して陽性の候補クローン（ＦＯＬＲ１陽性試料にて許容できる膜染色と特異性を示すクローン）を特定した。１０のクローンのうち５つがＦＯＬＲ１陽性試料にて許容できる膜染色及び良好な特異性を示した。５つの候補クローンのそれぞれについて好適な染色濃度が以下：３５３．１（０．７μｇ／ｍＬ）、３５３．２（２．３μｇ／ｍＬ）、３５３．３（２．３μｇ／ｍＬ）、３５３．５（２μｇ／ｍＬ及び１０μｇ／ｍＬ）、及び３５３．９（２μｇ／ｍＬ及び１０μｇ／ｍＬ）のように実験的に決定された。残りの５つのクローンのうち、クローン３５３．１５（２μｇ／ｍＬ及び１０μｇ／ｍＬで染色した）はＫＢ細胞及び正常肺組織で許容できる膜染色を示したが、細胞質の染色のみは調べた患者の卵巣癌組織にて観察された。クローン３５２．１、３５２．２及び３５４．１はどの試料でも目に見える染色を示さず、クローン３５４．２は明らかな非特異的細胞質染色しか示さず、すべて許容できないと見なされた。

【０３３７】

５つの候補クローンをさらにサブクローニングした。４つのクローン（３５３．２、３５３．３、３５３．５及び３５３．９）のサブクローンは上手く特定され、クローン３５３．１のサブクローンは生成されなかった。合計８つのサブクローンを精製した。クローン３５３．５から２つのサブクローンが得られた（３５３．５－７及び３５３．５－１０）。クローン３５３．９から２つのサブクローンが得られた（３５３．９－２０及び３５３．９－２１）。クローン３５３．３から２つのサブクローンが得られ（３５３．３－８及び３５３．３－９）、クローン３５３．２から２つのサブクローンが得られた（３５３．２－１及び３５３．２－１２）（これらのサブクローンはそれぞれ５．７、５．１０，９．２０、９．２１、３．８、３．９、２．１及び２．１２とも呼ばれることに留意のこと）。２及び１０μｇ／ｍＬの抗体濃度にて上述の方法（表９．ＩＨＣの試薬及びアッセイ条件）を用いてサブクローンのＩＨＣによる特徴付けを行った。８つのサブクローンは以下の実施例３で記載されるように配列決定も行った。候補サブクローンを以下：［３５３．２－１、３５３．２－１２］、［３５３．９－２０、３５３．９－２１］、［３５３．５－７、３５３．５－１０］、及び［３５３．３－８、３５３．３－９］のように最適な膜染色及び特異性についてさらに特定し、ランク付けするように評価し、さらなる特徴付けのために選択した（実施例３で記載されるような配列同一性に従ってサブクローンを一緒に角括弧に入れる）。

【０３３８】

２つのサブクローン：３５３．２－１及び３５３．９－２０をさらなるＩＨＣアッセイの最適化のために選択した。双方の抗体を用いてヒト正常肺、ヒト正常唾液腺、ヒト正常膵臓、患者卵巣癌生検、患者非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）生検及び患者明細胞腎細胞癌生検を染色した。最適な条件で（以下の表１２及び図１３を参照のこと）、双方の抗体はヒト正常組織及び患者腫瘍組織の双方で特異的で且つ適宜感受性の染色を示した。膵臓の管、正常肺の呼吸上皮及び介在導管は陽性の膜関連染色を示した。陰性であると予想された膵臓の腺房細胞／島細胞、肺の肺胞内結合組織及び唾液腺の腺房細胞はいずれのサブクローンでも陽性染色を示さなかった。陽性であると予想された卵巣癌、ＮＳＣＬＣ及び明細胞腎細胞癌の試料に由来する腫瘍細胞は腫瘍細胞に局在する陽性の膜関連染色を示した。陰性であると予想された腫瘍の下部構造（間質、血管及びリンパ球）は３５３．２－１または３５３．９－２０による陽性染色は示さなかった。３５３－２．１（ＦＯＬＲ１－２．１）による正常組織の追加の染色を以下表１３にて要約し、図１４にて示す。まとめると、ＩＨＣによる特徴付けのデータは３５３．２－１及び３５３．９－２０がＦＦＰＥ組織におけるＦＯＬＲ１に特異的であることを示唆している（図１及び図２を参照のこと）。

【表１２】

表１２．最適化されたアッセイ条件

ステップ	作用/試薬（供給業者）	時間
乾燥	温度：60° C	30 分
脱ワックス	Bond 脱ワックス溶液（Leica） 100%エタノール（Pharmco Aaper）	固定した
抗原回復	Bond エピトープ回復 2（エチレンジアミン四酢酸に基づく pH 9.0 の溶液）	20 分
内在性ペルオキシダーゼの遮断	過酸化物(Leica)	5 分
被験物質	1.5μg/mL での IMGN353.2-1 6.0 μg/mL での IMGN353.9-20	15 分
検出	一次後試薬(Leica)	8 分
	ポリマー(Leica)	8 分
	混合 DAB（Leica）	10 分
対比染色	ヘマトキシリン(Leica)	5 分

【表１３】

表１３．最適化されたアッセイ条件

正常組織、構造	2.1 による染色
副腎	+
乳腺小葉	+
卵管、表面上皮	+
腎臓、尿細管	+
膵臓、膵管	+
下垂体、下垂体細胞	+
唾液腺、介在導管	+
乳腺、結合組織	−
食道粘膜下層&筋層	−
眼、角膜	−
腎臓、糸球体	−
肺、肺胞間結合組織	−
肝臓、肝細胞	−
膵臓、腺房細胞	−
肺、上皮	−/+
胃、表面上皮、底部	−

【実施例３】

【０３３９】

選択された抗ＦＯＬＲ１抗体の特徴付け

実施例２にて上述したように、ＦＡＣＳスクリーニングによる一次確認に基づいて選択された１４のハイブリドーマクローンのうち、１０の一次クローンを免疫組織化学（ＩＨＣ）解析によって解析した。１０の一次クローン（すなわち、３５２．１、３５２．２、３５３．１、３５３．２、３５３．３、３５３．５、３５３．９、３５３．１５、３５４．１、及び３５４．２）のうち、５つ（すなわち、３５３．１、３５３．２、及び３５３．３、３５３．５、及び３５３．９）がＩＨＣによって陽性であり、５つすべてが同じ融合（３５３）に由来した。一次クローン３５３．２のサブクローン１つを選択して３５３．２－１（「２．１」）と命名した。一次クローン３５３．３のサブクローン１つを選択

して３５３．３－８（「３．８」）と命名した。一次クローン３５３．５のサブクローン１つを選択して３５３．５－７（「５．７」）と命名した。一次クローン３５３．９のサブクローン２つを選択して３５３．９－２０（「９．２０」）及び３５３．９－２１（「９．２１」）と命名した。サブクローン９．２０及び９．２１を配列決定したが、予想どおり、双方は同じ配列を有した。加えて、クローンの２つ２．１及び９．２０をそれぞれ２０１３年４月１６日、それぞれＰＴＡ－１２０１９７及びＰＴＡ－１２０１９６としてＡＴＣＣに寄託した。

【０３４０】

ウエスタンブロットによる抗ＦＯＬＲ１抗体の特異性

ＦＯＬＲ１－陽性（Ｉｇｒｏｖ－１、Ｏｖｃａｒ－３、Ｃａｏｖ－３、Ｗｉｓｈ、及びＳｋｏｖ－３）及びＦＯＬＲ１－陰性（ＢｘＰＣ３、Ｐａｎｃ－１、及びＡＳＰＣ１）の細胞株から調製した細胞溶解物のパネルによるウエスタンブロットによって、生成された抗体の特異性を解析した。アッセイについては、常法によって溶解物をＳＤＳポリアクリルアミドゲル電気泳動にて泳動し、ニトロセルロース膜に移した。膜を本発明の抗ＦＯＬＲ１抗体と共にインキュベートし、形成された抗原／抗体複合体を西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）に結合させた抗マウス二次抗体によって検出した（図３）。調べた抗ＦＯＬＲ１抗体はすべて高レベルのＦＯＬＲ１発現を伴った細胞株（すなわち、Ｉｇｒｏｖ－１及びＷｉｓｈ）におけるＦＯＬＲ１を認識した。低い発現の細胞株Ｏｖｃａｒ－３、Ｃａｏｖ－３及びＳｋｏｖ－３におけるＦＯＬＲ１は抗ＦＯＬＲ１クローン２．１及び９．２１によってのみ検出され、クローン３．８及び５．７はたぶん抗体の不十分な感度のためにこれらの細胞溶解物を染色しなかった。ＦＯＬＲ１陽性細胞株にてクローンによる追加の非特異的なバンドは検出されず、ＦＯＬＲ１陰性細胞株の染色も観察されなかった。

【０３４１】

変性させた及び変性させない細胞への抗ＦＯＬＲ１抗体の結合

変性させた及び変性させない（ネイティブの立体構造）ＦＯＬＲ１に結合する抗ＦＯＬＲ１抗体の能力をＦＯＬＲ１陽性細胞ＫＢ及びＴ４７Ｄによる間接ＦＡＣＳによって解析した。Ｖｅｒｓｉｎｅによって細胞を回収し、リン酸緩衝化生理食塩水（ＰＢＳ）で洗浄した。変性させた細胞は、１０％ホルムアルデヒドを含有するＰＢＳにて細胞を４℃で一晩インキュベートし、その後、ＰＢＳで洗浄し、９５℃で３０分間インキュベートすることによって調製した。次いで変性させた及び変性させない細胞を氷上でＦＡＣＳ緩衝液（２％正常ヤギ血清で補完されたＲＰＭＩ-１６４０培地）で希釈した抗ＦＯＬＲ１抗体と共に２時間インキュベートした。細胞を遠心し、ＰＢＳで洗浄し、ＦＩＴＣを結合したヤギ抗マウスＩｇＧ抗体と共に４０分間インキュベートした。細胞を再び遠心し、ＰＢＳで洗浄し、１％ホルムアルデヒドを含有する０．２ｍＬのＰＢＳで再懸濁させた。ＨＴＳマルチウェルと共にＦＡＣＳＣａｌｉｂｕｒフローサイトメトリー用いて細胞に関連する蛍光を測定し、ＣｅｌｌＱｕｅｓｔ　Ｐｒｏ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，ＵＳ）を用いて解析した。図４に示すように抗ＦＯＬＲ１抗体はすべて変性させた及び変性させない細胞双方に結合した。

【０３４２】

ＥＬＩＳＡによる抗ＦＯＬＲ１抗体の親和性

組換えヒトＦＯＬＲ１／マウスＦｃ２ａタンパク質を抗原として用いたＥＬＩＳＡによって抗ＦＯＬＲ１抗体の結合親和性を調べた。組換えタンパク質をマイクロタイタープレートに不動化し、抗体を様々な濃度でプレートに加えた。プレートを室温で２時間インキュベートし、０．０５％のＴｗｅｅｎ２０で補完したＰＢＳで洗浄し、ＨＲＰ標識したヤギ抗マウス二次抗体と共に室温で１時間インキュベートした。プレートをＰＢＳ／Ｔｗｅｅｎ２０で再び洗浄し、結合したＨＲＰ複合抗体をＨＲＰの基質ＴＭＢ（Ｂｉｏ－ＦＸ）を加えることによって検出した。代表的な結果を図５に示す。抗ＦＯＬＲ１抗体は０．５～０．９ｎＭの５０％効果濃度（ＥＣ５０）にてヒトのＦＯＬＲ１に対して類似の親和性を有した。

【０３４３】
ＦＯＬＲ２及びＦＯＬＲ３との抗ＦＯＬＲ１抗体の交差反応性はない
ＦＯＬＲ１は葉酸受容体ファミリーのメンバーである。抗ＦＯＬＲ１抗体の他のファミリーメンバーＦＯＬＲ２及びＦＯＬＲ３との交差反応性をＥＬＩＳＡによって評価した。組換えタンパク質ＦＯＬＲ２－ＨｉｓまたはＦＯＬＲ３－Ｈｉｓ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）をＮｉ－ＮＴＡプレート（ＱＩＡＧＥＮ）に不動化し、抗ＦＯＬＲ１抗体をプレートに加え、室温で２時間インキュベートした。ＦＯＬＲ２及びＦＯＬＲ３のＥＬＩＳＡの陽性対照として、それぞれポリクロナール抗ＦＯＬＲ２及び抗ＦＯＬＲ３抗体（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）を用いた。形成された抗体／抗原複合体をＨＲＰ標識したヤギ抗マウス二次抗体によって検出した。図６に示すように、本発明の抗ＦＯＬＲ１抗体はＦＯＬＲ２またはＦＯＬＲ３に結合せず、対照抗体だけが相当する抗原を検出した。
【実施例４】
【０３４４】
抗原エピトープの特徴付け
ヒトのＦＯＬＲ１は６９位、１６１位及び２０１位（ＵｎｉＰｒｏｔ）にてＮ－グリコシル化の３つの可能性のある部位を有し、文献で報告されたように、３つの部位すべてがグリコシル化される。本明細書で記載される抗ＦＯＬＲ１抗体によって認識されるエピトープの性質を特徴付けるために、脱グリコシル化した受容体及び未処理の受容体で結合実験を行った。配列データに基づいてクローンは同じエピトープに関連し、結合すると思われるので、生成された抗ＦＯＬＲ１クローンのうちでクローン２．１のみを試験で使用した。クローン２．１に加えて、他の２つの抗ＦＯＬＲ１抗体：ｈｕＭｏｖ１９（ＷＯ２０１１／１０６５２８）及びクローンＢＮ３．２（Ｌｅｉｃａ）を含めた。ＦＯＬＲ１を脱グリコシル化するために、組換えヒトＦＯＬＲ１またはＦＯＬＲ１陽性のＫＢ細胞若しくはＩｇｒｏｖ－１細胞の溶解物を製造元のプロトコールに従って脱グリコシル化酵素（Ｅｎｚｙｍａｔｉｃ　ＤｅＧｌｙｃｏＭＸ　Ｋｉｔ，ＱＡ－ｂｉｏ）の混合物で処理した。次いで処理した及び未処理のＦＯＬＲ１をＥＬＩＳＡ及びウエスタンブロットの解析に用いた。ＥＬＩＳＡについては、脱グリコシル化した及び未処理のＦＯＬＲ１をＥＬＩＳＡプレート（Ｉｍｍｕｌｏｎ）に不動化し、抗ＦＯＬＲ１抗体ＦＲＩＨＣ２－１（「２．１」）またはｈｕＭｏｖ１９を加えた。２時間のインキュベート後、ＨＲＰ標識したヤギ抗ヒト（ｈｕＭｏｖ１９について）または抗マウス（２．１について）二次抗体によって抗体／抗原複合体を検出した（図７）。ウエスタンブロット解析については、脱グリコシル化した及び未処理の溶解物またはｈｕＦＯＬＲ１組換えタンパク質の試料をＳＤＳポリアクリルアミドゲル電気泳動によって分離し、常法によってニトロセルロース膜に移した。膜を抗ＦＯＬＲ１抗体２．１、ｈｕＭｏｖ１９またはＢＮ３．２と共にインキュベートし、西洋ワサビペルオキシダーゼを結合させた適当な抗マウスまたは抗ヒト二次抗体によって抗原／抗体複合体を検出した（図８）。図７及び図８に示すように、抗体２．１のグリコシル化したＦＯＬＲ１への結合対未処理のＦＯＬＲ１への結合が有意に低下したということは、抗体がグリコ依存性のエピトープに結合することを示唆している。対照的に、他の２つの抗ＦＯＬＲ１抗体：ｈｕＭｏｖ１９及びＢＮ３．２が脱グリコシル化した受容体及び未処理の受容体に同様に結合するということは、（ｉ）ＦＯＬＲ１タンパク質は脱グリコシル化手順の間に損傷されなかった及び（ｉｉ）ｈｕＭｏｖ１９及びＢＮ３．２はＦＯＬＲ１のタンパク質エピトープを認識することを示している。
【実施例５】
【０３４５】
抗ヒトＦＯＬＲ１抗体のＶＬ領域及びＶＨ領域のクローニング及び配列決定
製造元のプロトコールに従ってＲＮｅａｓｙキット（ＱＩＡｇｅｎ）を用いて実施例１で記載されたＦＯＬＲ１ハイブリドーマの５×１０^{6}個の細胞から細胞性の全ＲＮＡを調製した。その後、ＳｕｐｅｒＳｃｒｉｐｔ　ＩＩ　ｃＤＮＡ合成キット（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を用いて全ＲＮＡから８つのサブクローン（２．１、２．１２、３．８、３．９、５．７、５．１０、９．２０、及び９．２１）についてｃＤＮＡを合成した。

【０３４６】
ハイブリドーマ細胞に由来する抗体可変領域ｃＤＮＡを増幅するＰＣＲ手順は、Ｗａｎｇら（（２０００），Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ．２３３：１６７－７７）及びＣｏら．（（１９９２），Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４８：１１４９－５４）にて記載された方法に基づいた。５’末端の変性プライマー及びそれぞれ３’末端でのマウスκまたはＩｇＧ１の定常領域に特異的なプライマーによって可変軽鎖（ＶＬ）及び可変重鎖（ＶＨ）の配列を増幅した。次いでＰＣＲ反応物を１％低融解アガロースゲル上で泳動し、その後、３００～４００ｂｐのアンプリコンバンドを切り出し、続いてＺｙｍｏＤＮＡミニカラムを用いて精製した。両方向から可変領域ｃＤＮＡ配列を生成するためにＰＣＲ反応物の同じ５’及び３’プライマーを利用する配列決定を目的として精製したアンプリコンをＢｅｃｋｍａｎ　Ｃｏｕｌｔｅｒ　Ｇｅｎｏｍｉｃｓに送付した。

【０３４７】
ＶＬ及びＶＨのｃＤＮＡ配列をクローニングするのに使用した変性プライマーが５’末端を変えるので、完全なｃＤＮＡ配列を立証するには、追加の配列決定の試みを必要とした。予備的な配列をＮＣＢＩ　ＩｇＢｌａｓｔサイト（ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／ｉｇｂｌａｓｔ／）の検索クエリに入れ、抗体の配列が由来していたマウスの生殖系列の配列を特定した。次いで、この新しいＰＣＲ反応物がＰＣＲプライマーによって変化させられない完全な可変領域のｃＤＮＡ配列を生じることになるように、生殖細胞系列に関連したマウスの抗体のリーダー配列にアニーリングするようにＰＣＲプライマーを設計した。ＰＣＲ反応、バンドの精製及び配列決定は上述のように行った。

【０３４８】
配列確認のための質量決定
抗ＦＯＬＲ１抗体のそれぞれについて得られた可変領域ｃＤＮＡ配列を生殖細胞系列の定常領域配列と組み合わせて完全長の抗体ｃＤＮＡ配列を得た。次いで重鎖及び軽鎖の分子量をｃＤＮＡ配列の翻訳から算出し、精製されたマウス抗ＦＯＬＲ１抗体のＬＣ／ＭＳ解析によって得られた分子量と比較した。ＬＣ／ＭＳは抗体を脱グリコシル化し、還元して完全な軽鎖及び重鎖ペプチドを単離することによって行った。重鎖のそれぞれについて観察された分子量は予想と一致したが、軽鎖のそれぞれはおよそ８５Ｄａ違っていた。軽鎖断片のＬＣ／ＭＳによるその後のペプチド断片化の解析は軽鎖リーダーペプチドの最終的なセリンが成熟軽鎖に実際保持されており、予想ＭＷに約８７Ｄａを加えたので、ＦＯＬＲ１抗体のそれぞれについてｃＤＮＡ配列は確認された。

【０３４９】
抗ＦＯＬＲ１抗体についての複合ＣＤＲ配列
８つのサブクローンについての抗体配列の配列比較は、４つの元々のハイブリドーマのうち３つが密接に関連するが、独特の抗体を産生したことを示した。予想通り、４つの姉妹サブクローン対のそれぞれは同一だった。加えて、サブクローンの２セットも同一であり、３つの独特の抗体配列（配列番号２７～３２）（２．１、５．７及び９．２０）を生じた。これら３つの独特の抗体の軽鎖及び重鎖の可変フレームワーク配列は密接に関連するが、各抗体は体細胞アミノ酸置換の結果と思われる独特のＣＤＲを含有する（以下の表１４を参照のこと）。マウスの抗ＦＯＬＲ１抗体のこれらＣＤＲ変異体は機能的に同一であることが見いだされたので、それらは本発明の抗ＦＯＬＲ１抗体のＣＤＲの配列の自由度に何らかの構造的な洞察を提供する。軽鎖のＣＤＲ２及び３が抗体のそれぞれにおいて同一であったということは、これらのしっかりと保存されたＣＤＲはＦＯＬＲ１結合についての一貫した構造的な基礎を提供することができることを示唆している。その一方、残っているＣＤＲ、特に重鎖ＣＤＲ２及び３におけるアミノ酸置換はこれらの位置がこれら抗体の親和性及び特異性の改善に決定的であることを示唆している。これらのＣＤＲの位置における特定の残基の置換はまたこれら抗体の操作された型の中に組み込まれ得る残基の例も提供する。表１４は本発明の抗ＦＯＬＲ１抗体から集められた複合ＣＤＲ配列のリストを提供する。本明細書で特定される複合ＣＤＲは本発明の抗ＦＯＬＲ１抗体の機能的な特質を保存するように期待される組換え抗体の設計に使用することができる。

【表１４】
表１４．複合ＣＤＲ

抗-FOLR1 複合 CDR
軽鎖
CDR1：KS[T/S][K/E]SLLNSDGFTYLD（配列番号 24） CDR2：LVSNHFS（配列番号 25） CDR3：FQSNYLPLT（配列番号 26）
重鎖
CDR1：N[Y/S]YIH（配列番号 21） CDR2：WIYP[G/E][S/N][F/V/L]N[V/T][E/R/Q]YN[E/D]KFKA（配列番号 22） CDR3：RGIY[F/Y]YSPYA[L/M]D[Y/H]（配列番号 23）

【０３５０】
抗体のヒト化
たとえば、参照によってその全体が本明細書に組み入れられるＲｏｇｕｓｋａら，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，ＵＳＡ，９１（３）：９６９－９７３（１９９４）及びＲｏｇｕｓｋａら，Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｎｇ．９（１０）：８９５－９０４（１９９６）にて以前記載された表面再構成法に従ってＦＲＩＨＣ２－１抗体をヒト化した。表面再構成には軽鎖及び重鎖の双方における可変領域フレームワークの表面残基の特定及びヒト同等物によるその置き換えが関与する。表面再構成された抗体ではマウスのＣＤＲは保存される。ＦＲＩＨＣ２－１抗体の例となるＣＤＲは表１４で示されたように定義される。ＣＤＲに入るリジンを結合する影響についての懸念をできるだけ抑えるために、マウスＦＲＩＨＣ２－１抗体の軽鎖ＣＤＲ１におけるリジン２４及びリジン２７をヒト化バージョン１．０（イタリック体で示す）についてはアルギニンで置き換えるので、ＬＣのＣＤＲ１の双方のバージョンが与えられる。表面再構成に採用されるＡｂＭ重鎖ＣＤＲ２の定義に加えて、表はＦＲＩＨＣ２－１抗体のマウス型及びヒト型の双方についての例となるＫａｂａｔ定義の重鎖ＣＤＲ２を提供する。下線の配列は表面再構成のためのＣＤＲとは見なされなかったＫａｂａｔ重鎖ＣＤＲ２の部分に印をつける。
【０３５１】
表面残基の位置は３０％以上の相対アクセス性を持つ任意の位置として定義された（Ｐｅｄｅｒｓｅｎ，Ｊ．Ｔ．ら，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９９４；２３５：９５９－９７３）。次いで計算された表面残基をヒト生殖細胞系列の表面配列と共に並べ、最も相同性の高いヒトの表面配列を特定した。ＦＲＩＨＣ２－１抗体のＶＬドメインについての置換表面として使用されるヒト生殖細胞系列の配列はＩＧＫＶ２－３０＊０１であった一方で、ＦＲＩＨＣ２－１抗体のＶＨについての置換表面としてはＩＨＶ１－６９＊１０を使用した。ＦＲＩＨＣ２－１抗体に特異的なフレームワーク表面残基の変化は図９に提供する。表面再構成された軽鎖は好まれるバージョンにてＣＤＲ１のリジン置換を含んだので、表面再構成されたバージョン（ｖ１．０１）はＣＤＲ－Ｌ１にて保持されたマウスのリジンを伴っても生成された。図１０は軽鎖及び重鎖双方のＦＲＩＨＣ２－１可変ドメインについての表面再構成された配列のマウスでの対応部分との配列比較を示す。
【０３５２】
可変ドメインの表面再構成によるヒト化に加えて、ＦＲＩＨＣ２－１抗体は相補性決定領域（ＣＤＲ）の移植法（Ｊｏｎｅｓら，Ｎａｔｕｒｅ，３２１：６０４－６０８（１９８６）及びＶｅｒｈｏｅｙｅｎら，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２３９：１５３４－１５３６（１９８８））に従ってもヒト化された。ＣＤＲ移植法は、自然に進化したマウスの抗体に由来するＣＤＲをヒト抗体のＦｖフレームワーク領域（ＦＲ）に移植することから成る。ＦＲＩＨＣ２－１抗体のＣＤＲの移植にはＫａｂａｔ番号付け方式及びＫａｂａｔのＣＤＲ定

義を使用した。ＣＤＲの移植のためのＦＲＩＨＣ２－１の例となるＣＤＲを表１４に提供する。マウスのＦＲＩＨＣ２－１抗体に対して最も高い相同性を持つヒト免疫グロブリンの生殖細胞系列の配列は、Ｌｅｆｒａｎｃ，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２９：２０７－２０９（２００１）にて記載されたようなＩｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ ＩｍＭｕｎｏＧｅｎｅＴｉｃｓ ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ ｓｙｓｔｅｍ（登録商標）（ＩＭＧＴ（ｈｔｔｐ：／／ｉｍｇｔ．ｃｉｎｅｓ．ｆｒ／）のインタラクティブツールＶ－ＱＵＥＳＴを介して特定した。ＦＲＩＨＣ２－１抗体のＶＬドメイン及びＶＨドメインのためのアクセプターフレームワークとして使用したヒト生殖細胞系列の配列はそれぞれＩＧＫＶ２Ｄ－２９＊０２及びＩＧＨＶ１－２＊０２だった。ＣＤＲに入るリジンを結合する影響についての懸念をできるだけ抑えるために、マウスＦＲＩＨＣ２－１抗体の軽鎖ＣＤＲ１におけるリジン２４及びリジン２７をＣＤＲ移植した構築物におけるアルギニンで置き換えた（表１５）。ＦＲＩＨＣ２－１抗体のＣＤＲ移植における特定のフレームワーク残基の変化ならびにＣＤＲ－Ｌ１における置換を図１１に提供し、ＦＲＩＨＣ２－１抗体の可変ドメインについてのＣＤＲ移植配列のマウスでの対応部分との配列比較を図１２で説明する。

【表１５】

表１５

FRIHC2-1 CDR（表面再構成）	FRIHC2-1 CDR（CDR 移植）
軽鎖	軽鎖
マウスの及び表面再構成された v1.01 CDR1: KSSKSLLNSDGFTYLD（配列番号 6） 表面再構成された v1.0CDR1: ΑSSΑSLLNSDGFTYLD（配列番号 59）	マウスの及び CDR 移植された v1.01CDR1: KSSKSLLNSDGFTYLD（配列番号 6） CDR 移植された v1.0CDR1: ΑSSΑSLLNSDGFTYLD（配列番号 59）
CDR2: LVSNHFS（配列番号 7）	CDR2: LVSNHFS（配列番号 7）
CDR3: FQSNYLPLT（配列番号 8）	CDR3: FQSNYLPLT（配列番号 8）
重鎖	重鎖
CDR1: NSYIH（配列番号 3）	CDR1: NSYIH（配列番号 3）
CDR2: WIYPESLNTQ（配列番号 60）	CDR2: WIYPESLNTQYNEKFKA（配列番号 4）
CDR3: RGIYYYSPYALDH（配列番号 5）	CDR3: RGIYYYSPYALDH（配列番号 5）
Kabat FRIHC2-1 HC CDR2	
マウスの HC CDR2: WIYPESLNTQYNEKFKA（配列番号:4）	
表面再構成された HC CDR2: WIYPESLNTQYNQKFQG（配列番号 61）	

【実施例６】

【０３５３】

ヒト腫瘍試料を用いた３５３－２．１（ＦＯＬＲ１－２．１）抗体のＩＨＣによる評価

３５３－２．１抗体を用いたＩＨＣによってＦＯＬＲ１の発現について、卵巣癌（ｎ＝６３）、肺腺癌（ｎ＝１０４）及び子宮内膜腺癌（ｎ＝５８）を代表とするヒト腫瘍試料

を評価した。ＦＯＬＲ１染色の強度及びスコアの分布を以下の表１６にて要約する。図１５は３５３－２．１抗体による卵巣癌及び肺腺癌の組織の染色の例を示す。これらの結果は、ＦＯＬＲ１を標的とする作用物質（たとえば、ＩＭＧＮ８５３）による治療法の可能性がある候補としての患者を特定するＩＨＣアッセイで使用するための特異的で且つ感度の高い抗体としての３５３－２．１の有用性を明らかにしている。

【表１６】

表１６．スコアの分布（％陽性）

腫瘍の種類:	卵巣癌 n=63	肺腺癌 n=104	子宮内膜腺癌 n=58
陽性（任意の強度):	65%	70%	64%
レベル≥2 の強度で少なくとも25%腫瘍細胞が染色された:	59%	47%	33%
レベル≥3 の強度で少なくとも25%腫瘍細胞が染色された:	51%	19%	14%

【０３５４】

追加のＩＨＣアッセイを用いてＦＯＬＲ１－２．１（ＦＯＬＲ１　３５３－２．１）抗体の独特の特異性及び高い結合親和性をさらに明らかにした。このＩＨＣアッセイは、ホルマリン固定し、パラフィン包埋した組織試料におけるＦＯＬＲ１タンパク質発現の半定量的な実証のために、Ｖｅｎｔａｎａ　ＢｅｎｃｈＭａｒｋ　ＸＴ自動スライド染色器にてＯｐｔｉＶｉｅｗ　ＤＡＢ検出キットを利用する。アッセイは正常組織及び腫瘍組織の対照を用いて特異性、感度及び精度に関して最適化され、検証されている。最適化された条件下で腫瘍細胞にて鮮明な膜染色が明瞭に観察されたのに対して正常な間質組織は完全に陰性だった（図１６）。加えて、このアッセイは、広いダイナミックレンジも達成し、それによって最強の染色強度（レベル３、暗茶色の染色、図１７）からの中程度の染色強度（レベル２、中程度の茶色、図１７）のさらに良好な識別を可能にした。向上したダイナミックレンジは、染色強度に基づくＦＯＬＲ１陽性試料をランク付けし、最高レベルのＦＯＬＲ１発現を持つ患者の亜集団のさらなる特定を可能にする能力を改善する。

【０３５５】

卵巣癌組織のマイクロアレイ（ＴＭＡ）を用いてＢＮ３．２（Ｌｅｉｃａ）抗体とＦＯＬＲ１－２．１（ＦＯＬＲ１　３５３－２．１）抗体を比較した。ＩＨＣアッセイにてＢＮ３．２（Ｌｅｉｃａ）を用いて（ＢＮ３．２アッセイ）、試料の５０％近く（３５のうち１６）が最高のカテゴリー（少なくとも２５％の腫瘍細胞でレベル３の染色強度）にスコア化された。対照的に、Ｖｅｎｔａｎａ　ＢｅｎｃｈＭａｒｋ　ＸＴ自動スライド染色器にてＯｐｔｉＶｉｅｗ　ＤＡＢ検出キットを利用する上記のＩＨＣアッセイにてＦＯＬＲ１－２．１（ＦＯＬＲ１　３５３－２．１）抗体を用いて（ＦＯＬＲ１－２．１アッセイ）、１６試料を２つの異なるカテゴリー：最高カテゴリーでの６（少なくとも２５％の腫瘍細胞でレベル３の染色強度、表１７）と二番目に最高のカテゴリーでのその他の１０（少なくとも２５％の腫瘍細胞でレベル２の染色強度、表１７）にさらに分離することを可能にした。従って、ＦＯＬＲ１－２．１アッセイにおけるＦＯＬＲ１－２．１抗体によって得られたさらに慎重な染色は、ＢＮ３．２アッセイにてＢＮ３．２抗体を用いてレベル３の発現の試料としてすべて一緒にグループ化された試料の間での識別を可能にする。

【表１７】

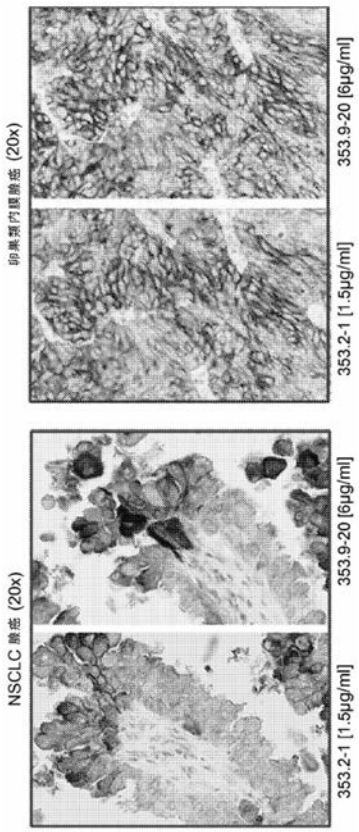
表１７．卵巣癌ＴＭＡ（ｎ＝３５）におけるＦＯＬＲ１の出現率比較

スコア	FOLR1-2.1アッセイ	BN3.2アッセイ
陽性(任意の強度)	24 (69%)	28 (80%)
レベル≥1 の強度で少なくとも25%の腫瘍細胞が染色された:	21 (60%)	27 (77%)
レベル≥2 の強度で少なくとも25%の腫瘍細胞が染色された:	17 (49%)	25 (71%)
レベル≥3 の強度で少なくとも25%の腫瘍細胞が染色された:	6 (17%)	16 (46%)

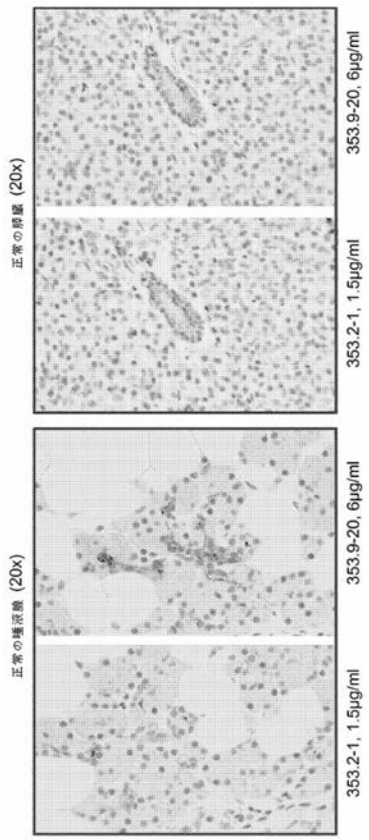
【０３５６】

本明細書で引用されている出版物、特許、特許出願、インターネットサイト及び受託番号／データベース配列（ポリヌクレオチド配列及びポリペプチド配列の双方を含む）はすべて、各個々の出版物、特許、特許出願、インターネットサイトまたは受託番号／データベース配列が具体的に且つ個々に参照によってそのように組み入れられるように指示されるかのようにと同程度にあらゆる目的でその全体が参照によって本明細書に組み入れられる。

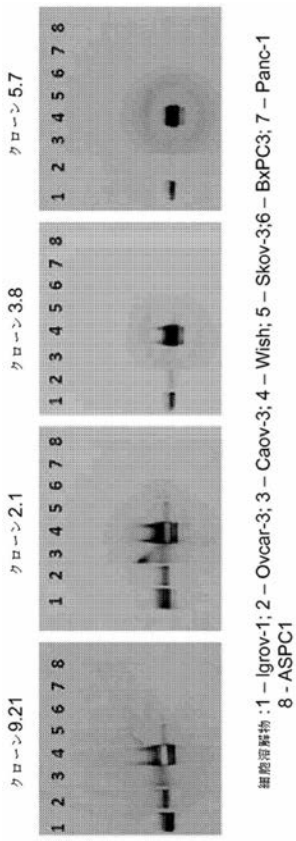
【図１】



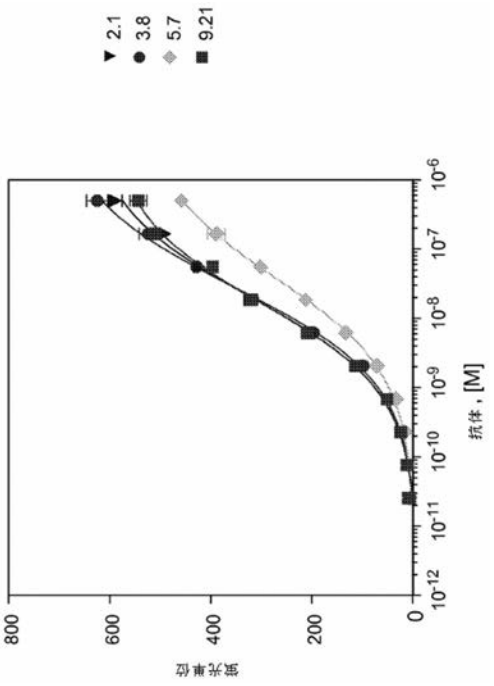
【図２】



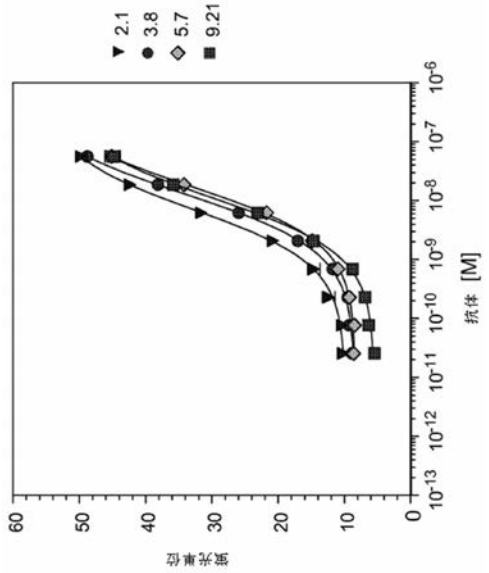
【図３】



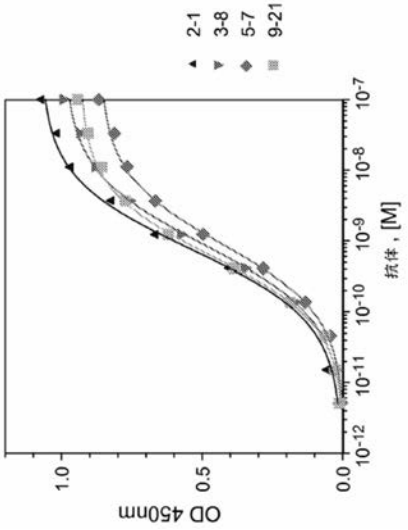
【図４Ａ】



【図４Ｂ】

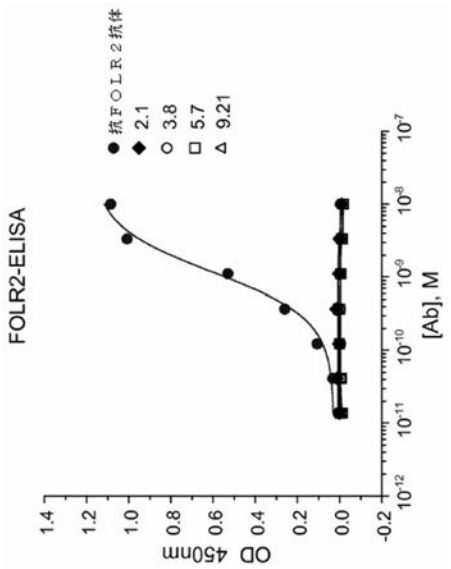


【図５】

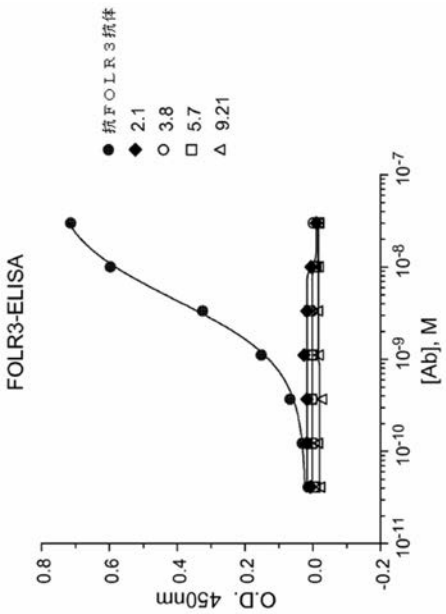


クローン	EC50, nM
2.1	0.5
3.8	0.7
5.7	0.9
9.21	0.7

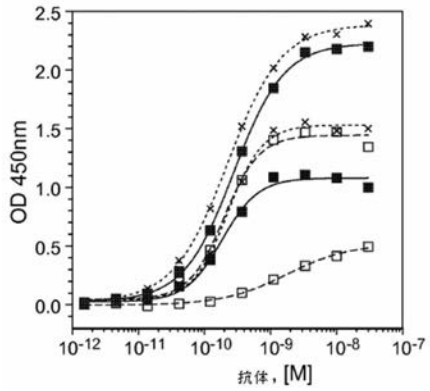
【図６Ａ】



【図６Ｂ】



【図７】



■ ｈｕＭｏｖ19、未処理のＦＯＬＲ１に結合する

✖ ｈｕＭｏｖ19、脱グリコシル化緩衝液でインキュベートした未処理のＦＯＬＲ１に結合する（グリコシル化酵素は加えない）

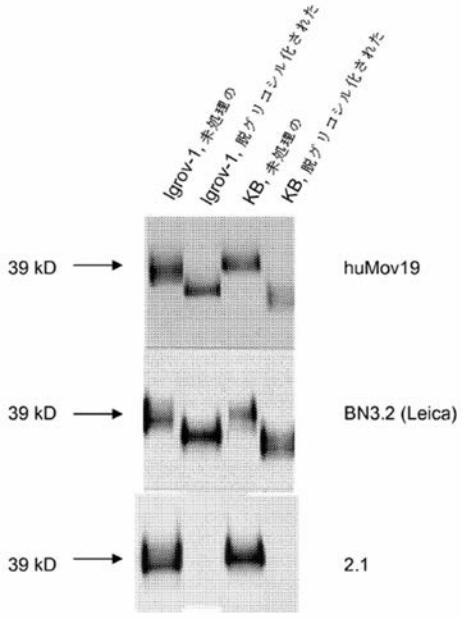
□ ｈｕＭｏｖ19、脱グリコシル化緩衝液で脱グリコシル化したＦＯＬＲ１に結合する

■ ２．１、未処理のＦＯＬＲ１に結合する

✖ ２．１、脱グリコシル化緩衝液でインキュベートした未処理のＦＯＬＲ１に結合する（グリコシル化酵素は加えない）

□ ２．１、脱グリコシル化緩衝液で脱グリコシル化したＦＯＬＲ１に結合する

【図８】



【図９】

FRIHC2－1の表面再構成

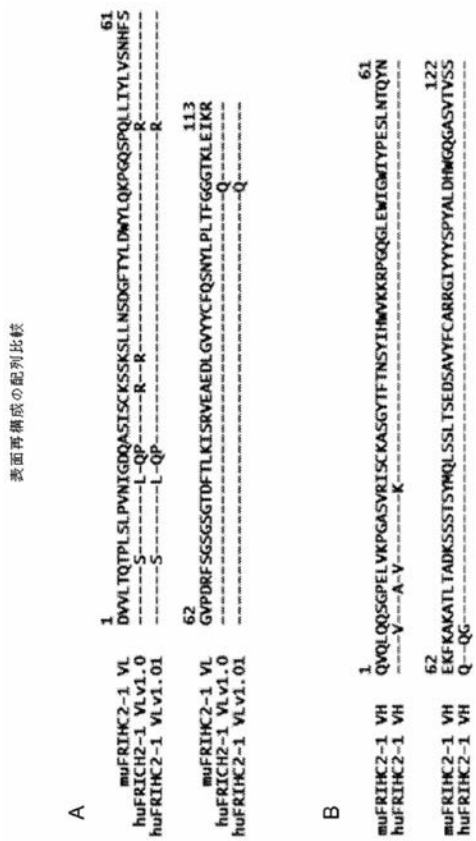
A

FRIHC2-1- V_L			
カバット位置	マウスの残基	ヒトv1.0残基	ヒトv1.01残基
1	D	D	D
3	V	V	V
7	**T**	***S***	***S***
9	L	L	L
15	**I**	***L***	***L***
17	**D**	***Q***	***Q***
18	**Q**	***P***	***P***
40	P	P	P
41	G	G	G
42	K	K	K
45	**Q**	***R***	***R***
57	G	G	G
60	D	D	D
67	S	S	S
77	R	R	R
81	E	E	E
100	**G**	***Q***	***Q***
103	K	K	K
107	K	K	K
108	R	R	R
24	**K**	***R***	**K**
27	**K**	***R***	**K**

B

FRIHC2-1- V_H		
カバット位置	マウスの残基	ヒトの残基
1	Q	Q
3	Q	Q
5	**Q**	***V***
9	**P**	***A***
11	**L**	***V***
13	K	K
14	P	P
19	**R**	***K***
23	K	K
28	T	T
41	P	P
42	G	G
43	Q	Q
61	**E**	***Q***
62	K	K
64	**K**	***Q***
65	**A**	***G***
73	K	K
74	S	S
82b	S	S
84	S	S
85	E	E
105	Q	Q
112	S	S

【図１０】



【図１１】

FRIHC2－1のCDR移植

A

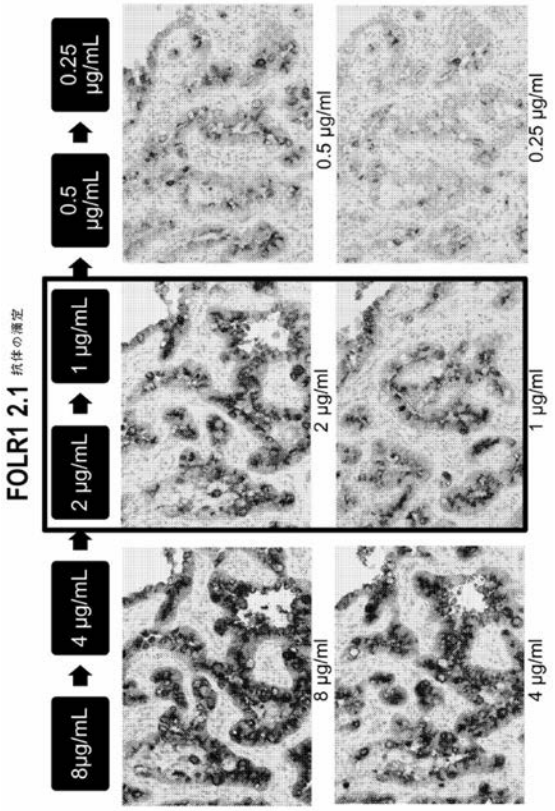
FRIHC2-1- V_L			
カバット位置	マウスの残基	ヒト（CDR移植）v1.0残基	ヒト（CDR移植）v1.01残基
2	V	I	I
4	L	M	M
12	P	S	S
14	N	T	T
15	I	P	P
17	D	Q	Q
18	Q	P	P
83	L	V	V
100	G	Q	Q
24	K	R	K
27	K	R	K

B

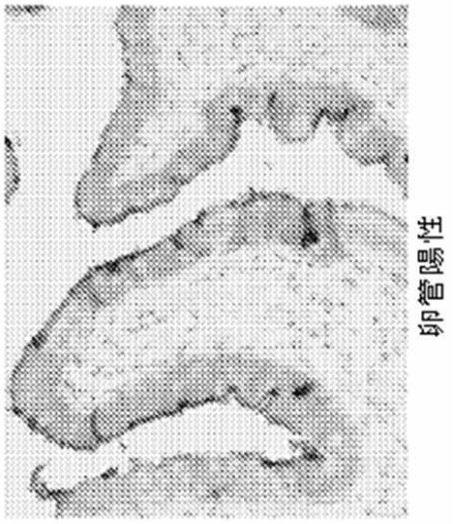
FRIHC2-1- V_H		
カバット位置	マウスの残基	ヒトの（CDR移植）残基
5	Q	V
9	P	A
11	L	V
12	V	K
19	R	K
20	I	V
38	K	R
39	K	Q
40	R	A
48	I	M
66	K	R
67	A	V
69	L	M
71	A	R
73	K	T
75	S	I
78	S	A
81	Q	E
82b	S	R
83	T	R
85	E	D
87	S	T
91	F	Y
107	A	T
108	S	L

【図１２】

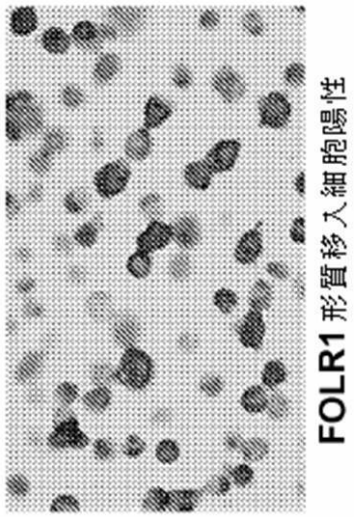
【図１３】



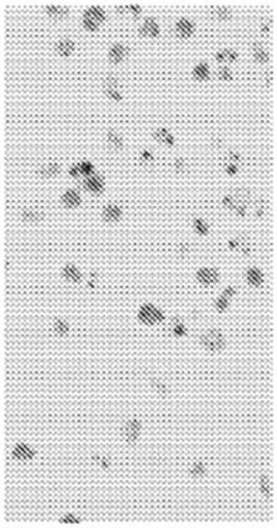
【図１４Ａ】



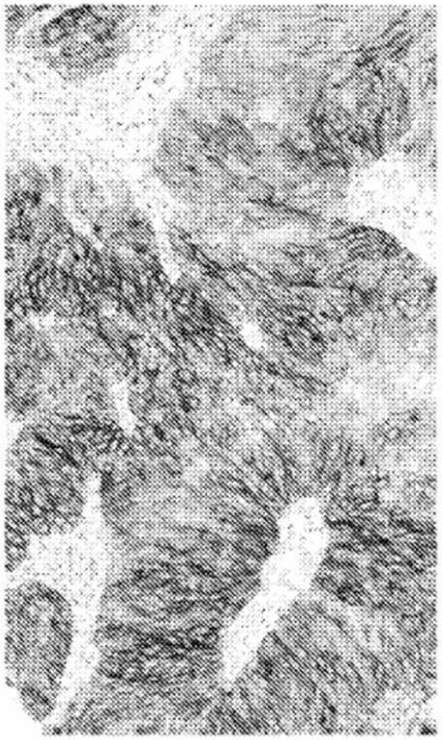
【図１４Ｂ】



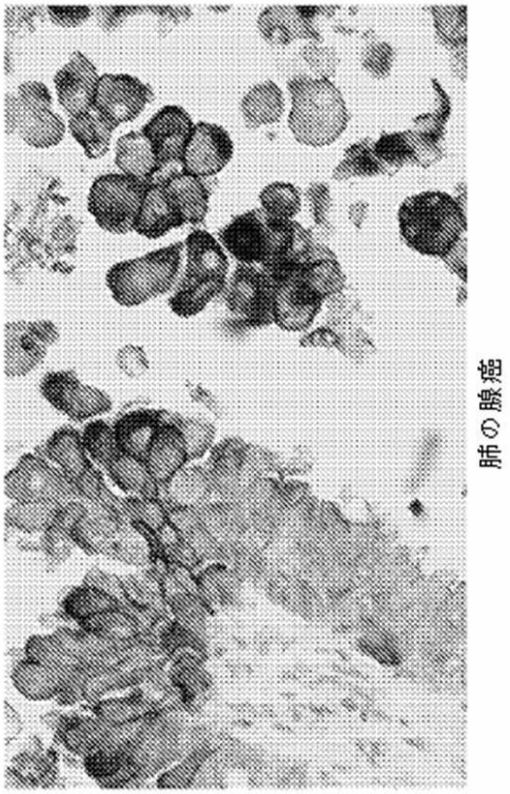
【図１４Ｃ】



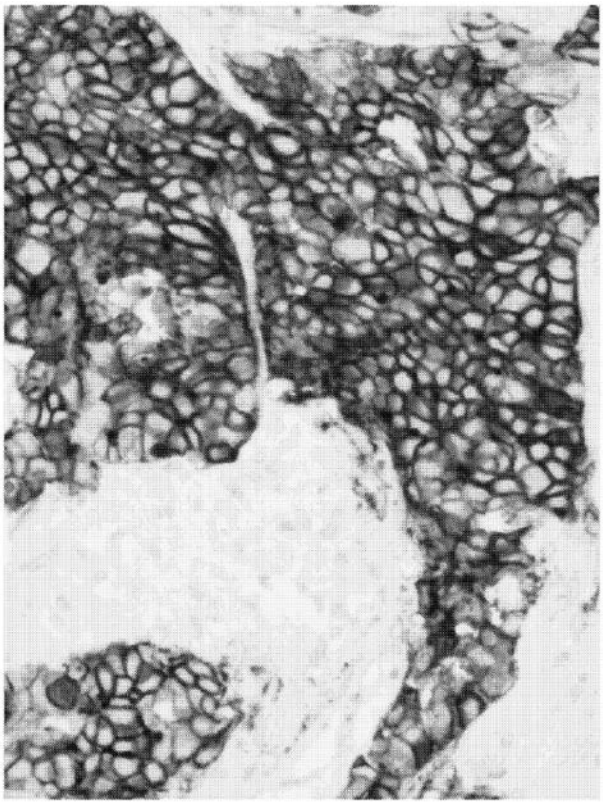
【図１５Ａ】



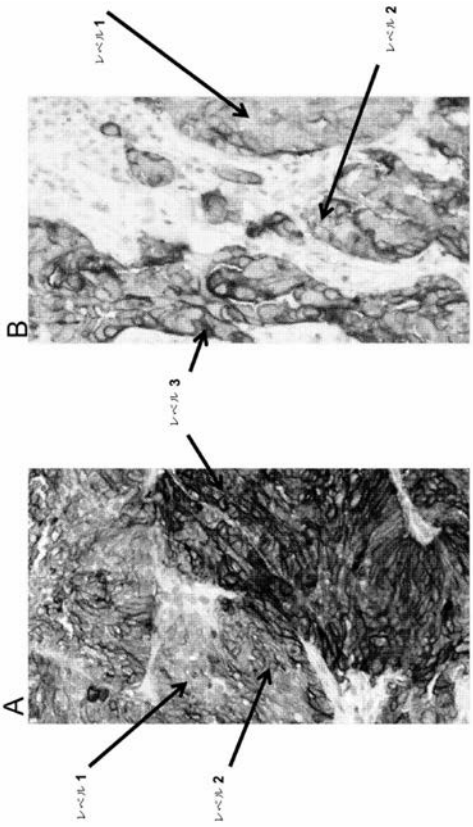
【図１５Ｂ】



【図１６】



【図１７】



【配列表】
2016536330000001.app
【手続補正書】
【提出日】平成28年4月27日(2016.4.27)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
ＦＯＬＲ１の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であって、前記エピトープが少なくとも１つの、少なくとも２つのまたは３つのＮ－グリコシル化されたアミノ酸を含む、前記抗体またはその抗原結合断片。
【請求項２】
抗体またはその抗原結合断片であって、
（ａ）配列番号２７のポリペプチドと配列番号２８のポリペプチドを含む抗体；
（ｂ）配列番号２９のポリペプチドと配列番号３０のポリペプチドを含む抗体；
（ｃ）配列番号３１のポリペプチドと配列番号３２のポリペプチドを含む抗体；
（ｄ）配列番号６２のポリペプチドと配列番号６３または配列番号６４のポリペプチドを含む抗体；及び
（ｅ）配列番号６５のポリペプチドと配列番号６６または配列番号６７のポリペプチドを含む抗体から成る群から選択される抗体として同一のＦＯＬＲ１エピトープに特異的に結合する、前記抗体またはその抗原結合断片。
【請求項３】
前記エピトープがＮ－グリコシル化されたアミノ酸を含む請求項２に記載の前記抗体またはその抗原結合断片。
【請求項４】
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が
（ａ）配列番号２７のポリペプチドと配列番号２８のポリペプチドを含む抗体；
（ｂ）配列番号２９のポリペプチドと配列番号３０のポリペプチドを含む抗体；
（ｃ）配列番号３１のポリペプチドと配列番号３２のポリペプチドを含む抗体；
（ｄ）配列番号６２のポリペプチドと配列番号６３または配列番号６４のポリペプチドを含む抗体；及び
（ｅ）配列番号６５のポリペプチドと配列番号６６または配列番号６７のポリペプチドを含む抗体から成る群から選択される抗体のＦＯＬＲ１への結合を競合して阻害する、前記抗体またはその抗原結合断片。
【請求項５】
前記抗体またはその抗原結合断片が、
（ａ）それぞれ配列番号３～８；
（ｂ）それぞれ配列番号９～１４；
（ｃ）それぞれ配列番号１５～２０；
（ｄ）それぞれ配列番号２１～２６；
（ｅ）それぞれ配列番号３～５と配列番号５９、７、及び８；
（ｆ）それぞれ配列番号３、６０、及び５と配列番号６～８；
（ｇ）それぞれ配列番号３、６１、及び５と配列番号６～８；
（ｈ）それぞれ配列番号３、６０、及び５と配列番号５９、７、及び８；並びに
（ｉ）それぞれ配列番号３、６１、及び５と配列番号：５９、７、及び８から成る群から選択されるＶＨのＣＤＲ１～３及びＶＬのＣＤＲ１～３のポリペプチド配列を含む請求

項１～４のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【請求項６】
前記抗体またはその抗原結合断片が、
（ａ）配列番号２７及び配列番号２８；
（ｂ）配列番号２９及び配列番号３０；
（ｃ）配列番号３１及び配列番号３２；
（ｄ）配列番号６２及び配列番号６３または配列番号６４；
（ｅ）配列番号６５及び配列番号６６または配列番号６７；
（ｆ）配列番号６８及び配列番号６９から成る群から選択されるポリペプチド配列に対して少なくとも９０％同一である、少なくとも９５％同一である、または少なくとも９９％同一であるポリペプチド配列を含む請求項１～５のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【請求項７】
前記ポリペプチド配列が
（ａ）配列番号２７及び配列番号２８；
（ｂ）配列番号２９及び配列番号３０；
（ｃ）配列番号３１及び配列番号３２；
（ｄ）配列番号６２及び配列番号６３または配列番号６４；
（ｅ）配列番号６５及び配列番号６６または配列番号６７；
（ｆ）配列番号６８及び配列番号６９から成る群から選択される配列のアミノ酸を含む請求項６に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【請求項８】
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が、
それぞれ配列番号５１、配列番号５２または５３及び配列番号５４のアミノ酸を含むＣＤＲ１、ＣＤＲ２及びＣＤＲ３の領域を含むヒト化重鎖可変領域と
それぞれ配列番号４８、配列番号４９及び配列番号５０のアミノ酸を含むＣＤＲ１、ＣＤＲ２及びＣＤＲ３の領域を含むヒト化軽鎖可変領域と
マウスの定常領域とを含む、前記抗体またはその抗原結合断片。
【請求項９】
前記ヒト化重鎖可変領域が配列番号４５のアミノ酸を含み、前記ヒト化軽鎖可変領域が配列番号４７のアミノ酸を含む請求項８に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【請求項１０】
前記抗体が組換えで作出される請求項１～９のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【請求項１１】
前記抗体またはその抗原結合断片がマウス、非ヒト、ヒト化、キメラ、表面再構成、またはヒトのものである請求項１～１０のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【請求項１２】
前記抗体またはその抗原結合断片が、ヒトのＦＯＬＲ１に結合するが、ＦＯＬＲ２またはＦＯＬＲ３には結合しない請求項１～１１のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【請求項１３】
完全長の抗体である請求項１～１２のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【請求項１４】
抗原結合断片である請求項１～１３のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【請求項１５】

ＦＯＬＲ１に特異的に結合するポリペプチドであって、前記ポリペプチドが
（ａ）それぞれ配列番号３～８；
（ｂ）それぞれ配列番号９～１４；
（ｃ）それぞれ配列番号１５～２０；
（ｄ）それぞれ配列番号２１～２６；
（ｅ）それぞれ配列番号３～５と配列番号５９、７、及び８；
（ｆ）それぞれ配列番号３、６０、及び５と配列番号６～８；
（ｇ）それぞれ配列番号３、６１、及び５と配列番号６～８；
（ｈ）それぞれ配列番号３、６０、及び５と配列番号５９、７、及び８；
（ｉ）それぞれ配列番号３、６１、及び５と配列番号：５９、７、及び８；並びに
（ｊ）１、２、３、または４の保存的アミノ酸置換を含む（ａ）～（ｉ）の変異体から成る群から選択される配列を含む、前記ポリペプチド。

【請求項１６】
前記ポリペプチドが、
（ａ）配列番号２７及び配列番号２８；
（ｂ）配列番号２９及び配列番号３０；
（ｃ）配列番号３１及び配列番号３２；
（ｄ）配列番号６２及び配列番号６３または配列番号６４；
（ｅ）配列番号６５及び配列番号６６または配列番号６７；及び
（ｆ）配列番号６８及び配列番号６９から成る群から選択される配列に対して少なくとも９０％同一である、少なくとも９５％同一である、または少なくとも９９％同一である配列を含む請求項１５に記載のポリペプチド。

【請求項１７】
前記配列が、
（ａ）配列番号２７及び配列番号２８；
（ｂ）配列番号２９及び配列番号３０；
（ｃ）配列番号３１及び配列番号３２；
（ｄ）配列番号６２及び配列番号６３または配列番号６４；
（ｅ）配列番号６５及び配列番号６６または配列番号６７；及び
（ｆ）配列番号６８及び配列番号６９から成る群から選択される配列のアミノ酸を含む請求項１６に記載のポリペプチド。

【請求項１８】
約０．５～約１０ｎＭのＫｄでヒト葉酸受容体１に結合する請求項１～１４のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片、あるいは請求項１５～１７のいずれか１項に記載のポリペプチド。

【請求項１９】
約１．０ｎＭまたはそれより良好なＫｄでヒト葉酸受容体１に結合する請求項１～１４および１８のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片、あるいは請求項１５～１８のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項２０】
前記抗体、断片またはポリペプチドがＮ－グリコシル化されるアミノ酸を含むＦＯＬＲ１のエピトープに結合する請求項４～７、１０～１４および１８～１９のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片、あるいは請求項１５～１９のいずれか１項に記載のポリペプチド。

【請求項２１】
前記抗原、その抗原結合断片またはポリペプチドが検出可能に標識される請求項１～１４および１８～２０のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片、あるいは請求項１５～２０のいずれか１項に記載のポリペプチド。

【請求項２２】
請求項１～１４および１８～２１のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片

、あるいは請求項１５～２１のいずれか１項に記載のポリペプチドを産生する細胞。
【請求項２３】
請求項１～１４および１８～２１のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片、あるいは請求項１５～２１のいずれか１項に記載のポリペプチドを作製する方法であって、（ａ）請求項２２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、前記方法。
【請求項２４】
請求項１～１４および１８～２１のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片、あるいは請求項１５～２１のいずれか１項に記載のポリペプチドとＦＡＣＳ緩衝液、ＩＨＣ緩衝液及びＥＬＩＳＡ緩衝液から成る群から選択される緩衝液とを含む組成物。
【請求項２５】
試料におけるＦＯＬＲ１の発現の検出方法であって、請求項１～１４および１８～２１のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片、あるいは請求項１５～２１のいずれか１項に記載のポリペプチドまたは請求項２４に記載の組成物に前記試料を接触させることを含む、前記検出方法。
【請求項２６】
前記抗体またはその抗原結合断片が検出可能に標識される請求項２５に記載の方法。
【請求項２７】
前記標識が、免疫蛍光標識、化学発光標識、リン発光標識、酵素標識、放射性標識、アビジン／ビオチン、コロイド状金粒子、着色粒子及び磁気粒子から成る群から選択される請求項２６に記載の方法。
【請求項２８】
ＦＯＬＲ１の発現が、放射性免疫アッセイ、ウエスタンブロットアッセイ、サイトメトリー、免疫蛍光アッセイ、酵素免疫アッセイ、免疫沈降アッセイ、化学発光アッセイ、または免疫組織化学アッセイによって測定される請求項２５～２７のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２９】
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２８に記載の方法。
【請求項３０】
ＦＯＬＲ１の発現がＩＨＣによって測定される請求項２８に記載の方法。
【請求項３１】
抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による癌療法の高められた有効性を示すことが予想される、癌を有する対象を特定するための組成物であって、前記組成物が、請求項１～１４および１８～２１のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片、あるいは請求項１５～２１のいずれか１項に記載のポリペプチドまたは請求項２４に記載の組成物を含み、ここで、前記特定するための組成物を用いて前記対象に由来する癌性試料にて検出されたＦＯＬＲ１の増加した発現は、前記対象が、前記活性作用物質を用いた癌療法の高められた有効性を示すと予測されることを示す、前記組成物。
【請求項３２】
癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定するための組成物であって、前記組成物が、請求項１～１４および１８～２１のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片、あるいは請求項１５～２１のいずれか１項に記載のポリペプチドまたは請求項２４に記載の組成物を含み、
（ａ）前記癌に由来する細胞を含む生体試料は、前記特定するための組成物と接触させられること、
（ｂ）（ａ）の前記生体試料にてＦＯＬＲ１への前記抗体、抗体断片またはポリペプチドの結合が検出されることと、
（ｃ）１以上の参照試料との比較に基づいて、ステップ（ｂ）の前記結合にスコアが割り当てられることと、
（ｄ）ステップ（ｃ）における前記スコアが参照組織または参照細胞のスコアと比較さ

れることであって、その際、正常なまたは低いＦＯＬＲ１を発現している参照試料についてのスコアよりも大きい前記癌のＦＯＬＲ１レベルについてのスコアまたは高いＦＯＬＲ１を発現している参照試料についてのスコアと同等またはそれより大きい前記癌のＦＯＬＲ１レベルについてのスコアは、前記癌が抗ＦＯＬＲ１抗体に応答する可能性があることを特定することとを特徴とする、前記組成物。

【請求項３３】

抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろう、癌を有する患者を特定するための組成物であって、前記組成物が、請求項１～１４および１８～２１のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片、あるいは請求項１５～２１のいずれか１項に記載のポリペプチドまたは請求項２４に記載の組成物を含み、

前記患者から得た癌性試料におけるＦＯＬＲ１発現の検出からＦＯＬＲ１発現のスコアが決定され、前記検出が前記特定するための組成物を用いて行われることと、

前記スコアが前記患者は前記活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示すのであれば、前記患者は、前記癌を治療するために前記活性作用物質が投与されるべきであることとを特徴とする、前記組成物。

【請求項３４】

抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろう、癌を有する患者を特定するための組成物であって、前記組成物が、請求項１～１４および１８～２１のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片、あるいは請求項１５～２１のいずれか１項に記載のポリペプチドまたは請求項２４に記載の組成物を含み、

前記特定するための組成物を用いたＦＯＬＲ１発現の検出からＦＯＬＲ１発現のスコアを決定するために前記患者から採取した癌性試料が提出されることと、

前記スコアが前記患者は前記活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示すのであれば、前記患者は、前記癌を治療するために前記活性作用物質が投与されるべきであることとを特徴とする、前記組成物。

【請求項３５】

抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろう、癌を有する患者を特定するための組成物であって、前記組成物が、請求項１～１４および１８～２１のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片、あるいは請求項１５～２１のいずれか１項に記載のポリペプチドまたは請求項２４に記載の組成物を含み、

（ａ）前記患者から得られた癌性試料にてＦＯＬＲ１の発現が検出され、その際、前記検出は前記特定するための組成物を用いて実施されることと、

（ｂ）前記癌性試料についてのＦＯＬＲ１発現のスコアが決定されることと、

前記スコアが前記患者は前記活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示すのであれば、前記患者は、前記癌を治療するために前記活性作用物質が投与されるべきであることとを特徴とする、前記組成物。

【請求項３６】

抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろう、癌患者を特定するための組成物であって、前記組成物が、請求項１～１４および１８～２１のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片、あるいは請求項１５～２１のいずれか１項に記載のポリペプチドまたは請求項２４に記載の組成物を含み、

前記特定するための組成物を用い、参照試料におけるＦＯＬＲ１のレベルと比べて、患者から採取した癌性試料におけるＦＯＬＲ１のレベルが検出され、

前記患者のＦＯＬＲ１のレベルが前記参照試料に比べて上昇しているのであれば、前記患者は、ＦＯＬＲ１を発現している癌細胞の数を減らすために前記活性作用物質を投与されるべきであることとを特徴とする、前記組成物。

【請求項３７】

癌が、抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む抗ＦＯＬＲ１活性作用物質による治療に感受性であることを特定するための組成物であって、前記組成物が、請求項１～１４および１８～２１のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片、あるいは請求項１５～２１のいずれか１項に記載のポリペプチドまたは請求項２４に記載の組成物を含み、

（ａ）前記特定するための組成物を用いて、前記癌に由来する癌性試料にてＦＯＬＲ１発現のレベルが検出され、その際、前記検出は、１以上の参照試料における染色強度または染色均一性と比べてＦＯＬＲ１を発現している癌性試料における染色強度または染色均一性の間を区別する方法の使用を含むことと、

（ｂ）前記癌性試料についてＦＯＬＲ１の染色強度または染色均一性のスコアが決定されることと、

（ｃ）ステップ（ｂ）で決定された前記ＦＯＬＲ１の染色強度または染色均一性のスコアが、少なくとも１つの参照試料にてＦＯＬＲ１タンパク質の発現を測定することによって決定される相対値と比較され、その際、前記少なくとも１つの参照試料は前記活性作用物質による治療に感受性ではない組織、細胞または細胞ペレットの試料であり、前記相対値よりも高い、ステップ（ｂ）で決定された前記癌性試料についてのＦＯＬＲ１の染色強度のスコアが前記癌が前記活性作用物質による治療に感受性であることを特定することを特徴とする、前記組成物。

【請求項３８】

癌が、抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む抗ＦＯＬＲ１活性作用物質による治療に感受性であることを特定するための組成物であって、前記組成物が、請求項１～１４および１８～２１のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片、あるいは請求項１５～２１のいずれか１項に記載のポリペプチドまたは請求項２４に記載の組成物を含み、

（ａ）１以上の参照試料における膜ＦＯＬＲ１に比べて、前記特定するための組成物を用いて、前記癌に由来する癌性試料にて膜ＦＯＬＲ１発現のレベルが検出されることと、

（ｂ）前記癌性試料についてＦＯＬＲ１のスコアが決定されることと、

（ｃ）少なくとも１つの参照試料にて膜ＦＯＬＲ１を測定することによって決定される相対値とステップ（ｂ）で決定された前記ＦＯＬＲ１のスコアが比較され、その際、前記少なくとも１つの参照試料は前記活性作用物質による治療に感受性ではない組織、細胞または細胞ペレットの試料であり、前記相対値よりも高い、ステップ（ｂ）で決定された前記癌性試料についてのＦＯＬＲ１のスコアが前記癌が前記活性作用物質による治療に感受性であることを特定することを特徴とする、前記組成物。

【請求項３９】

癌が、抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む抗ＦＯＬＲ１活性作用物質による治療に感受性であることを特定するための組成物であって、前記組成物が、請求項１～１４および１８～２１のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片、あるいは請求項１５～２１のいずれか１項に記載のポリペプチドまたは請求項２４に記載の組成物を含み、

（ａ）前記特定するための組成物を用いて、前記癌に由来する癌性試料にてＦＯＬＲ１発現のレベルが検出され、その際、前記検出は、１以上の参照試料における染色強度または染色均一性と比べてＦＯＬＲ１を発現している癌性試料における染色強度または染色均一性の間を区別する方法の使用を含むことと、

（ｂ）前記癌性試料についてＦＯＬＲ１の染色強度または染色均一性のスコアが決定されることと、

（ｃ）ステップ（ｂ）で決定された前記ＦＯＬＲ１の染色強度または染色均一性のスコアが、少なくとも１つの参照試料にてＦＯＬＲ１タンパク質の発現を測定することによって決定される相対値と比較され、その際、前記少なくとも１つの参照試料は前記活性作用物質による治療に感受性である組織、細胞または細胞ペレットの試料であり、前記相対値よりも大きいまたはそれと同等である、ステップ（ｂ）で決定された前記癌性試料につい

てのＦＯＬＲ１の染色強度のスコアは前記癌が前記活性作用物質による治療に感受性であることを特定することとを特徴とする、前記組成物。
【請求項４０】
癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む抗ＦＯＬＲ１活性作用物質による治療に感受性であることを特定するための組成物であって、前記組成物が請求項１～１４および１８～２１のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片、あるいは請求項１５～２１のいずれか１項に記載のポリペプチドまたは請求項２４に記載の組成物を含み、
（ａ）１以上の参照試料における膜ＦＯＬＲ１に比べて、前記特定するための組成物を用いて、前記癌に由来する癌性試料にて膜ＦＯＬＲ１の発現のレベルが検出されることと、
（ｂ）前記癌性試料についてＦＯＬＲ１のスコアが決定されることと、
（ｃ）少なくとも１つの参照試料にて膜ＦＯＬＲ１を測定することによって決定される相対値とステップ（ｂ）で決定された前記ＦＯＬＲ１のスコアが比較されることであって、その際、前記少なくとも１つの参照試料は前記活性作用物質による治療に感受性である組織、細胞または細胞ペレットの試料であり、前記相対値よりも大きいまたはそれと同等である、ステップ（ｂ）で決定された前記癌性試料についてのＦＯＬＲ１のスコアは前記癌が前記活性作用物質による治療に感受性であることを特定することとを特徴とする、前記組成物。
【請求項４１】
前記被験体の特定は、前記癌性試料または生体試料が得られた前記対象に前記活性作用物質が投与されるべきであることを示す請求項３２または３７～４０のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項４２】
前記癌性試料または生体試料が体液、細胞または組織の試料である請求項３１または３３～４１のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項４３】
前記細胞が循環している腫瘍細胞である請求項４２に記載の組成物。
【請求項４４】
前記体液が血液、腹水、尿、血漿、血清、または末梢血である請求項４２に記載の組成物。
【請求項４５】
前記ＦＯＬＲ１が膜ＦＯＬＲ１である請求項２５～３０のいずれか１項に記載の方法または請求項３１～３７、３９および４１～４４のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項４６】
前記ＦＯＬＲ１が脱落ＦＯＬＲ１である請求項２５～３０のいずれか１項に記載の方法または請求項３１～３６、41、４２もしくは４４のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項４７】
前記検出が酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）による請求項２５～２８および４５～４６のいずれか１項に記載の方法または請求項３１～３６または４１～４６のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項４８】
前記検出が免疫組織化学法（ＩＨＣ）による請求項２５～２８、３０および４５のいずれか１項に記載の方法または請求項３１～４２もしくは４５のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項４９】
前記ＩＨＣがＦＯＬＲ１発現の異なるレベルを区別することができる較正ＩＨＣである請求項４８に記載の方法または組成物。
【請求項５０】
前記ＩＨＣが、低いＦＯＬＲ１の細胞表面発現、中程度のＦＯＬＲ１の細胞表面発現ま

たは高いＦＯＬＲ１の細胞表面発現を有する試料について様々な染色強度を生じる請求項４８または４９に記載の方法または組成物。
【請求項５１】
前記ＩＨＣが参照試料と比べて、ＦＯＬＲ１を発現している癌性試料または生体試料における染色強度及び染色均一性の間を区別する請求項４８～５０のいずれか１項に記載の方法または組成物。
【請求項５２】
前記ＩＨＣが手動で実施される請求項４８～５１のいずれか１項に記載の方法または組成物。
【請求項５３】
前記ＩＨＣが自動化されたシステムを用いて実施される請求項４８～５１のいずれか１項に記載の方法または組成物。
【請求項５４】
ＦＯＬＲ１のスコアが前記ＩＨＣから決定される請求項４８～５３のいずれか１項に記載の方法または組成物。
【請求項５５】
少なくとも２のスコアが、前記癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す請求項５４に記載の方法または組成物。
【請求項５６】
少なくとも２ホモのスコアが、前記癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す請求項５４に記載の方法または組成物。
【請求項５７】
少なくとも２ヘテロのスコアが、前記癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す請求項５４に記載の方法または組成物。
【請求項５８】
前記癌が肺癌または子宮内膜癌である請求項５５～５７のいずれか１項に記載の方法または組成物。
【請求項５９】
少なくとも３のスコアが、前記癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す請求項５４に記載の方法または組成物。
【請求項６０】
少なくとも３ホモのスコアが、前記癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す請求項５４に記載の方法または組成物。
【請求項６１】
少なくとも３ヘテロのスコアが、前記癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す請求項５４に記載の方法または組成物。
【請求項６２】
前記癌が肺癌、子宮内膜癌または卵巣癌である請求項５９～６１のいずれか１項に記載

の方法または組成物。
【請求項６３】
少なくとも５０のＨスコアが、前記癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す請求項５４に記載の方法または組成物。
【請求項６４】
前記癌が卵巣癌であり、少なくとも７５のＨスコアが、前記卵巣癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す請求項６３に記載の方法または組成物。
【請求項６５】
前記癌がＮＳＣＬＣまたは子宮内膜癌であり、少なくとも５０のＨスコアが、前記ＮＳＣＬＣまたは子宮内膜癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す請求項６３に記載の方法または組成物。
【請求項６６】
前記癌が卵巣癌であり、少なくとも３の強度での少なくとも２５％のＦＯＬＲ１の膜発現が、前記卵巣癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す請求項５４に記載の方法または組成物。
【請求項６７】
前記癌がＮＳＣＬＣまたは子宮内膜癌であり、少なくとも２の強度での少なくとも２５％のＦＯＬＲ１の膜発現が、前記ＮＳＣＬＣまたは子宮内膜癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す請求項５４に記載の方法または組成物。
【請求項６８】
前記参照試料が陽性の参照試料または陰性の参照試料である請求項４５～６７のいずれか１項に記載の方法または請求項３２および３６～６７のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項６９】
前記参照試料が細胞、細胞ペレットまたは組織を含む請求項４５～６８のいずれか１項に記載の方法または請求項３２および３６～６８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項７０】
請求項１～１４のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片、あるいは請求項１５～２１のいずれか１項に記載のポリペプチドがさらに、酵素、蛍光団、放射性標識及び発光団から成る群から選択される検出試薬を含む請求項４５～６９のいずれか１項に記載の方法または請求項３１～６９のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項７１】
前記検出試薬が、ビオチン、ジゴキシゲニン、フルオレセイン、トリチウム及びローダミンから成る群から選択される請求項７０に記載の方法または組成物。
【請求項７２】
前記癌がＦＯＬＲ１陽性の癌である請求項４５～７１のいずれか１項に記載の方法または請求項３１～７１のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項７３】
前記癌が、卵巣癌、脳腫瘍、乳癌、子宮癌、子宮内膜癌、膵臓癌、腎臓癌及び肺癌から成る群から選択される請求項４５～７２のいずれか１項に記載の方法または請求項３１～７２のいずれか１項に記載の組成物。

【請求項７４】
前記肺癌が、非小細胞肺癌または細気管支肺胞上皮癌である請求項７３に記載の方法または組成物。
【請求項７５】
前記卵巣癌が上皮性卵巣癌である請求項７３に記載の方法または組成物。
【請求項７６】
前記癌が、白金耐性である、再発性であるまたは難治性である請求項７５に記載の方法または組成物。
【請求項７７】
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前記ＦＯＬＲ１の発現が検出される請求項４５～７６のいずれか１項に記載の方法または請求項３１～７６のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項７８】
２つの抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を用いて前記ＦＯＬＲ１の発現が検出される請求項７７に記載の方法または組成物。
【請求項７９】
少なくとも１つの抗体またはその抗原結合断片が固相支持体に結合される請求項７７または７８に記載の方法または組成物。
【請求項８０】
少なくとも１つの抗体またはその抗原結合断片がマイクロタイタープレートに結合される請求項７７または７８に記載の方法または組成物。
【請求項８１】
少なくとも１つの追加の抗体またはその抗原結合断片が検出剤を含む請求項７７～８０のいずれか１項に記載の方法または組成物。
【請求項８２】
前記検出剤が、発色性検出剤、蛍光性検出剤、酵素性検出剤、または電気化学発光性検出剤である請求項８１に記載の方法または組成物。
【請求項８３】
前記検出剤が、西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）である請求項８１または８２に記載の方法または組成物。
【請求項８４】
前記ＥＬＩＳＡがサンドイッチＥＬＩＳＡである請求項４７に記載の方法または組成物。
【請求項８５】
前記活性作用物質がＦＯＬＲ１抗体ｈｕＭｏｖ１９を含む請求項４５～８４のいずれか１項に記載の方法または請求項３１～８４のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項８６】
前記活性作用物質が、ＦＯＬＲ１抗体ｈｕＭｏｖ１９と、メイタンシノイドＤＭ４と、切断可能なスルホ－ＳＰＤＢリンカーとを含む抗体メイタンシノイド複合体（ＩＭＧＮ８５３）である請求項８５に記載の方法または組成物。
【請求項８７】
癌がＦＯＬＲ１抗体ｈｕＭｏｖ１９と、メイタンシノイドＤＭ４と、スルホ－ＳＰＤＢリンカーとを含む抗体メイタンシノイド複合体（ＩＭＧＮ８５３）による治療に応答する可能性があることを特定するための組成物であって、前記組成物が配列番号２７のアミノ酸を含む重鎖と配列番号２８のアミノ酸を含む軽鎖とを含む抗体を含み、ＩＨＣアッセイにて前記組成物を用いてＦＯＬＲ１が測定され、少なくとも２ヘテロのスコアが前記癌は前記治療に応答する可能性があることを示すことを特徴とする、前記組成物。
【請求項８８】
癌がＦＯＬＲ１抗体ｈｕＭｏｖ１９と、メイタンシノイドＤＭ４と、スルホ－ＳＰＤＢリンカーとを含む抗体メイタンシノイド複合体（ＩＭＧＮ８５３）による治療に応答する

可能性があることを特定するための組成物であって、前記組成物が配列番号２７のアミノ酸を含む重鎖と配列番号２８のアミノ酸を含む軽鎖とを含む抗体を含み、ＩＨＣアッセイにて前記組成物を用いてＦＯＬＲ１が測定され、少なくとも５０のＨスコアが前記癌は前記治療に応答する可能性があることを示すことを特徴とする、前記組成物。
【請求項８９】
癌がＦＯＬＲ１抗体ｈｕＭｏｖ１９と、メイタンシノイドＤＭ４と、スルホ－ＳＰＤＢリンカーとを含む抗体メイタンシノイド複合体（ＩＭＧＮ８５３）による治療に応答する可能性があることを特定するための組成物であって、前記組成物が配列番号２７のアミノ酸を含む重鎖と配列番号２８のアミノ酸を含む軽鎖とを含む抗体を含み、ＩＨＣアッセイにて前記組成物を用いてＦＯＬＲ１が測定され、少なくとも２の強度での少なくとも２５％のＦＯＬＲ１の膜発現が前記癌は前記治療に応答する可能性があることを示すことを特徴とする、前記組成物。
【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０１０９
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０１０９】
一部の実施形態では、抗体、抗原結合断片、またはポリペプチドの結合親和性は実施例３で得られる及び／または図４、５及び／または６で示される結合親和性である。
特定の実施形態では、例えば以下が提供される：
（項目１）
ＦＯＬＲ１の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であって、前記エピトープが少なくとも１つの、少なくとも２つのまたは３つのＮ－グリコシル化されたアミノ酸を含む、前記抗体またはその抗原結合断片。
（項目２）
抗体またはその抗原結合断片であって、
（ａ）配列番号２７のポリペプチドと配列番号２８のポリペプチドを含む抗体；
（ｂ）配列番号２９のポリペプチドと配列番号３０のポリペプチドを含む抗体；
（ｃ）配列番号３１のポリペプチドと配列番号３２のポリペプチドを含む抗体；
（ｄ）配列番号６２のポリペプチドと配列番号６３または配列番号６４のポリペプチドを含む抗体；及び
（ｅ）配列番号６５のポリペプチドと配列番号６６または配列番号６７のポリペプチドを含む抗体から成る群から選択される抗体として同一のＦＯＬＲ１エピトープに特異的に結合する、前記抗体またはその抗原結合断片。
（項目３）
前記エピトープがＮ－グリコシル化されたアミノ酸を含む項目２に記載の前記抗体または抗原結合断片。
（項目４）
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が
（ａ）配列番号２７のポリペプチドと配列番号２８のポリペプチドを含む抗体；
（ｂ）配列番号２９のポリペプチドと配列番号３０のポリペプチドを含む抗体；
（ｃ）配列番号３１のポリペプチドと配列番号３２のポリペプチドを含む抗体；
（ｄ）配列番号６２のポリペプチドと配列番号６３または配列番号６４のポリペプチドを含む抗体；及び
（ｅ）配列番号６５のポリペプチドと配列番号６６または配列番号６７のポリペプチドを含む抗体から成る群から選択される抗体のＦＯＬＲ１への結合を競合して阻害する、前記抗体またはその抗原結合断片。
（項目５）

前記抗体またはその断片が、
（ａ）それぞれ配列番号３～８；
（ｂ）それぞれ配列番号９～１４；
（ｃ）それぞれ配列番号１５～２０；
（ｄ）それぞれ配列番号２１～２６；
（ｅ）それぞれ配列番号３～５と配列番号５９、７、及び８；
（ｆ）それぞれ配列番号３、６０、及び５と配列番号６～８；
（ｇ）それぞれ配列番号３、６１、及び５と配列番号６～８；
（ｈ）それぞれ配列番号３、６０、及び５と配列番号５９、７、及び８；並びに
（ｉ）それぞれ配列番号３、６１、及び５と配列番号：５９、７、及び８から成る群から選択されるＶＨのＣＤＲ１～３及びＶＬのＣＤＲ１～３のポリペプチド配列を含む項目１～４のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。
（項目６）
前記抗体またはその断片が、
（ａ）配列番号２７及び配列番号２８；
（ｂ）配列番号２９及び配列番号３０；
（ｃ）配列番号３１及び配列番号３２；
（ｄ）配列番号６２及び配列番号６３または配列番号６４；
（ｅ）配列番号６５及び配列番号６６または配列番号６７；
（ｆ）配列番号６８及び配列番号６９から成る群から選択されるポリペプチド配列に対して少なくとも９０％同一である、少なくとも９５％同一である、または少なくとも９９％同一であるポリペプチド配列を含む項目１～５のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。
（項目７）
前記ポリペプチド配列が
（ａ）配列番号２７及び配列番号２８；
（ｂ）配列番号２９及び配列番号３０；
（ｃ）配列番号３１及び配列番号３２；
（ｄ）配列番号６２及び配列番号６３または配列番号６４；
（ｅ）配列番号６５及び配列番号６６または配列番号６７；
（ｆ）配列番号６８及び配列番号６９から成る群から選択される配列のアミノ酸を含む項目６に記載の抗体またはその抗原結合断片。
（項目８）
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断片が、
それぞれ配列番号５１、配列番号５２または５３及び配列番号５４のアミノ酸を含むＣＤＲ１、ＣＤＲ２及びＣＤＲ３の領域を含むヒト化重鎖可変領域と
それぞれ配列番号４８、配列番号４９及び配列番号５０のアミノ酸を含むＣＤＲ１、ＣＤＲ２及びＣＤＲ３の領域を含むヒト化軽鎖可変領域と
マウスの定常領域とを含む、前記抗体またはその抗原結合断片。
（項目９）
前記ヒト化重鎖可変領域が配列番号４５のアミノ酸を含み、前記ヒト化軽鎖可変領域が配列番号４７のアミノ酸を含む項目８に記載の抗体またはその抗原結合断片。
（項目１０）
前記抗体が組換えで作出される項目１～９のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。
（項目１１）
前記抗体またはその抗原結合断片がマウス、非ヒト、ヒト化、キメラ、表面再構成、またはヒトのものである項目１～１０のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

（項目１２）
前記抗体またはその抗原結合断片が、ヒトのＦＯＬＲ１に結合するが、ＦＯＬＲ２またはＦＯＬＲ３には結合しない項目１～１１のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。
（項目１３）
完全長の抗体である項目１～１２のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。
（項目１４）
抗原結合断片である項目１～１３のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片。
（項目１５）
ＦＯＬＲ１に特異的に結合するポリペプチドであって、前記ポリペプチドが
（ａ）それぞれ配列番号３～８；
（ｂ）それぞれ配列番号９～１４；
（ｃ）それぞれ配列番号１５～２０；
（ｄ）それぞれ配列番号２１～２６；
（ｅ）それぞれ配列番号３～５と配列番号５９、７、及び８；
（ｆ）それぞれ配列番号３、６０、及び５と配列番号６～８；
（ｇ）それぞれ配列番号３、６１、及び５と配列番号６～８；
（ｈ）それぞれ配列番号３、６０、及び５と配列番号５９、７、及び８；
（ｉ）それぞれ配列番号３、６１、及び５と配列番号：５９、７、及び８；並びに
（ｊ）１、２、３、または４の保存的アミノ酸置換を含む（ａ）～（ｉ）の変異体から成る群から選択される配列を含む、前記ポリペプチド。
（項目１６）
前記ポリペプチドが、
（ａ）配列番号２７及び配列番号２８；
（ｂ）配列番号２９及び配列番号３０；
（ｃ）配列番号３１及び配列番号３２；
（ｄ）配列番号６２及び配列番号６３または配列番号６４；
（ｅ）配列番号６５及び配列番号６６または配列番号６７；及び
（ｆ）配列番号６８及び配列番号６９から成る群から選択される配列に対して少なくとも９０％同一である、少なくとも９５％同一である、または少なくとも９９％同一である配列を含む項目２０に記載のポリペプチド。
（項目１７）
前記配列が、
（ａ）配列番号２７及び配列番号２８；
（ｂ）配列番号２９及び配列番号３０；
（ｃ）配列番号３１及び配列番号３２；
（ｄ）配列番号６２及び配列番号６３または配列番号６４；
（ｅ）配列番号６５及び配列番号６６または配列番号６７；及び
（ｆ）配列番号６８及び配列番号６９から成る群から選択される配列のアミノ酸を含む項目１６に記載のポリペプチド。
（項目１８）
約０．５～約１０ｎＭのＫｄでヒト葉酸受容体１に結合する項目１～１７のいずれか１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１９）
約１．０ｎＭまたはそれより良好なＫｄでヒト葉酸受容体１に結合する項目１～１８のいずれか１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２０）
前記抗体、断片またはポリペプチドがＮ－グリコシル化されるアミノ酸を含むＦＯＬＲ

１のエピトープに結合する項目４～７または１０～１９のいずれか１項に記載の抗体またはその断片またはポリペプチド。
（項目２１）
前記抗原、その抗原結合断片またはポリペプチドが検出可能に標識される項目１～２０のいずれか１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２２）
項目１～２１のいずれか１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２３）
項目１～２１のいずれか１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２２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、前記方法。
（項目２４）
項目１～２１のいずれか１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ＦＡＣＳ緩衝液、ＩＨＣ緩衝液及びＥＬＩＳＡ緩衝液から成る群から選択される緩衝液とを含む組成物。
（項目２５）
試料におけるＦＯＬＲ１の発現の検出方法であって、項目１～２１のいずれか１項に記載の抗体、その抗原結合断片またはポリペプチドまたは項目２４に記載の組成物に前記試料を接触させることを含む、前記検出方法。
（項目２６）
前記抗体またはその抗原結合断片が検出可能に標識される項目２５に記載の方法。
（項目２７）
前記標識が、免疫蛍光標識、化学発光標識、リン発光標識、酵素標識、放射性標識、アビジン／ビオチン、コロイド状金粒子、着色粒子及び磁気粒子から成る群から選択される項目２６に記載の方法。
（項目２８）
ＦＯＬＲ１の発現が、放射性免疫アッセイ、ウエスタンブロットアッセイ、サイトメトリー、免疫蛍光アッセイ、酵素免疫アッセイ、免疫沈降アッセイ、化学発光アッセイ、または免疫組織化学アッセイによって測定される項目２５～２７のいずれか１項に記載の方法。
（項目２９）
前記サイトメトリーがフローサイトメトリーである項目２８に記載の方法。
（項目３０）
ＦＯＬＲ１の発現がＩＨＣによって測定される項目２８に記載の方法。
（項目３１）
抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による癌療法の有効性を高める方法であって、前記方法が癌を有する対象に前記活性作用物質を投与することを含み、項目１～２１のいずれか１項に記載の抗体、その抗原結合断片またはポリペプチドまたは項目２４に記載の組成物を用いて前記対象に由来する癌性試料にてＦＯＬＲ１の増加した発現が検出されている、前記方法。
（項目３２）
癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定する方法であって、前記方法が
（ａ）項目１～２１のいずれか１項に記載の抗体、その抗原結合断片またはポリペプチドまたは項目２４に記載の組成物に前記癌に由来する細胞を含む生体試料を接触させることと、
（ｂ）（ａ）の前記生体試料にてＦＯＬＲ１への前記抗体、抗体断片またはポリペプチドの結合を検出することと、

（ｃ）ステップ（ｂ）の前記結合にスコアを割り当て、前記スコアが１以上の参照試料との比較に基づいて割り当てられることと、
（ｄ）ステップ（ｃ）における前記スコアを参照組織または参照細胞のスコアと比較することとを含み、その際、正常なまたは低いＦＯＬＲ１を発現している参照試料についてのスコアよりも大きい前記癌のＦＯＬＲ１レベルについてのスコアまたは高いＦＯＬＲ１を発現している参照試料についてのスコアと同等またはそれより大きい前記癌のＦＯＬＲ１レベルについてのスコアは、前記癌が抗ＦＯＬＲ１抗体に応答する可能性があることを特定する、前記方法。
（項目３３）
癌を有する患者を治療する方法であって、前記方法が
（ａ）前記患者から得た癌性試料におけるＦＯＬＲ１発現の検出からＦＯＬＲ１発現のスコアを決定し、前記検出が項目１～２１のいずれか１項に記載の抗体、その抗原結合断片またはポリペプチドまたは項目２４に記載の組成物を用いて行われることと、
（ｂ）前記スコアが前記患者は抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示すのであれば、前記患者に前記活性作用物質を投与することとを含む、前記方法。
（項目３４）
癌を有する患者を治療する方法であって、前記方法が
（ａ）項目１～２１のいずれか１項に記載の抗体、その抗原結合断片またはポリペプチドまたは項目２４に記載の組成物を用いたＦＯＬＲ１発現の検出からＦＯＬＲ１発現のスコアを決定するために癌を有する患者から採取した癌性試料を提出することと、
（ｂ）前記スコアが前記患者は抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示すのであれば、前記患者に前記活性作用物質を投与することとを含む、前記方法。
（項目３５）
癌を有する患者を治療する方法であって、前記方法が
（ａ）前記患者から得られた癌性試料にてＦＯＬＲ１の発現を検出し、その際、前記検出は項目１～２１のいずれか１項に記載の抗体、その抗原結合断片またはポリペプチドまたは項目２４に記載の組成物を用いて実施されることと、
（ｂ）前記癌性試料についてのＦＯＬＲ１発現のスコアを決定することと、
（ｃ）前記スコアが前記患者は抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示すのであれば、患者に前記活性作用物質を投与することとを含む、前記方法。
（項目３６）
癌患者にてＦＯＬＲ１を発現している癌細胞を減らす方法であって、
（ａ）項目１～２１のいずれか１項に記載の抗体、その抗原結合断片またはポリペプチドまたは項目２４に記載の組成物を用い、参照試料におけるＦＯＬＲ１のレベルと比べて、患者から採取した癌性試料におけるＦＯＬＲ１のレベルを検出することと、
（ｂ）前記患者のＦＯＬＲ１のレベルが前記参照試料に比べて上昇しているのであれば、固定用量の抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質を前記患者に投与することとを含み、前記活性作用物質の前記投与は前記患者においてＦＯＬＲ１を発現している癌細胞を減らす、前記方法。
（項目３７）
癌が抗ＦＯＬＲ１活性作用物質による治療に感受性であることを特定する方法であって、前記方法が
（ａ）項目１～２１のいずれか１項に記載の抗体、その抗原結合断片またはポリペプチドまたは項目２４に記載の組成物を用いて、前記癌に由来する癌性試料にてＦＯＬＲ１発現のレベルを検出し、その際、前記検出は、１以上の参照試料における染色強度または染色均一性と比べてＦＯＬＲ１を発現している癌性試料における染色強度または染色均一性の間を区別する方法の使用を含むことと、

（ｂ）前記癌性試料についてＦＯＬＲ１の染色強度または染色均一性のスコアを決定することと、
（ｃ）ステップ（ｂ）で決定された前記ＦＯＬＲ１の染色強度または染色均一性のスコアを少なくとも１つの参照試料にてＦＯＬＲ１タンパク質の発現を測定することによって決定される相対値と比較することとを含み、その際、前記少なくとも１つの参照試料は抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療に感受性ではない組織、細胞または細胞ペレットの試料であり、前記相対値よりも高い、ステップ（ｂ）で決定された前記癌性試料についてのＦＯＬＲ１の染色強度のスコアが前記癌が前記活性作用物質による治療に感受性であることを特定する、前記方法。
（項目３８）
癌が抗ＦＯＬＲ１活性作用物質による治療に感受性であることを特定する方法であって、前記方法が
（ａ）１以上の参照試料における膜ＦＯＬＲ１に比べて、項目１～２１のいずれか１項に記載の抗体、その抗原結合断片またはポリペプチドまたは項目２４に記載の組成物を用いて、前記癌に由来する癌性試料にて膜ＦＯＬＲ１発現のレベルを検出することと、
（ｂ）前記癌性試料についてＦＯＬＲ１のスコアを決定することと、
（ｃ）少なくとも１つの参照試料にて膜ＦＯＬＲ１を測定することによって決定される相対値とステップ（ｂ）で決定された前記ＦＯＬＲ１のスコアを比較することとを含み、その際、前記少なくとも１つの参照試料は抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療に感受性ではない組織、細胞または細胞ペレットの試料であり、前記相対値よりも高い、ステップ（ｂ）で決定された前記癌性試料についてのＦＯＬＲ１のスコアが前記癌が前記活性作用物質による治療に感受性であることを特定する、前記方法。
（項目３９）
癌が抗ＦＯＬＲ１活性作用物質による治療に感受性であることを特定する方法であって、前記方法が
（ａ）項目１～２１のいずれか１項に記載の抗体、その抗原結合断片またはポリペプチドまたは項目２４に記載の組成物を用いて、前記癌に由来する癌性試料にてＦＯＬＲ１発現のレベルを検出し、その際、前記検出は、１以上の参照試料における染色強度または染色均一性と比べてＦＯＬＲ１を発現している癌性試料における染色強度または染色均一性の間を区別する方法の使用を含むことと、
（ｂ）前記癌性試料についてＦＯＬＲ１の染色強度または染色均一性のスコアを決定することと、
（ｃ）ステップ（ｂ）で決定された前記ＦＯＬＲ１の染色強度または染色均一性のスコアを少なくとも１つの参照試料にてＦＯＬＲ１タンパク質の発現を測定することによって決定される相対値と比較することとを含み、その際、前記少なくとも１つの参照試料は抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質による治療に感受性である組織、細胞または細胞ペレットの試料であり、前記相対値よりも大きいまたはそれと同等である、ステップ（ｂ）で決定された前記癌性試料についてのＦＯＬＲ１の染色強度のスコアは前記癌が前記活性作用物質による治療に感受性であることを特定する、前記方法。
（項目４０）
癌が抗ＦＯＬＲ１活性作用物質による治療に感受性であることを特定する方法であって、前記方法が
（ａ）１以上の参照試料における膜ＦＯＬＲ１に比べて、項目１～２１のいずれか１項に記載の抗体、その抗原結合断片またはポリペプチドまたは項目２４に記載の組成物を用いて、前記癌に由来する癌性試料にて膜ＦＯＬＲ１の発現のレベルを検出することと、
（ｂ）前記癌性試料についてＦＯＬＲ１のスコアを決定することと、
（ｃ）少なくとも１つの参照試料にて膜ＦＯＬＲ１を測定することによって決定される相対値とステップ（ｂ）で決定された前記ＦＯＬＲ１のスコアを比較することとを含み、その際、前記少なくとも１つの参照試料は抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含

む活性作用物質による治療に感受性である組織、細胞または細胞ペレットの試料であり、前記相対値よりも大きいまたはそれと同等である、ステップ（ｂ）で決定された前記癌性試料についてのＦＯＬＲ１のスコアは前記癌が前記活性作用物質による治療に感受性であることを特定する、前記方法。

（項目４１）

前記癌性試料または生体試料が得られた前記対象に抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質を投与することをさらに含む項目３２または３７～４０のいずれか１項に記載の方法。

（項目４２）

前記癌性試料または生体試料が体液、細胞または組織の試料である項目３１または３３～４１のいずれか１項に記載の方法。

（項目４３）

前記細胞が循環している腫瘍細胞である項目４２に記載の方法。

（項目４４）

前記体液が血液、腹水、尿、血漿、血清、または末梢血である項目４２に記載の方法。

（項目４５）

前記ＦＯＬＲ１が膜ＦＯＬＲ１である項目２５～３７、３９及び４１～４４のいずれか１項に記載の方法。

（項目４６）

前記ＦＯＬＲ１が脱落ＦＯＬＲ１である項目２５～３６、４１、４２または４４のいずれか１項に記載の方法。

（項目４７）

前記検出が酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）による項目２５～２８、３１～３６または４１～４６のいずれか１項に記載の方法。

（項目４８）

前記検出が免疫組織化学法（ＩＨＣ）による項目２５～２８または３０～４２または４５のいずれか１項に記載の方法。

（項目４９）

前記ＩＨＣがＦＯＬＲ１発現の異なるレベルを区別することができる較正ＩＨＣである項目４８に記載の方法。

（項目５０）

前記ＩＨＣが、低いＦＯＬＲ１の細胞表面発現、中程度のＦＯＬＲ１の細胞表面発現または高いＦＯＬＲ１の細胞表面発現を有する試料について様々な染色強度を生じる項目４８または４９に記載の方法。

（項目５１）

前記ＩＨＣが参照試料と比べて、ＦＯＬＲ１を発現している癌性試料または生体試料における染色強度及び染色均一性の間を区別する項目４８～５０のいずれか１項に記載の方法。

（項目５２）

前記ＩＨＣが手動で実施される項目４８～５１のいずれか１項に記載の方法。

（項目５３）

前記ＩＨＣが自動化されたシステムを用いて実施される項目４８～５１のいずれか１項に記載の方法。

（項目５４）

ＦＯＬＲ１のスコアが前記ＩＨＣから決定される項目４８～５３のいずれか１項に記載の方法。

（項目５５）

少なくとも２のスコアが、前記癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す項目

５４に記載の方法。
（項目５６）
少なくとも２ホモのスコアが、前記癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す項目５４に記載の方法。
（項目５７）
少なくとも２ヘテロのスコアが、前記癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す項目５４に記載の方法。
（項目５８）
前記癌が肺癌または子宮内膜癌である項目５５～５７のいずれか１項に記載の方法。
（項目５９）
少なくとも３のスコアが、前記癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す項目５４に記載の方法。
（項目６０）
少なくとも３ホモのスコアが、前記癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す項目５４に記載の方法。
（項目６１）
少なくとも３ヘテロのスコアが、前記癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す項目５４に記載の方法。
（項目６２）
前記癌が肺癌、子宮内膜癌または卵巣癌である項目５９～６１のいずれか１項に記載の方法。
（項目６３）
少なくとも５０のＨスコアが、前記癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す項目５４に記載の方法。
（項目６４）
前記癌が卵巣癌であり、少なくとも７５のＨスコアが、前記卵巣癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す項目６３に記載の方法。
（項目６５）
前記癌がＮＳＣＬＣまたは子宮内膜癌であり、少なくとも５０のＨスコアが、前記ＮＳＣＬＣまたは子宮内膜癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す項目６３に記載の方法。
（項目６６）
前記癌が卵巣癌であり、少なくとも３の強度での少なくとも２５％のＦＯＬＲ１の膜発現が、前記卵巣癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答

する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す項目５４に記載の方法。

（項目６７）

前記癌がＮＳＣＬＣまたは子宮内膜癌であり、少なくとも２の強度での少なくとも２５％のＦＯＬＲ１の膜発現が、前記ＮＳＣＬＣまたは子宮内膜癌が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質に応答する可能性があることを特定し、または前記患者が抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を含む活性作用物質の投与から利益を得るであろうことを示す項目５４に記載の方法。

（項目６８）

前記参照試料が陽性の参照試料または陰性の参照試料である項目３２及び３６～６７のいずれか１項に記載の方法。

（項目６９）

前記参照試料が細胞、細胞ペレットまたは組織を含む項目３２及び３６～６８のいずれか１項に記載の方法。

（項目７０）

項目１～２１のいずれか１項に記載の抗体、その抗原結合断片またはポリペプチドがさらに、酵素、蛍光団、放射性標識及び発光団から成る群から選択される検出試薬を含む項目３１～６９のいずれか１項に記載の方法。

（項目７１）

前記検出試薬が、ビオチン、ジゴキシゲニン、フルオレセイン、トリチウム及びローダミンから成る群から選択される項目７０に記載の方法。

（項目７２）

前記癌がＦＯＬＲ１陽性の癌である項目３１～７１のいずれか１項に記載の方法。

（項目７３）

前記癌が、卵巣癌、脳腫瘍、乳癌、子宮癌、子宮内膜癌、膵臓癌、腎臓癌及び肺癌から成る群から選択される項目３１～７２のいずれか１項に記載の方法。

（項目７４）

前記肺癌が、非小細胞肺癌または細気管支肺胞上皮癌である項目７３に記載の方法。

（項目７５）

前記卵巣癌が上皮性卵巣癌である項目７３に記載の方法。

（項目７６）

前記癌が、白金耐性である、再発性であるまたは難治性である項目７５に記載の方法。

（項目７７）

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前記ＦＯＬＲ１の発現が検出される項目３１～７６のいずれか１項に記載の方法。

（項目７８）

２つの抗ＦＯＬＲ１抗体またはその抗原結合断片を用いて前記ＦＯＬＲ１の発現が検出される項目７７に記載の方法。

（項目７９）

少なくとも１つの抗体またはその抗原結合断片が固相支持体に結合される項目７７または７８に記載の方法。

（項目８０）

少なくとも１つの抗体またはその抗原結合断片がマイクロタイタープレートに結合される項目７７または７８に記載の方法。

（項目８１）

少なくとも１つの追加の抗体またはその抗原結合断片が検出剤を含む項目７７～８０のいずれか１項に記載の方法。

（項目８２）

前記検出剤が、発色性検出剤、蛍光性検出剤、酵素性検出剤、または電気化学発光性検

出剤である項目８１に記載の方法。
（項目８３）
前記検出剤が、西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）である項目８１または８２に記載の方法。
（項目８４）
前記ＥＬＩＳＡがサンドイッチＥＬＩＳＡである項目４７に記載の方法。
（項目８５）
前記活性作用物質がＦＯＬＲ１抗体ｈｕＭｏｖ１９を含む項目３１～８４のいずれか１項に記載の方法。
（項目８６）
前記活性作用物質が、ＦＯＬＲ１抗体ｈｕＭｏｖ１９と、メイタンシノイドＤＭ４と、切断可能なスルホ－ＳＰＤＢリンカーとを含む抗体メイタンシノイド複合体（ＩＭＧＮ８５３）である項目８５に記載の方法。
（項目８７）
癌がＦＯＬＲ１抗体ｈｕＭｏｖ１９と、メイタンシノイドＤＭ４と、スルホ－ＳＰＤＢリンカーとを含む抗体メイタンシノイド複合体（ＩＭＧＮ８５３）による治療に応答する可能性があることを特定する方法であって、前記方法がＩＨＣアッセイにて配列番号２７のアミノ酸を含む重鎖と配列番号２８のアミノ酸を含む軽鎖とを含む抗体を用いてＦＯＬＲ１を測定することを含み、少なくとも２ヘテロのスコアが前記癌は前記治療に応答する可能性があることを示す、前記方法。
（項目８８）
癌がＦＯＬＲ１抗体ｈｕＭｏｖ１９と、メイタンシノイドＤＭ４と、スルホ－ＳＰＤＢリンカーとを含む抗体メイタンシノイド複合体（ＩＭＧＮ８５３）による治療に応答する可能性があることを特定する方法であって、前記方法がＩＨＣアッセイにて配列番号２７のアミノ酸を含む重鎖と配列番号２８のアミノ酸を含む軽鎖とを含む抗体を用いてＦＯＬＲ１を測定することを含み、少なくとも５０のＨスコアが前記癌は前記治療に応答する可能性があることを示す、前記方法。
（項目８９）
癌がＦＯＬＲ１抗体ｈｕＭｏｖ１９と、メイタンシノイドＤＭ４と、スルホ－ＳＰＤＢリンカーとを含む抗体メイタンシノイド複合体（ＩＭＧＮ８５３）による治療に応答する可能性があることを特定する方法であって、前記方法がＩＨＣアッセイにて配列番号２７のアミノ酸を含む重鎖と配列番号２８のアミノ酸を含む軽鎖とを含む抗体を用いてＦＯＬＲ１を測定することを含み、少なくとも２の強度での少なくとも２５％のＦＯＬＲ１の膜発現が前記癌は前記治療に応答する可能性があることを示す、前記方法。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 14/53512

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - A61K 39/395, C07K 16/28 (2015.01)
CPC - A61K 47/48384, A61K 47/48561, C07K 16/28
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC(8) - A61K 39/395, C07K 16/28 (2015.01)
CPC - A61K 47/48384, A61K 47/48561, C07K 16/28

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
CPC - C07K 16/32
(keyword limited; terms below)

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
PatBase, PubWEST(USPT, PGPB, EPAB, JPAB), Google Science
Search terms: FOLR1, folate receptor 1, folate receptor alpha, antibody, antibodies, huMov19, DM4, sulfo-SPDB, IMGN853, conjugat, N-glycosylated

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ROBERTS et al., Role of individual N-linked glycosylation sites in the function and intracellular transport of the human alpha folate receptor. Arch Biochem Biophys, 15 March 1998, Vol 351, No 2, pages 227-235. Especially abstract; p 228, col 1, para 3; pg 228, col 2, last para; p 229, Fig. 1	1
A	US 2012/0009181 A1 (AB et al.) 12 January 2012 (12.01.2012) para [0002], [0004], [0011], [0297]	2-5, 15-17, 87-89
A	US 2007/0048315 A1 (PRESTA) 01 March 2007 (01.03.2007) SEQ ID NO: 14	2-4, 5/(2-4), 87-89
A	US 2009/0156788 A1 (PRESTA) 18 June 2009 (18.06.2009) SEQ ID NO: 14	2-4, 5/(2-4), 87-89
A	US 2011/0002942 A1 (PRESTA) 06 January 2011 (06.01.2011) SEQ ID NO: 14	2-4, 5/(2-4), 87-89
A	US 2013/0039916 A1 (PRESTA) 14 February 2013 (14.02.2013) SEQ ID NO: 14	2-4, 5/(2-4), 87-89
A	WO 2008/103473 A1 (PRESTA) 28 August 2008 (28.08.2008) SEQ ID NO: 14	2-4, 5/(2-4), 87-89
A	US 2012/0282637 A1 (HUBER et al.) 08 November 2012 (08.11.2012) SEQ ID NO: 6	2-5, 15-17, 87-89
A	WO 2011/042548 A1 (HUBER et al.) 14 April 2011 (14.04.2011) SEQ ID NO: 6	2-4, 5/(2-4), 87-89
A	WO 2007/020965 A1 (SEKIKAWA et al.) 22 February 2007 (22.02.2007) SEQ ID NO: 2	2-4, 5/(2-4), 87-89
A	US 2008/0171014 A1 (WU et al.) 17 July 2008 (17.07.2008) SEQ ID NOs: 33 and 35	2-5, 15-17, 87-89

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

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
03 February 2015 (03.02.2015)	24 FEB 2015
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201	Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 14/53512

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2011/0256127 A1 (BOURHIS et al.) 20 October 2011 (20.10.2011) SEQ ID NO: 22	5/1, 15-17
A	F9RS38, UniProtKB/TrEMBL Accession No F9RS38_9VIBR, 28 November 2012 [online]. [Retrieved on 3 February2015]. Retrieved from the internet <URL: http://www.uniprot.org/uniprot/F9RS38.txt?version=5> Entire document	5/1, 15-17
A	US 2011/0038867 A1 (PINCELLI et al.) 17 February 2011 (17.02.2011) SEQ ID NO: 6	5/1, 15-17
A	US 7,465,449 A (VIOLETTE et al.) 16 December 2008 (16.12.2008) SEQ ID NO: 34	5/1, 15-17
A	US 8,153,126 A (VIOLETTE et al.) 10 April 2012 (10.04.2012) SEQ ID NO: 34	5/1, 15-17
A	US 2012/0251532 A1 (VIOLETTE et al.) 04 October 2012 (04.10.2012) SEQ ID NO: 34	5/1, 15-17
A	US 2009/0087478 A1 (HANSEN et al.) 02 April 2009 (02.04.2009) SEQ ID NO: 7	5/1, 15-17
A	H0DED6, UniProtKB/TrEMBL Accession No. H0DED6_9STAP, 28 November 2012 [online]. [Retrieved on 3 February2015]. Retrieved from the internet <URL: http://www.uniprot.org/uniprot/H0DED6.txt?version=5> Entire document	5/1, 15-17
A	US 2004/0031072 A1 (LA ROSA et al.) 12 February 2004 (12.02.2004) SEQ ID NO: 221094	5/1, 15-17
A	R5I4W9, UniProtKB/TrEMBL Accession No. R5I4W9_9FIRM, 24 July 2013 [online]. [Retrieved on 3 February2015]. Retrieved from the internet <URL: http://www.uniprot.org/uniprot/R5I4W9.txt?version=1> Entire document	5/1, 15-17
A	US 2007/0071675 A1 (WU et al.) 29 March 2007 (29.03.2007) SEQ ID NO: 1	5/1, 15-17
A	US 7,915,388 A (WU et al.) 29 March 2011 (29.03.2011) SEQ ID NO: 33	5/1, 15-17
A	US 2007/0253950 A1 (JACOBSEN) 01 November 2007 (01.11.2007) SEQ ID NO: 22	5/1, 15-17
A	US 2007/0286858 A1 (CLANCY et al.) 13 December 2007 (13.12.2007) SEQ ID NO: 22	5/1, 15-17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 14/53512

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

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

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

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

3. ☒ Claims Nos.: 6-7, 10-14, 18-86
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I+: Claims 1-5, 8-9, 15-17 and 87-89, drawn to an antibody or antigen-binding fragment thereof that specifically binds to an epitope of FOLR1 and methods of using said antibody. Group I+ will be searched without fee to the extent that it reads on antibody muFRIHC2-1. It is believed that claims 1-5, 15-17, and 87-89, limited to antibody muFRIHC2-1 (muFRIHC2 comprises muFRIHC2-1 VH chain: SEQ ID NO: 27, muFRIHC2-1 VL chain: SEQ ID NO: 28, muFRIHC2-1 VH CDRs1-3: SEQ ID NOs: 3-5, muFRIHC2-1 VL CDRs1-3: SEQ ID NOs: 6-8) read on this first named invention. [Note that claims 8-9 are drawn to sequences for an antibody other than muFRIHC2-1]. Applicants must indicate, if applicable, the claims which read on the first named invention if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention being searched/examined. An exemplary election would be: antibody muFRIHC5-7 (which comprises SEQ ID NOs: 29, 30, 9-11, 12-14), i.e. claims 1-5 and15-17.
—please see continuation on extra sheet—

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-5, 15-17, and 87-89, limited to antibody muFRIHC2-1 (SEQ ID NOs: 27, 28, 3-5, and 6-8)

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 14/53512

Continuation of Box No. III Observations where unity of invention is lacking

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

Special Technical Features

The special technical feature of each of the inventions of Group I+ is the specific antibody or antigen-biding fragment thereof recited therein. Each of the antibodies or fragment thereof requires specific sequences that are unique to that antibody and are not required by any of the antibodies of the other inventions.

The first named invention of Group I+ requires methods of using antibody muFRIHC2-1 fragments (SEQ ID NOs: 27 and 28) in a method for identifying a cancer as likely to respond to treatment withan antibody maytansinoid conjugate comprising the FOLR1 antibody huMov19, the maytansinoid DM4 and a sulfo-SPDB linker (IMGN853); not required by any of the other inventions of Group I+.

Common Technical Features

The feature shared by Group I+ is an antibody or antigen-binding fragment thereof that specifically binds to an epitope of FOLR1, wherein said epitope comprises at least one, at least two, or three N-glycosylated amino acids. However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art, because the shared technical feature is taught by US 2012/0009181 A1 to Ab et al. (hereinafter 'Ab'). Ab discloses an antibody or antigen-binding fragment thereof that specifically binds to an epitope of FOLR1 (folate receptor 1) (para [0002] - "antibodies and immunoconjugates that bind to human folate receptor 1"; para [0011] - "The present invention provides novel antibodies that bind to human folate receptor 1, immunoconjugates comprising these antibodies, and methods of their use. The present invention further provides novel polypeptides, such as antibodies that bind human folate receptor 1, fragments of such antibodies, and other polypeptides related to such antibodies"). Ab also teaches that FLOR1 is an N-glycosylated protein expressed on plasma membrane of cells (para [0004]). As the technical feature was known in the art at the time of the invention, it cannot be considered a special technical feature that would otherwise unity the groups.

Please note that the methods of claims 87-89 are not a common technical feature of Group I+ because the methods of claims 87-89 require SEQ ID NOs:27 and 28, sequences that represents the muFRIHC2-1 antibody of the first named invention and no other antibody of the other inventions of Group I+.

Groups I+ therefore lack unity of invention under PCT Rule 13 because they do not shere a same or corresponding special technical feature.

NOTE:
Claims 8-7, 10-14, 18-86 are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(e)

Claim is 16 objected to for depending on a subsequent claim. As drafted, claim 16 depends from claim 20, which is a claim that comes after claim 16. For the purposes of this ISA Search and Written Opinion, claim 16 is construed as though depending from claim 15.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI			テーマコード（参考）
G01N	*33/574*	*(2006.01)*	G01N	33/574	D	
G01N	*33/53*	*(2006.01)*	G01N	33/53	V	
G01N	*33/48*	*(2006.01)*	G01N	33/53	Y	
A61K	*39/395*	*(2006.01)*	G01N	33/48	P	
A61P	*35/00*	*(2006.01)*	A61K	39/395	T	
			A61P	35/00		

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG

(72)発明者 アブ, オルガ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２０５４－１６０７, ミリス, ベイベリー サークル ２６
(72)発明者 タバレス, ダニエル
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 セティアーディー, ジュリアント
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２４５２, ウォルサム, クロックタワー ドライブ １３２, ナンバー４１０
(72)発明者 ラド, シャロン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０１８０３, バーリントン, セブン スプリングス レーン １８エー
(72)発明者 キャリガン, クリスティーナ エヌ.
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 ルイ, リンギュン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２４９３, ウエストン, アロウヘッド ロード １１

Fターム(参考) 2G045 AA13 AA24 AA26 AA29 BA13 BB22 BB24 CA25 CA26 CB01
CB02 CB17 CB26 DA31 DA36 DA57 FA19 FA29 FA37 FB01
FB02 FB03 FB12 FB13 FB15 GC10 GC12 GC15 JA01
4B063 QA01 QA18 QA19 QQ03 QQ79 QR48 QS03 QS33 QX02
4C085 AA14 AA19 BB12 CC23 DD62 DD63 EE01 LL18
4H045 AA11 AA30 BA10 BA13 BA14 BA15 BA16 BA17 BA41 CA40
DA76 EA20 EA50 FA74 GA22

专利名称(译)	用于检测叶酸受体1的抗体和测定法		
公开(公告)号	JP2016536330A	公开(公告)日	2016-11-24
申请号	JP2016537910	申请日	2014-08-29
[标]申请(专利权)人(译)	伊缪诺金公司		
申请(专利权)人(译)	Imyunojen公司		
[标]发明人	アブオルガ タバレスダニエル セティアーディージュリアント ラドシャロン キャリガンクリスティーナエヌ ルイリンギュン		
发明人	アブ, オルガ タバレス, ダニエル セティアーディー, ジュリアント ラド, シャロン キャリガン, クリスティーナ エヌ. ルイ, リンギュン		
IPC分类号	C07K16/30 C12Q1/02 C12N15/09 C07K16/46 G01N33/543 G01N33/574 G01N33/53 G01N33/48 A61K39/395 A61P35/00		
CPC分类号	A61K47/6803 A61K47/6849 A61K2039/505 A61P35/00 C07K16/28 C07K16/30 C07K2317/24 C07K2317/33 C07K2317/92 G01N33/57411 G01N33/57415 G01N33/57449 G01N33/57492 G01N2800/52 C07K2317/565		
FI分类号	C07K16/30.ZNA C12Q1/02 C12N15/00.A C07K16/46 G01N33/543.501.A G01N33/574.D G01N33/53.V G01N33/53.Y G01N33/48.P A61K39/395.T A61P35/00		
F-TERM分类号	2G045/AA13 2G045/AA24 2G045/AA26 2G045/AA29 2G045/BA13 2G045/BB22 2G045/BB24 2G045/CA25 2G045/CA26 2G045/CB01 2G045/CB02 2G045/CB17 2G045/CB26 2G045/DA31 2G045/DA36 2G045/DA57 2G045/FA19 2G045/FA29 2G045/FA37 2G045/FB01 2G045/FB02 2G045/FB03 2G045/FB12 2G045/FB13 2G045/FB15 2G045/GC10 2G045/GC12 2G045/GC15 2G045/JA01 4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ03 4B063/QQ79 4B063/QR48 4B063/QS03 4B063/QS33 4B063/QX02 4C085/AA14 4C085/AA19 4C085/BB12 4C085/CC23 4C085/DD62 4C085/DD63 4C085/EE01 4C085/LL18 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA13 4H045/BA14 4H045/BA15 4H045/BA16 4H045/BA17 4H045/BA41 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74 4H045/GA22		
代理人(译)	夏木森下 饭田TakashiSatoshi 石川大介 山本健作		
优先权	61/872407 2013-08-30 US 61/875475 2013-09-09 US 61/940184 2014-02-14 US		
其他公开文献	JP2016536330A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明一般涉及基于抗体和叶酸受体1结合人叶酸受体的治疗方法的诊断测定。如何使用抗体监控进一步提供了治疗方法。其是抗体或抗原结合片段特异性结合FOLR1的表位，所述至少一个，至少两个或三个N-糖基化的氨基酸的表位，所述抗体或抗原结合片段。本发明的抗体，还提供了产生抗原结合片段或多肽的细胞。

表７．可変重鎖のポリヌクレオチド配列

抗体	可変重鎖のポリヌクレオチド配列(配列番号)
muFRIHC2-1（「2.1」）	caggtccaactgcagcagtctggacctgagctggtgaagcctggggcttcag tgaggatatcctgcaaggcttctggctacaccttcacaaactcctatattca ctgggtgaaaaagaggcctggacagggacttgagtggattggatgggatttat cctggaagtcttaatactcaatacaatgaggaagttcaaggccaaggccacac tgactgctgacaagtcctccagcacatcctacatgcagctcagcagtctgac ctctgaggactctgcggtctatttctgtgcaagaagggtatttattactac tctccctatgctctggaccactggggtcaagggagcctcagtcaccgtctcct ca（配列番号39）
muFRIHC5-7（「5.7」）	caggtccaactgcagcagtctggacctgaggtggtgaagcctggggcttcag tgaggatatcctgcaaggcttctggctacaccttcacaaactactatataca ctgggtgaagcagaggcctggacagggacttgagtggattggatggatttat cctggaagttttaatgttgagtacaatgagaagttcaaggccaaggccacac tgactgcagacaaatcctccagcacagtctacatgcaactcagcagcctgac ctctgaggactctgcggtctatttctgtgcaagaagggtatttattactac tctccctatgctttggactactggggtcaaggagcctcagtcaccgtctcct ca（配列番号41）
muFRIHC9-20（「9.20」）	caggtccaactgcagcagtctggacctgacctggtgaagcctgggggcttcag tgaggatatcctgcaaggcttctggcttcaccttcacaaactactatatacca ctgggtgaagcagaggcctggacagggacttgagtggattggatggattat cctgaaaatgttaatgttaggtacaatgacaagttcaaggccaaggccacac tgactgcagacaaatcctccagcacagcctacatgcagctcagcagcctgac ctctgaggactctgcggtctatttctgtgcaagaagggtatttattactac tctccctatgctatggactactgggggtcaaggagcctcagtcaccgtctcct ca（配列番号43）
huFRIHC2-1（表面再構成した）	aagcttgccaccATGGGTTGGAGCTGCATTATCCTTTTCCTTGTGGCTACAG CTACTGGCGTTCACTCTCAGGTACAATTGGTTCAGTCAGGAGCCGAGGTCGT AAAGCCCGGTGCCAGTGTGAAGATCTCATGCAAGGCAAGCGGTTATACTTTT ACAAACTCTTACATTCATTGGGTGAAAAAGCGGCCCGGCCAGGGTCTCGAAT GGATCGGCTGGATCTACCCAGAAAGTCTGAACACTCAATACAACCAGAAGTT TCAGGGTAAGGCAACTCTCACTGCCGACAAGAGCTCTAGCACAAGCTATATG CAGTTGTCTAGTTTGACAAGCGAGGATAGCGCAGTTTACTTTTGTGCTCGGC GTGGTATTTATTACTACTCACCTTATGCTCTGGATCACTGGGGACAGGGTGC CTCTGTTACCGTTTCCAGTGCATCCACCaagggccc（配列番号70）
huFRIHC2-1（移植した）	aagcttgccaccATGGGCTGGAGCTGCATAATCCTCTTCCTCGTAGCTACCG CCACTGGGGTGCATTCTCAAGTACAGTTGGTGCAGTCCGGAGCTGAAGTCAA GAAGCCAGGGGCTTCTGTTAAGGTGAGCTGTAAGGCTTCCGGATATACCTTC ACAAACAGTTATATCCATTGGGTGAGGCAAGCTCCAGGCCAGGGTCTCGAAT GGATGGGATGGATCTACCCCGAGAGTCTGAACACCCAGTACAACGAGAAGTT CAAGGCACGTGTGACCATGACAAGAGACACCTCCATCAGTACAGCCTATATG GAATTGAGCCGTCTCAGAAGTGATGATACAGCAGTGTACTACTGCGCCAGGC GGGGCATCTACTACTACGCCATACGCTCTCGACCACTGGGGACAAGGAAC ACTGGTAACCGTAAGCTCAGCTTCTACAaagggccc（配列番号71）