(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7379165号
(P7379165)

(45)発行日　令和5年11月14日(2023.11.14)

(24)登録日　令和5年11月6日(2023.11.6)

(51)国際特許分類		FI		
G01N 33/53 (2006.01)		G01N	33/53	D
G01N 33/532 (2006.01)		G01N	33/532	A
C07K 16/18 (2006.01)		C07K	16/18	ZNA
C07K 16/40 (2006.01)		C07K	16/40	

請求項の数　13　（全169頁）

(21)出願番号　特願2019-572216(P2019-572216)
(86)(22)出願日　平成30年11月28日(2018.11.28)
(65)公表番号　特表2021-505844(P2021-505844A)
(43)公表日　令和3年2月18日(2021.2.18)
(86)国際出願番号　PCT/US2018/062888
(87)国際公開番号　WO2019/112860
(87)国際公開日　令和1年6月13日(2019.6.13)
審査請求日　令和3年11月26日(2021.11.26)
(31)優先権主張番号　62/596,814
(32)優先日　平成29年12月9日(2017.12.9)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/610,805
(32)優先日　平成29年12月27日(2017.12.27)
最終頁に続く

(73)特許権者　391008788
アボット・ラボラトリーズ
ＡＢＢＯＴＴ　ＬＡＢＯＲＡＴＯＲＩＥＳ
アメリカ合衆国 イリノイ州 アボツト パーク アボツト パーク ロード １００
(74)代理人　110001173
弁理士法人川口國際特許事務所
(72)発明者　マクイストン，ベス
アメリカ合衆国、イリノイ・６００６４、アボット・パーク、アボット・パーク・ロード・１００、アボット・ラボラトリーズ気付
(72)発明者　ダトワイラー，ソール
アメリカ合衆国、イリノイ・６００６４、アボット・パーク、アボット・パーク
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ＧＦＡＰとＵＣＨ－Ｌ１との組合せを使用する、ヒト対象における外傷性脳損傷を診断及び査定する一助となるための方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

頭部への損傷を負った、又は負った可能性があるヒト対象が、中等度、重度又は中等度～重度の外傷性脳損傷（ＴＢＩ）を有するのかどうかの決定の一助となる方法であって、

実際の損傷又は推測される損傷の後、４８時間以内に、前記対象から得られた全血試料、血清試料、又は血漿試料である試料に対して、アッセイを実施して、グリア原線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）の前記試料中レベルと、ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）の前記試料中レベルとの組合せを測定するステップ；及び

ＧＦＡＰの前記試料中レベルが、ＧＦＡＰの、１０５ｐｇ／ｍＬ～８９０ｐｇ／ｍＬの基準レベルと等しく、ＵＣＨ－Ｌ１の前記試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、１１０ｐｇ／ｍＬ～２０００ｐｇ／ｍＬの基準レベルと等しい場合に、前記対象が、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを負っていないことを決定するステップ

を含む方法。

【請求項２】

前記対象が、前記アッセイが実施される前に、又は実施された後において、ＧＣＳ（Ｇｌａｓｇｏｗ　Ｃｏｍａ　Ｓｃａｌｅ）スコアを受けており、前記対象が、前記ＧＣＳスコアに基づき、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを有すると推測される、請求項１に記載の方法。

【請求項３】

（ａ）ＧＦＡＰの前記基準レベルが、１０５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の前記基

準レベルが、８４０ｐｇ／ｍＬである；（ｂ）ＧＦＡＰの前記基準レベルが、１５０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の前記基準レベルが、２０００ｐｇ／ｍＬである；（ｃ）ＧＦＡＰの前記基準レベルが、２４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の前記基準レベルが、８６０ｐｇ／ｍＬである；（ｄ）ＧＦＡＰの前記基準レベルが、２６５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の前記基準レベルが、８６０ｐｇ／ｍＬである；（ｅ）ＧＦＡＰの前記基準レベルが、３７０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の前記基準レベルが、１１０ｐｇ／ｍＬである；（ｆ）ＧＦＡＰの前記基準レベルが、５０５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の前記基準レベルが、１５８０ｐｇ／ｍＬである；（ｇ）ＧＦＡＰの前記基準レベルが、６９５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の前記基準レベルが、１５７０ｐｇ／ｍＬである；又は（ｈ）ＧＦＡＰの前記基準レベルが、８９０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の前記基準レベルが、９２０ｐｇ／ｍＬである、請求項１又は２に記載の方法。

【請求項４】

ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、７９％以上の感度及び３３％以上の特異度を有するアッセイにより決定される、請求項１～３のいずれかに記載の方法。

【請求項５】

前記試料が、前記実際の損傷又は推測される損傷の後、８時間～１６時間以内に、前記対象から得られる、請求項１～４のいずれかに記載の方法。

【請求項６】

前記アッセイが、ＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１を、個別に測定又は検出するアッセイと比較して、少なくとも２％高い感度及び少なくとも３％高い特異度を有する、請求項１～５のいずれかに記載の方法。

【請求項７】

（ａ）前記試料が、前記実際の損傷又は推測される損傷の後、８時間～１２時間以内に、前記対象から得られ；ＧＦＡＰの前記基準レベルが、２４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の前記基準レベルが、８６０ｐｇ／ｍＬであり；

（ｂ）前記試料が、前記実際の損傷又は推測される損傷の後、１２時間～１６時間以内に、前記対象から得られ；ＧＦＡＰの前記基準レベルが、１０５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の前記基準レベルが、８４０ｐｇ／ｍＬであり；

（ｃ）前記試料が、前記実際の損傷又は推測される損傷の後、８時間～１２時間以内に、前記対象から得られ；ＧＦＡＰの前記基準レベルが、８９０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の前記基準レベルが、９２０ｐｇ／ｍＬであり；又は

（ｄ）前記試料が、前記実際の損傷又は推測される損傷の後、１２時間～１６時間以内に、前記対象から得られ；ＧＦＡＰの前記基準レベルが、５０５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の前記基準レベルが、１５８０ｐｇ／ｍＬである、

請求項１～６のいずれかに記載の方法。

【請求項８】

ＧＦＡＰのレベルを測定するステップが、

（ａ）前記試料を、同時に、又は逐次的に、任意の順序において、

（１）ＧＦＡＰ上又はＧＦＡＰ断片上のエピトープに結合して、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原複合体を形成する、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体、及び

（２）検出可能な標識を含み、前記ＧＦＡＰ捕捉抗体が結合していないＧＦＡＰ上のエピトープに結合する、少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体

と接触させて、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体を形成すること；並びに

（ｂ）ＧＦＡＰの、前記試料中量又は前記試料中濃度を、前記少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体内の検出可能な標識により発生したシグナルに基づき測定すること

を含む、請求項１～７のいずれか一項に記載の方法。

【請求項９】

ＵＣＨ－Ｌ１のレベルを測定するステップが、
（ａ）前記試料を、同時に、又は逐次的に、任意の順序において、
（１）ＵＣＨ－Ｌ１上又はＵＣＨ－Ｌ１断片上のエピトープに結合して、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原複合体を形成する、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体、及び
（２）検出可能な標識を含み、前記少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体が結合していないＵＣＨ－Ｌ１上のエピトープに結合する、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体と接触させて、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体を形成すること；並びに
（ｂ）ＵＣＨ－Ｌ１の、前記試料中量又は前記試料中濃度を、前記少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体内の検出可能な標識により発生したシグナルに基づき測定すること
を含む、請求項１～８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０】
前記試料が：
（ａ）前記対象が、物理的振盪、閉鎖性頭部外傷若しくは開放性頭部外傷をもたらす外部の機械的力若しくは他の力、１回以上の転倒、爆発若しくは爆破による鈍的衝撃により引き起こされた頭部への損傷又は他の種類の鈍力外傷を負った後において；
（ｂ）前記対象が、化学物質、毒素又は化学物質と毒素との組合せを摂取した、又はこれらへと曝露された後において；又は
（ｃ）自己免疫疾患、代謝性障害、脳腫瘍、低酸素症、ウイルス、髄膜炎、水頭症又はこれらの組合せを患う対象から
得られる、請求項１～９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１１】
前記対象を、モニタリングするステップをさらに含む、請求項１～１０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１２】
前記試料が、前記対象が整形外科損傷を負った後において得られる、請求項１～１１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１３】
前記アッセイが、（ａ）イムノアッセイ；（ｂ）臨床化学アッセイ又は（ｃ）単一分子検出アッセイである、請求項１～１２のいずれか一項に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本出願は、それらの各々の内容が、参照により本明細書に組み込まれた、２０１７年１２月９日に出願された、米国出願第６２／５９６，８１４号、２０１７年１２月２７日に出願された、米国出願第６２／６１０，８０５号、２０１８年４月２７日に出願された、米国出願第６２／６６３，８１１号、及び２０１８年５月４日に出願された、米国出願第６２／６６７，２２７号に対する優先権を主張する。
技術分野
本開示は、頭部への損傷を負った、又は負った可能性がある対象における、診断及び査定の一助となるための方法に関する。例えば、本開示は、対象が、頭部への損傷を負った、又は負った可能性がある４８時間後以内の、多様な時点において採取された試料中の、ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）のレベルと、グリア原線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）のレベルとの組合せを検出又は測定することにより、対象が、外傷性脳損傷（ＴＢＩ）を負っているのかどうかを決定するために、対象の診断及び査定の一助となるための方法を提示する。
【背景技術】
【０００２】

米国におけるだけで、毎年５００万例を超える軽度外傷性脳損傷（ＴＢＩ）が生じている。現在のところ、患者評価の一助とするのに利用可能である、簡単、客観的で、正確な測定法は存在しない。実際、ＴＢＩの査定及び診断の多くは、主観的データに基づく。残念ながら、頭部ＣＴ及びＧＣＳ（Ｇｌａｓｇｏｗ　Ｃｏｍａ　Ｓｃｏｒｅ）のような客観的測定法は、軽度ＴＢＩの査定において、それほど総合的又は高感度ではない。さらに、頭部ＣＴは、軽度ＴＢＩについて、ほとんどの場合何も明らかにせず、高価であり、患者を、不要な放射線へと曝露する。加えて、陰性の頭部ＣＴは、患者が、脳振盪を有さないことが明確になったこと意味するわけではなく、手術のような、ある特定の介入が正当ではないことを意味するに過ぎない。整形外科損傷などの外傷性損傷を負った患者はまた、ＴＢＩも有しうる。医師及び患者は、この状態を正確に査定して、適切なトリアージ及び回復を促進するために、客観的かつ信頼できる情報を必要とする。現在、急性ケア状況における、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰの使用であって、患者の査定及び管理の一助となる使用に利用可能なデータは、限定されている。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００３】

軽度ＴＢＩ又は脳振盪は、客観的に検出することが困難であり、世界中の救急治療室において、毎日難題を提示している。脳振盪は、出血及び脳に対する従来のコンピュータ断層撮影スキャンにおける異常のような、肉眼的病態を引き起こさないことが多いが、数日間～数週間かけて、自発的に消失する、急速発症型の神経機能不全を引き起こす。軽度ＴＢＩ患者のうちの約１５％は、遷延性の認知機能不全を患う。救急治療室及び診療所、病院、スポーツ領域及び軍事活動（例えば、戦闘）の現場における整形外科患者及び軽度ＴＢＩの犠牲者にとって、それらのＴＢＩ状態について査定されることの、満たされていない需要が存在する。

【課題を解決するための手段】

【０００４】

（発明の要旨）

一態様において、本開示は、頭部への損傷を負った、又は負った可能性がある対象が、中等度、重度又は中等度～重度の外傷性脳損傷（ＴＢＩ）に罹患しているのかどうかの診断の一助となる又はこれを決定する方法に関する。方法は、

実際の損傷又は推測される損傷の後、約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して、アッセイを実施して、グリア原線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）の試料中レベルと、ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）の試料中レベルとの組合せを測定又は検出するステップ；及び

（ａ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１０５ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満であり、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約１１０ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満である場合に、対象が、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを負っていないと決定するステップ；又は

（ｂ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１０５ｐｇ／ｍＬ～約８９０ｐｇ／ｍＬの基準レベルと等しく、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約１１０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｇ／ｍＬの基準レベルと等しい場合に、対象が、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを負っていないと決定するステップ；又は

（ｃ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約８９０ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高く、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約２０００ｇ／ｍＬの基準レベルより高い場合に、対象が、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを負っている可能性が、そうでない可能性より高いと決定するステップ

を含む。

【０００５】

上記において記載された方法についての一実施形態において、対象は、アッセイが実施される前に、又は実施された後において、ＧＣＳ（Ｇｌａｓｇｏｗ　Ｃｏｍａ　Ｓｃａｌｅ

）スコアを受けている場合がある。別の実施形態において、このようなＧＣＳスコアを受けている対象は、決定されたＧＣＳスコアに基づき、中等度ＴＢＩを有すると推測される。別の実施形態において、このようなＧＣＳスコアを受けている対象は、重度ＴＢＩを有すると推測される。別の実施形態において、このようなＧＣＳスコアを受けている対象は、決定されたＧＣＳスコアに基づき、中等度～重度のＴＢＩを有すると推測される。上記において記載された方法の、さらに別の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、３～８のＧＣＳ（Ｇｌａｓｇｏｗ　Ｃｏｍａ　Ｓｃａｌｅ）スコア（重度ＴＢＩ）と相関する、又はこれに対応する。さらに他の態様において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、９～１２のＧＣＳ（Ｇｌａｓｇｏｗ　Ｃｏｍａ　Ｓｃａｌｅ）スコア（中等度ＴＢＩ）と相関する。他の態様において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、３～１２のＧＣＳ（Ｇｌａｓｇｏｗ　Ｃｏｍａ　Ｓｃａｌｅ）スコア（中等度～重度のＴＢＩ）と相関する、又はこれに対応する。

【０００６】

上記において記載された方法の、一実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約０～約４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１６時間～約２０時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約２０時間～約２４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約２４時間～約２８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらなる実施形態において、アッセイは、損傷又は推測される損傷の後、約２４時間～約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約２８時間～約３２時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約３２時間～約３６時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約３６時間～約４０時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４０時間～約４４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４４～約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。

【０００７】

上記において記載された方法についての、別の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約７９％以上の感度及び約３３％以上の特異度を有するアッセイにより決定される。

【０００８】

上記において記載された方法についての、さらに別の実施形態において、試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１６時間以内に、対象から得られる。

【０００９】

上記において記載された方法についての、なおさらに別の実施形態において、アッセイは、ＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１を、個別に測定又は検出するアッセイと比較して、少なくとも２％高い感度及び少なくとも３％高い特異度を有する。

【００１０】

上記において記載された方法についての、なおさらに別の実施形態において、
ａ．試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約２４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約８６０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイは、９７％以上の感度及び５１％以上の特異度を有する；又は
ｂ．試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約１０５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約８４０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイは、９７．５％以上の感度及び３６％以上の特異度を有する；又は
ｃ．試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰの基準レベルは、約８９０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約９２０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイは、９０％以上の感度及び７９％以上の特異度を有する；又は
ｄ．試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約５０５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約１５８０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイは、９０％以上の感度及び６６％以上の特異度を有する。

【００１１】

上記において記載された方法についての、さらに別の実施形態において、ＧＦＡＰのレベルの測定は、
（ａ）試料を、同時に、又は逐次的に、任意の順序において、
（１）ＧＦＡＰ上又はＧＦＡＰ断片上のエピトープに結合して、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原複合体を形成する、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体、及び
（２）検出可能な標識を含み、ＧＦＡＰ捕捉抗体が結合していないＧＦＡＰ上のエピトープに結合して、ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体を形成する、少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体
と接触させて、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体を形成すること；並びに
（ｂ）ＧＦＡＰの、試料中量又は試料中濃度を、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体内の検出可能な標識により発生したシグナルに基づき測定すること
を含む。

【００１２】

さらに別の実施形態において、上記において同定された方法における、ＵＣＨ－Ｌ１の測定は、
（ａ）試料を、同時に、又は逐次的に、任意の順序において、
（１）ＵＣＨ－Ｌ１上又はＵＣＨ－Ｌ１断片上のエピトープに結合して、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原複合体を形成する、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体、及び
（２）検出可能な標識を含み、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体が結合していないＵＣＨ－Ｌ１上のエピトープに結合して、ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体を形成する、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体
と接触させて、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体を形成すること；並びに
（ｂ）ＵＣＨ－Ｌ１の、試料中量又は試料中濃度を、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体内の検出可能な標識により発生したシグナルに基づき測定すること
を含む。

【００１３】

上記において記載された方法を使用する一態様において、対象は、中等度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、別の態様において、対象は、重度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、別の態様において、対象は、中等度～重度のＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、なおまたさらなる態様において、対象は、ＴＢＩを有さないと評価又は査定される。

【００１４】

上記において記載された方法は、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを有すると評価又は査定されたヒト対象を、ＴＢＩのための処置（例えば、手術による処置、治療的処置又はこれらの組合せ）により処置するステップをさらに含みうる。当技術分野において公知であり、本明細書においてさらに記載された、任意のこのような処置が使用されうる。さらに、さらなる態様において、ＴＢＩについて処置された任意の対象はまた、任意選択的に、任意の処置コース中に、又はこの後において、モニタリングもされうる。代替的に、前記方法は、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを有すると評価された対象（まだ今のところ、処置を受けていない場合がある対象など）をモニタリングするステップをさらに含みうる。

【００１５】

上記において記載された方法において、試料は、全血試料、血清試料、脳脊髄液試料及び血漿試料からなる群から選択される。一部の実施形態において、試料は、全血試料である。一部の実施形態において、試料は、血漿試料である。さらに他の実施形態において、試料は、血清試料である。このような試料は、様々な方式で得られうる。例えば、試料は、対象が、物理的振盪、閉鎖性頭部外傷若しくは開放性頭部外傷をもたらす外部の機械的力若しくは他の力、１回以上の転倒、爆発若しくは爆破による鈍的衝撃により引き起こされた頭部損傷又は他の種類の鈍力外傷を負った後において得られうる。代替的に、試料は、対象が、化学物質、毒素又は化学物質と毒素との組合せを摂取した、又はこれらへと曝露された後において得られうる。化学物質又は毒素の例は、火、カビ、アスベスト、害虫駆除剤、殺虫剤、有機溶剤、塗料、糊、ガス、有機金属、乱用薬物又はこれらの１つ以上の組合せである。なおさらに、試料は、自己免疫疾患、代謝性障害、脳腫瘍、低酸素症、ウイルス、髄膜炎、水頭症又はこれらの組合せを患う対象から得られうる。

【００１６】

上記において記載された方法のうちのいずれかは、ヒト対象の臨床状態、ヒト対象の検査値、軽度、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩの罹患についてのヒト対象の分類、ヒト対象による、低レベル又は高レベルのＵＣＨ－Ｌ１、ＧＦＡＰ並びに／又はＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰの呈示並びにヒト対象が、頭部損傷を負った可能性がある、任意の事象のタイミングからなる群から選択されうる因子に関わらず、任意のヒト対象に対して実行されうる。

【００１７】

上記において記載された方法において、アッセイは、イムノアッセイである。一部の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、全血である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、血清である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、血清

である。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血漿である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血漿である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、血漿である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、血漿である。

【００１８】

さらに別の態様において、本開示は、頭部への損傷を負った、又は負った可能性があるヒト対象に対して、頭部コンピュータ断層撮影（ＣＴ）スキャンを実施するのかどうかの決定の一助となる又はこれを決定する方法に関する。方法は、

実際の損傷又は推測される損傷の後、約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して、アッセイを実施して、グリア原線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）の試料中レベルと、ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）の試料中レベルとの組合せを測定又は検出するステップ；及び

（ａ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約５０ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満であり、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約９０ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満である場合に、対象が、ＣＴスキャンを必要としないと決定するステップ；又は

（ｂ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約５０ｐｇ／ｍＬ～約９７５ｐｇ／ｍＬの基準レベルと等しく、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約９０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｇ／ｍＬの基準レベルと等しい場合に、対象が、ＣＴスキャンを必要としないと決定するステップ；又は

（ｃ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約９７５ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高く、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約２０００ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高い場合に、対象が、ＣＴスキャンを必要とする可能性が、そうでない可能性より高いと決定するステップ

を含む。

【００１９】

上記において記載された方法についての一実施形態において、対象は、アッセイが実施される前に、又は実施された後において、ＣＴスキャンを受けており、対象は、ＣＴスキャン結果に基づき、ＴＢＩを有すると推測される。別の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、陰性のＣＴスキャン結果と相関する。

【００２０】

より具体的に、頭部ＣＴを実施するのかどうかを決定又は査定するための、上記において記載された方法において、対象は、実施されている、又は既に（アッセイが実施される前を意味する）実施されたＣＴスキャンに基づき、外傷性脳損傷を有することが推測されうる。例えば、対象の医学的状態（患者が意識不明である場合など）に応じて、ＣＴスキャンは、対象が、救急治療室、外傷センター又は他の施設に到着した直後に、対象がＴＢＩを有するのかどうかを評価及び／又は査定するために行われうる。このようなＣＴスキャンは、対象が、軽度又は中等度～重度のＴＢＩを有するのかどうかを確認及び決定するために、アッセイが実施される前に実施されうる。アッセイが実施された後に、医師による（又は他の医療従事者による）ＴＢＩの管理（例えば、手術による介入及び／又は薬理学的介入が要求されうるのかどうかを決定するなどのため）の一部としてのアッセイの結果に基づき、１回以上の、後続のＣＴスキャンが実施されうる。

【００２１】

上記の方法についての、ある特定の態様において、対象は、ＣＴスキャンに基づき、外傷性脳損傷を有することが推測されうる。例えば、対象は、ＣＴスキャンに基づき、軽度ＴＢＩを有することが推測されうる。代替的に、対象は、ＣＴスキャンに基づき、中等度ＴＢＩを有することが推測されうる。代替的に、対象は、ＣＴスキャンに基づき、重度ＴＢＩを有することが推測されうる。代替的に、対象は、ＣＴスキャンに基づき、中等度～重度のＴＢＩを有することが推測されうる。なおさらに、対象は、ＣＴスキャンに基づき、ＴＢＩを有さないことが推測されうる。

【００２２】
上記の方法についての、ある特定の態様において、使用された基準レベルは、陽性の頭部コンピュータ断層撮影と相関する、又はこれに対応する。例えば、基準レベルは、陽性の頭部コンピュータ断層撮影を有する対象と相関しうる、又はこれに対応しうる（基準レベルの上昇又は低下を介するなど）。代替的に、基準レベルは、陰性の頭部コンピュータ断層撮影を有する対象と相関しうる、又はこれに対応しうる（基準レベルの上昇又は低下を介するなど）。なおさらに代替的に、基準レベルは、脳内出血又は改善若しくは悪化する脳内出血を経る対象と相関しうる、又はこれに対応しうる（基準レベルの上昇又は低下を介するなど）。上記の方法についての、他の態様において、基準レベルは、ＴＢＩに罹患していない、対照の対象と相関する、又はこれに対応する。

【００２３】
上記において記載された方法の、一実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約０～約４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１６時間～約２０時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約２０時間～約２４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約２４時間～約２８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらなる実施形態において、アッセイは、損傷又は推測される損傷の後、約２４時間～約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約２８時間～約３２時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約３２時間～約３６時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約３６時間～約４０時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４０時間～約４４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４４～約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。

【００２４】
上記において記載された方法についての、さらに別の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約５４％以上の感度及び約３２％以上の特異度を有するアッセイにより決定される。

【００２５】
上記において記載された方法についての、なおさらに別の実施形態において、試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約１６時間以内に、対象から得られる。

【００２６】
上記において記載された方法についての、さらに別の実施形態において、アッセイは、ＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１を、個別に測定又は検出するアッセイと比較して、少なくとも２％高い感度及び少なくとも４％高い特異度を有する。

【００２７】
上記において記載された方法についての、なおさらに別の実施形態において、
ａ．試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約１１０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レ

ベルは、約２０００ｐｇ／ｍＬであり；アッセイは、９５％以上の感度及び６２％以上の特異度を有する；
ｂ．試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約２４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約３００ｐｇ／ｍＬであり；アッセイは、９１．５％以上の感度及び５２％以上の特異度を有する；又は
ｃ．試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約１９０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約９０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイは、９９％以上の感度及び３６％以上の特異度を有する。

【００２８】

上記において記載された方法についての、さらに別の実施形態において、ＧＦＡＰのレベルの測定は、
（ａ）試料を、同時に、又は逐次的に、任意の順序において、
（１）ＧＦＡＰ上又はＧＦＡＰ断片上のエピトープに結合して、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原複合体を形成する、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体、及び
（２）検出可能な標識を含み、ＧＦＡＰ捕捉抗体が結合していないＧＦＡＰ上のエピトープに結合して、ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体を形成する、少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体
と接触させて、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体を形成すること；並びに
（ｂ）ＧＦＡＰの、試料中量又は試料中濃度を、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体内の検出可能な標識により発生したシグナルに基づき測定すること
を含む。

【００２９】

さらに別の実施形態において、上記において同定された方法における、ＵＣＨ－Ｌ１の測定は、
（ａ）試料を、同時に、又は逐次的に、任意の順序において、
（１）ＵＣＨ－Ｌ１上又はＵＣＨ－Ｌ１断片上のエピトープに結合して、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原複合体を形成する、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体、及び
（２）検出可能な標識を含み、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体が結合していないＵＣＨ－Ｌ１上のエピトープに結合して、ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体を形成する、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体
と接触させて、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体を形成すること；並びに
（ｂ）ＵＣＨ－Ｌ１の、試料中量又は試料中濃度を、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体内の検出可能な標識により発生したシグナルに基づき測定すること
を含む。

【００３０】

上記において記載された方法を使用する一態様において、対象は、軽度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する一態様において、対象は、中等度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、別の態様において、対象は、重度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、別の態様において、対象は、中等度～重度のＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、なおまたさらなる態様において、対象は、ＴＢＩを有さないと評価又は査定される。

【００３１】
上記において記載された方法は、ＴＢＩ（例えば、軽度、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩなど）を有すると評価又は査定されたヒト対象を、ＴＢＩのための処置（例えば、手術による処置、治療的処置又はこれらの組合せ）により処置するステップをさらに含みうる。当技術分野において公知であり、本明細書においてさらに記載された、任意のこのような処置が使用されうる。さらに、さらなる態様において、ＴＢＩについて処置された任意の対象はまた、任意選択的に、任意の処置コース中に、又はこの後において、モニタリングもされうる。代替的に、前記方法は、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを有すると評価された対象（まだ今のところ、処置を受けていない場合がある対象など）をモニタリングするステップをさらに含みうる。
【００３２】
上記において記載された方法において、試料は、全血試料、血清試料、脳脊髄液試料及び血漿試料からなる群から選択されうる。一部の実施形態において、試料は、全血試料である。一部の実施形態において、試料は、血漿試料である。さらに他の実施形態において、試料は、血清試料である。このような試料は、様々な方式で得られうる。例えば、試料は、対象が、物理的振盪、閉鎖性頭部外傷若しくは開放性頭部外傷をもたらす外部の機械的力若しくは他の力、１回以上の転倒、爆発若しくは爆破による鈍的衝撃により引き起こされた頭部損傷又は他の種類の鈍力外傷を負った後において得られうる。代替的に、試料は、対象が、化学物質、毒素又は化学物質と毒素との組合せを摂取した、又はこれらへと曝露された後において得られうる。化学物質又は毒素の例は、火、カビ、アスベスト、害虫駆除剤、殺虫剤、有機溶剤、塗料、糊、ガス、有機金属、乱用薬物又はこれらの１つ以上の組合せである。なおさらに、試料は、自己免疫疾患、代謝性障害、脳腫瘍、低酸素症、ウイルス、髄膜炎、水頭症又はこれらの組合せを患う対象から得られうる。
【００３３】
上記において記載された方法のうちのいずれかは、ヒト対象の臨床状態、ヒト対象の検査値、軽度、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩの罹患についてのヒト対象の分類、ヒト対象による、低レベル又は高レベルのＵＣＨ－Ｌ１、ＧＦＡＰ並びに／又はＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰの呈示並びにヒト対象が、頭部損傷を負った可能性がある、任意の事象のタイミングからなる群から選択される因子に関わらず、任意のヒト対象に対して実行されうる。
【００３４】
上記において記載された方法において、アッセイは、イムノアッセイである。一部の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、全血である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、血清である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血漿である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血漿である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、血漿である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、血漿である。
【００３５】

さらに別の態様において、本開示は、頭部への損傷を負ったヒト対象が、外傷性脳損傷（ＴＢＩ）を負ったのかどうかの決定の一助となる又はこれを決定する方法に関する。方法は、損傷後、約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して、アッセイを実施して、グリア原線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）の試料中レベルと、ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）の試料中レベルとの組合せを測定又は検出するステップ；及び

（ａ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１５ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満であり、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約７０ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満である場合に、対象が、ＴＢＩを負っていないと決定するステップ；又は

（ｂ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１５ｐｇ／ｍＬ～約４０ｐｇ／ｍＬの基準レベルと等しく、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約７０ｐｇ／ｍＬ～約１５０ｇ／ｍＬの基準レベルと等しい場合に、対象が、ＴＢＩを負っている可能性が、そうでない可能性より高いと決定するステップ；又は

（ｃ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約４０ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高く、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約１５０ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高い場合に、対象が、ＴＢＩを負っている可能性が、そうでない可能性より高いと決定するステップ

を含む。

【００３６】

上記において記載された方法の、一実施形態において、アッセイは、損傷後、約０～約４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。別の実施形態において、アッセイは、損傷後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、損傷後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、損傷後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、損傷後、約１６時間～約２０時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、損傷後、約２０時間～約２４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、損傷後、約２４時間～約２８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらなる実施形態において、アッセイは、損傷又は推測される損傷の後、約２４時間～約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、損傷後、約２８時間～約３２時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、損傷後、約３２時間～約３６時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、損傷後、約３６時間～約４０時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、損傷後、約４０時間～約４４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、損傷後、約４４～約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。

【００３７】

上記において記載された方法についての、別の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約９０％以上の感度及び約３５％以上の特異度を有するアッセイにより決定される。

【００３８】

上記において記載された方法についての、さらに別の実施形態において、試料は、損傷後、約４時間～約１６時間以内に、対象から得られうる。

【００３９】

なおさらに別の実施形態において、上記において記載された方法のアッセイは、ＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１を、個別に測定又は検出するアッセイと比較して、少なくとも３％高

い感度及び少なくとも１７％高い特異度を有する。
【００４０】
上記において記載された方法についての、なおさらに別の実施形態において、
試料は、損傷後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約３０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約１１０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイは、９２％以上の感度及び９９％以上の特異度を有する；又は
試料は、損傷後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約３０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約１１０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイは、９０％以上の感度及び９９％以上の特異度を有する；又は
試料は、損傷後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約１００ｐｇ／ｍＬであり；方法は、９０％以上の感度及び９４％以上の特異度を有する；又は
試料は、損傷後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約１５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約１５０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイは、９５％以上の感度及び８２％以上の特異度を有する；又は
試料は、損傷後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約２０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約６０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイは、９５％以上の感度及び６５％以上の特異度を有する。
【００４１】
上記において記載された方法において、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、イムノアッセイ又は臨床化学アッセイを使用して、測定又は検出されうる。代替的に、上記において記載された方法において、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、単一分子検出アッセイを使用して、測定又は検出されうる。
【００４２】
上記において記載された方法についての、さらに別の実施形態において、ＧＦＡＰのレベルの測定は、
（ａ）試料を、同時に、又は逐次的に、任意の順序において、
（１）ＧＦＡＰ上又はＧＦＡＰ断片上のエピトープに結合して、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原複合体を形成する、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体、及び
（２）検出可能な標識を含み、ＧＦＡＰ捕捉抗体が結合していないＧＦＡＰ上のエピトープに結合して、ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体を形成する、少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体
と接触させて、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体を形成すること；並びに
（ｂ）ＧＦＡＰの、試料中量又は試料中濃度を、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体内の検出可能な標識により発生したシグナルに基づき測定すること
を含む。
【００４３】
さらに別の実施形態において、上記において同定された方法における、ＵＣＨ－Ｌ１の測定は、
（ａ）試料を、同時に、又は逐次的に、任意の順序において、
（１）ＵＣＨ－Ｌ１上又はＵＣＨ－Ｌ１断片上のエピトープに結合して、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原複合体を形成する、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体、及び
（２）検出可能な標識を含み、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体が結合していないＵＣＨ－Ｌ１上のエピトープに結合して、ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体を形成する、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体
と接触させて、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも

１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体を形成すること；並びに
（ｃ）ＵＣＨ－Ｌ１の、試料中量又は試料中濃度を、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体内の検出可能な標識により発生したシグナルに基づき測定すること
を含む。

【００４４】

上記において記載された方法を使用する一態様において、対象は、軽度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する一態様において、対象は、中等度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、別の態様において、対象は、重度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、別の態様において、対象は、中等度～重度のＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、なおまたさらなる態様において、対象は、ＴＢＩを有さないと評価又は査定される。

【００４５】

上記において記載された方法は、ＴＢＩ（例えば、軽度、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩなど）を有すると評価又は査定されたヒト対象を、ＴＢＩのための処置（例えば、手術による処置、治療的処置又はこれらの組合せ）により処置するステップをさらに含みうる。当技術分野において公知であり、本明細書においてさらに記載された、任意のこのような処置が使用されうる。さらに、さらなる態様において、ＴＢＩについて処置された任意の対象はまた、任意選択的に、任意の処置コース中に、又はこの後において、モニタリングもされうる。代替的に、前記方法は、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを有すると評価された対象（まだ今のところ、処置を受けていない場合がある対象など）をモニタリングするステップをさらに含みうる。

【００４６】

上記において記載された方法において、試料は、全血試料、血清試料、脳脊髄液試料及び血漿試料からなる群から選択されうる。一部の実施形態において、試料は、全血試料である。一部の実施形態において、試料は、血漿試料である。さらに他の実施形態において、試料は、血清試料である。このような試料は、様々な方式で得られうる。例えば、試料は、対象が、物理的振盪、閉鎖性頭部外傷若しくは開放性頭部外傷をもたらす外部の機械的力若しくは他の力、１回以上の転倒、爆発若しくは爆破による鈍的衝撃により引き起こされた頭部損傷又は他の種類の鈍力外傷を負った後において得られうる。代替的に、試料は、対象が、化学物質、毒素又は化学物質と毒素との組合せを摂取した、又はこれらへと曝露された後において得られうる。化学物質又は毒素の例は、火、カビ、アスベスト、害虫駆除剤、殺虫剤、有機溶剤、塗料、糊、ガス、有機金属、乱用薬物又はこれらの１つ以上の組合せである。なおさらに、試料は、自己免疫疾患、代謝性障害、脳腫瘍、低酸素症、ウイルス、髄膜炎、水頭症又はこれらの組合せを患う対象から得られうる。

【００４７】

上記において記載された方法のうちのいずれかは、ヒト対象の臨床状態、ヒト対象の検査値、軽度、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩの罹患についてのヒト対象の分類、ヒト対象による、低レベル又は高レベルのＵＣＨ－Ｌ１、ＧＦＡＰ並びに／又はＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰの呈示並びにヒト対象が、頭部損傷を負った可能性がある、任意の事象のタイミングからなる群から選択される因子に関わらず、任意のヒト対象に対して実行されうる。

【００４８】

上記において記載された方法において、アッセイは、イムノアッセイである。一部の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、全血で

ある。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、全血である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、血清である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血漿である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血漿である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、血漿である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、血漿である。

【００４９】

さらに別の態様において、本開示は、頭部への損傷を負った、又は負った可能性があるヒト対象に対して、頭部核磁気共鳴イメージング（ＭＲＩ）手順を実施するのかどうかの決定の一助となる又はこれを決定する方法に関する。方法は、

実際の損傷又は推測される損傷の後、約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して、アッセイを実施して、グリア原線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）の試料中レベルと、ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）の試料中レベルとの組合せを測定又は検出するステップ；及び

（ａ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１５ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満であり、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約５０ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満である場合に、対象が、ＭＲＩ手順を必要としないと決定するステップ；又は

（ｂ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１５ｐｇ／ｍＬ～約１０００ｐｇ／ｍＬの基準レベルと等しく、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約５０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｇ／ｍＬの基準レベルと等しい場合に、対象が、ＭＲＩ手順を必要とする可能性が、そうでない可能性より高いと決定するステップ；又は

（ｃ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１０００ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高く、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約２０００ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高い場合に、対象が、ＭＲＩ手順を必要とする可能性が、そうでない可能性より高いと決定するステップ

を含む。

【００５０】

上記において記載された方法において、対象は、アッセイが実施された後において、ＭＲＩを受けている場合があり、対象は、ＭＲＩ結果に基づき、ＴＢＩを有すると推測される。さらに別の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、陰性のＭＲＩ結果と相関する。

【００５１】

上記において記載された方法の、一実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約０～約４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１６時間～約２０時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約２０時間～約２４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の

後、約２４時間～約２８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらなる実施形態において、アッセイは、損傷又は推測される損傷の後、約２４時間～約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約２８時間～約３２時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約３２時間～約３６時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約３６時間～約４０時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４０時間～約４４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４４～約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。

【００５２】

ＭＲＩを実施するのかどうかを決定又は査定するための、上記において記載された方法において、対象は、実施されている、又は既に（アッセイが実施される前を意味する）実施されたＭＲＩ又はＣＴスキャンに基づき、外傷性脳損傷を有することが推測されうる。例えば、対象の医学的状態（患者が意識不明である場合など）に応じて、ＭＲＩ又はＣＴスキャンは、対象が、救急治療室、外傷センター又は他の施設に到着した直後に、対象がＴＢＩを有するのかどうかを評価及び／又は査定するために行われうる。このようなＭＲＩ又はＣＴスキャンは、対象が、軽度、中等度、又は中等度～重度のＴＢＩを有するのかどうかを確認及び決定するために、アッセイが実施される前に実施されうる。アッセイが実施された後に、医師による（又は他の医療従事者による）ＴＢＩの管理（例えば、手術による介入及び／又は薬理学的介入が要求されうるのかどうかを決定するなどのため）の一部としてのアッセイの結果に基づき、１回以上の、後続のＭＲＩ（又はＣＴスキャン）が実施されうる。

【００５３】

上記の方法についての、ある特定の態様において、対象は、ＭＲＩに基づき、外傷性脳損傷を有することが推測されうる。例えば、対象は、ＭＲＩに基づき、軽度ＴＢＩを有することが推測されうる。代替的に、対象は、ＭＲＩに基づき、中等度ＴＢＩを有することが推測されうる。代替的に、対象は、ＭＲＩに基づき、重度ＴＢＩを有することが推測されうる。代替的に、対象は、ＭＲＩに基づき、中等度～重度のＴＢＩを有することが推測されうる。なおさらに、対象は、ＭＲＩに基づき、ＴＢＩを有さないことが推測されうる。

【００５４】

上記において記載された方法についての、なおさらに別の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約８０％～約９８％の感度及び約３０％～約８５％の特異度を有するアッセイにより決定される。

【００５５】

上記において記載された方法についての、さらなる実施形態において対象は、アッセイが実施される前に、陰性のＣＴスキャン結果を受けている場合がある。

【００５６】

上記において記載された方法を使用する一態様において、対象は、軽度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する一態様において、対象は、中等度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、別の態様において、対象は、重度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、別の態様において、対象は、中等度～重度のＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、なおまたさらなる態様において、対象は、ＴＢＩを有さないと評価又は査定される。

【００５７】

上記において記載された方法は、ＴＢＩ（例えば、軽度、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩなど）を有すると評価又は査定されたヒト対象を、ＴＢＩのための処置（例え

ば、手術による処置、治療的処置又はこれらの組合せ）により処置するステップをさらに含みうる。当技術分野において公知であり、本明細書においてさらに記載された、任意のこのような処置が使用されうる。さらに、さらなる態様において、ＴＢＩについて処置された任意の対象はまた、任意選択的に、任意の処置コース中に、又はこの後において、モニタリングもされうる。代替的に、前記方法は、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを有すると評価された対象（まだ今のところ、処置を受けていない場合がある対象など）をモニタリングするステップをさらに含みうる。

【００５８】

上記において記載された方法において、試料は、全血試料、血清試料、脳脊髄液試料及び血漿試料からなる群から選択されうる。一部の実施形態において、試料は、全血試料である。一部の実施形態において、試料は、血漿試料である。さらに他の実施形態において、試料は、血清試料である。このような試料は、様々な方式で得られうる。例えば、試料は、対象が、物理的振盪、閉鎖性頭部外傷若しくは開放性頭部外傷をもたらす外部の機械的力若しくは他の力、１回以上の転倒、爆発若しくは爆破による鈍的衝撃により引き起こされた頭部損傷又は他の種類の鈍力外傷を負った後において得られうる。代替的に、試料は、対象が、化学物質、毒素又は化学物質と毒素との組合せを摂取した、又はこれらへと曝露された後において得られうる。化学物質又は毒素の例は、火、カビ、アスベスト、害虫駆除剤、殺虫剤、有機溶剤、塗料、糊、ガス、有機金属、乱用薬物又はこれらの１つ以上の組合せである。なおさらに、試料は、自己免疫疾患、代謝性障害、脳腫瘍、低酸素症、ウイルス、髄膜炎、水頭症又はこれらの組合せを患う対象から得られうる。

【００５９】

上記において記載された方法のうちのいずれかは、ヒト対象の臨床状態、ヒト対象の検査値、軽度、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩの罹患についてのヒト対象の分類、ヒト対象による、低レベル又は高レベルのＵＣＨ－Ｌ１、ＧＦＡＰ並びに／又はＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰの呈示並びにヒト対象が、頭部損傷を負った可能性がある、任意の事象のタイミングからなる群から選択される因子に関わらず、任意のヒト対象に対して実行されうる。

【００６０】

上記において記載された方法において、アッセイは、イムノアッセイである。一部の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、全血である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、血清である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血漿である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血漿である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、血漿である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、血漿である。

【００６１】

さらに別の態様において、本開示は、頭部への損傷を負った、又は負った可能性があるヒト対象に対して、頭部核磁気共鳴イメージング（ＭＲＩ）手順を実施するのかどうかの決定の一助となる又はこれを決定する方法に関する。方法は、

実際の損傷又は推測される損傷の後、約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して、アッセイを実施して、グリア原線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）の試料中レベルと、ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）の試料中レベルとの組合せを測定又は検出するステップ；及び

（ａ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約０ｐｇ／ｍＬ～約６８ｐｇ／ｍＬの基準レベルと等しい、若しくはＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約０ｐｇ／ｍＬ～約９９ｐｇ／ｍＬの基準レベルと等しい場合に、対象が、ＭＲＩ手順を必要としないと決定するステップ；又は

（ｂ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約６８ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高く、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約９９ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高い場合に、対象が、ＭＲＩ手順を必要とする可能性が、そうでない可能性より高いと決定するステップ

を含む。

【００６２】

上記において記載された方法の、一実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約０～約４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１６時間～約２０時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約２０時間～約２４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約２４時間～約２８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらなる実施形態において、アッセイは、損傷又は推測される損傷の後、約２４時間～約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約２８時間～約３２時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約３２時間～約３６時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約３６時間～約４０時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４０時間～約４４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４４～約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。

【００６３】

上記において記載された方法において、対象は、アッセイが実施された後において、ＭＲＩを受けている場合があり、対象は、ＭＲＩ結果に基づき、ＴＢＩを有すると推測される。さらに別の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル又はＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、陰性のＭＲＩ結果と相関する。

【００６４】

ＭＲＩを実施するのかどうかを決定又は査定するための、上記において記載された方法において、対象は、実施されている、又は既に（アッセイが実施される前を意味する）実施されたＭＲＩ又はＣＴスキャンに基づき、外傷性脳損傷を有することが推測されうる。例えば、対象の医学的状態（患者が意識不明である場合など）に応じて、ＭＲＩ又はＣＴスキャンは、対象が、救急治療室、外傷センター又は他の施設に到着した直後に、対象がＴＢＩを有するのかどうかを評価及び／又は査定するために行われうる。このようなＭＲ

Ｉ又はＣＴスキャンは、対象が、軽度又は中等度～重度のＴＢＩを有するのかどうかを確認及び決定するために、アッセイが実施される前に実施されうる。アッセイが実施された後に、医師による（又は他の医療従事者による）ＴＢＩの管理（例えば、手術による介入及び／又は薬理学的介入が要求されうるのかどうかを決定するなどのため）の一部としてのアッセイの結果に基づき、１回以上の、後続のＭＲＩ（又はＣＴスキャン）が実施されうる。

【００６５】

上記の方法についての、ある特定の態様において、対象は、ＭＲＩに基づき、外傷性脳損傷を有することが推測されうる。例えば、対象は、ＭＲＩに基づき、軽度ＴＢＩを有することが推測されうる。代替的に、対象は、ＭＲＩに基づき、中等度ＴＢＩを有することが推測されうる。代替的に、対象は、ＭＲＩに基づき、重度ＴＢＩを有することが推測されうる。代替的に、対象は、ＭＲＩに基づき、中等度～重度のＴＢＩを有することが推測されうる。なおさらに、対象は、ＭＲＩに基づき、ＴＢＩを有さないことが推測されうる。

【００６６】

上記の方法についての、ある特定の態様において、使用された基準レベルは、陽性の頭部コンピュータ断層撮影と相関する、又はこれに対応する。例えば、基準レベルは、陽性の頭部コンピュータ断層撮影を有する対象と相関しうる、又はこれに対応しうる（基準レベルの上昇又は低下を介するなど）。代替的に、基準レベルは、陰性の頭部コンピュータ断層撮影を有する対象と相関しうる、又はこれに対応しうる（基準レベルの上昇又は低下を介するなど）。なおさらに代替的に、基準レベルは、脳内出血又は改善若しくは悪化する脳内出血を経る対象と相関しうる、又はこれに対応しうる（基準レベルの上昇又は低下を介するなど）。上記の方法についての、他の態様において、基準レベルは、ＴＢＩに罹患していない、対照の対象と相関する、又はこれに対応する。

【００６７】

上記において記載された方法についての、なおさらに別の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約９０％～約９５％の感度及び３１％～約４６％の特異度を有するアッセイにより決定される。上記において記載された方法についての、なおさらに別の実施形態において、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約８１％～約８４％の感度及び３１％～約４６％の特異度を有するアッセイにより決定される。

【００６８】

上記において記載された方法についての、さらなる実施形態において対象は、アッセイが実施される前に、陰性のＣＴスキャン結果を受けている場合がある。

【００６９】

上記において記載された方法を使用する一態様において、対象は、軽度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する一態様において、対象は、中等度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、別の態様において、対象は、重度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、別の態様において、対象は、中等度～重度のＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、なおまたさらなる態様において、対象は、ＴＢＩを有さないと評価又は査定される。

【００７０】

上記において記載された方法は、ＴＢＩ（例えば、軽度、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩなど）を有すると評価又は査定されたヒト対象を、ＴＢＩのための処置（例えば、手術による処置、治療的処置又はこれらの組合せ）により処置するステップをさらに含みうる。当技術分野において公知であり、本明細書においてさらに記載された、任意のこのような処置が使用されうる。さらに、さらなる態様において、ＴＢＩについて処置された任意の対象はまた、任意選択的に、任意の処置コース中に、又はこの後において、モニタリングもされうる。代替的に、前記方法は、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを有すると評価された対象（まだ今のところ、処置を受けていない場合がある対象など）をモニタリングするステップをさらに含みうる。

【００７１】
上記において記載された方法において、試料は、全血試料、血清試料、脳脊髄液試料及び血漿試料からなる群から選択されうる。一部の実施形態において、試料は、全血試料である。一部の実施形態において、試料は、血漿試料である。さらに他の実施形態において、試料は、血清試料である。このような試料は、様々な方式で得られうる。例えば、試料は、対象が、物理的振盪、閉鎖性頭部外傷若しくは開放性頭部外傷をもたらす外部の機械的力若しくは他の力、１回以上の転倒、爆発若しくは爆破による鈍的衝撃により引き起こされた頭部損傷又は他の種類の鈍力外傷を負った後において得られうる。代替的に、試料は、対象が、化学物質、毒素又は化学物質と毒素との組合せを摂取した、又はこれらへと曝露された後において得られうる。化学物質又は毒素の例は、火、カビ、アスベスト、害虫駆除剤、殺虫剤、有機溶剤、塗料、糊、ガス、有機金属、乱用薬物又はこれらの１つ以上の組合せである。なおさらに、試料は、自己免疫疾患、代謝性障害、脳腫瘍、低酸素症、ウイルス、髄膜炎、水頭症又はこれらの組合せを患う対象から得られうる。

【００７２】
上記において記載された方法のうちのいずれかは、ヒト対象の臨床状態、ヒト対象の検査値、軽度、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩの罹患についてのヒト対象の分類、ヒト対象による、低レベル又は高レベルのＵＣＨ－Ｌ１、ＧＦＡＰ並びに／又はＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰの呈示並びにヒト対象が、頭部損傷を負った可能性がある、任意の事象のタイミングからなる群から選択される因子に関わらず、任意のヒト対象に対して実行されうる。

【００７３】
上記において記載された方法において、アッセイは、イムノアッセイである。一部の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、全血である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、血清である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血漿である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血漿である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、血漿である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、血漿である。

【００７４】
さらに別の態様において、本開示は、頭部損傷を負った、又は負った可能性があるヒト対象の転帰を予測する一助となる、又は予測するための方法に関する。方法は、
実際の損傷又は推測される損傷の後、約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して、アッセイを実施して、グリア原線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）の試料中レベルと、ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）の試料中レベルとの組合せを測定又は検出するステップ；及び
（ａ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約８０ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満であり、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約１３０ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満である場合に、対象について、思わしい転帰を予測するステップ；又は
（ｂ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約８０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／

ｍＬの基準レベルと等しく、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約１３０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｇ／ｍＬの基準レベルと等しい場合に、対象について、思わしくない転帰を予測する可能性が、そうでない可能性より高いステップ；又は

（ｃ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約２０００ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高く、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約２０００ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高い場合に、対象について、思わしくない転帰を予測する可能性が、そうでない可能性より高いステップ

を含む。

【００７５】

上記において記載された方法についての、別の実施形態において、対象は、方法が実施された後において、ＧＯＳＥ（Ｅｘｔｅｎｄｅｄ Ｇｌａｓｇｏｗ Ｏｕｔｃｏｍｅ Ｓｃａｌｅ）スコアを受けている場合があり、対象は、ＧＯＳＥスコアに基づき、転帰不良を有すると推測される。さらに別の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、１のＧＯＳＥスコアに基づき、転帰不良を有する対象と相関する。

【００７６】

上記において記載された方法の、一実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約０～約４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１６時間～約２０時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約２０時間～約２４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約２４時間～約２８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらなる実施形態において、アッセイは、損傷又は推測される損傷の後、約２４時間～約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約２８時間～約３２時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約３２時間～約３６時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約３６時間～約４０時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４０時間～約４４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４４～約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。

【００７７】

上記において記載された方法についての、なおさらに別の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約８０％～約９７％の感度及び約３０％～約９５％の特異度を有するアッセイにより決定される。

【００７８】

上記において記載された方法において、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、イムノアッセイ又は臨床化学アッセイを使用して測定又は検出される。代替的に、上記において記載された方法において、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、単一分子検出アッセイを使用して測定又は検出される。

【００７９】

上記において記載された方法についての、さらに別の実施形態において、ＧＦＡＰのレ

ベルの測定は、
（ａ）試料を、同時に、又は逐次的に、任意の順序において、
（１）ＧＦＡＰ上又はＧＦＡＰ断片上のエピトープに結合して、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原複合体を形成する、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体、及び
（２）検出可能な標識を含み、ＧＦＡＰ捕捉抗体が結合していないＧＦＡＰ上のエピトープに結合して、ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体を形成する、少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体
と接触させて、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体を形成すること；並びに
（ｂ）ＧＦＡＰの、試料中量又は試料中濃度を、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体内の検出可能な標識により発生したシグナルに基づき測定すること
を含む。
【００８０】
さらに別の実施形態において、上記において同定された方法における、ＵＣＨ－Ｌ１の測定は、
（ａ）試料を、同時に、又は逐次的に、任意の順序において、
（１）ＵＣＨ－Ｌ１上又はＵＣＨ－Ｌ１断片上のエピトープに結合して、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原複合体を形成する、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体、及び
（２）検出可能な標識を含み、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体が結合していないＵＣＨ－Ｌ１上のエピトープに結合して、ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体を形成する、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体
と接触させて、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体を形成すること；並びに
（ｂ）ＵＣＨ－Ｌ１の、試料中量又は試料中濃度を、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体内の検出可能な標識により発生したシグナルに基づき測定すること
を含む。
【００８１】
上記において記載された方法を使用する一態様において、対象は、軽度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する一態様において、対象は、中等度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、別の態様において、対象は、重度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、別の態様において、対象は、中等度～重度のＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、なおまたさらなる態様において、対象は、ＴＢＩを有さないと評価又は査定される。
【００８２】
上記において記載された方法は、ＴＢＩ（例えば、軽度、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩなど）を有すると評価又は査定されたヒト対象を、ＴＢＩのための処置（例えば、手術による処置、治療的処置又はこれらの組合せ）により処置するステップをさらに含みうる。当技術分野において公知であり、本明細書においてさらに記載された、任意のこのような処置が使用されうる。さらに、さらなる態様において、ＴＢＩについて処置された任意の対象はまた、任意選択的に、任意の処置コース中に、又はこの後において、モニタリングもされうる。代替的に、前記方法は、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを有すると評価された対象（まだ今のところ、処置を受けていない場合がある対象など）をモニタリングするステップをさらに含みうる。
【００８３】
上記において記載された方法において、試料は、全血試料、血清試料、脳脊髄液試料及

び血漿試料からなる群から選択されうる。一部の実施形態において、試料は、全血試料である。一部の実施形態において、試料は、血漿試料である。さらに他の実施形態において、試料は、血清試料である。このような試料は、様々な方式で得られうる。例えば、試料は、対象が、物理的振盪、閉鎖性頭部外傷若しくは開放性頭部外傷をもたらす外部の機械的力若しくは他の力、１回以上の転倒、爆発若しくは爆破による鈍的衝撃により引き起こされた頭部損傷又は他の種類の鈍力外傷を負った後において得られうる。代替的に、試料は、対象が、化学物質、毒素又は化学物質と毒素との組合せを摂取した、又はこれらへと曝露された後において得られうる。化学物質又は毒素の例は、火、カビ、アスベスト、害虫駆除剤、殺虫剤、有機溶剤、塗料、糊、ガス、有機金属、乱用薬物又はこれらの１つ以上の組合せである。なおさらに、試料は、自己免疫疾患、代謝性障害、脳腫瘍、低酸素症、ウイルス、髄膜炎、水頭症又はこれらの組合せを患う対象から得られうる。

【００８４】

上記において記載された方法のうちのいずれかは、ヒト対象の臨床状態、ヒト対象の検査値、軽度、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩの罹患についてのヒト対象の分類、ヒト対象による、低レベル又は高レベルのＵＣＨ－Ｌ１、ＧＦＡＰ並びに／又はＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰの呈示並びにヒト対象が、頭部損傷を負った可能性がある、任意の事象のタイミングからなる群から選択される因子に関わらず、任意のヒト対象に対して実行されうる。

【００８５】

上記において記載された方法において、アッセイは、イムノアッセイである。一部の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、全血である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、血清である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血漿である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血漿である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、血漿である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、血漿である。

【００８６】

さらに別の態様において、本開示は、頭部への損傷を負った、又は負った可能性がある対象が、中等度、重度又は中等度～重度の外傷性脳損傷（ＴＢＩ）に罹患しているのかどうかの診断の一助となる又はこれを決定する方法に関する。方法は、

実際の損傷又は推測される損傷の後、約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して、アッセイを実施して、グリア原線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）の試料中レベルと、ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）の試料中レベルとの組合せを測定又は検出するステップ；及び

ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１０５ｐｇ／ｍＬ～約８９０ｐｇ／ｍＬの基準レベルと等しく、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約１１０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの基準レベルと等しい場合に、対象が、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを負っていないことを決定するステップ

を含む。

【００８７】
上記において記載された方法の、一実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約０～約４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１６時間～約２０時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約２０時間～約２４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約２４時間～約２８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらなる実施形態において、アッセイは、損傷又は推測される損傷の後、約２４時間～約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約２８時間～約３２時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約３２時間～約３６時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約３６時間～約４０時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４０時間～約４４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４４～約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。
【００８８】
上記において記載された方法についての一実施形態において、対象は、アッセイが実施される前に、又は実施された後において、ＧＣＳ（Ｇｌａｓｇｏｗ　Ｃｏｍａ　Ｓｃａｌｅ）スコアを受けている場合がある。別の実施形態において、このようなＧＣＳスコアを受けている対象は、決定されたＧＣＳスコアに基づき、中等度ＴＢＩを有すると推測される。別の実施形態において、このようなＧＣＳスコアを受けている対象は、重度ＴＢＩを有すると推測される。別の実施形態において、このようなＧＣＳスコアを受けている対象は、決定されたＧＣＳスコアに基づき、中等度～重度のＴＢＩを有すると推測される。上記において記載された方法の、さらに別の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、３～８のＧＣＳ（Ｇｌａｓｇｏｗ　Ｃｏｍａ　Ｓｃａｌｅ）スコア（重度ＴＢＩ）と相関する、又はこれに対応する。さらに他の態様において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、９～１２のＧＣＳ（Ｇｌａｓｇｏｗ　Ｃｏｍａ　Ｓｃａｌｅ）スコア（中等度ＴＢＩ）と相関する。他の態様において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、３～１２のＧＣＳ（Ｇｌａｓｇｏｗ　Ｃｏｍａ　Ｓｃａｌｅ）スコア（中等度～重度のＴＢＩ）と相関する、又はこれに対応する。
【００８９】
上記において記載された方法についての、別の実施形態において、（ａ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約１０５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約８４０ｐｇ／ｍＬである；（ｂ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約１５０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約２０００ｐｇ／ｍＬである；（ｃ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約２４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約８６０ｐｇ／ｍＬである；（ｄ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約２６５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約８６０ｐｇ／ｍＬである；（ｅ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約３７０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約１１０ｐｇ／ｍＬである；（ｆ）ＧＦＡＰの基準レベル

は、約５０５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約１５８０ｐｇ／ｍＬである；（ｇ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約６９５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約１５７０ｐｇ／ｍＬである；又は（ｈ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約８９０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約９２０ｐｇ／ｍＬである。

【００９０】

上記において記載された方法についての、さらに別の実施形態において、（ａ）試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルは、約２４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、約８６０ｐｇ／ｍＬである；（ｂ）試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルは、約２６５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、約８６０ｐｇ／ｍＬである；（ｃ）試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルは、約８９０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、約９２０ｐｇ／ｍＬである；（ｄ）試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルは、約１０５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、約８４０ｐｇ／ｍＬである；（ｅ）試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルは、約３７０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、約１１０ｐｇ／ｍＬである；（ｆ）試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルは、約３７０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、約１１０ｐｇ／ｍＬである；（ｇ）試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルは、約５０５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、約１５９０ｐｇ／ｍＬである；（ｈ）試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルは、約６９５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、約１５７０ｐｇ／ｍＬである；（ｉ）試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルは、約１５０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、約２０００ｐｇ／ｍＬである。

【００９１】

上記において記載された方法についての、別の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約７９％以上の感度及び約３３％以上の特異度を有するアッセイにより決定される。

【００９２】

上記において記載された方法についての、さらに別の実施形態において、試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１６時間以内に、対象から得られる。

【００９３】

上記において記載された方法についての、なおさらに別の実施形態において、アッセイは、ＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１を、個別に測定又は検出するアッセイと比較して、少なくとも２％高い感度及び少なくとも３％高い特異度を有する。

【００９４】

上記において記載された方法についての、なおさらに別の実施形態において、

ｅ．試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約２４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約８６０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイは、９７％以上の感度及び５１％以上の特異度を有する；又は

ｆ．試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約１０５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約８４０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイは、９７．５％以上の感度及び３６％以上の特異度を有する；又は

ｇ．試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象

から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約８９０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約９２０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイは、９０％以上の感度及び７９％以上の特異度を有する；又は

ｈ．試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約５０５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約１５８０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイは、９０％以上の感度及び６６％以上の特異度を有する。

【００９５】

上記において記載された方法についての、さらに別の実施形態において、ＧＦＡＰのレベルの測定は、

（ａ）試料を、同時に、又は逐次的に、任意の順序において、

（１）ＧＦＡＰ上又はＧＦＡＰ断片上のエピトープに結合して、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原複合体を形成する、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体、及び

（２）検出可能な標識を含み、ＧＦＡＰ捕捉抗体が結合していないＧＦＡＰ上のエピトープに結合して、ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体を形成する、少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体

と接触させて、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体を形成すること；並びに

（ｂ）ＧＦＡＰの、試料中量又は試料中濃度を、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体内の検出可能な標識により発生したシグナルに基づき測定すること

を含む。

【００９６】

さらに別の実施形態において、上記において同定された方法における、ＵＣＨ－Ｌ１の測定は、

（ａ）試料を、同時に、又は逐次的に、任意の順序において、

（１）ＵＣＨ－Ｌ１上又はＵＣＨ－Ｌ１断片上のエピトープに結合して、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原複合体を形成する、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体、及び

（２）検出可能な標識を含み、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体が結合していないＵＣＨ－Ｌ１上のエピトープに結合して、ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体を形成する、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体

と接触させて、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体を形成すること；並びに

（ｂ）ＵＣＨ－Ｌ１の、試料中量又は試料中濃度を、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体内の検出可能な標識により発生したシグナルに基づき測定すること

を含む。

【００９７】

上記において記載された方法を使用する一態様において、対象は、中等度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、別の態様において、対象は、重度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、別の態様において、対象は、中等度～重度のＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、なおまたさらなる態様において、対象は、ＴＢＩを有さないと評価又は査定される。

【００９８】

上記において記載された方法は、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを有すると評価又は査定されたヒト対象を、ＴＢＩのための処置（例えば、手術による処置、治療的処置又はこれらの組合せ）により処置するステップをさらに含みうる。当技術分野において

公知であり、本明細書においてさらに記載された、任意のこのような処置が使用されうる。さらに、さらなる態様において、ＴＢＩについて処置された任意の対象はまた、任意選択的に、任意の処置コース中に、又はこの後において、モニタリングもされうる。代替的に、前記方法は、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを有すると評価された対象（まだ今のところ、処置を受けていない場合がある対象など）をモニタリングするステップをさらに含みうる。

【００９９】

上記において記載された方法において、試料は、全血試料、血清試料、脳脊髄液試料及び血漿試料からなる群から選択されうる。一部の実施形態において、試料は、全血試料である。一部の実施形態において、試料は、血漿試料である。さらに他の実施形態において、試料は、血清試料である。このような試料は、様々な方式で得られうる。例えば、試料は、対象が、物理的振盪、閉鎖性頭部外傷若しくは開放性頭部外傷をもたらす外部の機械的力若しくは他の力、１回以上の転倒、爆発若しくは爆破による鈍的衝撃により引き起こされた頭部損傷又は他の種類の鈍力外傷を負った後において得られうる。代替的に、試料は、対象が、化学物質、毒素又は化学物質と毒素との組合せを摂取した、又はこれらへと曝露された後において得られうる。化学物質又は毒素の例は、火、カビ、アスベスト、害虫駆除剤、殺虫剤、有機溶剤、塗料、糊、ガス、有機金属、乱用薬物又はこれらの１つ以上の組合せである。なおさらに、試料は、自己免疫疾患、代謝性障害、脳腫瘍、低酸素症、ウイルス、髄膜炎、水頭症又はこれらの組合せを患う対象から得られうる。

【０１００】

上記において記載された方法のうちのいずれかは、ヒト対象の臨床状態、ヒト対象の検査値、軽度、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩの罹患についてのヒト対象の分類、ヒト対象による、低レベル又は高レベルのＵＣＨ－Ｌ１、ＧＦＡＰ並びに／又はＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰの呈示並びにヒト対象が、頭部損傷を負った可能性がある、任意の事象のタイミングからなる群から選択される因子に関わらず、任意のヒト対象に対して実行されうる。

【０１０１】

上記において記載された方法において、アッセイは、イムノアッセイである。一部の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、全血である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、血清である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血漿である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血漿である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、血漿である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、血漿である。

【０１０２】

さらに別の態様において、本開示は、頭部への損傷を負った、又は負った可能性があるヒト対象に対して、頭部コンピュータ断層撮影（ＣＴ）スキャンを実施するのかどうかの決定の一助となる又はこれを決定する方法に関する。方法は、

実際の損傷又は推測される損傷の後、約４８時間以内に、対象から得られた試料に対し

て、アッセイを実施して、グリア原線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）の試料中レベルと、ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）の試料中レベルとの組合せを測定又は検出するステップ；及び
ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約５０ｐｇ／ｍＬ～約９７５ｐｇ／ｍＬの基準レベルと等しく、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約９０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの基準レベルと等しい場合に、対象が、ＣＴスキャンを必要としないと決定するステップ
を含む。

【０１０３】

上記において記載された方法についての一実施形態において、対象は、アッセイが実施される前に、又は実施された後において、ＣＴスキャンを受けており、対象は、ＣＴスキャン結果に基づき、ＴＢＩを有すると推測される。別の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、陰性のＣＴスキャン結果と相関する。

【０１０４】

より具体的に、頭部ＣＴを実施するのかどうかを決定又は査定するための、上記において記載された方法において、対象は、実施されている、又は既に（アッセイが実施される前を意味する）実施されたＣＴスキャンに基づき、外傷性脳損傷を有することが推測されうる。例えば、対象の医学的状態（患者が意識不明である場合など）に応じて、ＣＴスキャンは、対象が、救急治療室、外傷センター又は他の施設に到着した直後に、対象がＴＢＩを有するのかどうかを評価及び／又は査定するために行われうる。このようなＣＴスキャンは、対象が、軽度又は中等度～重度のＴＢＩを有するのかどうかを確認及び決定するために、アッセイが実施される前に実施されうる。アッセイが実施された後に、医師による（又は他の医療従事者による）ＴＢＩの管理（例えば、手術による介入及び／又は薬理学的介入が要求されうるのかどうかを決定するなどのため）の一部としてのアッセイの結果に基づき、１回以上の、後続のＣＴスキャンが実施されうる。

【０１０５】

上記の方法についての、ある特定の態様において、対象は、ＣＴスキャンに基づき、外傷性脳損傷を有することが推測されうる。例えば、対象は、ＣＴスキャンに基づき、軽度ＴＢＩを有することが推測されうる。代替的に、対象は、ＣＴスキャンに基づき、中等度ＴＢＩを有することが推測されうる。代替的に、対象は、ＣＴスキャンに基づき、重度ＴＢＩを有することが推測されうる。代替的に、対象は、ＣＴスキャンに基づき、中等度～重度のＴＢＩを有することが推測されうる。なおさらに、対象は、ＣＴスキャンに基づき、ＴＢＩを有さないことが推測されうる。

【０１０６】

上記の方法についての、ある特定の態様において、使用された基準レベルは、陽性の頭部コンピュータ断層撮影と相関する、又はこれに対応する。例えば、基準レベルは、陽性の頭部コンピュータ断層撮影を有する対象と相関しうる、又はこれに対応しうる（基準レベルの上昇又は低下を介するなど）。代替的に、基準レベルは、陰性の頭部コンピュータ断層撮影を有する対象と相関しうる、又はこれに対応しうる（基準レベルの上昇又は低下を介するなど）。なおさらに代替的に、基準レベルは、脳内出血又は改善若しくは悪化する脳内出血を経る対象と相関しうる、又はこれに対応しうる（基準レベルの上昇又は低下を介するなど）。上記の方法についての、他の態様において、基準レベルは、ＴＢＩに罹患していない、対照の対象と相関する、又はこれに対応する。

【０１０７】

上記において記載された方法の、一実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約０～約４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセ

イは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１６時間～約２０時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約２０時間～約２４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約２４時間～約２８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらなる実施形態において、アッセイは、損傷又は推測される損傷の後、約２４時間～約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約２８時間～約３２時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約３２時間～約３６時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約３６時間～約４０時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４０時間～約４４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４４～約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。

【０１０８】

上記の方法についての、さらに別の実施形態において、（ａ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約５０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約２０００ｐｇ／ｍＬである；（ｂ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約９５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約２０００ｐｇ／ｍＬである；（ｃ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約１１０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約２０００ｐｇ／ｍＬである；（ｄ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約１１５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約１１０ｐｇ／ｍＬである；（ｅ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約１４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約２０００ｐｇ／ｍＬである；（ｆ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約１５０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約１９０ｐｇ／ｍＬである；（ｇ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約１９０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約９０ｐｇ／ｍＬである；（ｈ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約２４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約３００ｐｇ／ｍＬである；（ｉ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約２８５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約１９０ｐｇ／ｍＬである；（ｊ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約５００ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約１４５０ｐｇ／ｍＬである；（ｋ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約５５５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約８１０ｐｇ／ｍＬである；（ｌ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約８００ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約９００ｐｇ／ｍＬである；（ｍ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約８４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約２０００ｐｇ／ｍＬである；（ｎ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約８８０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約８１０ｐｇ／ｍＬである；又は（ｏ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約９７５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約１５８０ｐｇ／ｍＬである。

【０１０９】

上記の方法についての、さらに別の実施形態において、（ａ）試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルは、約５０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、約２０００ｐｇ／ｍＬである；（ｂ）試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルは、約１１０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、約２０００ｐｇ／ｍＬである；（ｃ）試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルは、約１４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、約２０００ｐｇ／ｍＬである；（ｄ）試料は、実際の損傷又

は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルは、約５００ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、約１４５０ｐｇ／ｍＬである；（ｅ）試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルは、約８９０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、約９２０ｐｇ／ｍＬである；（ｆ）試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルは、約１０５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、約８４０ｐｇ／ｍＬである；（ｇ）試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルは、約３７０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、約１１０ｐｇ／ｍＬである；（ｈ）試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルは、約５０５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、約１５８０ｐｇ／ｍＬである；（ｉ）試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルは、約６９５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、約１５７０ｐｇ／ｍＬである；（ｊ）試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルは、約１５０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、約２０００ｐｇ／ｍＬである。

【０１１０】

上記において記載された方法についての、さらに別の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約５４％以上の感度及び約３２％以上の特異度を有するアッセイにより決定される。

【０１１１】

上記において記載された方法についての、なおさらに別の実施形態において、試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約１６時間以内に、対象から得られる。

【０１１２】

上記において記載された方法についての、さらに別の実施形態において、アッセイは、ＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１を、個別に測定又は検出するアッセイと比較して、少なくとも２％高い感度及び少なくとも４％高い特異度を有する。

【０１１３】

上記において記載された方法についての、なおさらに別の実施形態において、

ｄ．試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約１１０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約２０００ｐｇ／ｍＬであり；アッセイは、９５％以上の感度及び６２％以上の特異度を有する；

ｅ．試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約２４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約３００ｐｇ／ｍＬであり；アッセイは、９１．５％以上の感度及び５２％以上の特異度を有する；又は

ｆ．試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２～約１６時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約１９０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約９０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイは、９９％以上の感度及び３６％以上の特異度を有する。

【０１１４】

上記において記載された方法についての、さらに別の実施形態において、ＧＦＡＰのレベルの測定は、

（ａ）試料を、同時に、又は逐次的に、任意の順序において、

（１）ＧＦＡＰ上又はＧＦＡＰ断片上のエピトープに結合して、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原複合体を形成する、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体、及び

（２）検出可能な標識を含み、ＧＦＡＰ捕捉抗体が結合していないＧＦＡＰ上のエピ

トープに結合して、ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体を形成する、少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体
と接触させて、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体を形成すること；並びに
（ｂ）ＧＦＡＰの、試料中量又は試料中濃度を、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体内の検出可能な標識により発生したシグナルに基づき測定すること
を含む。

【０１１５】

さらに別の実施形態において、上記において同定された方法における、ＵＣＨ－Ｌ１の測定は、
（ａ）試料を、同時に、又は逐次的に、任意の順序において、
（１）ＵＣＨ－Ｌ１上又はＵＣＨ－Ｌ１断片上のエピトープに結合して、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原複合体を形成する、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体、及び
（２）検出可能な標識を含み、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体が結合していないＵＣＨ－Ｌ１上のエピトープに結合して、ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体を形成する、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体
と接触させて、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体を形成すること；並びに
（ｂ）ＵＣＨ－Ｌ１の、試料中量又は試料中濃度を、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体内の検出可能な標識により発生したシグナルに基づき測定すること
を含む。

【０１１６】

上記において記載された方法を使用する一態様において、対象は、軽度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する一態様において、対象は、中等度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、別の態様において、対象は、重度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、別の態様において、対象は、中等度～重度のＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、なおまたさらなる態様において、対象は、ＴＢＩを有さないと評価又は査定される。

【０１１７】

上記において記載された方法は、ＴＢＩ（例えば、軽度、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩなど）を有すると評価又は査定されたヒト対象を、ＴＢＩのための処置（例えば、手術による処置、治療的処置又はこれらの組合せ）により処置するステップをさらに含みうる。当技術分野において公知であり、本明細書においてさらに記載された、任意のこのような処置が使用されうる。さらに、さらなる態様において、ＴＢＩについて処置された任意の対象はまた、任意選択的に、任意の処置コース中に、又はこの後において、モニタリングもされうる。代替的に、前記方法は、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを有すると評価された対象（まだ今のところ、処置を受けていない場合がある対象など）をモニタリングするステップをさらに含みうる。

【０１１８】

上記において記載された方法において、試料は、全血試料、血清試料、脳脊髄液試料及び血漿試料からなる群から選択されうる。一部の実施形態において、試料は、全血試料である。一部の実施形態において、試料は、血漿試料である。さらに他の実施形態において、試料は、血清試料である。このような試料は、様々な方式で得られうる。例えば、試料は、対象が、物理的振盪、閉鎖性頭部外傷若しくは開放性頭部外傷をもたらす外部の機械的力若しくは他の力、１回以上の転倒、爆発若しくは爆破による鈍的衝撃により引き起こされた頭部損傷又は他の種類の鈍力外傷を負った後において得られうる。代替的に、試料

は、対象が、化学物質、毒素又は化学物質と毒素との組合せを摂取した、又はこれらへと曝露された後において得られうる。化学物質又は毒素の例は、火、カビ、アスベスト、害虫駆除剤、殺虫剤、有機溶剤、塗料、糊、ガス、有機金属、乱用薬物又はこれらの１つ以上の組合せである。なおさらに、試料は、自己免疫疾患、代謝性障害、脳腫瘍、低酸素症、ウイルス、髄膜炎、水頭症又はこれらの組合せを患う対象から得られうる。

【０１１９】

上記において記載された方法のうちのいずれかは、ヒト対象の臨床状態、ヒト対象の検査値、軽度、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩの罹患についてのヒト対象の分類、ヒト対象による、低レベル又は高レベルのＵＣＨ－Ｌ１、ＧＦＡＰ並びに／又はＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰの呈示並びにヒト対象が、頭部損傷を負った可能性がある、任意の事象のタイミングからなる群から選択される因子に関わらず、任意のヒト対象に対して実行されうる。

【０１２０】

上記において記載された方法において、アッセイは、イムノアッセイである。一部の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、全血である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、血清である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血漿である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血漿である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、血漿である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、血漿である。

【０１２１】

さらに別の態様において、本開示は、頭部への損傷を負ったヒト対象が、外傷性脳損傷（ＴＢＩ）を負ったのかどうかの決定の一助となる又はこれを決定する方法に関する。方法は、

実際の損傷又は推測される損傷の後、約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して、アッセイを実施して、グリア原線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）の試料中レベルと、ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）の試料中レベルとの組合せを測定又は検出するステップ；及び

ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１５ｐｇ／ｍＬ～約４０ｐｇ／ｍＬの基準レベルと等しく、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約７０ｐｇ／ｍＬ～約１５０ｐｇ／ｍＬの基準レベルと等しい場合に、対象が、ＴＢＩを負っている可能性が、そうでない可能性より高いと決定するステップ

を含む。

【０１２２】

上記において記載された方法の、一実施形態において、アッセイは、損傷後、約０～約４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。別の実施形態において、アッセイは、損傷後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、損傷後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッ

セイは、損傷後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、損傷後、約１６時間～約２０時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、損傷後、約２０時間～約２４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、損傷後、約２４時間～約２８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらなる実施形態において、アッセイは、損傷後、約２４時間～約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、損傷後、約２８時間～約３２時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、損傷後、約３２時間～約３６時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、損傷後、約３６時間～約４０時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、損傷後、約４０時間～約４４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、損傷後、約４４～約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。

【０１２３】

上記において記載された方法についての、さらに別の実施形態において、（ａ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約１０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約６０ｐｇ／ｍＬである；（ｂ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約１５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約７０ｐｇ／ｍＬである；（ｃ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約１５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約９０ｐｇ／ｍＬである；（ｄ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約１５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約１５０ｐｇ／ｍＬである；（ｅ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約２０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約６０ｐｇ／ｍＬである；（ｆ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約３０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約７０ｐｇ／ｍＬである；又は（ｇ）ＧＦＡＰの基準レベルは、約３０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約１１０ｐｇ／ｍＬである。

【０１２４】

上記において記載された方法についての、なおさらに別の実施形態において、（ａ）試料は、損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルは、約１５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、約７０ｐｇ／ｍＬである；（ｂ）試料は、損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルは、約３０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、約７０ｐｇ／ｍＬである；（ｃ）試料は、損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルは、約４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、約１００ｐｇ／ｍＬである；（ｄ）試料は、損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルは、約１５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、約９０ｐｇ／ｍＬである；（ｅ）試料は、損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルは、約１５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、約１５０ｐｇ／ｍＬである；（ｆ）試料は、損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルは、約３０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、約１１０ｐｇ／ｍＬである；（ｇ）試料は、損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルは、約１０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、約６０ｐｇ／ｍＬである；（ｈ）試料は、損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルは、約２０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、約６０ｐｇ／ｍＬである；（ｉ）試料は、損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルは、約３０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、約１１０ｐｇ／ｍＬである。

【０１２５】

上記において記載された方法についての、別の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約９０％以上の感度及び約３５％以上の特異度を有

するアッセイにより決定される。
【０１２６】
上記において記載された方法についての、さらに別の実施形態において、試料は、損傷後、約４時間～約１６時間以内に、対象から得られうる。
【０１２７】
なおさらに別の実施形態において、上記において記載された方法のアッセイは、ＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１を、個別に測定又は検出するアッセイと比較して、少なくとも３％高い感度及び少なくとも１７％高い特異度を有する。
【０１２８】
上記において記載された方法についての、なおさらに別の実施形態において、
試料は、損傷後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約３０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約１１０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイは、９２％以上の感度及び９９％以上の特異度を有する；又は
試料は、損傷後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約３０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約１１０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイは、９０％以上の感度及び９９％以上の特異度を有する；又は
試料は、損傷後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約１００ｐｇ／ｍＬであり；方法は、９０％以上の感度及び９４％以上の特異度を有する；又は
試料は、損傷後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約１５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約１５０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイは、９５％以上の感度及び８２％以上の特異度を有する；又は
試料は、損傷後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約２０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約６０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイは、９５％以上の感度及び６５％以上の特異度を有する。
【０１２９】
上記において記載された方法において、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、イムノアッセイ又は臨床化学アッセイを使用して、測定又は検出されうる。代替的に、上記において記載された方法において、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、単一分子検出アッセイを使用して、測定又は検出されうる。
【０１３０】
上記において記載された方法についての、さらに別の実施形態において、ＧＦＡＰのレベルの測定は、
（ｄ）試料を、同時に、又は逐次的に、任意の順序において、
（１）ＧＦＡＰ上又はＧＦＡＰ断片上のエピトープに結合して、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原複合体を形成する、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体、及び
（２）検出可能な標識を含み、ＧＦＡＰ捕捉抗体が結合していないＧＦＡＰ上のエピトープに結合して、ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体を形成する、少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体
と接触させて、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体を形成すること；並びに
（ｅ）ＧＦＡＰの、試料中量又は試料中濃度を、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体内の検出可能な標識により発生したシグナルに基づき測定すること
を含む。
【０１３１】
さらに別の実施形態において、上記において同定された方法における、ＵＣＨ－Ｌ１の測定は、
（ａ）試料を、同時に、又は逐次的に、任意の順序において、

（１）ＵＣＨ－Ｌ１上又はＵＣＨ－Ｌ１断片上のエピトープに結合して、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原複合体を形成する、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体、及び

（２）検出可能な標識を含み、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体が結合していないＵＣＨ－Ｌ１上のエピトープに結合して、ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体を形成する、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体

と接触させて、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体を形成すること；並びに

（ｆ）ＵＣＨ－Ｌ１の、試料中量又は試料中濃度を、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体内の検出可能な標識により発生したシグナルに基づき測定すること

を含む。

【０１３２】

上記において記載された方法を使用する一態様において、対象は、軽度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する一態様において、対象は、中等度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、別の態様において、対象は、重度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、別の態様において、対象は、中等度～重度のＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、なおまたさらなる態様において、対象は、ＴＢＩを有さないと評価又は査定される。

【０１３３】

上記において記載された方法は、ＴＢＩ（例えば、軽度、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩなど）を有すると評価又は査定されたヒト対象を、ＴＢＩのための処置（例えば、手術による処置、治療的処置又はこれらの組合せ）により処置するステップをさらに含みうる。当技術分野において公知であり、本明細書においてさらに記載された、任意のこのような処置が使用されうる。さらに、さらなる態様において、ＴＢＩについて処置された任意の対象はまた、任意選択的に、任意の処置コース中に、又はこの後において、モニタリングもされうる。代替的に、前記方法は、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを有すると評価された対象（まだ今のところ、処置を受けていない場合がある対象など）をモニタリングするステップをさらに含みうる。

【０１３４】

上記において記載された方法において、試料は、全血試料、血清試料、脳脊髄液試料及び血漿試料からなる群から選択されうる。一部の実施形態において、試料は、全血試料である。一部の実施形態において、試料は、血漿試料である。さらに他の実施形態において、試料は、血清試料である。このような試料は、様々な方式で得られうる。例えば、試料は、対象が、物理的振盪、閉鎖性頭部外傷若しくは開放性頭部外傷をもたらす外部の機械的力若しくは他の力、１回以上の転倒、爆発若しくは爆破による鈍的衝撃により引き起こされた頭部損傷又は他の種類の鈍力外傷を負った後において得られうる。代替的に、試料は、対象が、化学物質、毒素又は化学物質と毒素との組合せを摂取した、又はこれらへと曝露された後において得られうる。化学物質又は毒素の例は、火、カビ、アスベスト、害虫駆除剤、殺虫剤、有機溶剤、塗料、糊、ガス、有機金属、乱用薬物又はこれらの１つ以上の組合せである。なおさらに、試料は、自己免疫疾患、代謝性障害、脳腫瘍、低酸素症、ウイルス、髄膜炎、水頭症又はこれらの組合せを患う対象から得られうる。

【０１３５】

上記において記載された方法のうちのいずれかは、ヒト対象の臨床状態、ヒト対象の検査値、軽度、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩの罹患についてのヒト対象の分類、ヒト対象による、低レベル又は高レベルのＵＣＨ－Ｌ１、ＧＦＡＰ並びに／又はＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰの呈示並びにヒト対象が、頭部損傷を負った可能性がある、任意の事象のタイミングからなる群から選択される因子に関わらず、任意のヒト対象に対して実行されうる。

【０１３６】
上記において記載された方法において、アッセイは、イムノアッセイである。一部の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、全血である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、血清である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血漿である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血漿である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、血漿である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、血漿である。
【０１３７】
さらに別の態様において、本開示は、頭部への損傷を負った、又は負った可能性があるヒト対象に対して、頭部核磁気共鳴イメージング（ＭＲＩ）手順を実施するのかどうかの決定の一助となる又はこれを決定する方法に関する。方法は、
実際の損傷又は推測される損傷の後、約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して、アッセイを実施して、グリア原線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）の試料中レベルと、ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）の試料中レベルとの組合せを測定又は検出するステップ；及び
（ａ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１５ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満であり、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約５０ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満である場合に、対象が、ＭＲＩ手順を必要としないと決定するステップ；又は
（ｂ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１５ｐｇ／ｍＬ～約１０００ｐｇ／ｍＬの基準レベルと等しく、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約５０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｇ／ｍＬの基準レベルと等しい場合に、対象が、ＭＲＩ手順を必要とする可能性が、そうでない可能性より高いと決定するステップ；又は
（ｃ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１０００ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高く、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約２０００ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高い場合に、対象が、ＭＲＩ手順を必要とする可能性が、そうでない可能性より高いと決定するステップ
を含む。
【０１３８】
上記において記載された方法において、対象は、アッセイが実施された後において、ＭＲＩを受けている場合があり、対象は、ＭＲＩ結果に基づき、ＴＢＩを有すると推測される。さらに別の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、陰性のＭＲＩ結果と相関する。
【０１３９】
上記において記載された方法の、一実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約０～約４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、

対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１６時間～約２０時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約２０時間～約２４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約２４時間～約２８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらなる実施形態において、アッセイは、損傷又は推測される損傷の後、約２４時間～約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約２８時間～約３２時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約３２時間～約３６時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約３６時間～約４０時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４０時間～約４４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４４～約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。

【０１４０】

ＭＲＩを実施するのかどうかを決定又は査定するための、上記において記載された方法において、対象は、実施されている、又は既に（アッセイが実施される前を意味する）実施されたＭＲＩ又はＣＴスキャンに基づき、外傷性脳損傷を有することが推測されうる。例えば、対象の医学的状態（患者が意識不明である場合など）に応じて、ＭＲＩ又はＣＴスキャンは、対象が、救急治療室、外傷センター又は他の施設に到着した直後に、対象がＴＢＩを有するのかどうかを評価及び／又は査定するために行われうる。このようなＭＲＩ又はＣＴスキャンは、対象が、軽度、中等度、又は中等度～重度のＴＢＩを有するのかどうかを確認及び決定するために、アッセイが実施される前に実施されうる。アッセイが実施された後に、医師による（又は他の医療従事者による）ＴＢＩの管理（例えば、手術による介入及び／又は薬理学的介入が要求されうるのかどうかを決定するなどのため）の一部としてのアッセイの結果に基づき、１回以上の、後続のＭＲＩ（又はＣＴスキャン）が実施されうる。

【０１４１】

上記の方法についての、ある特定の態様において、対象は、ＭＲＩに基づき、外傷性脳損傷を有することが推測されうる。例えば、対象は、ＭＲＩに基づき、軽度ＴＢＩを有することが推測されうる。代替的に、対象は、ＭＲＩに基づき、中等度ＴＢＩを有することが推測されうる。代替的に、対象は、ＭＲＩに基づき、重度ＴＢＩを有することが推測されうる。代替的に、対象は、ＭＲＩに基づき、中等度～重度のＴＢＩを有することが推測されうる。なおさらに、対象は、ＭＲＩに基づき、ＴＢＩを有さないことが推測されうる。

【０１４２】

上記において記載された方法についての、なおさらに別の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約８０％～約９８％の感度及び約３０％～約８５％の特異度を有するアッセイにより決定される。

【０１４３】

上記において記載された方法についての、さらなる実施形態において対象は、アッセイが実施される前に、陰性のＣＴスキャン結果を受けている場合がある。

【０１４４】

上記において記載された方法を使用する一態様において、対象は、軽度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する一態様において、対象は、中等度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する

、別の態様において、対象は、重度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、別の態様において、対象は、中等度～重度のＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、なおまたさらなる態様において、対象は、ＴＢＩを有さないと評価又は査定される。

【０１４５】

上記において記載された方法は、ＴＢＩ（例えば、軽度、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩなど）を有すると評価又は査定されたヒト対象を、ＴＢＩのための処置（例えば、手術による処置、治療的処置又はこれらの組合せ）により処置するステップをさらに含みうる。当技術分野において公知であり、本明細書においてさらに記載された、任意のこのような処置が使用されうる。さらに、さらなる態様において、ＴＢＩについて処置された任意の対象はまた、任意選択的に、任意の処置コース中に、又はこの後において、モニタリングもされうる。代替的に、前記方法は、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを有すると評価された対象（まだ今のところ、処置を受けていない場合がある対象など）をモニタリングするステップをさらに含みうる。

【０１４６】

上記において記載された方法において、試料は、全血試料、血清試料、脳脊髄液試料及び血漿試料からなる群から選択されうる。一部の実施形態において、試料は、全血試料である。一部の実施形態において、試料は、血漿試料である。さらに他の実施形態において、試料は、血清試料である。このような試料は、様々な方式で得られうる。例えば、試料は、対象が、物理的振盪、閉鎖性頭部外傷若しくは開放性頭部外傷をもたらす外部の機械的力若しくは他の力、１回以上の転倒、爆発若しくは爆破による鈍的衝撃により引き起こされた頭部損傷又は他の種類の鈍力外傷を負った後において得られうる。代替的に、試料は、対象が、化学物質、毒素又は化学物質と毒素との組合せを摂取した、又はこれらへと曝露された後において得られうる。化学物質又は毒素の例は、火、カビ、アスベスト、害虫駆除剤、殺虫剤、有機溶剤、塗料、糊、ガス、有機金属、乱用薬物又はこれらの１つ以上の組合せである。なおさらに、試料は、自己免疫疾患、代謝性障害、脳腫瘍、低酸素症、ウイルス、髄膜炎、水頭症又はこれらの組合せを患う対象から得られうる。

【０１４７】

上記において記載された方法のうちのいずれかは、ヒト対象の臨床状態、ヒト対象の検査値、軽度、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩの罹患についてのヒト対象の分類、ヒト対象による、低レベル又は高レベルのＵＣＨ－Ｌ１、ＧＦＡＰ並びに／又はＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰの呈示並びにヒト対象が、頭部損傷を負った可能性がある、任意の事象のタイミングからなる群から選択される因子に関わらず、任意のヒト対象に対して実行されうる。

【０１４８】

上記において記載された方法において、アッセイは、イムノアッセイである。一部の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、全血である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、血清である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血漿である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオ

ブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血漿である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、血漿である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、血漿である。

【０１４９】

さらに別の態様において、本開示は、頭部損傷を負った、又は負った可能性があるヒト対象の転帰を予測する一助となる、又は予測するための方法に関する。方法は、

実際の損傷又は推測される損傷の後、約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して、アッセイを実施して、グリア原線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）の試料中レベルと、ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）の試料中レベルとの組合せを測定又は検出するステップ；及び

ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約８０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの基準レベルと等しく、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約１３０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの基準レベルと等しい場合に、対象について、思わしくない転帰を予測する可能性が、そうでない可能性より高いステップ

を含む。

【０１５０】

上記において記載された方法についての、別の実施形態において、対象は、方法が実施された後において、ＧＯＳＥ（Ｅｘｔｅｎｄｅｄ　Ｇｌａｓｇｏｗ　Ｏｕｔｃｏｍｅ　Ｓｃａｌｅ）スコアを受けている場合があり、対象は、ＧＯＳＥスコアに基づき、転帰不良を有すると推測される。さらに別の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、１のＧＯＳＥスコアに基づき、転帰不良を有する対象と相関する。

【０１５１】

上記において記載された方法の、一実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約０～約４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１６時間～約２０時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約２０時間～約２４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約２４時間～約２８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらなる実施形態において、アッセイは、損傷又は推測される損傷の後、約２４時間～約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約２８時間～約３２時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約３２時間～約３６時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約３６時間～約４０時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおまたさらなる実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４０時間～約４４時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。なおさらに別の実施形態において、アッセイは、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４４～約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して実施される。

【０１５２】

上記において記載された方法についての、なおさらに別の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約８０％～約９７％の感度及び約３０％～約９５％の特異度を有するアッセイにより決定される。

【０１５３】
上記において記載された方法において、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、イムノアッセイ又は臨床化学アッセイを使用して測定又は検出される。代替的に、上記において記載された方法において、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、単一分子検出アッセイを使用して測定又は検出される。
【０１５４】
上記において記載された方法についての、さらに別の実施形態において、ＧＦＡＰのレベルの測定は、
（ｃ）試料を、同時に、又は逐次的に、任意の順序において、
（１）ＧＦＡＰ上又はＧＦＡＰ断片上のエピトープに結合して、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原複合体を形成する、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体、及び
（２）検出可能な標識を含み、ＧＦＡＰ捕捉抗体が結合していないＧＦＡＰ上のエピトープに結合して、ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体を形成する、少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体
と接触させて、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体を形成すること；並びに
（ｄ）ＧＦＡＰの、試料中量又は試料中濃度を、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体内の検出可能な標識により発生したシグナルに基づき測定すること
を含む。
【０１５５】
さらに別の実施形態において、上記において同定された方法における、ＵＣＨ－Ｌ１の測定は、
（ｃ）試料を、同時に、又は逐次的に、任意の順序において、
（１）ＵＣＨ－Ｌ１上又はＵＣＨ－Ｌ１断片上のエピトープに結合して、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原複合体を形成する、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体、及び
（２）検出可能な標識を含み、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体が結合していないＵＣＨ－Ｌ１上のエピトープに結合して、ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体を形成する、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体
と接触させて、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体を形成すること；並びに
（ｄ）ＵＣＨ－Ｌ１の、試料中量又は試料中濃度を、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体内の検出可能な標識により発生したシグナルに基づき測定すること
を含む。
【０１５６】
上記において記載された方法を使用する一態様において、対象は、軽度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する一態様において、対象は、中等度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、別の態様において、対象は、重度ＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、別の態様において、対象は、中等度～重度のＴＢＩを有すると評価又は査定される。上記において記載された方法を使用する、なおまたさらなる態様において、対象は、ＴＢＩを有さないと評価又は査定される。
【０１５７】
上記において記載された方法は、ＴＢＩ（例えば、軽度、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩなど）を有すると評価又は査定されたヒト対象を、ＴＢＩのための処置（例えば、手術による処置、治療的処置又はこれらの組合せ）により処置するステップをさらに含みうる。当技術分野において公知であり、本明細書においてさらに記載された、任意の

このような処置が使用されうる。さらに、さらなる態様において、ＴＢＩについて処置された任意の対象はまた、任意選択的に、任意の処置コース中に、又はこの後において、モニタリングもされうる。代替的に、前記方法は、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを有すると評価された対象（まだ今のところ、処置を受けていない場合がある対象など）をモニタリングするステップをさらに含みうる。

【０１５８】

上記において記載された方法において、試料は、全血試料、血清試料、脳脊髄液試料及び血漿試料からなる群から選択されうる。一部の実施形態において、試料は、全血試料である。一部の実施形態において、試料は、血漿試料である。さらに他の実施形態において、試料は、血清試料である。このような試料は、様々な方式で得られうる。例えば、試料は、対象が、物理的振盪、閉鎖性頭部外傷若しくは開放性頭部外傷をもたらす外部の機械的力若しくは他の力、１回以上の転倒、爆発若しくは爆破による鈍的衝撃により引き起こされた頭部損傷又は他の種類の鈍力外傷を負った後において得られうる。代替的に、試料は、対象が、化学物質、毒素又は化学物質と毒素との組合せを摂取した、又はこれらへと曝露された後において得られうる。化学物質又は毒素の例は、火、カビ、アスベスト、害虫駆除剤、殺虫剤、有機溶剤、塗料、糊、ガス、有機金属、乱用薬物又はこれらの１つ以上の組合せである。なおさらに、試料は、自己免疫疾患、代謝性障害、脳腫瘍、低酸素症、ウイルス、髄膜炎、水頭症又はこれらの組合せを患う対象から得られうる。

【０１５９】

上記において記載された方法のうちのいずれかは、ヒト対象の臨床状態、ヒト対象の検査値、軽度、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩの罹患についてのヒト対象の分類、ヒト対象による、低レベル又は高レベルのＵＣＨ－Ｌ１、ＧＦＡＰ並びに／又はＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰの呈示並びにヒト対象が、頭部損傷を負った可能性がある、任意の事象のタイミングからなる群から選択される因子に関わらず、任意のヒト対象に対して実行されうる。

【０１６０】

上記において記載された方法において、アッセイは、イムノアッセイである。一部の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイである。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、全血である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、全血である。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、血清である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、血清である。さらに他の実施形態において、アッセイは、イムノアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血漿である。さらに他の実施形態において、アッセイは、ポイントオブケアアッセイであり、対象は、ヒトであり、試料は、血漿である。さらに他の実施形態において、アッセイは、臨床化学アッセイであり、試料は、血漿である。なおさらなる実施形態において、アッセイは、単一分子検出アッセイであり、試料は、血漿である。

【図面の簡単な説明】

【０１６１】

【図１Ａ】中等度／重度のＴＢＩ群、軽度ＴＢＩ群並びに軽度及び中等度／重度のＴＢＩ群について、損傷後４８時間以内の多様な時点における、平均値ＧＦＡＰレベルを描示する代表的グラフを含む図である。

【図１Ｂ】中等度／重度のＴＢＩ群、軽度ＴＢＩ群並びに軽度及び中等度／重度のＴＢＩ

群について、損傷後４８時間以内の多様な時点における、平均値ＵＣＨ－Ｌ１レベルを描示する代表的グラフを含む図である。
【図２Ａ】軽度ＴＢＩ群、健常対照群及び整形外科損傷対照群について、損傷後４８時間以内の多様な時点における、平均値ＧＦＡＰレベルを描示する代表的グラフを含む図である。
【図２Ｂ】軽度ＴＢＩ群、健常対照群及び整形外科損傷対照群について、損傷後４８時間以内の多様な時点における、平均値ＵＣＨ－Ｌ１レベルを描示する代表的グラフを含む図である。
【図３Ａ】ＧＣＳスコア（１３～１５＝軽度ＴＢＩ；９～１２＝中等度ＴＢＩ；８以下＝重度ＴＢＩ）を割り当てられた対象における、時点ごとの、ＧＦＡＰレベル中央値についての代表的プロットを含む図である。
【図３Ｂ】ＧＣＳスコア（１３～１５＝軽度ＴＢＩ；９～１２＝中等度ＴＢＩ；８以下＝重度ＴＢＩ）を割り当てられた対象における、時点ごとの、ＧＦＡＰレベル中央値についての代表的プロットを含む図である。
【図３Ｃ】イメージング結果（ＣＴスキャン結果）に基づく対象における、時点ごとの、ＧＦＡＰレベル中央値についての代表的プロットを含む図である。
【図３Ｄ】イメージング結果（ＭＲＩ結果）に基づく対象における、時点ごとの、ＧＦＡＰレベル中央値についての代表的プロットを含む図である。
【図４Ａ】ＧＣＳスコア（１３～１５＝軽度ＴＢＩ；９～１２＝中等度ＴＢＩ；８以下＝重度ＴＢＩ）を割り当てられた対象における、時点ごとの、ＧＦＡＰレベル中央値についての代表的プロットを含む図である。
【図４Ｂ】ＧＣＳスコア（１３～１５＝軽度ＴＢＩ；９～１２＝中等度ＴＢＩ；８以下＝重度ＴＢＩ）を割り当てられた対象）における、時点ごとの、ＧＦＡＰレベル中央値についての代表的プロットを含む図である。
【図４Ｃ】イメージング結果（ＣＴスキャン結果）に基づく対象における、時点ごとの、ＧＦＡＰレベル中央値についての代表的プロットを含む図である。
【図４Ｄ】イメージング結果（ＭＲＩ結果）に基づく対象における、時点ごとの、ＧＦＡＰレベル中央値についての代表的プロットを含む図である。
【図５Ａ】ＧＯＳＥスコアに従い分類された対象における、ＧＦＡＰレベルについての代表的箱髭図を含む図である。
【図５Ｂ】ＧＯＳＥスコアに従い分類された対象における、ＵＣＨ－Ｌ１レベルについての代表的箱髭図を含む図である。
【図６】ＣＴスキャン結果に基づき、ＴＢＩを有すると診断された対象（ＣＴ陽性）及び健常対照の対象（ＣＴ陰性）における、多様なＧＦＡＰレベル及びＵＣＨ－Ｌ１レベルについて、アッセイの感度及び特異度を比較する代表的グラフである。
【図７】ＧＣＳスコアを割り当てられた対象における、多様なＧＦＡＰレベル及びＵＣＨ－Ｌ１レベルについて、アッセイの感度及び特異度を比較する代表的グラフであり；≦１２のＧＣＳスコアを割り当てられた対象は、陽性（中等度又は重度のＴＢＩ）であり、１２＞のＧＣＳスコアを割り当てられた対象は、陰性（軽度ＴＢＩ又は健常対照）であった。
【図８】ＭＲＩ結果（陽性ＭＲＩ）に基づき、ＴＢＩを有すると診断された対象及び健常対照の対象（陰性のＭＲＩ）における、多様なＧＦＡＰレベル及びＵＣＨ－Ｌ１レベルについて、アッセイの感度及び特異度を比較する代表的グラフである。
【図９】ＧＯＳＥスコア（１＝ＴＢＩ／死）に基づき、ＴＢＩを有すると診断された対象及び健常対照の対象（８＝健常／回復した）における、多様なＧＦＡＰレベル及びＵＣＨ－Ｌ１レベルについて、アッセイの感度及び特異度を比較する代表的グラフである。
【図１０】ＭＲＩ結果に基づき、ＴＢＩを有すると診断された対象（陽性のＭＲＩ）及び整形外科損傷対照の対象（陰性のＭＲＩ）における、多様なＧＦＡＰレベル及びＵＣＨ－Ｌ１レベルについて、アッセイの感度及び特異度を比較する代表的グラフである。
【図１１】ＧＯＳＥスコアに基づき、ＴＢＩを有すると診断された対象（１＝ＴＢＩ／死）及び整形外科損傷対照の対象（８＝健常／回復）における、多様なＧＦＡＰレベル及び

ＵＣＨ－Ｌ１レベルについて、アッセイの感度及び特異度を比較する代表的グラフである。
【発明を実施するための形態】
【０１６２】
本開示は、頭部への損傷を負った、又は負った可能性がある対象の診断及び査定の一助となる又は対象を診断及び査定する方法に関する。特に、本開示は、対象が、頭部への損傷を負った、又は負った可能性がある４８時間後以内の、多様な時点において採取された試料中の、ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）のレベルと、グリア原線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）のレベルとの組合せを検出又は測定することにより、対象が、外傷性脳損傷（ＴＢＩ）を負っているのかどうかを決定するために、対象の診断及び査定の一助となる又は対象を診断及び査定するための方法を提示する。方法についての実施形態はまた、ＧＦＡＰのレベルと、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルとの組合せについての評価に基づき、頭部への損傷を負った、又は負った可能性がある対象が、磁気共鳴イメージング（ＭＲＩ）又は頭部コンピュータ断層撮影（ＣＴ）スキャンなどのイメージング手順から利益を得、したがって、これらを受けるのかどうかの決定の一助となる方法も含む。方法は、頭部への損傷又は頭部への推測される損傷から、約４８時間、例えば、０～約１２時間以内の時点において、ヒト対象から採取された、１つ以上の試料中の、ＧＦＡＰレベル及びＵＣＨ－Ｌ１レベルを検出するステップを伴いうる。頭部への損傷又は頭部への推測される損傷の後、最初の４８時間以内における、基準レベルより高い、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルの検出は、ヒト対象が、イメージング手順を受けるべき（すなわち、イメージング手順「を組み入れる」べき）であるのかどうかの決定の一助をもたらす。例えば、基準レベルより高い、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルを有するヒト対象はまた、陽性の頭部ＣＴスキャン又は陽性のＭＲＩを有する（例えば、頭蓋内病変が存在し、このため、潜在的なＴＢＩを指し示す）可能性が高いと同定され、頭部ＣＴスキャン又はＭＲＩを施されることから利益を得る場合がある。代替的に、ある特定のＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、さらなる医学的介入に対する必要「を除外する」のに使用されうる。例えば、基準レベルより低い、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルを有するヒト対象は、陰性の頭部ＣＴスキャン又は陰性のＭＲＩを有する（すなわち、頭蓋内病変が存在せず、このため、頭部ＣＴスキャン又はＭＲＩが必要とされない、又は実施されない）可能性が高いと同定されうる。
【０１６３】
本開示は、頭部への損傷又は頭部への推測される損傷から、４８時間以内の異なる時点において、ヒト対象から採取された、１つ以上の試料中の、ＧＦＡＰレベル及びＵＣＨ－Ｌ１レベルを検出するステップを伴う方法に関する。ＧＦＡＰのレベルと、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルとの組合せの上昇（ｉｎｃｒｅａｓｅ又はｅｌｅｖａｔｅｄ）の検出はまた、ある特定の種類のＴＢＩの診断の一助ともなりうる。例えば、特定の基準レベルより高い、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、対象が、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを有することを指し示す場合があり、同時に、基準レベルより低い、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルは、対象が、軽度ＴＢＩを有することを指し示しうる。場合によって、組み合わせたＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルはまた、整形外科損傷を負った対象がまた、軽度ＴＢＩも負っており、したがって、軽度ＴＢＩの存在又は非存在を診断するように、さらなる医学的介入を要求するのかどうかを決定する一助ともなりうる。
【０１６４】
本明細書の本節及び全開示において使用された節の小見出しは、構成上の目的だけのものであり、限定的であることを意図するものではない。
【０１６５】
１．定義
そうでないことが規定されない限りにおいて、本明細書において使用された、全ての技術用語及び科学用語は、当業者により一般に理解される意味と同じ意味を有する。齟齬が生じる場合は、定義を含む本文献に従う。本開示の実施又は試験において、本明細書において記載された方法及び材料と同様又は同等な方法及び材料も使用されうるが、下記にお

いて、好ましい方法及び材料について記載される。本明細書において言及された、全ての刊行物、特許出願、特許及び他の参考文献は、参照によりそれらの全体において組み込まれる。本明細書において開示された材料、方法及び例は、例示的なものであるに過ぎず、限定を意図するものではない。

【０１６６】

本明細書において使用された「～を含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅ（ｓ））」、「～を含む（ｉｎｃｌｕｄｅ（ｓ））」「～を有すること」、「～を有する」、「～でありうる」、「～を含有する」という用語は、さらなる行為又は構造の可能性を除外しない、オープンエンドな移行句、移行用語又は移行語である。単数形の「ある（ａ）」、「ある（ａｎ）」及び「その」は、文脈によりそうでないことが明らかに指示されない限りにおいて、複数の指示対象を含む。本開示はまた、明示されているのであれ、そうでないのであれ、本明細書において提示された実施形態又は要素「を含み」、これら「からなり」、これら「から本質的になる」、他の実施形態も想定する。

【０１６７】

本明細書において、数値範囲を列挙するために、それらの間に介在する、同じ精度を伴う各数が明示的に想定される。例えば、６～９の範囲について、６及び９に加えて、７及び８の数も想定され、６．０～７．０の範囲について、６．０、６．１、６．２、６．３、６．４、６．５、６．６、６．７、６．８、６．９及び７．０の数が、明示的に想定される。

【０１６８】

本明細書において「アフィニティー成熟抗体」とは、標的抗原に対する抗体のアフィニティー（すなわち、K_D、k_d又はk_a）の変更を有さない親抗体と比較した改善を結果としてもたらす、１つ以上のＣＤＲ内の、１カ所以上の変更を伴う抗体を指すように使用される。例示的なアフィニティー成熟抗体は、標的抗原に対する、ナノモル単位なお又はピコモル単位のアフィニティーを有する。ＢｉｏＤｉｓｐｌａｙ法を使用して調製されたコンビナトリアル抗体ライブラリーのスクリーニングを含め、アフィニティー成熟抗体を作製するための様々な手順が当技術分野において公知である。例えば、Ｍａｒｋｓら、ＢｉｏＴｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、１０：７７９～７８３（１９９２）は、ＶＨとＶＬとのドメインシャッフリングによるアフィニティー成熟について記載している。ＣＤＲ残基及び／又はフレームワーク残基のランダム突然変異誘発については、Ｂａｒｂａｓら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、９１：３８０９～３８１３（１９９４）；Ｓｃｈｉｅｒら、Ｇｅｎｅ、１６９：１４７～１５５（１９９５）；Ｙｅｌｔｏｎら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１５５：１９９４～２００４（１９９５）；Ｊａｃｋｓｏｎら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１５４（７）：３３１０～３３１９（１９９５）及びＨａｗｋｉｎｓら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、２２６：８８９～８９６（１９９２）により記載されている。選択的突然変異誘発位置及び活性増強アミノ酸残基を伴う接触位置はたは超変異位置における選択的突然変異については、米国特許第６，９１４，１２８Ｂ１号において記載されている。

【０１６９】

本明細書において使用された「抗体（ａｎｔｉｂｏｄｙ）」及び「抗体（ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ）」とは、モノクローナル抗体、単一特異的抗体（例えば、モノクローナル抗体でありうる、又は一般的な生殖細胞系列細胞からそれらを作製する手段以外の手段によってもまた作製されうる）、多特異性抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体（完全ヒト化抗体又は部分的ヒト化抗体）、鳥類（例えば、アヒル又はガチョウ）抗体、サメ抗体、クジラ抗体及び非霊長動物（例えば、ウシ、ブタ、ラクダ、ラマ、ウマ、ヤギ、ウサギ、ヒツジ、ハムスター、モルモット、ネコ、イヌ、ラット、マウスなど）抗体又は非ヒト霊長動物（例えば、サル、チンパンジーなど）抗体を含む哺乳動物抗体などであるがこれらに限定されない動物抗体、組換え抗体、キメラ抗体、単鎖Ｆｖ（「ｓｃＦｖ」）、単鎖抗体、単一ドメイン抗体、Ｆａｂ断片、Ｆ（ａｂ’）断片、Ｆ（ａｂ’）$_2$断片、ジスルフィド連結型Ｆｖ（「ｓｄＦｖ」）及び抗イディオタイプ（「抗Ｉｄ」）抗体、二重ドメイン抗体、二重可変

ドメイン（ＤＶＤ）又は三重可変ドメイン（ＴＶＤ）抗体（二重可変ドメイン免疫グロブリン及びそれらを作り出すための方法について、それらの各々の内容が参照により本明細書に組み込まれる、Ｗｕ，Ｃ．ら、Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、２５（１１）：１２９０～１２９７（２００７）及びＰＣＴ国際出願第２００１／０５８９５６号において記載されている）、又はドメイン抗体（ｄＡｂ）（例えば、Ｈｏｌｔら（２０１４）、Ｔｒｅｎｄｓ　ｉｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、２１：４８４～４９０において記載されているｄＡｂなど）を指し、例えば、軟骨魚類及びラクダ科動物における、天然の単一ドメイン抗体であるｓｄＡｂ、若しくは合成、例えば、ナノボディーであるｓｄＡｂ、ＶＨＨ、又は他のドメイン構造及び上記のうちのいずれかの、機能的に活性なエピトープ結合性断片を含む。特に、抗体は、免疫グロブリン分子及び免疫グロブリン分子の免疫活性断片、すなわち、解析物結合性部位を含有する分子を含む。免疫グロブリン分子は、任意の種類（例えば、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＡ及びＩｇＹ）、クラス（例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１及びＩｇＡ２）又はサブクラスの分子でありうる。簡潔さのために、本明細書において、解析物に対する抗体は、「抗解析物抗体」又は、単に、「解析物抗体」（例えば、抗ＧＦＡＰ抗体、ＧＦＡＰ抗体、抗ＵＣＨ－Ｌ１抗体又はＵＣＨ－Ｌ１抗体）と称されることが多い。

【０１７０】

本明細書において使用された「抗体断片」とは、抗原結合性部位又は可変領域を含む、無傷抗体の部分を指す。部分は、無傷抗体のＦｃ領域の重鎖定常ドメイン（すなわち、抗体アイソタイプに応じて、ＣＨ２、ＣＨ３又はＣＨ４）を含まない。抗体断片の例は、Ｆａｂ断片、Ｆａｂ’断片、Ｆａｂ’－ＳＨ断片、Ｆ（ａｂ’）$_2$断片、Ｆｄ断片、Ｆｖ断片、ダイアボディー、単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）分子、１つだけの軽鎖可変ドメインを含有する単鎖ポリペプチド、軽鎖可変ドメインの３つのＣＤＲを含有する単鎖ポリペプチド、１つだけの重鎖可変領域を含有する単鎖ポリペプチド及び重鎖可変領域の３つのＣＤＲを含有する単鎖ポリペプチドを含むがこれらに限定されない。

【０１７１】

「曲線下面積」又は「ＡＵＣ」とは、ＲＯＣ曲線下面積を指す。ＲＯＣ曲線下ＡＵＣとは、精度についての尺度である。ＡＵＣが１であることが、完全な検査を表すのに対し、ＡＵＣが０．５であることは、非有意な検査を表す。好ましいＡＵＣは、少なくとも約０．７００、少なくとも約０．７５０、少なくとも約０．８００、少なくとも約０．８５０、少なくとも約０．９００、少なくとも約０．９１０、少なくとも約０．９２０、少なくとも約０．９３０、少なくとも約０．９４０、少なくとも約０．９５０、少なくとも約０．９６０、少なくとも約０．９７０、少なくとも約０．９８０、少なくとも約０．９９０又は少なくとも約０．９９５でありうる。

【０１７２】

本明細書において、「ビーズ」と「粒子」とは、互換的に使用され、実質的に球形の固体支持体を指す。ビーズ又は粒子の一例は、マイクロ粒子である。本明細書において使用されうるマイクロ粒子は、当技術分野において公知である、任意の種類でありうる。例えば、ビーズ又は粒子は、磁気ビーズ又は磁気粒子でありうる。磁気ビーズ／粒子は、強磁性、フェリ磁性、常磁性、超常磁性又は磁性流体でありうる。例示的な強磁性材料は、Ｆｅ、Ｃｏ、Ｎｉ、Ｇｄ、Ｄｙ、CrO_2、ＭｎＡｓ、ＭｎＢｉ、ＥｕＯ及びＮｉＯ／Ｆｅを含む。フェリ磁性材料の例は、$NiFe_2O_4$、$CoFe_2O_4$、Fe_3O_4（又は$FeO \cdot Fe_2O_3$）を含む。ビーズは、磁性であり、１つ以上の非磁性層により取り囲まれた、固体コア部分を有しうる。代替的に、磁性部分は、非磁性コアの周囲の層でありうる。マイクロ粒子は、本明細書において記載された方法において働く、任意のサイズ、例えば、約０．７５～約５ｎｍ又は約１～約５ｎｍ又は約１～約３ｎｍでありうる。

【０１７３】

本明細書において、「結合性タンパク質」とは、例えば、ポリペプチド、抗原、化合物若しくは他の分子、又は任意の種類の基質のような、結合パートナーに結合し、これと共に複合体を形成する、単量体又は多量体のタンパク質を指すように使用される。結合性タ

ンパク質は、結合パートナーに特異的に結合する。結合性タンパク質は、抗体のほか、当技術分野において公知であり、本明細書の下記において記載される、これらの抗原結合性断片及びこれらの他の多様な形態及び誘導体並びに抗原分子又は抗原分子上の特定の部位（エピトープ）に結合する、１つ以上の抗原結合性ドメインを含む他の分子を含む。したがって、結合性タンパク質は、四量体の免疫グロブリンである抗体、ＩｇＧ分子、ＩｇＧ１分子、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ＣＤＲグラフト抗体、ヒト化抗体、アフィニティー成熟抗体及び抗原に結合する能力を保持する、任意のこのような抗体の断片を含むがこれらに限定されない。

【０１７４】

本明細書において、「二特異性抗体」とは、それらのうちの１つだけが機能的な二特異性抗体である複数の異なる免疫グロブリン分子種を結果としてもたらす形で、クァドローマ技術（Ｍｉｌｓｔｅｉｎら、Ｎａｔｕｒｅ、３０５（５９３４）：５３７～５４０（１９８３）を参照されたい）、２つの異なるモノクローナル抗体の化学的コンジュゲーション（Ｓｔａｅｒｚら、Ｎａｔｕｒｅ、３１４（６０１２）：６２８～６３１（１９８５）を参照されたい）、又はＦｃ領域内の突然変異を導入するＫＩＨ（ｋｎｏｂ－ｉｎｔｏ－ｈｏｌｅ）法若しくは同様の手法（Ｈｏｌｌｉｇｅｒら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、９０（１４）：６４４４～６４４８（１９９３）を参照されたい）により作出された全長抗体を指すように使用される。二特異性抗体は、その２つの結合性アーム（ＨＣ／ＬＣの１つの対）のうちの１つにおける、１つの抗原（又はエピトープ）に結合し、その第２のアーム（ＨＣ／ＬＣの異なる対）における、異なる抗原（又はエピトープ）に結合する。この定義により、二特異性抗体は、２つの顕著に異なる抗原結合性アーム（特異性配列及びＣＤＲ配列の両方）を有し、それが結合する各抗原について一価である。

【０１７５】

本明細書において、「ＣＤＲ」とは、抗体の可変配列内の「相補性決定領域」を指すように使用される。重鎖及び軽鎖の可変領域の各々において、３つずつのＣＤＲが存在する。重鎖又は軽鎖のＮ末端から順に、これらの領域は、可変領域の各々について、「ＣＤＲ１」、「ＣＤＲ２」及び「ＣＤＲ３」と表記されている。本明細書において使用された「ＣＤＲセット」という用語は、単一の可変領域において生じる、３つのＣＤＲの群であって、抗原に結合するＣＤＲの群を指す。したがって、抗原結合性部位は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域の各々に由来するＣＤＲセットを含む、６つのＣＤＲを含みうる。単一のＣＤＲ（例えば、ＣＤＲ１、ＣＤＲ２又はＣＤＲ３）を含むポリペプチドは、「分子認識単位」と称されうる。抗原－抗体複合体についての結晶構造解析は、ＣＤＲのアミノ酸残基が、結合した抗原との、広範な接触部を形成し、この場合、最も広範な抗原の接触部は、重鎖ＣＤＲ３との接触部であることを裏付けている。したがって、分子認識単位は、主に、抗原結合性部位の特異性の一因となりうる。一般に、ＣＤＲ残基は、抗原への結合に対する影響に、直接、かつ、極めて実質的に関与する。

【０１７６】

これらのＣＤＲの正確な境界は、異なるシステムに従い、異なる形で規定されている。Ｋａｂａｔ（Ｋａｂａｔら、「Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ」（Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ、Ｂｅｔｈｅｓｄａ、Ｍｄ．（１９８７）及び（１９９１））により記載されているシステムは、抗体の任意の可変領域へと適用可能である、明確な残基番号付けシステムを提示するだけではなく、また、３つのＣＤＲを規定する、正確な残基の境界も提示している。これらのＣＤＲは、「Ｋａｂａｔ ＣＤＲ」と称されうる。Ｃｈｏｔｈｉａ及び同僚（Ｃｈｏｔｈｉａ及びＬｅｓｋ、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、１９６：９０１～９１７（１９８７）；並びにＣｈｏｔｈｉａら、Ｎａｔｕｒｅ、３４２：８７７～８８３（１９８９））は、Ｋａｂａｔ ＣＤＲ内の、ある特定の下位部分（ｓｕｂ－ｐｏｒｔｉｏｎ）が、アミノ酸配列のレベルにおいて、大きな多様性を有するにもかかわらず、ほぼ同一なペプチド骨格のコンフォメーションを取ることを見出した。これらの下位部分

は、「Ｌ」及び「Ｈ」が、それぞれ、軽鎖領域及び重鎖領域を名指す、「Ｌ１」、「Ｌ２」及び「Ｌ３」、又は「Ｈ１」、「Ｈ２」及び「Ｈ３」と名指された。これらの領域は、「Ｃｈｏｔｈｉａ　ＣＤＲ」と称される場合があり、これらは、Ｋａｂａｔ　ＣＤＲと重複する境界を有する。Ｋａｂａｔ　ＣＤＲと重複するＣＤＲを規定する他の境界について、Ｐａｄｌａｎ、ＦＡＳＥＢ　Ｊ．、９：１３３～１３９（１９９５）；及びＭａｃＣａｌｌｕｍ、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、２６２（５）：７３２～７４５（１９９６）により記載されている。さらに他のＣＤＲの境界の定義は、本明細書のシステムの定義に厳密に従わない場合もあり、特定の残基若しくは残基群なお又は全ＣＤＲが、抗原への結合に、著明な影響を及ぼさないという予測又は実験による知見に照らして、短くなる場合もあり、長くなる場合もあるが、それでも、Ｋａｂａｔ　ＣＤＲと重複する。本明細書において使用された方法は、これらのシステムのうちのいずれに従い規定されたＣＤＲも用いうるが、ある特定の実施形態は、Ｋａｂａｔより規定されたＣＤＲ又はＣｈｏｔｈｉａにより規定されたＣＤＲを使用する。

【０１７７】

「構成要素（ｃｏｍｐｏｎｅｎｔ）」、「構成要素（ｃｏｍｐｏｎｅｎｔｓ）」又は「少なくとも１つの構成要素」とは、一般に、本明細書において記載された方法及び当技術分野において公知である他の方法に従う、患者の尿試料、全血試料、血清試料又は血漿試料のような被験試料についてのアッセイのためのキット内に含まれうる捕捉抗体、検出試薬又は検出コンジュゲート、較正物質、対照、感度パネル、容器、緩衝液、希釈剤、塩、酵素、酵素に対する補因子、検出試薬、前処理試薬／溶液、基質（例えば、溶液としての）、停止溶液などを指す。一部の構成要素は、溶液でありうる、又はアッセイにおける使用のための復元のために、凍結乾燥させられうる。

【０１７８】

本明細書において使用された「対照」とは、一般に、その目的が、測定システムが、許容可能な境界（例えば、一方の末端における、調査研究使用のためのアッセイに適切な尺度から、他方の末端における、市販のアッセイのための品質仕様により確立された解析的境界にわたる範囲の境界）内の結果をもたらし続けることを確認するために、測定システムの性能を査定することである試薬を指す。これを達成するために、対照は、患者結果を示すべきであり、任意選択的に、エラー（例えば、試薬の安定性、較正物質のばらつき、測定器のばらつきに起因するエラーなど）の、測定に対する影響を、何らかの形で評価すべきである。本明細書において使用された、「対照の対象」は、外傷性脳損傷（ＴＢＩ）を負っていない、１例以上の対象に関する。本明細書において使用された「整形外科損傷対照」は、整形外科損傷を負っているが、見かけのＴＢＩを負っていない、１例以上の対象に由来する試料又は情報に関する（例えば、これに基づく）。本明細書において使用された、「整形外科損傷対照の対象」は、整形外科損傷を負っているが、見かけのＴＢＩを負っていない、１例以上の対象に関する。場合によって、「整形外科損傷対照の対象」とは、それらの四肢損傷及び／又は骨盤損傷及び／又は肋骨骨折について、≦４（致死性ではない）の略式損傷スコアを有する成人整形外科患者である。本明細書において使用された「健常対照」は、健常であると考えられ、見かけのＴＢＩ又は整形外科損傷を負っていない、１例以上の対象に由来する試料又は情報に関する（例えば、これに基づく）。本明細書において使用された、「健常対照の対象」は、健常であると考えられ、見かけのＴＢＩ又は整形外科損傷を負っていない、１例以上の対象に関する。

【０１７９】

本明細書において使用された「～と相関させた」とは、「～と比較した」を指す。

【０１８０】

本明細書において使用された「ＣＴスキャン」とは、コンピュータ断層撮影（ＣＴ）スキャンを指す。ＣＴスキャンは、異なる角度から得られた、一連のＸ線画像を組み合わせ、コンピュータ処理を使用して、体内の骨、血管及び軟部組織についての断面画像又は切片を創出する。ＣＴスキャンは、Ｘ線ＣＴ、ポジトロン放射断層撮影（ＰＥＴ）、単一光子放射コンピュータ断層撮影（ＳＰＥＣＴ）、コンピュータ軸方向断層撮影（ＣＡＴスキ

ャン）又はコンピュータ支援断層撮影を使用しうる。ＣＴスキャンは、従来のＣＴスキャン又は渦巻き状／らせん状ＣＴスキャンでありうる。従来のＣＴスキャンにおいて、スキャンは、切片ごとに得られ、各切片のスキャンの後、停止及び次の切片への移動、例えば、腹部の上方から、骨盤への移動がなされる。従来のＣＴスキャンは、動きによるアーチファクトを回避するために、患者が息を止めることを要求する。渦巻き状／らせん状ＣＴスキャンは、連続スキャンであり、渦巻き状に得られ、スキャンされた画像が連続的であるので、工程がはるかに迅速である。

【０１８１】

本明細書において使用された、抗体の「誘導体」とは、純正抗体又は親抗体と比較した場合、そのアミノ酸配列に対する、１つ以上の修飾を有する抗体を指す場合があり、修飾ドメイン構造を呈しうる。誘導体は、標的（抗原）に特異的に結合することが可能なアミノ酸配列を採用するだけでなく、天然抗体内で見出された、典型的なドメイン構成を採用することもさらに可能でありうる。抗体誘導体の典型的な例は、他のポリペプチドへとカップリングさせた抗体、再配列された抗体ドメイン又は抗体の断片である。誘導体はまた、少なくとも１つのさらなる化合物、例えば、タンパク質ドメインも含むことが可能であり、前記タンパク質ドメインは、共有結合又は非共有結合により連結されている。連結は、当技術分野で公知の方法に従う遺伝子融合に基づきうる。抗体を含む融合タンパク質内に存在するさらなるドメインは、ペプチドリンカーであると有利な、可動性リンカーにより連結されることが好ましい場合があり、この場合、前記ペプチドリンカーは、さらなるタンパク質ドメインのＣ末端及び抗体のＮ末端又はこの逆の間の距離にわたるのに十分な長さである、複数の、親水性で、ペプチド結合されたアミノ酸を含む。抗体は、生物学的活性に適するコンフォメーションを有するか、又は、例えば、固体支持体、生物学的活性物質（例えば、サイトカイン又は成長ホルモン）、化学的薬剤、ペプチド、タンパク質若しくは薬物に選択的に結合する、エフェクター分子へと連結されうる。

【０１８２】

本明細書において「アッセイにより決定された」とは、任意の適切なアッセイによる、基準レベルの決定を指すように使用される。一部の実施形態において、基準レベルの決定は、対象に由来する試料へと適用されるアッセイと同じ種類のアッセイにより（例えば、イムノアッセイ、臨床化学アッセイ、単一分子検出アッセイ、タンパク質免疫沈降、免疫電気泳動、化学分析、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ及びウェスタンブロット解析又はタンパク質免疫染色、電気泳動解析、タンパク質アッセイ、競合的結合アッセイ、機能的タンパク質アッセイ又は高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）若しくは液体クロマトグラフィー－質量分析（ＬＣ／ＭＳ）のような、クロマトグラフィー法若しくは分光法により）達成されうる。一部の実施形態において、基準レベルの決定は、対象に由来する試料へと適用されるアッセイと同じ種類のアッセイにより、同じアッセイ条件下において達成されうる。本明細書において言及される通り、本開示は、例示的な基準レベルを提示する（例えば、異なる時点における基準レベルを比較することにより計算される）。本明細書における本開示を、他のアッセイに適合させて、本開示により提示された記載に基づき、これらの他のアッセイについて、アッセイ特異的な基準レベルを得ることは、十分に、当業者の技術の範囲内にある。例えば、頭部への損傷を負ったことが既知のヒト対象から得られた試料（そして、より特定すると、（ｉ）軽度ＴＢＩ及び／又は（ｉｉ）中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを負ったことが既知のヒト対象から得られた試料）及び頭部への損傷を負っていないことが既知のヒト対象から得られた試料を含むトレーニング試料のセットは、アッセイ特異的な基準レベルを得るのに使用されうる。本明細書において、「アッセイにより決定され」、列挙されたレベルの「感度」及び／又は「特異度」を有する、基準レベルは、前記基準レベルが、本開示の方法において採用された場合に、列挙された感度及び／又は特異度についての方法をもたらすことが決定された、基準レベルを指すように使用されることが理解される。例えば、複数の異なる可能な基準レベルを使用する、アッセイデータについての統計学的解析の反復により、本開示の方法において与えられた基準レベルと関連する感度及び特異度を決定することは、十分に、当業者の技術の範囲内にある。

【０１８３】
実質的に、外傷性脳損傷を有する対象と、外傷性脳損傷を有さない対象とを識別するか、又は軽度外傷性脳損傷を有する対象を、中等度、重度又は中等度～重度の外傷性脳損傷と対比して識別する場合、当業者は、感度及び特異度に対するカットオフを上昇させることの効果を、秤にかける。カットオフを上昇又は下落させることは、十分に規定され、予測可能な影響を、感度及び特異度並びに他の標準的な統計学的尺度に対して及ぼす。カットオフを上昇させることは、特異度を改善するが、感度（疾患を伴う対象の、検査陽性となる比率）を悪化させることが周知である。これに対し、カットオフを下落させることは、感度を改善するが、特異度（疾患を伴わない対象の、検査陰性となる比率）を悪化させる。外傷性脳損傷を検出する、又は中等度、重度若しくは中等度～重度の外傷性脳損傷と対比した、軽度外傷性脳損傷を決定するための分岐点は、当業者にたやすく明らかである。対象が、外傷性脳損傷又は中等度、重度又は中等度～重度の外傷性脳損傷と対比した、軽度外傷性脳損傷を有するのか、有さないのかの識別においてカットオフが上昇するほど、より多くの真陰性（すなわち、外傷性脳損傷を有さない、軽度外傷性脳損傷を有さない、中等度外傷性脳損傷を有さない、重度外傷性脳損傷を有さない、又は中等度～重度の外傷性脳損傷を有さない対象）が、外傷性脳損傷、軽度外傷性脳損傷、中等度外傷性脳損傷、重度外傷性脳損傷又は中等度～重度の外傷性脳損傷を有する対象から区別されるので、特異度が改善される。しかし、同時に、カットオフを上昇させることは、陽性として同定された症例の数の全体並びに真陽性の数を減少させるので、感度は低下するはずである。逆に、カットオフが下落するほど、より多くの真陽性（すなわち、外傷性脳損傷を有する、軽度外傷性脳損傷を有する、中等度外傷性脳損傷を有する、重度外傷性脳損傷を有する、又は中等度～重度の外傷性脳損傷を有する対象）が、外傷性脳損傷、軽度外傷性脳損傷、中等度外傷性脳損傷、重度外傷性脳損傷又は中等度～重度の外傷性脳損傷を有さない対象から区別されるので、感度が改善される。しかし、同時に、カットオフを下落させることは、陽性として同定された症例の数の全体並びに偽陽性の数を増大させるので、特異度は低下するはずである。

【０１８４】
一般に、高感度値は、当業者が、疾患又は状態（外傷性脳損傷、軽度外傷性脳損傷、中等度外傷性脳損傷、重度外傷性脳損傷又は中等度～重度の外傷性脳損傷など）を除外する一助となり、高特異度値は、当業者が、疾患又は状態を組み入れる一助となる。当業者が、疾患を除外するのか、これを組み入れるのかは、エラーの種類のそれぞれについて、どのような帰結が患者のためになるのかに依存する。したがって、値がどのようにして選択されたのかについての基本情報の完全な開示がなされなければ、検査カットオフを導出するのに利用される正確なバランスを、知ること又は予測することができない。特異度に対する感度のバランス及び他の因子は、症例ごとに異なる。このために、医師又は医療従事者が選択しうるように、代替的なカットオフ（例えば、基準）値を提示することが、しばしば好ましい。

【０１８５】
本明細書において「乱用薬物」とは、非医学的理由（例えば、気晴らし効果及び／又は気分を変える効果など）のために服用される、１つ以上の嗜癖性物質（薬物など）を指すように使用される。このような乱用薬物への、過剰な耽溺、これらの使用又はこれらへの依存は、「物質乱用」と称されることが多い。乱用薬物の例は、アルコール、バルビツレート、ベンゾジアゼピン、カナビス、コカイン、幻覚剤（ケタミン、メスカリン（ペヨーテ）、ＰＣＰ、シロシビン、ＤＭＴ及び／又はＬＳＤなど）、メタカロン、オピオイド、アンフェタミン（メタンフェタミンを含む）、同化ステロイド、吸入剤（すなわち、例えば、ニトレート、スプレー塗料、洗浄液、マーカー、糊などのような、向精神特性を含有する揮発性物質を含有する物質）及びこれらの組合せを含む。

【０１８６】
本明細書において、「二重特異性抗体」とは、その２つの結合性アーム（ＨＣ／ＬＣの対）の各々において、２つの異なる抗原（又はエピトープ）に結合しうる全長抗体（ＰＣ

Ｔ公開第０２／０２７７３号を参照されたい）を指すように使用される。したがって、二重特異性結合タンパク質は、同一な特異性及び同一なＣＤＲ配列を伴う、２つの同一な抗原結合性アームを有し、それが結合する各抗原について二価である。

【０１８７】

本明細書において、「二重可変ドメイン」とは、二価結合性タンパク質（２つの抗原結合性部位）、四価結合性タンパク質（４つの抗原結合性部位）、又は多価結合性タンパク質でありうる結合性タンパク質上の、２つ以上の抗原結合性部位を指すように使用される。ＤＶＤは、単一特異性、すなわち、１つの抗原（又は１つの特異性エピトープ）に結合することが可能な場合もあり、多特異性、すなわち、２つ以上の抗原（すなわち、同じ標的抗原分子の２つ以上のエピトープ又は異なる標的抗原２つ以上のエピトープ）に結合することが可能な場合もある。好ましいＤＶＤ結合性タンパク質は、２つの重鎖ＤＶＤポリペプチド及び２つの軽鎖ＤＶＤポリペプチドを含み、「ＤＶＤ免疫グロブリン」又は「ＤＶＤ－Ｉｇ」と称される。したがって、このようなＤＶＤ－Ｉｇ結合性タンパク質は、四量体であり、ＩｇＧ分子と類似するが、ＩｇＧ分子より多くの抗原結合性部位をもたらす。したがって、四量体ＤＶＤ－Ｉｇ分子の各半分は、ＩｇＧ分子の半分と類似し、重鎖ＤＶＤポリペプチド及び軽鎖ＤＶＤポリペプチドを含むが、単一の抗原結合性ドメインをもたらす、ＩｇＧ分子の重鎖及び軽鎖の対と異なり、ＤＶＤ－Ｉｇの重鎖及び軽鎖の対は、２つ以上の抗原結合性部位をもたらす。

【０１８８】

ＤＶＤ－Ｉｇ結合性タンパク質の各抗原結合性部位は、ドナー（「親」）モノクローナル抗体に由来しうるので、抗原結合性部位１つ当たり、合計６つのＣＤＲであって、抗原への結合に関与するＣＤＲを伴う、重鎖可変ドメイン（ＶＨ）及び軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）を含みうる。したがって、２つの異なるエピトープ（すなわち、２つの異なる抗原分子の、２つの異なるエピトープ又は同じ抗原分子の、２つの異なるエピトープ）に結合するＤＶＤ－Ｉｇ結合性タンパク質は、第１の親モノクローナル抗体に由来する抗原結合性部位及び第２の親モノクローナル抗体の抗原結合性部位を含む。

【０１８９】

ＤＶＤ－Ｉｇ結合性分子のデザイン、発現及び特徴付けについての記載は、ＰＣＴ公開第２００７／０２４７１５号、米国特許第７，６１２，１８１号及びＷｕら、Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈ．、２５：１２９０～１２９７（２００７）においてなされている。このようなＤＶＤ－Ｉｇ分子の好ましい例は、構造式：ＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎ［式中、ＶＤ１は、第１の重鎖可変ドメインであり、ＶＤ２は、第２の重鎖可変ドメインであり、Ｃは、重鎖定常ドメインであり、Ｘ１は、それがＣＨ１ではないことを条件として、リンカーであり、Ｘ２は、Ｆｃ領域であり、ｎは、０又は１であるが、好ましくは１である］を含む重鎖；及び構造式：ＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－ＶＤ２－Ｃ－（Ｘ２）ｎ［式中、ＶＤ１は、第１の軽鎖可変ドメインであり、ＶＤ２は、第２の軽鎖可変ドメインであり、Ｃは、軽鎖定常ドメインであり、Ｘ１は、これがＣＨ１ではないことを条件として、リンカーであり、Ｘ２は、Ｆｃ領域を含まず、ｎは、０又は１であるが、好ましくは１である］を含む軽鎖を含む。このようなＤＶＤ－Ｉｇは、２つのこのような重鎖及び２つのこのような軽鎖を含むことが可能であり、この場合、各鎖は、可変領域の間に介在する定常領域を伴わずに、タンデムにより連結された可変ドメインを含み、重鎖及び軽鎖は、会合して、タンデムの機能的抗原結合性部位を形成し、重鎖及び軽鎖の対は、重鎖及び軽鎖の別の対と会合して、４つの機能的な抗原結合性部位を伴う、四量体の結合性タンパク質を形成しうる。別の例において、ＤＶＤ－Ｉｇ分子は、各々が可変ドメインの間に介在する定常領域を伴わずに、タンデムに連結された、３つの可変ドメイン（ＶＤ１、ＶＤ２、ＶＤ３）を含む重鎖及び軽鎖を含むことが可能であり、この場合、重鎖及び軽鎖の対は、会合して、３つの抗原結合性部位を形成することが可能であり、重鎖及び軽鎖の対は、重鎖及び軽鎖の別の対と会合して、６つの抗原結合性部位を伴う、四量体の結合性タンパク質を形成しうる。

【０１９０】

好ましい実施形態において、ＤＶＤ－Ｉｇ結合性タンパク質は、その親モノクローナル抗体が結合する同じ標的分子に結合するだけでなく、また、その親モノクローナル抗体のうちの１つ以上の、１つ以上の所望の特性も保有する。好ましくは、このようなさらなる特性は、親モノクローナル抗体のうちの１つ以上の抗体パラメータである。その親モノクローナル抗体のうちの１つ以上に由来するＤＶＤ－Ｉｇ結合性タンパク質に寄与されうる抗体パラメータは、抗原特異性、抗原アフィニティー、効力、生物学的機能、エピトープの認識、タンパク質の安定性、タンパク質の可溶性、作製効率、免疫原性、薬物動態、バイオアベイラビリティー、組織との交差反応性、及びオーソログ抗原への結合を含むがこれらに限定されない。

【０１９１】

ＤＶＤ－Ｉｇ結合性タンパク質は、ＧＦＡＰ及び／又はＵＣＨ－Ｌ１の、少なくとも１つのエピトープに結合する。ＤＶＤ－Ｉｇ結合性タンパク質の非限定例は、ＧＦＡＰ及び／又はＵＣＨ－Ｌ１の、１つ以上のエピトープに結合するＤＶＤ－Ｉｇ結合性タンパク質、ＧＦＡＰ及び／又はＵＣＨ－Ｌ１のエピトープ及び別の種（例えば、マウス）のＧＦＡＰ及び／又はＵＣＨ－Ｌ１のエピトープに結合するＤＶＤ－Ｉｇ結合性タンパク質及びヒトＧＦＡＰ及び／又はＵＣＨ－Ｌ１のエピトープ及び別の標的分子のエピトープに結合するＤＶＤ－Ｉｇ結合性タンパク質を含む。

【０１９２】

本明細書において使用された「ダイナミックレンジ」とは、アッセイのリードアウトが、解析される試料中の標的分子又は解析物の量と比例する範囲を指す。

【０１９３】

「エピトープ（ｅｐｉｔｏｐｅ）」又は「エピトープ（ｅｐｉｔｏｐｅｓ）」又は「目的のエピトープ」とは、認識され、その特異的結合パートナー上の相補的な部位に結合しうる、任意の分子上の部位を指す。分子及び特異的結合パートナーは、特異的結合対の一部である。例えば、エピトープは、ポリペプチド、タンパク質、ハプテン、炭水化物抗原（糖脂質、糖タンパク質又はリポ多糖のようであるがこれらに限定されない）又は多糖の上にありうる。その特異的結合パートナーは、抗体でありうるがこれに限定されない。

【０１９４】

本明細書において使用された「Ｆａｂ（ｆｒａｇｍｅｎｔ　ａｎｔｉｇｅｎ－ｂｉｎｄｉｎｇ）断片」又は「Ｆａｂ断片」とは、抗原に結合し、１つの抗原結合性部位である、１つの完全な軽鎖及び１つの重鎖の一部を含有する抗体の断片を指す。Ｆａｂは、ＶＬドメイン、ＶＨドメイン、ＣＬドメイン及びＣＨ１ドメインからなる一価断片である。Ｆａｂは、各重鎖及び各軽鎖の、１つの定常ドメイン及び１つの可変ドメインから構成される。可変ドメインは、単量体のアミノ末端において、相補性決定領域のセットを含む、パラトープ（抗原結合性部位）を含有する。したがって、Ｙ字の各アームは、抗原上のエピトープに結合する。Ｆａｂ断片は、例えば、免疫グロブリン単量体を、２つのＦａｂ断片及びＦｃ断片へと切断するのに使用されうる、酵素であるパパインを使用して、当技術分野において記載されている通りに作出されうる、又は組換え手段により作製されうる。

【０１９５】

本明細書において使用された「Ｆ（ａｂ’）$_2$断片」とは、ヒンジ領域の一部を無傷のままとしながら、Ｆｃ領域の大半を除去する、全ＩｇＧ抗体のペプシン消化により作出された抗体を指す。Ｆ（ａｂ’）$_2$断片は、ジスルフィド結合により、一体に連結された、２つの抗原結合性Ｆ（ａｂ）部分を有するので、分子量を約１１０ｋＤａとする、二価断片である。二価抗体断片（Ｆ（ａｂ’）$_2$断片）は、全ＩｇＧ分子より小型であり、組織への良好な浸透を可能とするので、免疫組織化学における、良好な抗原認識を容易とする。Ｆ（ａｂ’）$_2$断片の使用はまた、生細胞上のＦｃ受容体又はプロテインＡ／Ｇへの非特異的結合も回避する。Ｆ（ａｂ’）$_2$断片は、抗原に結合し、かつ、これを沈殿させうる。

【０１９６】

本明細書において使用された「フレームワーク」（ＦＲ）又は「フレームワーク配列」とは、ＣＤＲを除いた、可変領域の残りの配列を意味しうる。ＣＤＲ配列の正確な定義は

、異なるシステム（例えば、上記を参照されたい）により決定されうるため、フレームワーク配列の意味は、これに応じて異なる解釈を受ける。６つのＣＤＲ（軽鎖のＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２及びＣＤＲ－Ｌ３並びに重鎖のＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２及びＣＤＲ－Ｈ３）はまた、軽鎖上及び重鎖上のフレームワーク領域を、各鎖上の４つの部分領域（ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３及びＦＲ４）へも分割するが、ここで、ＣＤＲ１は、ＦＲ１及びＦＲ２の間に位置し、ＣＤＲ２は、ＦＲ２及びＦＲ３の間に位置し、ＣＤＲ３は、ＦＲ３及びＦＲ４の間に位置する。他の研究者により言及される通りに、特定の部分領域を、ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３又はＦＲ４と指定しない場合、フレームワーク領域は、単一の、天然の免疫グロブリン鎖の可変領域内の、ＦＲの組合せを表す。本明細書において使用されたＦＲは、４つの部分領域のうちの１つを表し、ＦＲは、フレームワーク領域を構成する、４つの部分領域のうちの２つ以上を表す。

【０１９７】

当技術分野において公知の技法を使用して、非ヒト抗体をヒト化するのに、重鎖及び軽鎖の「アクセプター」フレームワーク配列（又は、単に、「アクセプター」配列）として使用されうる、ヒト重鎖及びヒト軽鎖のＦＲ配列は、当技術分野において公知である。一実施形態において、ヒト重鎖及びヒト軽鎖のアクセプター配列は、Ｖ－ｂａｓｅ（ｈｙｐｅｒｔｅｘｔ　ｔｒａｎｓｆｅｒｐｒｏｔｏｃｏｌ：／／ｖｂａｓｅ．ｍｒｃ－ｃｐｅ．ｃａｍ．ａｃ．ｕｋ／）又は国際的なＩｍＭｕｎｏＧｅｎｅＴｉｃｓ（登録商標）（ＩＭＧＴ（登録商標））情報システム（ｈｙｐｅｒｔｅｘｔ　ｔｒａｎｓｆｅｒｐｒｏｔｏｃｏｌ：／／ｉｍｇｔ．ｃｉｎｅｓ．ｆｒ／ｔｅｘｔｓ／ＩＭＧＴｒｅｐｅｒｔｏｉｒｅ／ＬｏｃｕｓＧｅｎｅｓ／）のような、一般に公開されているデータベースにおいて列挙されたフレームワーク配列から選択される。

【０１９８】

本明細書において使用された「機能的な抗原結合性部位」とは、標的抗原に結合することが可能な、結合性タンパク質（例えば、抗体）上の部位を意味しうる。抗原結合性部位の抗原結合アフィニティーは、抗原結合性部位が由来する、親の結合性タンパク質、例えば、親抗体ほど強くない場合があるが、抗原に結合する能力は、抗原に結合するタンパク質、例えば、抗体を査定するための、公知の様々な方法のうちのいずれか１つを使用して測定可能でなければならない。さらに、多価タンパク質、例えば、本明細書の多価抗体の抗原結合性部位の各々の抗原結合アフィニティーは、定量的に同じである必要はない。

【０１９９】

本明細書において、「ＧＦＡＰ」は、グリア原線維性酸性タンパク質について記載するのに使用されている。ＧＦＡＰとは、ヒトにおいて、ＧＦＡＰ遺伝子によりコードされ、作製されうる（例えば、組換え手段により、他の種において）タンパク質である。

【０２００】

「ＧＦＡＰ状態」とは、ある時点（ＧＦＡＰの単一の測定値を伴う時点など）における、ＧＦＡＰのレベル若しくは量、モニタリング（対象において、ＧＦＡＰ量の上昇又は低下を同定する反復検査を伴うモニタリングなど）と関連する、ＧＦＡＰのレベル若しくは量、外傷性脳損傷（一次脳損傷であれ、かつ／又は二次脳損傷であれ）のための処置と関連する、ＧＦＡＰのレベル若しくは量又はこれらの組合せを意味しうる。

【０２０１】

本明細書において使用された「ＧＣＳ（Ｇｌａｓｇｏｗ　Ｃｏｍａ　Ｓｃａｌｅ）」又は「ＧＣＳ」とは、全般的な社会的能力又は他者への依存に基づき、脳損傷の転帰を推定及び類別するための、１５点のスケールを指す。検査は、運動応答、言語応答及び開眼応答を、これらの値：Ｉ．運動応答（６：指示に完全に従う；５：侵害刺激を位置特定する；４：侵害刺激から身を引く；３：異常屈曲、すなわち、除皮質姿勢；２：伸長応答、すなわち、除脳姿勢及び１：応答なし）；ＩＩ．言語応答（５：意識清明で見当識がある；４：混乱しているが、一貫した発話；３：不適切な単語及び単語からなる支離滅裂な文章；２：理解不可能な音声及び１：音声なし）及びＩＩＩ．開眼（４：自発的開眼；３：発話に応じた開眼；２：疼痛に応じた開眼及び１：開眼なし）により測定する。最終的なスコ

アは、Ｉ＋ＩＩ＋ＩＩＩの値を足し合わせることにより決定される。最終的なスコアは、生存についての４つの可能なレベルへと類別される場合があり、数が小さいほど、より重度損傷及び予後不良を指し示す：軽度（１３～１５）；中等度身体障害（９～１２）（３０分間を超える意識の喪失；消失する場合もあり、消失しない場合もある、身体機能障害又は認知機能障害；リハビリから利益を得る）；重度身体障害（３～８）（昏迷：意識不明状態：有意味な応答なし、自発的な活動なし）；及び植物状態（３未満）（睡眠覚醒周期；目覚めるが、環境との相互作用なし；疼痛に対する、位置特定されない応答）。中等度脳損傷とは、２０分間～６時間の意識喪失及び９～１２のＧＣＳ（Ｇｌａｓｇｏｗ　Ｃｏｍａ　Ｓｃａｌｅ）を結果としてもたらす脳損傷と規定される。重度脳損傷とは、６時間を超える意識喪失及び３～８のＧＣＳ（Ｇｌａｓｇｏｗ　Ｃｏｍａ　Ｓｃａｌｅ）を結果としてもたらす脳損傷と規定される。

【０２０２】

本明細書において使用された「ＧＯＳ（Ｇｌａｓｇｏｗ　Ｏｕｔｃｏｍｅ　Ｓｃａｌｅ）」とは、機能的転帰についてのグローバルスケールであって、患者の状態を、５つの類型：死、植物状態、重度身体障害、中等度身体障害又は回復良好のうちの１つへと評価するグローバルスケールを指す。

【０２０３】

本明細書において互換的に使用された「ＧＯＳＥ（Ｅｘｔｅｎｄｅｄ　Ｇｌａｓｇｏｗ　Ｏｕｔｃｏｍｅ　Ｓｃａｌｅ）」又は「ＧＯＳＥ」は、重度身体障害、中等度身体障害及び回復良好の類型を、表１において示される、上下の類型へと細分することによる、８つの類型への、より詳細な類別を提示する。

【０２０４】

【表１】

表1

1	死	D	
2	植物状態	VX	反射応答だけを伴うが、自発的開眼の期間も伴う意識不明状態
3	重度身体障害の下	SD －	通例、両方の組合せである、精神障害又は身体障害に対する毎日の支援に依存する患者。患者が、自宅で、8時間を超えて、一人に放置されうる場合、SDの上レベルであり、そうでない場合、SDの下レベルである。
4	重度身体障害の上	SD ＋	
5	中等度身体障害の下	MD －	患者は、失語症、片麻痺若しくはてんかん及び/又は記憶若しくは人格の欠損のような、一部の身体障害を有するが、身の回りを整えることが可能である。患者は、自宅では自立するが、外では依存的である。患者が、特別の配慮を伴ってであっても、仕事に戻ることが可能な場合、MDの上レベルであり、そうでない場合、MDの下レベルである。
6	中等度身体障害の上	MD ＋	
7	回復良好の下	GR －	損傷前の状態が達成されていない場合であってもなお、仕事をする能力を伴う、通常の生活の再開。一部の患者は、若干の神経学的欠損又は病理学的欠損を有する。これらの欠損が、身体機能障害をもたらさない場合、GRの上レベルであり、身体機能障害をもたらす場合、GRの下レベルである。
8	回復良好の上	GR ＋	

【０２０５】

本明細書において、「ヒト化抗体」は、非ヒト種（例えば、マウス）に由来する重鎖可変領域配列及び軽鎖可変領域配列を含むが、ＶＨ配列及び／又はＶＬ配列の少なくとも一部が、より「ヒト様」となる、すなわち、ヒト生殖細胞系列可変配列と、より類似するように変更された抗体について記載するのに使用される。「ヒト化抗体」とは、目的の抗原に免疫特異的に結合し、ヒト抗体のアミノ酸配列を実質的に有するフレームワーク（ＦＲ）領域及び非ヒト抗体のアミノ酸配列を実質的に有する相補性決定領域（ＣＤＲ）を含む、抗体又はこの変異体、誘導体、類似体若しくは断片である。本明細書において使用された、ＣＤＲの文脈における「実質的に」という用語は、非ヒト抗体ＣＤＲのアミノ酸配列と、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％又は少なくとも９９％同一なアミノ酸配列を有するＣＤＲを指す。ヒト化抗体は、少なくとも１つであるが、典型的に２つの可変ドメイン（Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、ＦａｂＣ、Ｆｖ）であって、ＣＤＲ領域の全て又は実質的に全てが、非ヒト免疫グロブリン（すなわち、ドナー抗体）のＣＤＲ領域に対応し、フレームワーク領域の全て又は実質的に全てが、ヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のフレームワーク領域である可変ドメインの実質的に全てを含む。ある実施形態において、ヒト化抗体はまた、免疫グロブリン定常領域（Ｆｃ）、典型的に、ヒト免疫グロブリンのＦｃ領域の少なくとも一部も含む。一部の実施形態において、ヒト化抗体は、軽鎖のほか、重鎖の、少なくとも可変ドメインを含有する。抗体はまた、重鎖の、ＣＨ１領域、ヒンジ領域、ＣＨ２領域、ＣＨ３領域及びＣＨ４領域も含みうる。一部の実施形態において、ヒト化抗体は、ヒト化軽鎖だけを含有する。一部の実施形態において、ヒト化抗体は、ヒト化重鎖だけを含有する。

具体的な実施形態において、ヒト化抗体は、軽鎖及び／又はヒト化重鎖のヒト化可変ドメインだけを含有する。

【０２０６】

ヒト化抗体は、ＩｇＭ、ＩｇＧ、ＩｇＤ、ＩｇＡ、及びＩｇＥを含む、免疫グロブリンの任意のクラス並びに、限定なしに述べると、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、及びＩｇＧ４を含む、任意のアイソタイプから選択されうる。ヒト化抗体は、１つを超えるクラス又はアイソタイプに由来する配列を含むことが可能であり、特定の定常ドメインは、当技術分野において周知の技法を使用して、所望のエフェクター機能を最適化するように選択されうる。

【０２０７】

ヒト化抗体のフレームワーク領域及びＣＤＲは、親配列に正確に対応する必要がない、例えば、ドナー抗体ＣＤＲ又はコンセンサスフレームワークは、この部位におけるＣＤＲ残基又はフレームワーク残基が、ドナー抗体又はコンセンサスフレームワークに対応しないように、少なくとも１つのアミノ酸残基の置換、挿入及び／又は欠失により突然変異誘発されてもよい。しかし、好ましい実施形態において、このような突然変異は、広範にわたる突然変異ではない。通例、ヒト化抗体残基のうちの、少なくとも８０％、好ましくは、少なくとも８５％、より好ましくは、少なくとも９０％であり、最も好ましくは、少なくとも９５％は、親のＦＲ配列及びＣＤＲ配列の残基に対応する。本明細書において使用された「コンセンサスフレームワーク」という用語は、コンセンサスの免疫グロブリン配列内のフレームワーク領域を指す。本明細書において使用された「コンセンサスの免疫グロブリン配列」という用語は、類縁の免疫グロブリン配列のファミリーにおいて、最も高頻度で発生するアミノ酸（又はヌクレオチド）から形成された配列（例えば、Ｗｉｎｎａｋｅｒ、「Ｆｒｏｍ Ｇｅｎｅｓ ｔｏ Ｃｌｏｎｅｓ」（Ｖｅｒｌａｇｓｇｅｓｅｌｌｓｃｈａｆｔ、Ｗｅｉｎｈｅｉｍ、１９８７）を参照されたい）を指す。したがって、「コンセンサスの免疫グロブリン配列」は、「コンセンサスフレームワーク領域」及び／又は「コンセンサスＣＤＲ」を含みうる。免疫グロブリンのファミリーにおいて、コンセンサス配列内の各位置は、ファミリー内のこの位置において、最も高頻度で発生するアミノ酸により占有されている。２つのアミノ酸が、同等に高頻度で発生する場合、いずれもが、コンセンサス配列内に含まれうる。

【０２０８】

本明細書の、２つ以上のポリペプチド配列又はポリヌクレオチド配列の文脈において使用された「同一な」又は「同一性」とは、配列が、指定された領域にわたり同じである、指定された百分率の残基を有することを意味しうる。百分率は、２つの配列を、最適にアライメントし、２つの配列を、指定された領域にわたり比較し、両方の配列内において、同一な残基が生じる位置の数を決定して、マッチした位置の数を求め、マッチした位置の数を、指定された領域内の位置の総数により除し、結果を、１００により乗じて、配列同一性の百分率を求めることにより計算されうる。２つの配列の長さが異なる、又はアライメントが１つ以上の粘着末端をもたらし、指定された比較領域が、単一の配列だけを含む場合、単一の配列の残基は、計算の分母に組み入れられるが、分子に組み入れられない。

【０２０９】

本明細書において使用された「イメージング手順」とは、健康状態を診断、処置及びモニタリングするために、体内が見られるようにする医学的検査を指す。イメージング手順は、侵害性とならずに、疾患及び損傷の診断を可能とする、非侵襲性手順でありうる。イメージング手順の例は、ＭＲＩ、ＣＴスキャン、Ｘ線、ポジトロン放射断層撮影（ＰＥＴ）スキャン、単一光子放射コンピュータ断層撮影（ＳＰＥＣＴ）及び拡散テンソルイメージング（ＤＴＩ）スキャンを含む。

【０２１０】

本明細書において互換的に使用された「頭部への損傷」又は「頭部損傷」とは、頭皮、頭蓋骨又は脳への、任意の外傷を指す。このような損傷は、頭蓋骨上の軽症の瘤だけを含みうる、又は重篤な脳損傷でありうる。このような損傷は、脳への一次損傷及び／又は脳

への二次損傷を含む。一次脳損傷は、初期傷害時に生じ、脳の物理的構造のずれの結果としてもたらされる。より具体的に、一次脳損傷は、外傷性事象時に生じる、実質（組織、血管）への物理的ダメージであり、周囲の脳組織のせん断及び圧迫を結果としてもたらす。二次脳損傷は、一次損傷に後続して生じ、一連の細胞過程を伴いうる。より具体的に、二次脳損傷は、一次脳損傷の後、ある期間（数時間～数日間）にわたり発展する変化を指す。二次脳損傷は、脳内の、細胞、化学物質、組織又は血管の変化の全体のカスケードであって、脳組織のさらなる破壊に寄与するカスケードを含む。

【０２１１】

頭部への損傷は、閉鎖性又は開放性（穿通性）でありうる。閉鎖性頭部損傷とは、頭皮、頭蓋骨又は脳への外傷であって、ぶつかる物体による頭蓋骨への貫通が見られない外傷を指す。開放性頭部損傷は、頭皮、頭蓋骨又は脳への外傷であって、ぶつかる物体による頭蓋骨への貫通が見られる外傷を指す。頭部への損傷は、人の物理的振盪、外部の機械による鈍的打撃又は閉鎖性頭部外傷若しくは開放性頭部外傷を結果としてもたらす他の力（例えば、自動車、航空機、列車などによる車両事故のような車両事故；野球のバットによる痛撃又は火器からの痛撃のような頭部への痛撃）、脳血管発作（例えば、脳卒中）、１回以上の転倒（例えば、スポーツ又は他の活動における）、爆発若しくは爆破（まとめて、「爆破損傷」）及び他の種類の鈍的外傷に引き起こされうる。代替的に、頭部への損傷は、化学物質、毒素又は化学物質と毒素との組合せの摂取及び／又はこれらへの曝露により引き起こされうる。このような化学物質及び／又は毒素の例は、火、カビ、アスベスト、害虫駆除剤、殺虫剤、有機溶剤、塗料、糊、ガス（一酸化炭素、硫化水素及びシアン化物など）、有機金属（メチル水銀、テトラエチル鉛及び有機スズなど）及び／又は１つ以上の乱用薬物を含む。代替的に、頭部への損傷は、自己免疫疾患、代謝性障害、脳腫瘍、１つ以上のウイルス、髄膜炎、水頭症、低酸素症又はこれらの組合せを対象が患うことの結果として引き起こされうる。場合によって、任意のこのような事象又は損傷が生じた、又は起こったのかどうかを確認することは不可能である。例えば、患者又は対象において、病歴が見られない場合があり、対象は、発話が不可能な場合があり、対象は、どのような事象に曝露されたのか気づいている場合があるなどである。本明細書において、このような状況は、対象「は、頭部への損傷を負った可能性がある」と記載される。本明細書の、ある特定の実施形態において、閉鎖性頭部損傷は、脳卒中などの脳血管発作を含まず、明確にこれを除外する。

【０２１２】

本明細書において使用された「頭蓋内病変」とは、脳内の損傷領域を指す。頭蓋内病変は、ＭＲＩスキャン又はＣＴスキャンなどの、イメージング手順又は脳イメージング検査において見られる異常でありうる。ＣＴスキャン又はＭＲＩスキャンにおいて、脳病変は、正常な脳組織のように見えない、暗色又は明色の斑点として現れうる。

【０２１３】

本明細書において使用された「単離ポリヌクレオチド」とは、その単離ポリヌクレオチドが、その由来において、「単離ポリヌクレオチド」が天然において共に見出されるポリヌクレオチドの全部若しくは一部に付随していない；それが天然においては連結されてないポリヌクレオチドと作動可能に連結されている；又は天然においてより大きな配列の一部として存在してはいないようなポリヌクレオチド（例えば、ゲノム、ｃＤＮＡ若しくは合成由来又はこれらの一部の組合せによる）を意味しうる。

【０２１４】

本明細書において使用された「標識」及び「検出可能な標識」とは、抗体と解析物との反応を検出可能とするように、抗体又は解析物へと接合された部分を指し、このように標識された抗体又は解析物は、「検出可能に標識された」と称される。標識は、視覚手段又は計測手段により検出可能なシグナルをもたらしうる。多様な標識は、色原体、蛍光化合物、化学発光化合物、放射性化合物などのようなシグナル発生物質を含む。標識の代表例は、光をもたらす部分、例えば、アクリジニウム化合物及び蛍光をもたらす部分、例えば、フルオレセインを含む。他の標識も、本明細書において記載されている。この点で、部

分自体は、検出可能でない場合もあるが、さらに別の部分と反応すると、検出可能となりうる。「検出可能に標識された」という用語は、このような標識を包含することが意図される。

【０２１５】

当技術分野において公知である、任意の適切な、検出可能な標識が使用されうる。例えば、検出可能な標識は、放射性標識（３Ｈ、１４Ｃ、３２Ｐ、３３Ｐ、３５Ｓ、９０Ｙ、９９Ｔｃ、１１１Ｉｎ、１２５Ｉ、１３１Ｉ、１７７Ｌｕ、１６６Ｈｏ及び１５３Ｓｍなど）、酵素標識（西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリペルオキシダーゼ、グルコース６－リン酸デヒドロゲナーゼなど）、化学発光標識（アクリジニウムエステル、チオエステル又はスルホンアミド；ルミノール、イソルミノール、フェナントリジニウムエステルなど）、蛍光標識（フルオレセイン（例えば、５－フルオレセイン、６－カルボキシフルオレセイン、３’６－カルボキシフルオレセイン、５（６）－カルボキシフルオレセイン、６－ヘキサクロロフルオレセイン、６－テトラクロロフルオレセイン、イソチオシアン酸フルオレセインなど）など）、ローダミン、フィコビリタンパク質、Ｒ－フィコエリトリン、量子ドット（例えば、硫化亜鉛によりキャッピングされたセレン化カドミウム）、測熱標識又はイムノポリメラーゼ連鎖反応標識でありうる。標識、標識手順及び標識の検出への導入は、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｐｒｏｂｅｓ，Ｉｎｃ．、Ｅｕｇｅｎｅ、Ｏｒｅｇｏｎにより公刊された、ハンドブックとカタログとの組合せである、Ｐｏｌａｋ及びＶａｎ Ｎｏｏｒｄｅｎ、「Ｉｎｔｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ｔｏ Ｉｍｍｕｎｏｃｙｔｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ」、２版、Ｓｐｒｉｎｇｅｒ Ｖｅｒｌａｇ、Ｎ．Ｙ．（１９９７）並びにＨａｕｇｌａｎｄ、「Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｆｌｕｏｒｅｓｃｅｎｔ Ｐｒｏｂｅｓ ａｎｄ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ」（１９９６）において見出される。蛍光標識は、ＦＰＩＡ（例えば、参照によりそれらの全体において本明細書に組み込まれた、米国特許第５，５９３，８９６号、同第５，５７３，９０４号、同第５，４９６，９２５号、同第５，３５９，０９３号及び同第５，３５２，８０３号を参照されたい）において使用されうる。アクリジニウム化合物は、同種化学発光アッセイにおける検出可能な標識（例えば、Ａｄａｍｃｚｙｋら、Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．、１６：１３２４～１３２８（２００６）；Ａｄａｍｃｚｙｋら、Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．、４：２３１３～２３１７（２００４）；Ａｄａｍｃｚｙｋら、Ｂｉｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．、１４：３９１７～３９２１（２００４）及びＡｄａｍｃｚｙｋら、Ｏｒｇ．Ｌｅｔｔ．、５：３７７９～３７８２（２００３）を参照されたい）として使用されうる。

【０２１６】

一態様において、アクリジニウム化合物は、アクリジニウム－９－カルボキサミドである。アクリジニウム９－カルボキサミドを調製するための方法については、Ｍａｔｔｉｎｇｌｙ、Ｊ．Ｂｉｏｌｕｍｉｎ．Ｃｈｅｍｉｌｕｍｉｎ．、６：１０７～１１４（１９９１）；Ａｄａｍｃｚｙｋら、Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．、６３：５６３６～５６３９（１９９８）；Ａｄａｍｃｚｙｋら、Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ、５５：１０８９９～１０９１４（１９９９）；Ａｄａｍｃｚｙｋら、Ｏｒｇ．Ｌｅｔｔ．、１：７７９～７８１（１９９９）；Ａｄａｍｃｚｙｋら、Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ．、１１：７１４～７２４（２０００）；Ｍａｔｔｉｎｇｌｙら、「Ｌｕｍｉｎｅｓｃｅｎｃｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ：Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ」、Ｄｙｋｅ，Ｋ．Ｖ．編、ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ：Ｂｏｃａ Ｒａｔｏｎ、７７～１０５（２００２）；Ａｄａｍｃｚｙｋら、Ｏｒｇ．Ｌｅｔｔ．、５：３７７９～３７８２（２００３）；並びに米国特許第５，４６８，６４６号、同第５，５４３，５２４号及び同第５，７８３，６９９号（それらの各々が、参照によりその全体において、これについてのその教示について、本明細書に組み込まれる）において記載されている。

【０２１７】

アクリジニウム化合物の別の例は、アクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルである。式ＩＩのアクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルの例は

、１０－メチル－９－（フェノキシカルボニル）アクリジニウムフルオロスルホネート（Ｃａｙｍａｎ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ、Ａｎｎ　Ａｒｂｏｒ、ＭＩから市販されている）である。アクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルを調製するための方法については、ＭｃＣａｐｒａら、Ｐｈｏｔｏｃｈｅｍ．Ｐｈｏｔｏｂｉｏｌ．、４：１１１１～２１（１９６５）；Ｒａｚａｖｉら、Ｌｕｍｉｎｅｓｃｅｎｃｅ、１５：２４５～２４９（２０００）；Ｒａｚａｖｉら、Ｌｕｍｉｎｅｓｃｅｎｃｅ、１５：２３９～２４４（２０００）及び米国特許第５，２４１，０７０号（それらの各々が、参照によりその全体において、これについてのその教示について、本明細書に組み込まれる）において記載されている。このようなアクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルは、シグナルの強度及び／又はシグナルの迅速性の点において、少なくとも１つのオキシダーゼによる、解析物の酸化において生成された過酸化水素についての、有効な化学発光指示薬である。アクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルの化学発光過程は、迅速に、すなわち、１秒間未満において完了されるが、アクリジニウム－９－カルボキサミドの化学発光は、２秒間を超えて遷延する。しかし、アクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルは、タンパク質の存在下において、その化学発光特性を失う。したがって、その使用は、シグナルの発生時及び検出時における、タンパク質の非存在を要求する。試料中のタンパク質を分離又は除去するための方法は、当業者に周知であり、限外濾過、抽出、沈殿、透析、クロマトグラフィー及び／又は消化（例えば、Ｗｅｌｌｓ、「Ｈｉｇｈ　Ｔｈｒｏｕｇｈｐｕｔ　Ｂｉｏａｎａｌｙｔｉｃａｌ　Ｓａｍｐｌｅ　Ｐｒｅｐａｒａｔｉｏｎ．Ｍｅｔｈｏｄｓ　ａｎｄ　Ａｕｔｏｍａｔｉｏｎ　Ｓｔｒａｔｅｇｉｅｓ」、Ｅｌｓｅｖｉｅｒ　（２００３）を参照されたい）を含むがこれらに限定されない。被験試料から除去又は分離されるタンパク質の量は、約４０％、約４５％、約５０％、約５５％、約６０％、約６５％、約７０％、約７５％、約８０％、約８５％、約９０％又は約９５％でありうる。アクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステル及びその使用に関する、さらなる詳細については、２００７年４月９日において出願された、米国特許出願第１１／６９７，８３５号において明示されている。アクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルは、脱気無水Ｎ，Ｎ－ジメチルホルムアミド（ＤＭＦ）又は含水コール酸ナトリウムのような、任意の適切な溶媒中に溶解されうる。

【０２１８】

「連結配列」又は「連結ペプチド配列」とは、１つ以上の、目的のポリペプチド配列（例えば、全長配列、配列断片など）へと接続された、天然又は人工のポリペプチド配列を指す。「接続された」という用語は、連結配列の、目的のポリペプチド配列への接合を指す。このようなポリペプチド配列は、１つ以上のペプチド結合により接合されることが好ましい。連結配列は、約４～約５０アミノ酸の長さを有しうる。好ましくは、連結配列の長さは、約６～約３０アミノ酸である。天然の連結配列は、人工の連結配列を創出するように、アミノ酸の置換、付加又は欠失により修飾されうる。連結配列は、組換えＦａｂ内の使用を含む、多くの目的で使用されうる。例示的な連結配列は、以下を含むがこれらに限定されない：（ｉ）ＨＨＨＨＨＨ（配列番号３）のアミノ酸配列を有する、６×Ｈｉｓタグのようなヒスチジン（Ｈｉｓ）タグは、目的のポリペプチド及び抗体の単離及び精製を容易とする連結配列として有用である；（ｉｉ）Ｈｉｓタグなどのエンテロキナーゼ切断部位は、目的のタンパク質及び抗体の単離及び精製において使用される。エンテロキナーゼ切断部位は、Ｈｉｓタグと併せて、目的のタンパク質及び抗体の単離及び精製において使用されることが多い。当技術分野において、多様なエンテロキナーゼ切断部位が公知である。エンテロキナーゼ切断部位の例は、ＤＤＤＤＫ（配列番号４）のアミノ酸配列及びその誘導体（例えば、ＡＤＤＤＤＫ（配列番号５）など）を含むがこれらに限定されない；（ｉｉｉ）その他の配列も、単鎖可変領域断片の軽鎖可変領域及び／又は重鎖可変領域を連結又は接続するのに使用されうる。他の連結配列の例は、Ｂｉｒｄら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、２４２：４２３～４２６（１９８８）；Ｈｕｓｔｏｎら、ＰＮＡＳ　ＵＳＡ８５：５８７９～５８８３（１９８８）及びＭｃＣａｆｆｅｒｔｙら、Ｎａｔｕｒｅ、３４８：５５２～５５４（１９９０）において見出されうる。連結配列はまた、薬物の接合又は固

体支持体への接合のような、さらなる機能のためにも修飾されうる。本開示の文脈において、モノクローナル抗体は、例えば、Ｈｉｓタグ、エンテロキナーゼ切断部位又はこれらの両方のような連結配列を含有しうる。

【０２１９】

本明細書において使用された「モノクローナル抗体」とは、実質的に同種である抗体の集団から得られた抗体を指し、すなわち、集団を構成する個別の抗体は、少量で存在しうる、可能な天然の突然変異を除き、同一である。モノクローナル抗体は、高度に特異的であり、単一の抗原に対して方向付けられている。さらに、異なる決定基（エピトープ）に対して方向付けられた、異なる抗体を含むことが典型的な、ポリクローナル抗体調製物とは対照的に、各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対して方向付けられている。本明細書におけるモノクローナル抗体は、とりわけ、重鎖及び／又は軽鎖の一部が、特定の種に由来するか、又は特定の抗体クラス若しくは抗体サブクラスに属する抗体内の、対応する配列と同一又は相同である一方、鎖の残りの部分は、別の種に由来するか、又は別の抗体クラス若しくは抗体サブクラスに属する抗体内の、対応する配列と同一又は相同である「キメラ」抗体のほか、それらが、所望の生体を呈する限りにおいて、このような抗体の断片も含む。

【０２２０】

本明細書において互換的に使用された「磁気共鳴イメージング」又は「ＭＲＩ」とは、健常及び疾患両方の体内における解剖学及び生理学的過程についての描像を形成するように、放射線医学において使用される医学的イメージング法（例えば、本明細書において互換的に、「ＭＲＩ」、「ＭＲＩ手順」又は「ＭＲＩスキャン」と称される）を指す。ＭＲＩは、強力な磁界内に置かれた場合の、体内組織の原子核の、高周波数のラジオ波に対する応答を測定し、内臓についての画像を作成する、医学的イメージングの形態である。核磁気共鳴（ＮＭＲ）学に基づくＭＲＩスキャナーは、強力な磁界、ラジオ波及び磁界勾配を使用して、体内についての画像を作成する。

【０２２１】

本明細書において、「多価結合性タンパク質」とは、２つ以上の抗原結合性部位（本明細書において、「抗原結合性ドメイン」ともまた称される）を含む結合性タンパク質を指すように使用される。多価結合性タンパク質は、３つ以上の抗原結合性部位を有するように操作されていることが好ましく、一般に、天然の抗体ではない。「多特異性結合性タンパク質」という用語は、２つ以上の、類縁又は非類縁の標的に結合しうる結合性タンパク質であって、同じ標的分子の、２つ以上の異なるエピトープへの結合が可能な結合性タンパク質を含む結合性タンパク質を指す。

【０２２２】

本明細書において互換的に使用された「陰性予測値」又は「ＮＰＶ」とは、対象が、陰性の検査結果を有する（すなわち、提起された結果について検査されて陰性である対象が、提起された結果を有さない）場合に、陰性の転帰を有する（すなわち、提起された結果が存在しない）確率を指す。

【０２２３】

「ポイントオブケアデバイス」とは、ポイントオブケア（すなわち、検査室の外部）又はこの近傍の、患者ケアの時間及び場所（病院、診療所、救急ケア施設又は他の医療ケア施設、患者の自宅、介護施設及び／又は長期ケア施設及び／又はホスピス施設など）において、医学的診断検査を提供するのに使用されるデバイスを指す。ポイントオブケアデバイスの例は、Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ（Ａｂｂｏｔｔ　Ｐａｒｋ、ＩＬ）（例えば、ｉ－ＳＴＡＴ及びｉ－ＳＴＡＴ　Ａｌｉｎｉｔｙ、Ｕｎｉｖｅｒｓａｌ　Ｂｉｏｓｅｎｓｏｒｓ（Ｒｏｗｖｉｌｌｅ、Ａｕｓｔｒａｌｉａ））（ＵＳ２００６／０１３４７１３を参照されたい）、Ａｘｉｓ－Ｓｈｉｅｌｄ　ＰｏＣ　ＡＳ（Ｏｓｌｏ、Ｎｏｒｗａｙ）及びＣｌｉｎｉｃａｌ　Ｌａｂ　Ｐｒｏｄｕｃｔｓ（Ｌｏｓ　Ａｎｇｅｌｅｓ、ＵＳＡ）により作製されたポイントオブケアデバイスを含む。

【０２２４】

本明細書において互換的に使用された「陽性予測値」又は「ＰＰＶ」とは、対象が、陽性の検査結果を有する（すなわち、提起された結果について検査されて陽性である対象が、提起された結果を有する）場合に、陽性の転帰を有する（すなわち、提起された結果が存在する）確率を指す。

【０２２５】

本明細書において記載されたイムノアッセイ及びキットの文脈における「品質管理試薬」は、較正物質、対照及び感度パネルを含むがこれらに限定されない。「較正物質」又は「標準物質」（例えば、複数、１つ以上の）は、抗体又は解析物などの、解析物の濃度を内挿するための、較正曲線（検量線）を確立するために使用されることが典型的である。代替的に、基準レベル又は対照レベルの近傍（例えば、「低」レベル、「中」レベル、又は「高」レベル）にある、単一の較正物質も使用されうる。「感度パネル」を含むように、複数の較正物質（すなわち、１つを超える較正物質又は変動量の較正物質）が使用されうる。

【０２２６】

「ＲＯＣ（ｒｅｃｅｉｖｅｒ　ｏｐｅｒａｔｉｎｇ　ｃｈａｒａｃｔｅｒｉｓｔｉｃ）」曲線又は「ＲＯＣ」曲線とは、その識別閾値が変動するのに応じて、二項分類子システムの作動を例示する、グラフによるプロットを指す。例えば、ＲＯＣ曲線は、診断検査の、異なる可能なカットオフ点についての、偽陽性率に対する真陽性率のプロットでありうる。ＲＯＣ曲線は、多様な閾値状況において、陽性中の真陽性の割合（ＴＰＲ＝真陽性率）を、陰性中の偽陽性の割合（ＦＰＲ＝偽陽性率）と対比してプロットすることにより創出される。ＴＰＲはまた、感度としても公知であり、ＦＰＲは、［１－特異度又は真陰性率］である。ＲＯＣ曲線は、感度と特異度とのトレードオフ（任意の感度の上昇は、特異度の低下により伴われる）；曲線が、ＲＯＣ空間の左側境界に近接し、次いで、上側境界に近接するほど、検査は、より正確となること；曲線が、ＲＯＣ空間の４５度の対角線に近接するほど、検査は、より正確でなくなること；カットオフ点における接線の傾きが、検査のこの値についての尤度比（ＬＲ）を与えること及び曲線下面積が、検定の精度の尺度であることを裏付ける。

【０２２７】

「組換え抗体（ｒｅｃｏｍｂｉｎａｎｔ　ａｎｔｉｂｏｄｙ）」及び「組換え抗体（ｒｅｃｏｍｂｉｎａｎｔ　ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ）」とは、組換え法により、１つ以上のモノクローナル抗体の全部又は一部をコードする核酸配列を、適切な発現ベクターへとクローニングし、その後、抗体を、適切な宿主細胞において発現させるステップを含む、１つ以上のステップにより調製された抗体を指す。用語は、組換えにより作製されたモノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体（完全ヒト化抗体又は部分的ヒト化抗体）、抗体断片から形成された多特異性構造又は多価構造、二官能性抗体、ヘテロコンジュゲートＡｂ、ＤＶＤ－Ｉｇ（登録商標）及び本明細書の（ｉ）において記載された他の抗体（二重可変ドメイン免疫グロブリン及びそれらを作り出すための方法について、Ｗｕ，Ｃ．ら、Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、２５：１２９０～１２９７（２００７）において記載されている）を含むがこれらに限定されない。本明細書において使用された「二官能性抗体」という用語は、１つの抗原性部位に対する特異性を有する第１のアーム及び異なる抗原性部位に対する特異性を有する第２のアームを含む抗体を指す、すなわち、二官能性抗体は、二重特異性を有する。

【０２２８】

本明細書において使用された「基準レベル」とは、診断的有効性、予後診断的有効性又は治療的有効性を評価するのに使用され、本明細書において、多様な臨床パラメータ（例えば、疾患の存在、疾患の病期、疾患の重症度、疾患の進行、非進行又は改善など）と連関づけられた、又は関連づけられた、アッセイカットオフ値（又はレベル）を指す。本明細書において使用された、「カットオフ」という用語は、それを上回ると、ある特定の又は具体的な臨床転帰が見られ、それを下回ると、異なる、ある特定の又は具体的な臨床転帰が見られる限界（例えば、数など）を指す。

【０２２９】
本開示は、例示的な基準レベルを提示する。しかし、基準レベルは、イムノアッセイの性質（例えば、利用された抗体、反応条件、試料の純度など）に応じて、変動する場合があり、アッセイは、比較及び標準化されうることが周知である。さらに、本明細書における本開示を、他のイムノアッセイに適合させて、本開示により提示された記載に基づき、これらの他のイムノアッセイについて、イムノアッセイ特異的な基準レベルを得ることは、十分に、当業者の技術の範囲内にある。基準レベルの正確な値は、アッセイ間において変動しうるが、本明細書において記載された知見は、一般に、適用可能であり、他のアッセイへの外挿が可能であるものとする。
【０２３０】
本明細書において使用された、対象（例えば、患者）についての「危険性の評価」、「危険性の分類」、「危険性の同定」又は「危険性の層別化」とは、対象に関する処置決定が、より情報を得た状態ベースにおいてなされうるように、疾患の発生又は疾患の進行を含む将来の事象の発生の危険性を予測するためのバイオマーカーを含む因子についての査定を指す。
【０２３１】
本明細書において使用された「試料」、「被験試料」、「検体」、「対象に由来する試料」及び「患者試料」は、互換的に使用される場合があり、全血、組織、尿、血清、血漿、羊水、脳脊髄液、胎盤細胞又は胎盤組織、内皮細胞、白血球又は単球のような血液試料でありうる。試料は、患者から得られた通りに直接使用されうる、又は濾過、蒸留、抽出、濃縮、遠心分離、干渉成分の不活化、試薬の添加など、本明細書において論じられている形において、又は当技術分野において公知である、別の形において、試料の特徴を変更するように前処置されうる。
【０２３２】
試料を得るのに、様々な細胞型、組織又は体液が用いられうる。このような細胞型、組織及び体液は、生検試料及び剖検試料のような組織切片、組織学的目的のために採取された凍結切片、血液（全血など）、血漿、血清、赤血球、血小板、間質液、脳脊髄液などを含みうる。一部の実施形態において、試料は、全血試料である。一部の実施形態において、試料は、血清試料である。さらに他の実施形態において、試料は、血漿試料である。細胞型及び組織はまた、リンパ液、脳脊髄液、回収された体液も含みうる。組織又は細胞型は、細胞試料を、ヒト及び非ヒト動物から摘出することにより用意されうるが、また、あらかじめ単離された細胞（例えば、別の者により、別の時間において、かつ／又は別の目的のために単離された）を使用することによっても達せられうる。処置履歴又は転帰履歴を有する組織のようなアーカイブ組織もまた、使用されうる。タンパク質又はヌクレオチドの単離及び／又は精製は、必要でない場合もある。
【０２３３】
本明細書において使用された、アッセイの「感度」とは、その転帰が陽性である対象であって、陽性であると正しく同定された対象の比率（例えば、対象が検査されつつある疾患又は医学的状態を伴う対象を、正しく同定する比率）を指す。例えば、これは、ＴＢＩを有さない対象から区別して、対象を、ＴＢＩを有すると正しく同定すること、軽度ＴＢＩを有する対象から区別して、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを有する対象を正しく同定すること、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを有する対象から区別して、対象を、軽度ＴＢＩを有すると正しく同定すること、ＴＢＩを有さない対象から区別して、対象を、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを有すると正しく同定すること、又はＴＢＩを有さない対象から区別して、対象を、軽度ＴＢＩを有すると正しく同定すること、頭部ＣＴスキャン又はＭＲＩから利益を得る可能性が高くない対象から区別して、対象を、頭部ＣＴスキャン又はＭＲＩから利益を得る可能性が高いと正しく同定することなどを含みうる。
【０２３４】
本明細書において使用された、アッセイの「特異度」とは、その転帰が陰性である対象

であって、陰性であると正しく同定された対象の比率（例えば、対象が検査されつつある疾患又は医学的状態を有さない対象を、正しく同定する比率）を指す。例えば、これは、ＴＢＩを有さない対象から区別して、ＴＢＩを有する対象を正しく同定すること、軽度のＴＢＩを有する対象から区別して、対象を、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを有さない正しく同定すること、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを有する対象から区別して、対象を、軽度のＴＢＩを有さないと正しく同定すること、若しくは対象を、任意のＴＢＩを有さないと正しく同定すること、又はＴＢＩを有さない対象から区別して、対象を、軽度ＴＢＩを有すると、正しく同定することなどを含みうる。

【０２３５】

「較正組成物のシリーズ」とは、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１など、公知の濃度の解析物を含む、複数の組成物であって、組成物の各々が、シリーズ内の他の組成物と、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１などの解析物の濃度が異なる組成物を指す。

【０２３６】

本明細書において使用された「単一分子の検出」とは、濃度が極めて低レベルの（ｐｇ／ｍＬ又は１ｍＬ当たりフェムトグラムのレベルなど）被験試料中の解析物の単一分子の検出及び／又は測定を指す。当技術分野において、多数の異なる単一分子の解析器又はデバイスが公知であり、ナノポアデバイス及びナノウェルデバイスを含む。ナノポアデバイスの例については、参照によりその全体において本明細書に組み込まれた、国際特許公開第２０１６／１６１４０２号において記載されている。ナノウェルデバイスの例については、参照によりその全体において本明細書に組み込まれた、国際特許公開第２０１６／１６１４００号において記載されている。

【０２３７】

本明細書において互換的に使用された、「固相」又は「固体支持体」とは、（１）１つ以上の捕捉剤若しくは捕捉のための特異的結合パートナー又は（２）１つ以上の検出剤若しくは検出のための特異的結合パートナーを接合させ、かつ／又は誘引し、固定化させる、任意の材料を指す。固相は、捕捉剤を誘引し、固定化させる、その内因性の能力について選択されうる。代替的に、固相は、（１）捕捉剤若しくは捕捉のための特異的結合パートナー又は（２）検出剤若しくは検出のための特異的結合パートナーを誘引し、固定化させる能力を有する、連結剤を付加されている。例えば、連結剤は、捕捉剤（例えば、捕捉のための特異的結合パートナー）又は検出剤（例えば、検出のための特異的結合パートナー）自体若しくは（１）捕捉剤若しくは捕捉のための特異的結合パートナー又は（２）検出剤若しくは検出のための特異的結合パートナーへとコンジュゲートされた帯電物質に対して、逆向きに帯電した帯電物質を含みうる。一般に、連結剤は、固相上に固定化され（固相へと接合され）、結合反応を介して、（１）捕捉剤若しくは捕捉のための特異的結合パートナー又は（２）検出剤若しくは検出のための特異的結合パートナーを固定化させる能力を有する、任意の結合パートナー（好ましくは特異的結合パートナー）でありうる。連結剤は、アッセイの実施前に、又はアッセイの実施時に、捕捉剤の、固相材料への間接的結合を可能とする。例えば、固相は、例えば、試験管、マイクロ滴定ウェル、シート、ビーズ、微粒子、チップ及び当業者に公知の他の構成を含む、プラスチック、誘導体化プラスチック、磁性金属又は非磁性金属、ガラス又はシリコンでありうる。

【０２３８】

本明細書において使用された「特異的結合」又は「～に特異的に結合すること」とは、抗体、タンパク質、又はペプチドの、第２の化学的分子種との相互作用を指す場合があり、この場合、相互作用は、化学的分子種上の特定の構造（例えば、抗原性決定基又はエピトープ）の存在に依存する；例えば、抗体は、タンパク質一般ではなく、特異的なタンパク質構造を認識し、これに結合する。抗体が、エピトープ「Ａ」に対して特異的である場合、エピトープＡを含有する分子（又は遊離のＡ、非標識Ａ）の、標識「Ａ」及び抗体を含有する反応物中の存在は、抗体に結合した標識Ａの量を低減する。

【０２３９】

「特異的結合パートナー」とは、特異的結合対のメンバーである。特異的結合対は、化

学物質又は物理的手段を介して、互いと特異的に結合する、２つの異なる分子を含む。したがって、一般的なイムノアッセイの、抗原と抗体との特異的結合対に加えて、他の特異的結合対は、ビオチン及びアビジン（又はストレプトアビジン）、炭水化物及びレクチン、相補的なヌクレオチド配列、エフェクター分子及び受容体分子、補因子及び酵素、酵素及び酵素阻害剤などを含みうる。さらに、特異的結合対は、元の特異的結合メンバーの類似体、例えば、解析物類似体であるメンバーを含みうる。免疫反応性の特異的結合メンバーは、抗原、抗原断片並びにモノクローナル抗体及びポリクローナル抗体のほか、単離されたものであれ、組換えにより作製されたものであれ、これらの複合体及び断片を含む抗体を含む。

【０２４０】

本明細書において使用された「統計学的に有意な」とは、２つ以上の変数の間の関係が、ランダムな偶然以外の何かにより引き起こされる可能性を指す。統計学的仮説検定は、データセットの結果が、統計学的に有意であるのかどうかを決定するのに使用される。統計学的仮説検定において、統計学的有意な結果は、検定統計量について観察されたｐ値が、研究について規定された有意性レベル未満である場合なら、いかなる場合にも達せられる。ｐ値とは、少なくとも帰無仮説が真である場合に観察される結果と、少なくとも同程度に極端な結果を得る確率である。統計学的仮説解析の例は、ウィルコクソンの符合順位検定、ｔ検定、カイ二乗検定又はフィッシャーの正確検定を含む。本明細書において使用された「著明な」とは、統計学的に有意であることが決定されていない変化（例えば、統計学的仮説検定にかけられていない可能性がある）を指す。

【０２４１】

本明細書において互換的に使用された、「対象」及び「患者」とは、哺乳動物（例えば、ウシ、ブタ、ラクダ、ラマ、ウマ、ヤギ、ウサギ、ヒツジ、ハムスター、モルモット、ネコ、イヌ、ラット及びマウス、非ヒト霊長動物（例えば、カニクイザル又はアカゲザル、チンパンジーなどのようなサル）及びヒト）を含むがこれらに限定されない、任意の脊椎動物を指す。一部の実施形態において、対象は、ヒト又は非ヒトでありうる。一部の実施形態において、対象は、ヒトである。対象又は患者は、他の形態の処置を受けている最中である場合がある。一部の実施形態において、対象は、他の形態の処置を経ている可能性があるヒトである。対象又は患者は、他の形態の処置を経ている可能性がある。一部の実施形態において、対象が、ヒトである場合、対象は、脳血管発作（例えば、脳卒中）を患っているヒトを含まない。一部の実施形態において、対象は、頭部への損傷を負ったと推測される。一部の実施形態において、対象は、頭部への損傷を負ったことが既知である。一部の実施形態において、対象は、軽度、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを患っていると推測される。一部の実施形態において、対象は、軽度ＴＢＩを患っていると推測される。一部の実施形態において、対象は、中等度ＴＢＩを患っていると推測される。一部の実施形態において、対象は、重度ＴＢＩを患っていると推測される。

【０２４２】

本明細書において、「～を処置する」、「～を処置すること」又は「処置」は各々、疾患及び／若しくは損傷又はこのような用語が適用される、このような疾患の、１つ以上の症状を阻止、緩和すること又はこれらの進行を阻害することについて記載するのに、互換的に使用される。対象の状態に依存して、用語はまた、疾患を予防することも指し、疾患の発生を予防すること又は疾患と関連する症状を予防することを含む。処置は、急性的に、又は慢性的に実施されうる。用語はまた、疾患への罹患の前における、疾患又はこのような疾患と関連する症状の重症度を軽減することも指す。罹患の前における、疾患の重症度のこのような予防又は低減は、医薬組成物の、投与時において疾患に罹患していない対象への投与を指す。「～を予防すること」はまた、疾患又はこのような疾患と関連する、１つ以上の症状の再発を予防することも指す。「処置」及び「治療的に」とは、「～を処置すること」が、上記において規定された通りである場合の、処置する行為を指す。

【０２４３】

本明細書において互換的に使用された「外傷性脳損傷」又は「ＴＢＩ」とは、広範囲に

わたる症状及び身体障害を伴う複合損傷を指す。ＴＢＩは、他の損傷と同様の、急性事象であることが最も多い。ＴＢＩは、「軽度」、「中等度」、又は「重度」と分類されうる。ＴＢＩの原因は、多様であり、人力による物理的振盪、自動車事故、火器による損傷、脳血管発作（例えば、脳卒中）、転倒、爆発又は爆破及び他の種類の鈍的外傷を含む。ＴＢＩの他の原因は、１つ以上の化学物質又は毒素（火、カビ、アスベスト、害虫駆除剤及び殺虫剤、有機溶剤、塗料、糊、ガス（一酸化炭素、硫化水素及びシアン化物など）、有機金属（メチル水銀、テトラエチル鉛及び有機スズなど）、１つ以上の乱用薬物又はこれらの組合せ）の摂取及び／又はこれらへの曝露を含む。代替的に、ＴＢＩは、自己免疫疾患、代謝性障害、脳腫瘍、低酸素症、１つ以上のウイルス、髄膜炎、水頭症又はこれらの組合せを患うヒト対象において生じうる。若年成人及び老齢者は、ＴＢＩの危険性が最も高い年齢群である。本明細書の、ある特定の実施形態において、外傷性脳損傷又はＴＢＩは、脳卒中のような脳血管発作を含まず、明確にこれを除外する。

【０２４４】

本明細書において使用された「軽度ＴＢＩ」とは、意識喪失が短時間であり、通例数秒間若しくは数分間であり、かつ／又は意識混濁及び見当識の喪失が、１時間より短い脳損傷を指す。軽度ＴＢＩはまた、脳振盪、軽症の頭部外傷、軽症のＴＢＩ、軽症の脳損傷及び軽症の頭部損傷とも称される。ＭＲＩ及びＣＴスキャンは、正常である場合があるが、軽度ＴＢＩを伴う個体は、頭痛、思考困難、記憶問題、注意欠陥、気分変動及び欲求不満のような認知問題を有しうる。

【０２４５】

軽度ＴＢＩは、最も高頻度のＴＢＩであり、初期損傷時に、見逃されることが多い。典型的に、対象は、１３～１５（１３～１５又は１４～１５など）の間のＧＣＳ（Ｇｌａｓｇｏｗ　Ｃｏｍａ　Ｓｃａｌｅ）数を有する。軽度ＴＢＩを伴う人々のうち、１５パーセント（１５％）は、３カ月間以上にわたり持続する症状を有する。軽度ＴＢＩは、頭部の強制的な運動又は精神状態の短い変化（意識混濁、見当識の喪失又は記憶喪失）を引き起こす衝撃又は３０分間未満にわたる意識喪失の結果として規定される。軽度ＴＢＩの一般的な症状は、疲労感、頭痛、視覚障害、記憶喪失、注意／集中力の低下、睡眠障害、回転性めまい／平衡感覚の喪失、易刺激性（感情障害）、抑うつ感覚及び発作を含む。軽度ＴＢＩと関連する他の症状は、悪心、嗅覚喪失、光及び音への過敏性、気分の変化、迷子若しくは意識混濁及び／又は思考遅滞を含む。

【０２４６】

本明細書において使用された「中等度ＴＢＩ」とは、意識喪失及び／又は意識混濁並びに見当識の喪失が、１～２４時間の間であり、対象が、９～１３（９～１２又は９～１３など）の間のＧＣＳ（Ｇｌａｓｇｏｗ　Ｃｏｍａ　Ｓｃａｌｅ）数を有する脳損傷を指す。中等度ＴＢＩを伴う個体は、脳イメージング結果の異常を有する。本明細書において使用された「重度ＴＢＩ」とは、意識喪失が、２４時間を超え、損傷又は穿通性頭蓋骨損傷後の記憶喪失が、２４時間より長く、対象が、３～８の間のＧＣＳ（Ｇｌａｓｇｏｗ　Ｃｏｍａ　Ｓｃａｌｅ）数を有する脳損傷を指す。欠損は、高レベルの認知機能の機能障害～昏睡状態の範囲にわたる。生存者は、腕部又は脚部の機能の限定、発話又は言語の異常、思考能力の喪失又は感情問題を有しうる。重度損傷を伴う個体は、長期にわたる不応状態に置かれたままになりうる重度ＴＢＩを伴う多くの人々の場合、機能及び自立を最大化するために、長期にわたるリハビリが必要となることが多い。

【０２４７】

本明細書において使用された、「中等度～重度」のＴＢＩとは、中等度～重度を含む、脳損傷のスペクトルを指し、したがって、中等度ＴＢＩ単独、重度ＴＢＩ単独及び組み合わされた中等度～重度のＴＢＩを包含する。中等度～重度のＴＢＩを患う対象は、３～１３の間（３～１２の間又は３～１３の間など）のＧＣＳ（Ｇｌａｓｇｏｗ　Ｃｏｍａ　Ｓｃａｌｅ）数を有しうる。例えば、臨床状況によって、対象は、初期に、中等度ＴＢＩを有すると診断されうるが、時間の経過（数分間、数時間又は数日間）を経て、重度ＴＢＩを有する対象へと進行しうる（例えば、脳出血が存在する状況におけるように）。このよう

な対象は、「中等度～重度」として分類されうる患者の例となる。中等度～重度のＴＢＩの一般的な症状は、注意に関する困難、集中力、散漫性、記憶、処理速度、混乱、固執、衝動性、言語処理及び／又は「実行機能」、発話された単語の無理解（受容失語症）、発話及び理解されることの困難（表現失語症）、発話の不明瞭、発話が極めて速い又は極めて遅い、読むときの問題、書くときの問題、接触、温度、運動の解釈、下肢の位置及び微細な識別、感覚的印象の、心理学的に有意味なデータへの統合又はパターン化に関する困難、部分的又は全体的な視覚の喪失、眼筋力の低下及び二重視覚（複視）、かすみ目、距離を判断するときの問題、非自発的な眼運動（眼振）、光不耐性（羞明）、聴覚問題、のような、聴力の低下又は喪失、耳が鳴ること（耳鳴り）、音に対する過敏性、嗅覚の喪失又は低下（無嗅覚）、味覚の喪失又は低下、てんかんと関連する痙攣であって、いくつかの種類であることが可能であり、意識、感覚的認知又は運動、腸及び膀胱の制御の破壊を伴いうる痙攣、睡眠障害、気力の喪失、食欲の変化、体内温度の調節、月経困難、依存性行動、感情能力、意欲の欠如、易刺激性、攻撃、抑うつ、脱抑制又は意識の否認／欠如を含む認知欠損を含む。

【０２４８】

本明細書において互換的に使用された「ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１」又は「ＵＣＨ－Ｌ１」とは、ヒトにおいて、ＵＣＨ－Ｌ１遺伝子によりコードされた脱ユビキチン化酵素を指す。ユビキチンカルボキシル末端エステラーゼＬ１及びユビキチンチオールエステラーゼとしてもまた公知のＵＣＨ－Ｌ１は、その産物が、ユビキチンの、小型のＣ末端付加物を加水分解して、ユビキチン単量体を発生させる遺伝子ファミリーのメンバーである。

【０２４９】

「ＵＣＨ－Ｌ１状態」とは、ある時点（ＵＣＨ－Ｌ１の単一の測定値を伴う時点など）における、ＵＣＨ－Ｌ１のレベル若しくは量、モニタリング（対象において、ＵＣＨ－Ｌ１量の上昇又は低下を同定する反復検査を伴うモニタリングなど）と関連する、ＵＣＨ－Ｌ１のレベル若しくは量、外傷性脳損傷（一次脳損傷であれ、かつ／又は二次脳損傷であれ）のための処置と関連する、ＵＣＨ－Ｌ１のレベル若しくは量又はこれらの組合せを意味しうる。

【０２５０】

本明細書において、「変異体」は、アミノ酸の挿入、欠失又は保存的置換により、アミノ酸配列が異なるが、少なくとも１つの生物学的活性を保持するペプチド又はポリペプチドについて記載するのに使用される。「生物学的活性」の代表例は、特異的抗体による結合を受ける能力又は免疫反応を促進する能力を含む。本明細書において、変異体はまた、少なくとも１つの生物学的活性を保持するアミノ酸配列を伴う基準タンパク質と実質的に同一なアミノ酸配列を伴うタンパク質について記載するのにも使用される。当技術分野において、アミノ酸の保存的置換、すなわち、アミノ酸を、類似の特性（例えば、親水性、帯電の程度及び帯電領域の分布）を有する、異なるアミノ酸により置き換えることは、典型的に、小さな変化を伴うこととして当技術分野において認識されている。当技術分野において理解された通り、これらの小さな変化は、部分的に、アミノ酸の疎水性指数を検討することにより同定されうる（Ｋｙｔｅら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１５７：１０５～１３２（１９８２））。アミノ酸の疎水性指数は、その疎水性及び電荷の検討に基づく。当技術分野において、同様の疎水性指数を有するアミノ酸は、置換される場合があるが、なおも、タンパク質の機能を保持することが公知である。一態様において、±２の疎水性指数を有するアミノ酸は、置換される。アミノ酸の親水性もまた、生物学的機能を保持するタンパク質を結果としてもたらす置換を明らかにするのに使用されうる。ペプチドの文脈における、アミノ酸の親水性についての検討は、抗原性及び免疫原性とよく相関することが報告されている、有用な尺度である、このペプチドの局所平均親水性の最大値の計算を可能とする（参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第４，５５４，１０１号）。同様の親水性値を有するアミノ酸による置換は、生物学的活性、例えば、当技術分野において理解された免疫原性を保持するペプチドを結果としてもたらしうる。置換は、互いか

ら±２以内の親水性値を有するアミノ酸により実施されうる。アミノ酸の疎水性指数及び親水性値のいずれも、このアミノ酸の特定の側鎖の影響を受ける。生物学的機能と適合性であるアミノ酸置換は、疎水性、親水性、電荷、サイズ及び他の特性により明らかにされる通り、アミノ酸の相対的類似性に依存し、特に、これらのアミノ酸の側鎖に依存すると理解されることは、この観察と符合する。「変異体」はまた、抗解析物（ＧＦＡＰ及び／又はＵＣＨ－Ｌ１など）抗体の、抗原的に反応性の断片であって、アミノ酸配列内の、対応する抗解析物（ＧＦＡＰ及び／又はＵＣＨ－Ｌ１など）抗体の断片と異なるが、なおも抗原的に反応性であり、解析物（ＧＦＡＰ及び／又はＵＣＨ－Ｌ１など）との結合について、対応する抗解析物（ＧＦＡＰ及び／又はＵＣＨ－Ｌ１など）抗体の断片と競合しうる断片を指すためにも使用されうる。「変異体」はまた、タンパク質分解、リン酸化又は他の翻訳後修飾によるような、異なる形でプロセシングされているが、その抗原反応性を保持する、ポリペプチド又はこの断片について記載するのにも使用されうる。

【０２５１】

本明細書において、「ベクター」とは、連結された別の核酸を運びうる核酸分子について記載するのに使用される。ベクターの１つの種類は、さらなるＤＮＡセグメントがライゲーションされうる、環状二本鎖ＤＮＡループを指す、「プラスミド」である。ベクターの別の種類は、さらなるＤＮＡセグメントが、ウイルスゲノムへとライゲーションされうる、ウイルスベクターである。ある特定のベクターは、これらが導入される宿主細胞内の自己複製が可能である（例えば、細菌の複製起点及び哺乳動物エピソームベクターを有する細菌ベクター）。他のベクター（例えば、哺乳動物の非エピソームベクター）は、宿主細胞へと導入されると、宿主細胞のゲノムへと組み込まれ、これにより、宿主ゲノムと共に複製されうる。さらに、ある特定のベクターは、作動的に連結される遺伝子の発現を方向付けることが可能である。本明細書において、このようなベクターは、「組換え発現ベクター」（又は、単に、「発現ベクター」）と称される。一般に、組換えＤＮＡ法において有用な発現ベクターは、プラスミドの形態にあることが多い。プラスミドは、最も一般に、ベクターの形態で使用されるので、「プラスミド」と「ベクター」とは、互換的に使用されうる。しかし、ウイルスベクター（例えば、複製欠損性のレトロウイルス、アデノウイルス、及びアデノ随伴ウイルス）のような、同等な機能を果たす、発現ベクターの他の形態も使用されうる。この点で、ベクターのＲＮＡ形（ウイルス性ＲＮＡベクターを含む）もまた、本開示の文脈において使用されうる。

【０２５２】

そうでないことが規定されない限りにおいて、本明細書において使用される技術用語及び科学用語は、当業者により一般に理解される意味と同じ意味を有するものとする。例えば、本明細書において記載された、細胞培養法及び組織培養法、分子生物学、免疫学、微生物学、遺伝学並びにタンパク質化学及び核酸化学及びハイブリダイゼーションとの関連において使用された用語法、並びにこれらについての技法は、周知の用語法及び技法であり、当技術分野において一般的に使用されている用語法及び技法である。用語の意味及び範囲は、明確であるものとするが、万一、なんらかの潜在的な曖昧さが生じた場合、本明細書において提示された定義が、任意の辞書又は外部の定義に対して優先される。さらに、文脈により、そうでないことが要求されない限りにおいて、単数形の用語は、複数形を含み、複数形の用語は、単数形を含むものとする。

【０２５３】

２．ＧＦＡＰの基準レベルとＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルとの組合せを使用して、頭部への損傷を負った、又は負った可能性がある対象の診断の一助となる方法

本開示は、他の方法の中でも、頭部への損傷を負った、又は負った可能性がある対象における、診断及び査定の一助となるための方法に関する。特に、本開示は、対象が、頭部への損傷を負った、又は負った可能性がある４８時間後以内の、多様な時点において採取された試料中の、ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）のレベルと、グリア原線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）のレベルとの組合せを検出又は測定することにより、対象が、例えば、中等度～重度の外傷性脳損傷などの外傷性脳損傷（ＴＢＩ

）を負っているのかどうかを決定するために、対象の診断及び査定の一助となるための方法を提示する。本明細書において開示された通り、ＴＢＩを有することが推測される対象の診断及び査定は、対象における、多様な基準レベルと比較した、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルに基づく、他の医学的査定（例えば、臨床評価）と共に、イメージング手順を実施するのかどうかの決定を含む。ＧＦＡＰのレベルとＵＣＨ－Ｌ１のレベルとの組合せに基づく、このような診断及び査定は、対象が、陽性のＭＲＩスキャン及び／又は陽性の頭部ＣＴスキャン（すなわち、頭蓋内病変の存在）を有する可能性が、そうでない場合より高いのかどうかを決定する一助となりうる。

【０２５４】

一部の実施形態において、方法は、基準レベルと比較した、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルに基づき、頭部への損傷を負っている対象が、外傷性脳損傷を負っているのかどうかを決定する一助となりうる。これらの実施形態に従い、方法は、損傷後、約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して、アッセイを実施して、ＧＦＡＰの試料中レベルと、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルとの組合せを測定又は検出するステップ；及び（ａ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１５ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満であり、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約７０ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満である場合に、対象が、ＴＢＩを負っていないと決定するステップ；又は（ｂ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１５ｐｇ／ｍＬ～約４０ｐｇ／ｍＬの基準レベルと等しく、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約７０ｐｇ／ｍＬ～約１５０ｇ／ｍＬの基準レベルと等しい場合に、対象が、ＴＢＩを負っている可能性が、そうでない可能性より高いと決定するステップ；又は（ｃ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約４０ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高く、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約１５０ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高い場合に、対象が、ＴＢＩを負っている可能性が、そうでない可能性より高いと決定するステップを含みうる。

【０２５５】

一部の実施形態において、方法は、対象への推測される損傷から、約４８時間以内に試料を得るステップ、並びに試料を、ＵＣＨ－Ｌ１及び／又はＧＦＡＰに対する抗体と接触させて、抗体と、ＵＣＨ－Ｌ１及び／又はＧＦＡＰとの複合体の形成を可能とするステップを含みうる。方法はまた、結果として得られる抗体－ＧＦＡＰ／ＵＣＨ－Ｌ１複合体を検出するステップも含む。これらの方法に従い、ＧＦＡＰレベル及びＵＣＨ－Ｌ１レベルは、測定又は検出され、次いで、対象が、ＴＢＩを有するのかどうかを決定するのに使用されうる、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルを確立するために、方法が行われる前に、又は行われた後において、１つ以上の臨床パラメータ（例えば、ＧＣＳスコア及び／又はＣＴスキャン）と相関させられうる。

【０２５６】

一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、本明細書においてさらに記載される通り、少なくとも約３５％の特異度及び少なくとも約９０％の感度を有するアッセイの一部として使用されうる。加えて、他の実施形態において、アッセイとして使用された場合の方法は、ＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１を、個別に測定又は検出する方法又はアッセイと比較して、少なくとも３％高い感度及び少なくとも１７％高い特異度を有する。他の実施形態において、アッセイとして使用された場合の方法は、ＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１を、個別に測定又は検出する方法又はアッセイと比較して、少なくとも５％高い感度及び少なくとも２０％高い特異度を有する。他の実施形態において、アッセイとして使用された場合の方法は、ＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１を、個別に測定又は検出する方法又はアッセイと比較して、少なくとも８％高い感度及び少なくとも２５％高い特異度を有する。

【０２５７】

一部の実施形態において、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約７０％～約１００％の間の感度及び少なくとも約３０％～約１００％の間の特異度を有するアッセイにより決定される。一部の実施形態において、感度は、少なくとも約７０％～約

１００％の間、少なくとも約７０％～少なくとも約９９％の間、少なくとも約７０％～少なくとも約９５％の間、少なくとも約７０％～少なくとも約９０％の間、少なくとも約７０％～少なくとも約８５％の間、少なくとも約７５％～約１００％の間、少なくとも約７５％～少なくとも約９９％の間、少なくとも約７５％～少なくとも約９５％の間、少なくとも約７５％～少なくとも約９０％の間、少なくとも約７５％～少なくとも約８５％の間、少なくとも約８０％～約１００％の間、少なくとも約８０％～少なくとも約９９％の間、少なくとも約８０％～少なくとも約９５％の間、少なくとも約８０％～少なくとも約９０％の間、少なくとも約８０％～少なくとも約８５％の間、少なくとも約８５％～約１００％の間、少なくとも約８５％～少なくとも約９９％の間、少なくとも約８５％～少なくとも約９５％の間、少なくとも約８５％～少なくとも約９０％の間、少なくとも約９０％～約１００％の間、少なくとも約９０％～少なくとも約９９％の間、少なくとも約９０％～少なくとも約９５％の間、少なくとも約９５％～約１００％の間、または少なくとも約９５％～少なくとも約９９％の間である。一部の実施形態において、感度は、少なくとも約７０．０％、少なくとも約７５．０％、少なくとも約８０．０％、少なくとも約８５．０％、少なくとも約８７．５％、少なくとも約９０．０％、少なくとも約９５．０％、少なくとも約９９．０％、少なくとも約９９．１％、少なくとも約９９．２％、少なくとも約９９．３％、少なくとも約９９．４％、少なくとも約９９．５％、少なくとも約９９．６％、少なくとも約９９．７％、少なくとも約９９．８％、少なくとも約９９．９％、または少なくとも約１００．０％である。

【０２５８】

一部の実施形態において、特異度は、少なくとも約３０％～約１００％の間、少なくとも約３０％～約９９％の間、少なくとも約３０％～約９５％の間、少なくとも約３０％～約９０％の間、少なくとも約３０％～約８５％の間、少なくとも約３０％～約８０％の間、少なくとも約３０％～約７５％の間、少なくとも約３０％～約７０％の間、少なくとも約３０％～約６０％の間、少なくとも約３０％～約５０％の間、少なくとも約４０％～約１００％の間、少なくとも約４０％～約９９％の間、少なくとも約４０％～約９５％の間、少なくとも約４０％～約９０％の間、少なくとも約４０％～約８５％の間、少なくとも約４０％～約８０％の間、少なくとも約４０％～約７５％の間、少なくとも約４０％～約７０％の間、少なくとも約４０％～約６０％の間、少なくとも約４０％～約５０％の間、少なくとも約５０％～約１００％の間、少なくとも約５０％～約９９％の間、少なくとも約５０％～約９５％の間、少なくとも約５０％～約９０％の間、少なくとも約５０％～約８５％の間、少なくとも約５０％～約８０％の間、少なくとも約５０％～約７５％の間、少なくとも約５０％～約７０％の間、少なくとも約５０％～約６０％の間、少なくとも約６０％～約１００％の間、少なくとも約６０％～約９９％の間、少なくとも約６０％～約９５％の間、少なくとも約６０％～約９０％の間、少なくとも約６０％～約８５％の間、少なくとも約６０％～約８０％の間、少なくとも約６０％～約７５％の間、少なくとも約６０％～約７０％の間、少なくとも約７０％～約１００％の間、少なくとも約７０％～約９９％の間、少なくとも約７０％～約９５％の間、少なくとも約７０％～約９０％の間、少なくとも約７０％～約８５％の間、少なくとも約７０％～約８０％の間、少なくとも約７０％～約７５％の間、少なくとも約８０％～約１００％の間、少なくとも約８０％～約９９％の間、少なくとも約８０％～約９５％の間、少なくとも約８０％～約９０％の間、少なくとも約８０％～約８５％の間、少なくとも約９０％～約１００％の間、少なくとも約９０％～約９９％の間、少なくとも約９０％～約９５％の間、少なくとも約９５％～約９９％の間、または少なくとも約９５％～約１００の間である。一部の実施形態において、特異度は、少なくとも約３０．０％、少なくとも約３１．０％、少なくとも約３２．０％、少なくとも約３３．０％、少なくとも約３４．０％、少なくとも約３５．０％、少なくとも約３６．０％、少なくとも約３７．０％、少なくとも約３８．０％、少なくとも約３９．０％、少なくとも約４０．０％、少なくとも約４５．０％、少なくとも約５０．０％、少なくとも約５５．０％、少なくとも約６０．０％、少なくとも約６５．０％、少なくとも約７０．０％、少なくとも約７５．０％、少なくとも約８０．０％、少なくとも約

８５．０％、少なくとも約９０．０％、少なくとも約９１．０％、少なくとも約９２．０％、少なくとも約９３．０％、少なくとも約９４．０％、少なくとも約９５．０％、少なくとも約９６．０％、少なくとも約９７．０％、少なくとも約９８．０％、少なくとも約９９．０％、少なくとも約９９．１％、少なくとも約９９．２％、少なくとも約９９．３％、少なくとも約９９．４％、少なくとも約９９．５％、少なくとも約９９．６％、少なくとも約９９．７％、少なくとも約９９．８％、少なくとも約９９．９％、または少なくとも約１００．０％である。例えば、一部の実施形態において、感度は、少なくとも約９９％であり、特異度は、少なくとも約７５％である、感度は、少なくとも約９９％であり、特異度は、少なくとも約９９％である、又は感度は、少なくとも約１００％であり、特異度は、少なくとも約１００％である。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約３５％の特異度及び少なくとも約９０％の感度を有するアッセイの一部として使用されうる。

【０２５９】

一部の実施形態において、試料は、頭部への損傷又は推測される損傷から、約０～約４時間以内に、約０～約８時間以内に、約０～約１２時間以内に、約０～約１６時間以内に、約０～約２０時間以内に、約０～約２４時間以内に、及び約０～約４８時間以内になど、約４８時間以内に、ヒト対象から採取される。一部の実施形態において、試料は、約４時間～約８時間以内に、約８時間～約１２時間以内に、約１２時間～約１６時間以内に、約１６時間～約２０時間以内に、約２０時間～約２４時間以内に、及び約２４時間～約４８時間以内に、ヒト対象から採取される。他の実施形態において、試料は、頭部への損傷又は推測される損傷から、約０分、約３０分、約６０分、約９０分、約１２０分、約３時間、約４時間、約５時間、約６時間、７時間、約８時間、約９時間、約１０時間、約１１時間、約１２時間、約１３時間、約１４時間、約１５時間、約１６時間、約１７時間、約１８時間、約１９時間、約２０時間、約２１時間、約２２時間、約２３時間、又は約２４時間以内に、ヒト対象から採取されうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰとＵＣＨ－Ｌ１との組合せの存在の開始は、頭部への損傷の後、約０分、約３０分、約６０分、約９０分、約１２０分、約３時間、約４時間、約５時間、約６時間、７時間、約８時間、約９時間、約１０時間、約１１時間、約１２時間、約１３時間、約１４時間、約１５時間、約１６時間、約１７時間、約１８時間、約１９時間、約２０時間、約２１時間、約２２時間、約２３時間、又は約２４時間以内に現れる。一態様において、試料は、損傷後、約４時間～約１６時間以内に、対象から得られる。別の態様において、試料は、損傷後、約４～約８時間以内に、対象から得られる。さらに別の態様において、試料は、損傷後、約８～約１２時間以内に、対象から得られる。さらに別の態様において、試料は、損傷後、約１２～約１６時間以内に、対象から得られる。

【０２６０】

一部の実施形態において、試料は、損傷後（ａｆｔｅｒ　ｔｈｅ　ｉｎｊｕｒｙ（又はｐｏｓｔ　ｉｎｊｕｒｙ））、約４時間～約８時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰの基準レベルは、約４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約１００ｐｇ／ｍＬであり、アッセイは、９０％以上の感度及び９４％以上の特異度を有する。

【０２６１】

一部の実施形態において、試料は、損傷後（ａｆｔｅｒ　ｔｈｅ　ｉｎｊｕｒｙ（又はｐｏｓｔ　ｉｎｊｕｒｙ））、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰの基準レベルは、約１５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約１５０ｐｇ／ｍＬであり、アッセイは、９５％以上の感度及び８２％以上の特異度を有する。

【０２６２】

一部の実施形態において、試料は、損傷後（ａｆｔｅｒ　ｔｈｅ　ｉｎｊｕｒｙ（又はｐｏｓｔ　ｉｎｊｕｒｙ））、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰの基準レベルは、約２０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約６０ｐｇ／ｍＬであり、アッセイは、９５％以上の感度及び６５％以上の特異度を有する。

【０２６３】

一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約１５ｐｇ／ｍＬ～約４０ｐｇ／ｍＬの間であることが可能であり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約７０ｐｇ／ｍＬ～約１５０ｐｇ／ｍＬの間でありうる。他の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約２０ｐｇ／ｍＬ～約４０ｐｇ／ｍＬの間であることが可能であり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約８０ｐｇ／ｍＬ～約１５０ｐｇ／ｍＬの間でありうる。他の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約２５ｐｇ／ｍＬ～約４０ｐｇ／ｍＬの間であることが可能であり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約９０ｐｇ／ｍＬ～約１５０ｐｇ／ｍＬの間でありうる。他の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約３０ｐｇ／ｍＬ～約４０ｐｇ／ｍＬの間であることが可能であり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約１００ｐｇ／ｍＬ～約１５０ｐｇ／ｍＬの間でありうる。他の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約１５ｐｇ／ｍＬ～約３０ｐｇ／ｍＬの間であることが可能であり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約７０ｐｇ／ｍＬ～約１４０ｐｇ／ｍＬの間でありうる。他の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約１５ｐｇ／ｍＬ～約２５ｐｇ／ｍＬの間であることが可能であり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約７０ｐｇ／ｍＬ～約１３０ｐｇ／ｍＬの間でありうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約１００ｐｇ／ｍＬである。他の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約１５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約１５０ｐｇ／ｍＬである。さらに他の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約２０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約６０ｐｇ／ｍＬである。

【０２６４】

一部の実施形態において、対象は、ＭＲＩ若しくはＣＴスキャンなどのイメージング手順又は、場合によって、これらの両方を、アッセイが実施される前に、又は実施された後において受けている。一部の実施形態において、対象は、イメージング手順に基づき、外傷性脳損傷を有すると推測される。一部の実施形態において、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰの基準レベルは、陽性のＭＲＩスキャン及び／又は陽性の頭部ＣＴスキャン（すなわち、頭蓋内病変の存在）と相関する。一部の実施形態において、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、対象が、ＣＴスキャンの実施から独立であり、陰性のＣＴスキャン（すなわち、ＴＢＩを負っていないことを指し示す）から独立である、ＭＲＩ手順を必要とするのかどうかを指し示すのに使用されうる。

【０２６５】

一般に、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ及びこれらの組合せなどのバイオマーカーの基準レベルは、被験試料を、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１についてアッセイしたときに得られた結果を評価するためのベンチマークとして利用されうる。例えば、このような比較を行う場合に、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、解析物の存在、量又は濃度の、ＴＢＩの特定の病期若しくはエンドポイント又は特定の徴候との連関又は関連が成立させられうるような、十分な回数及び適切な条件下において、特定のアッセイを行うことにより得られうる。典型的に、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、基準対象（又は対象の集団）についてのアッセイを実施することにより得られる。測定されるＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１は、この断片、この分解産物及び／又は酵素によるこの切断産物を含みうる。

【０２６６】

他の実施形態において、方法は、基準レベルと比較した、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルに基づき、対象が負った可能性があるＴＢＩの種類（例えば、中等度～重度のＴＢＩなど）を診断する一助となりうる。これらの実施形態に従い、方法は、損傷後、約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して、アッセイを実施して、ＧＦＡＰの試料中レベルと、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルとの組合せを測定又は検出するステップ；及び（ａ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１０５ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満であり、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約１１０ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満である場合に、対象が、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを負っていないと決定するステップ；又は（ｂ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１０５ｐｇ／ｍＬ

～約８９０ｐｇ／ｍＬの基準レベルと等しく、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約１１０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｇ／ｍＬの基準レベルと等しい場合に、対象が、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを負っていないと決定するステップ；又は（ｃ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約８９０ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高く、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約２０００ｇ／ｍＬの基準レベルより高い場合に、対象が、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを負っている可能性が、そうでない可能性より高いと決定するステップを含みうる。

【０２６７】

一部の実施形態において、方法は、対象への推測される損傷から、約４８時間以内に試料を得るステップ、並びに試料を、ＵＣＨ－Ｌ１及び／又はＧＦＡＰに対する抗体と接触させて、抗体と、ＵＣＨ－Ｌ１及び／又はＧＦＡＰとの複合体の形成を可能とするステップを含みうる。方法はまた、結果として得られる抗体－ＧＦＡＰ／ＵＣＨ－Ｌ１複合体を検出するステップも含む。これらの方法に従い、ＧＦＡＰレベル及びＵＣＨ－Ｌ１レベルは、測定又は検出され、次いで、ＴＢＩを負った、又は負った可能性がある対象を診断及び査定するのに使用されうる、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルを確立するために、方法が行われる前に、又は行われた後において、１つ以上の臨床パラメータ（例えば、ＧＣＳスコア及び／又はＣＴスキャン）と相関させられうる。例えば、一部の実施形態において、対象は、方法が実施される前に、又はこの後において、ＧＣＳ（Ｇｌａｓｇｏｗ　Ｃｏｍａ　Ｓｃａｌｅ）スコアを受けている場合がある。ＧＣＳスコアが、１２以下である場合、対象は、中等度～重度のＴＢＩを有すると推測される可能性が高い。

【０２６８】

ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、下記においてさらに記載される通り、少なくとも約３０％の特異度及び少なくとも約９０％の感度を有するアッセイの一部として使用されうる。

【０２６９】

一部の実施形態において、試料は、頭部への損傷又は推測される損傷から、約０～約４時間以内、約０～約８時間以内、約０～約１２時間以内、約０～約１６時間以内、約０～約２０時間以内、約０～約２４時間以内及び約０～約４８時間以内など、約４８時間以内に、ヒト対象から採取される。一部の実施形態において、試料は、約４時間～約８時間以内、約８時間～約１２時間以内、約１２時間～約１６時間以内、約１６時間～約２０時間以内、約２０時間～約２４時間以内及び約２４時間～約４８時間以内に、ヒト対象から採取される。他の実施形態において、試料は、頭部への損傷又は推測される損傷から、約０分、約３０分、約６０分、約９０分、約１２０分、約３時間、約４時間、約５時間、約６時間、７時間、約８時間、約９時間、約１０時間、約１１時間、約１２時間、約１３時間、約１４時間、約１５時間、約１６時間、約１７時間、約１８時間、約１９時間、約２０時間、約２１時間、約２２時間、約２３時間、又は約２４時間以内に、ヒト対象から採取されうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰとＵＣＨ－Ｌ１との組合せの存在の開始は、頭部への損傷の後、約０分、約３０分、約６０分、約９０分、約１２０分、約３時間、約４時間、約５時間、約６時間、７時間、約８時間、約９時間、約１０時間、約１１時間、約１２時間、約１３時間、約１４時間、約１５時間、約１６時間、約１７時間、約１８時間、約１９時間、約２０時間、約２１時間、約２２時間、約２３時間、又は約２４時間以内に現れる。一態様において、試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１６時間以内に、対象から得られる。別の態様において、試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られる。さらに別の態様において、試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られる。

【０２７０】

一部の実施形態において、対象は、ＭＲＩ又はＣＴスキャンなどのイメージング手順を、アッセイが実施される前に、又は実施された後において受けている。一部の実施形態において、対象は、イメージング手順に基づき、外傷性脳損傷を有すると推測される。一部

の実施形態において、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰの基準レベルは、陽性のＭＲＩスキャン及び／又は陽性の頭部ＣＴスキャン（すなわち、頭蓋内病変の存在）と相関する。一部の実施形態において、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、対象が、ＣＴスキャンの実施から独立であり、陰性のＣＴスキャン（すなわち、ＴＢＩを負っていないことを指し示す）から独立である、ＭＲＩ手順を必要とするのかどうかを指し示すのに使用されうる。

【０２７１】

一般に、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ及びこれらの組合せなどのバイオマーカーの基準レベルは、被験試料を、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１についてアッセイしたときに得られた結果を評価するためのベンチマークとして利用されうる。例えば、このような比較を行う場合に、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、解析物の存在、量又は濃度の、ＴＢＩの特定の病期若しくはエンドポイント又は特定の徴候との連関又は関連が成立させられうるような、十分な回数及び適切な条件下において、特定のアッセイを行うことにより得られうる。典型的に、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、基準対象（又は対象の集団）についてのアッセイを実施することにより得られる。測定されるＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１は、この断片、この分解産物及び／又は酵素によるこの切断産物を含みうる。

【０２７２】

一部の実施形態において、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約７０％～約１００％の間の感度及び少なくとも約３０％～約１００％の間の特異度を有するアッセイにより決定される。一部の実施形態において、感度は、少なくとも約７０％～約１００％の間、少なくとも約７０％～少なくとも約９９％の間、少なくとも約７０％～少なくとも約９５％の間、少なくとも約７０％～少なくとも約９０％の間、少なくとも約７０％～少なくとも約８５％の間、少なくとも約７５％～約１００％の間、少なくとも約７５％～少なくとも約９９％の間、少なくとも約７５％～少なくとも約９５％の間、少なくとも約７５％～少なくとも約９０％の間、少なくとも約７５％～少なくとも約８５％の間、少なくとも約８０％～約１００％の間、少なくとも約８０％～少なくとも約９９％の間、少なくとも約８０％～少なくとも約９５％の間、少なくとも約８０％～少なくとも約９０％の間、少なくとも約８０％～少なくとも約８５％の間、少なくとも約８５％～約１００％の間、少なくとも約８５％～少なくとも約９９％の間、少なくとも約８５％～少なくとも約９５％の間、少なくとも約８５％～少なくとも約９０％の間、少なくとも約９０％～約１００％の間、少なくとも約９０％～少なくとも約９９％の間、少なくとも約９０％～少なくとも約９５％の間、少なくとも約９５％～約１００％の間、又は少なくとも約９５％～少なくとも約９９％の間である。一部の実施形態において、感度は、少なくとも約７０．０％、少なくとも約７５．０％、少なくとも約８０．０％、少なくとも約８５．０％、少なくとも約８７．５％、少なくとも約９０．０％、少なくとも約９５．０％、少なくとも約９９．０％、少なくとも約９９．１％、少なくとも約９９．２％、少なくとも約９９．３％、少なくとも約９９．４％、少なくとも約９９．５％、少なくとも約９９．６％、少なくとも約９９．７％、少なくとも約９９．８％、少なくとも約９９．９％又は少なくとも約１００．０％である。

【０２７３】

一部の実施形態において、特異度は、少なくとも約３０％～約１００％の間、少なくとも約３０％～約９９％の間、少なくとも約３０％～約９５％の間、少なくとも約３０％～約９０％の間、少なくとも約３０％～約８５％の間、少なくとも約３０％～約８０％の間、少なくとも約３０％～約７５％の間、少なくとも約３０％～約７０％の間、少なくとも約３０％～約６０％の間、少なくとも約３０％～約５０％の間、少なくとも約４０％～約１００％の間、少なくとも約４０％～約９９％の間、少なくとも約４０％～約９５％の間、少なくとも約４０％～約９０％の間、少なくとも約４０％～約８５％の間、少なくとも約４０％～約８０％の間、少なくとも約４０％～約７５％の間、少なくとも約４０％～約７０％の間、少なくとも約４０％～約６０％の間、少なくとも約４０％～約５０％の間、少なくとも約５０％～約１００％の間、少なくとも約５０％～約９９％の間、少なくとも約５０％～約９５％の間、少なくとも約５０％～約９０％の間、少なくとも約５０％～約

８５％の間、少なくとも約５０％～約８０％の間、少なくとも約５０％～約７５％の間、少なくとも約５０％～約７０％の間、少なくとも約５０％～約６０％の間、少なくとも約６０％～約１００％の間、少なくとも約６０％～約９９％の間、少なくとも約６０％～約９５％の間、少なくとも約６０％～約９０％の間、少なくとも約６０％～約８５％の間、少なくとも約６０％～約８０％の間、少なくとも約６０％～約７５％の間、少なくとも約６０％～約７０％の間、少なくとも約７０％～約１００％の間、少なくとも約７０％～約９９％の間、少なくとも約７０％～約９５％の間、少なくとも約７０％～約９０％の間、少なくとも約７０％～約８５％の間、少なくとも約７０％～約８０％の間、少なくとも約７０％～約７５％の間、少なくとも約８０％～約１００％の間、少なくとも約８０％～約９９％の間、少なくとも約８０％～約９５％の間、少なくとも約８０％～約９０％の間、少なくとも約８０％～約８５％の間、少なくとも約９０％～約１００％の間、少なくとも約９０％～約９９％の間、少なくとも約９０％～約９５％の間、少なくとも約９５％～約９９％の間又は少なくとも約９５％～約１００％の間である。一部の実施形態において、特異度は、少なくとも約３０．０％、少なくとも約３１．０％、少なくとも約３２．０％、少なくとも約３３．０％、少なくとも約３４．０％、少なくとも約３５．０％、少なくとも約３６．０％、少なくとも約３７．０％、少なくとも約３８．０％、少なくとも約３９．０％、少なくとも約４０．０％、少なくとも約４５．０％、少なくとも約５０．０％、少なくとも約５５．０％、少なくとも約６０．０％、少なくとも約６５．０％、少なくとも約７０．０％、少なくとも約７５．０％、少なくとも約８０．０％、少なくとも約８５．０％、少なくとも約９０．０％、少なくとも約９１．０％、少なくとも約９２．０％、少なくとも約９３．０％、少なくとも約９４．０％、少なくとも約９５．０％、少なくとも約９６．０％、少なくとも約９７．０％、少なくとも約９８．０％、少なくとも約９９．０％、少なくとも約９９．１％、少なくとも約９９．２％、少なくとも約９９．３％、少なくとも約９９．４％、少なくとも約９９．５％、少なくとも約９９．６％、少なくとも約９９．７％、少なくとも約９９．８％、少なくとも約９９．９％又は少なくとも約１００．０％である。例えば、一部の実施形態において、感度は、少なくとも約９９％であり、特異度は、少なくとも約７５％である、感度は、少なくとも約９９％であり、特異度は、少なくとも約９９％である、又は感度は、少なくとも約１００％であり、特異度は、少なくとも約１００％である。別の例を目的として述べると、一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約７９％以上の感度及び約３３％以上の特異度を有するアッセイにより決定される。加えて、他の実施形態において、アッセイとして使用された場合の方法は、ＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１を、個別に測定又は検出する方法又はアッセイと比較して、少なくとも３％高い感度及び少なくとも１７％高い特異度を有する。他の実施形態において、アッセイとして使用された場合の方法は、ＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１を、個別に測定又は検出する方法又はアッセイと比較して、少なくとも５％高い感度及び少なくとも２０％高い特異度を有する。他の実施形態において、アッセイとして使用された場合の方法は、ＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１を、個別に測定又は検出する方法又はアッセイと比較して、少なくとも８％高い感度及び少なくとも２５％高い特異度を有する。

【０２７４】

一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約５０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの間であることが可能であり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約１００ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの間でありうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル又はＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約１０ｐｇ／ｍＬ～約５００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約１０ｐｇ／ｍＬ～約４００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約１０ｐｇ／ｍＬ～約３００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約１０ｐｇ／ｍＬ～約２００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約１０ｐｇ／ｍＬ～約１００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約１０ｐｇ／ｍＬ～約５０ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約１０ｐｇ／ｍＬ～約４０ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約１０ｐｇ／ｍＬ～約３０ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約２０ｐｇ／ｍＬ～約５００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約２０ｐｇ／ｍＬ～約４００ｐｇ／ｍＬの間、

少なくとも約２０ｐｇ／ｍＬ～約３００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約２０ｐｇ／ｍＬ～約２００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約２０ｐｇ／ｍＬ～約１００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約２０ｐｇ／ｍＬ～約５０ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約２０ｐｇ／ｍＬ～約４０ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約２０ｐｇ／ｍＬ～約３０ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約３０ｐｇ／ｍＬ～約５００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約３０ｐｇ／ｍＬ～約４００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約３０ｐｇ／ｍＬ～約３００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約３０ｐｇ／ｍＬ～約２００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約３０ｐｇ／ｍＬ～約１００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約３０ｐｇ／ｍＬ～約５０ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約３０ｐｇ／ｍＬ～約４０ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約４０ｐｇ／ｍＬ～約５００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約４０ｐｇ／ｍＬ～約４００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約４０ｐｇ／ｍＬ～約３００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約４０ｐｇ／ｍＬ～約２００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約４０ｐｇ／ｍＬ～約１００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約４０ｐｇ／ｍＬ～約５０ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約５０ｐｇ／ｍＬ～約５００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約５０ｐｇ／ｍＬ～約４００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約５０ｐｇ／ｍＬ～約３００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約５０ｐｇ／ｍＬ～約２００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約５０ｐｇ／ｍＬ～約１００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約７５ｐｇ／ｍＬ～約５００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約７５ｐｇ／ｍＬ～約４００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約７５ｐｇ／ｍＬ～約３００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約７５ｐｇ／ｍＬ～約２００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約７５ｐｇ／ｍＬ～約１００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約１００ｐｇ／ｍＬ～約５００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約１００ｐｇ／ｍＬ～約４００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約１００ｐｇ／ｍＬ～約３００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約１００ｐｇ／ｍＬ～約２００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約１５０ｐｇ／ｍＬ～約５００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約１５０ｐｇ／ｍＬ～約４００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約１５０ｐｇ／ｍＬ～約３００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約１５０ｐｇ／ｍＬ～約２００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約２００ｐｇ／ｍＬ～約５００ｐｇ／ｍＬの間、少なくとも約２００ｐｇ／ｍＬ～約４００ｐｇ／ｍＬの間、または少なくとも約２００ｐｇ／ｍＬ～約３００ｐｇ／ｍＬの間でありうる。例えば、ＵＣＨ－Ｌ１についての基準レベルは、少なくとも約８０ｐｇ／ｍＬ～約１５０ｐｇ／ｍＬの間であり、ＧＦＡＰについての基準レベルは、少なくとも約２０ｐｇ／ｍＬ～約２００ｐｇ／ｍＬの間でありうる。さらなる例を目的として述べると、他の実施形態において、ＧＦＡＰについての基準レベルは、約１０５ｐｇ／ｍＬ～約８９０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１についての基準レベルは、約１１０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬである。一部の実施形態において、ＧＦＡＰについての基準レベルは、約１０５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１についての基準レベルは、約１１０ｐｇ／ｍＬである。一部の実施形態において、ＧＦＡＰについての基準レベルは、約８９０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１についての基準レベルは、約９２０ｐｇ／ｍＬである。他の実施形態において、ＧＦＡＰについての基準レベルは、約５０５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１についての基準レベルは、約１５８０ｐｇ／ｍＬである。

【０２７５】

一部の実施形態において、試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰについての基準レベルは、約８９０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１についての基準レベルは、約９２０ｐｇ／ｍＬであり、方法は、９０％以上の感度及び７９％以上の特異度を有する。別の実施形態において、試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰについての基準レベルは、約５０５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１についての基準レベルは、約１５８０ｐｇ／ｍＬであり、方法は、９０％以上の感度及び６６％以上の特異度を有する。

【０２７６】

一部の実施形態において、方法は、下記において記載される通り、ヒト対象を、外傷性脳損傷処置により処置するステップ及び／又はヒト対象をモニタリングするステップをさらに含む。

【０２７７】
本明細書において記載された方法において利用されたアッセイの性質は、それほど重要ではなく、検査は、例えば、イムノアッセイ、タンパク質免疫沈降、免疫電気泳動、化学解析、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ及びウェスタンブロット解析又はタンパク質免疫染色、電気泳動解析、タンパク質アッセイ、競合的結合アッセイ、機能的タンパク質アッセイ、又は高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）若しくは液体クロマトグラフィー－質量分析（ＬＣ／ＭＳ）のような、クロマトグラフィー法若しくは分光法のような、当技術分野において公知である、任意のアッセイでありうる。また、アッセイは、当業者に公知の臨床化学フォーマットにおいて利用されうる。このようなアッセイについては、本明細書の第５～９節において、さらに詳細に記載されている。当技術分野において、特異的な試料型を利用するアッセイ（例えば、血清を用いるイムノアッセイ又は全血を利用するポイントオブケアデバイスのような）において使用された値（例えば、基準レベル、カットオフ、閾値、特異度、感度、較正物質及び／又は対照の濃度など）は、アッセイ標準化のような、当技術分野において公知の技法を使用して、他のアッセイフォーマットへと外挿されうることが公知である。例えば、アッセイの標準化が実施されうる、１つの方式は、比較法に見合う傾きを得るように、試料濃度の読取りを高値又は低値とするために、アッセイにおいて利用される較正物質へと、係数を適用することによるものである。１つのアッセイにおいて得られた結果を、別のアッセイへと標準化する、他の方法も周知であり、文献において記載されている（例えば、その内容が、参照により本明細書に組み込まれた、Ｄａｖｉｄ Ｗｉｌｄ、「Ｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ　Ｈａｎｄｂｏｏｋ」、４版、３．５章、３１５～３２２頁を参照されたい）。
【０２７８】
３．頭部への損傷を負ったヒト対象に対して、イメージングを実施するのかどうかについての決定の一助となる方法
本開示は、他の方法の中でも、頭部への損傷を負った、又は負った可能性があるヒト対象に対して、ＭＲＩ又はＣＴスキャンなどのイメージング手順を実施するのかどうかを決定する一助となる方法に関する。本明細書において使用された、「ヒト対象に対して、ＭＲＩ又はＣＴスキャンなどのイメージング手順を実施するのかどうかの決定」とは、対象が、陽性のＭＲＩスキャン又は陽性の頭部ＣＴスキャン（すなわち、頭蓋内病変の存在）を有する可能性が、そうでない場合より高いのかどうかを決定するのに、他の情報（例えば、臨床評価データ）と共に、前述の方法が使用されうるという事実を指す。
【０２７９】
一部の実施形態において、方法は、基準レベルと比較した、ＧＦＡＰ、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルに基づき、ＴＢＩを負った対象が、コンピュータ断層撮影（ＣＴ）スキャンを必要とするのかどうかを決定する一助となりうる。これらの実施形態に従い、方法は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して、アッセイを実施して、ＧＦＡＰの試料中レベルと、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルとの組合せを測定又は検出するステップ；及び（ａ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約５０ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満であり、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約９０ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満である場合に、対象が、ＣＴスキャンを必要としないと決定するステップ；又は（ｂ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約５０ｐｇ／ｍＬ～約９７５ｐｇ／ｍＬの基準レベルと等しく、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約９０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｇ／ｍＬの基準レベルと等しい場合に、対象が、ＣＴスキャンを必要としないと決定するステップ；又は（ｃ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約９７５ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高く、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約２０００ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高い場合に、対象が、ＣＴスキャンを必要とする可能性が、そうでない可能性より高いと決定するステップ
を含みうる。
【０２８０】

一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約５０ｐｇ／ｍＬ～約９７５ｐｇ／ｍＬの間であることが可能であり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約９０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの間でありうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約１００ｐｇ／ｍＬ～約９７５ｐｇ／ｍＬの間であることが可能であり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約１００ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの間でありうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約２００ｐｇ／ｍＬ～約９７５ｐｇ／ｍＬの間であることが可能であり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約２００ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの間でありうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約３００ｐｇ／ｍＬ～約９７５ｐｇ／ｍＬの間であることが可能であり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約３００ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの間でありうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約４００ｐｇ／ｍＬ～約９７５ｐｇ／ｍＬの間であることが可能であり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約４００ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの間でありうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約５００ｐｇ／ｍＬ～約９７５ｐｇ／ｍＬの間であることが可能であり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約５００ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの間でありうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約１１０ｐｇ／ｍＬ～約９７５ｐｇ／ｍＬの間であることが可能であり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約９０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの間でありうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約２４０ｐｇ／ｍＬ～約９７５ｐｇ／ｍＬの間であることが可能であり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約３００ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの間でありうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約１９０ｐｇ／ｍＬ～約９７５ｐｇ／ｍＬの間であることが可能であり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約９０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの間でありうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、少なくとも１１０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも２０００ｐｇ／ｍＬである。他の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、少なくとも２４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも３００ｐｇ／ｍＬである。他の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、少なくとも１９０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも９０ｐｇ／ｍＬである。

【０２８１】

一部の実施形態において、試料は、頭部への損傷又は推測される損傷から、約０～約４時間以内、約０～約８時間以内、約０～約１２時間以内、約０～約１６時間以内、約０～約２０時間以内、約０～約２４時間以内及び約０～約４８時間以内など、約４８時間以内に、ヒト対象から採取される。一部の実施形態において、試料は、約４時間～約８時間以内、約８時間～約１２時間以内、約１２時間～約１６時間以内、約１６時間～約２０時間以内、約２０時間～約２４時間以内及び約２４時間～約４８時間以内に、ヒト対象から採取される。他の実施形態において、試料は、頭部への損傷又は推測される損傷から、約０分、約３０分、約６０分、約９０分、約１２０分、約３時間、約４時間、約５時間、約６時間、７時間、約８時間、約９時間、約１０時間、約１１時間、約１２時間、約１３時間、約１４時間、約１５時間、約１６時間、約１７時間、約１８時間、約１９時間、約２０時間、約２１時間、約２２時間、約２３時間、又は約２４時間以内に、ヒト対象から採取されうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰとＵＣＨ－Ｌ１との組合せの存在の開始は、頭部への損傷の後、約０分、約３０分、約６０分、約９０分、約１２０分、約３時間、約４時間、約５時間、約６時間、７時間、約８時間、約９時間、約１０時間、約１１時間、約１２時間、約１３時間、約１４時間、約１５時間、約１６時間、約１７時間、約１８時間、約１９時間、約２０時間、約２１時間、約２２時間、約２３時間、又は約２４時間以内に現れる。一態様において、試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約１６時間以内に、対象から得られる。別の態様において、試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られる。さらに別の態様において、試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象

から得られる。さらにまた別の態様において、試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られる。

【０２８２】

一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、本明細書においてさらに論じられる通り、約５４％以上の感度及び約３２％以上の特異度を有する方法により決定される。

【０２８３】

一部の実施形態において、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約５０％～約１００％の間の感度及び少なくとも約３０％～約１００％の間の特異度を有するアッセイにより決定される。一部の実施形態において、感度は、少なくとも約５０％～約１００％の間、少なくとも約５０％～少なくとも約９９％の間、少なくとも約５０％～少なくとも約９５％の間、少なくとも約５０％～少なくとも約９０％の間、少なくとも約５０％～少なくとも約８５％の間、少なくとも約５５％～約１００％の間、少なくとも約５５％～少なくとも約９９％の間、少なくとも約５５％～少なくとも約９５％の間、少なくとも約５５％～少なくとも約９０％の間、少なくとも約５５％～少なくとも約８５％の間、少なくとも約６０％～約１００％の間、少なくとも約６０％～少なくとも約９９％の間、少なくとも約６０％～少なくとも約９５％の間、少なくとも約６０％～少なくとも約９０％の間、少なくとも約６０％～少なくとも約８５％の間、少なくとも約７０％～約１００％の間、少なくとも約７０％～少なくとも約９９％の間、少なくとも約７０％～少なくとも約９５％の間、少なくとも約７０％～少なくとも約９０％の間、少なくとも約７０％～少なくとも約８５％の間、少なくとも約８０％～約１００％の間、少なくとも約８０％～少なくとも約９９％の間、少なくとも約８０％～少なくとも約９５％の間、少なくとも約８０％～少なくとも約９０％の間、少なくとも約８０％～少なくとも約８５％の間、少なくとも約８５％～約１００％の間、少なくとも約８５％～少なくとも約９９％の間、少なくとも約８５％～少なくとも約９５％の間、少なくとも約８５％～少なくとも約９０％の間、少なくとも約９０％～約１００％の間、少なくとも約９０％～少なくとも約９９％の間、少なくとも約９０％～少なくとも約９５％の間、少なくとも約９５％～約１００％の間、または少なくとも約９５％～少なくとも約９９％の間である。一部の実施形態において、感度は、少なくとも５０％、少なくとも５１％、少なくとも５２％、少なくとも５３％、少なくとも５４％、少なくとも約５５％、少なくとも約６０％、少なくとも約６５％、少なくとも約７０．０％、少なくとも約７５．０％、少なくとも約８０．０％、少なくとも約８５．０％、少なくとも約８７．５％、少なくとも約９０．０％、少なくとも約９５．０％、少なくとも約９９．０％、少なくとも約９９．１％、少なくとも約９９．２％、少なくとも約９９．３％、少なくとも約９９．４％、少なくとも約９９．５％、少なくとも約９９．６％、少なくとも約９９．７％、少なくとも約９９．８％、少なくとも約９９．９％又は少なくとも約１００．０％である。一部の実施形態において、アッセイの感度は、５４％以上である。

【０２８４】

一部の実施形態において、特異度は、少なくとも約３０％～約１００％の間、少なくとも約３０％～約９９％の間、少なくとも約３０％～約９５％の間、少なくとも約３０％～約９０％の間、少なくとも約３０％～約８５％の間、少なくとも約３０％～約８０％の間、少なくとも約３０％～約７５％の間、少なくとも約３０％～約７０％の間、少なくとも約３０％～約６０％の間、少なくとも約３０％～約５０％の間、少なくとも約４０％～約１００％の間、少なくとも約４０％～約９９％の間、少なくとも約４０％～約９５％の間、少なくとも約４０％～約９０％の間、少なくとも約４０％～約８５％の間、少なくとも約４０％～約８０％の間、少なくとも約４０％～約７５％の間、少なくとも約４０％～約７０％の間、少なくとも約４０％～約６０％の間、少なくとも約４０％～約５０％の間、少なくとも約５０％～約１００％の間、少なくとも約５０％～約９９％の間、少なくとも約５０％～約９５％の間、少なくとも約５０％～約９０％の間、少なくとも約５０％～約８５％の間、少なくとも約５０％～約８０％の間、少なくとも約５０％～約７５％の間、

少なくとも約５０％～約７０％の間、少なくとも約５０％～約６０％の間、少なくとも約６０％～約１００％の間、少なくとも約６０％～約９９％の間、少なくとも約６０％～約９５％の間、少なくとも約６０％～約９０％の間、少なくとも約６０％～約８５％の間、少なくとも約６０％～約８０％の間、少なくとも約６０％～約７５％の間、少なくとも約６０％～約７０％の間、少なくとも約７０％～約１００％の間、少なくとも約７０％～約９９％の間、少なくとも約７０％～約９５％の間、少なくとも約７０％～約９０％の間、少なくとも約７０％～約８５％の間、少なくとも約７０％～約８０％の間、少なくとも約７０％～約７５％の間、少なくとも約８０％～約１００％の間、少なくとも約８０％～約９９％の間、少なくとも約８０％～約９５％の間、少なくとも約８０％～約９０％の間、少なくとも約８０％～約８５％の間、少なくとも約９０％～約１００％の間、少なくとも約９０％～約９９％の間、少なくとも約９０％～約９５％の間、少なくとも約９５％～約９９％の間又は少なくとも約９５％～約１００％の間である。一部の実施形態において、特異度は、少なくとも約３０．０％、少なくとも約３１．０％、少なくとも約３２．０％、少なくとも約３３．０％、少なくとも約３４．０％、少なくとも約３５．０％、少なくとも約３６．０％、少なくとも約３７．０％、少なくとも約３８．０％、少なくとも約３９．０％、少なくとも約４０．０％、少なくとも約４５．０％、少なくとも約５０．０％、少なくとも約５５．０％、少なくとも約６０．０％、少なくとも約６５．０％、少なくとも約７０．０％、少なくとも約７５．０％、少なくとも約８０．０％、少なくとも約８５．０％、少なくとも約９０．０％、少なくとも約９１．０％、少なくとも約９２．０％、少なくとも約９３．０％、少なくとも約９４．０％、少なくとも約９５．０％、少なくとも約９６．０％、少なくとも約９７．０％、少なくとも約９８．０％、少なくとも約９９．０％、少なくとも約９９．１％、少なくとも約９９．２％、少なくとも約９９．３％、少なくとも約９９．４％、少なくとも約９９．５％、少なくとも約９９．６％、少なくとも約９９．７％、少なくとも約９９．８％、少なくとも約９９．９％又は少なくとも約１００．０％である。例えば、一部の実施形態において、感度は、少なくとも約９９％であり、特異度は、少なくとも約７５％である、感度は、少なくとも約９９％であり、特異度は、少なくとも約９９％である、又は感度は、少なくとも約１００％であり、特異度は、少なくとも約１００％である。

【０２８５】

他の実施形態において、試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約１１０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約２００００ｐｇ／ｍＬであり、方法は、９５％以上の感度及び６２％以上の特異度を有する。なおさらに他の実施形態において、試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約２４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約３００ｐｇ／ｍＬであり、方法は、９１．５％以上の感度及び５２％以上の特異度を有する。なおさらなる実施形態において、試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約１９０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約９０ｐｇ／ｍＬであり、方法は、９９％以上の感度及び３６％以上の特異度を有する。

【０２８６】

他の実施形態において、方法は、基準レベルと比較した、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルに基づき、ＴＢＩを負った対象が、ＭＲＩ手順を必要とするのかどうかを決定する一助となりうる。これらの実施形態に従い、方法は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して、アッセイを実施して、ＧＦＡＰの試料中レベルと、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルとの組合せを測定又は検出するステップ；及び（ａ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１５ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満であり、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約５０ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満である場合に、対象が、ＭＲＩ手順を必要としないと決定するステップ；又は（ｂ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１５ｐｇ／ｍＬ～約１０００ｐｇ／ｍＬの

基準レベルと等しく、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約５０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｇ／ｍＬの基準レベルと等しい場合に、対象が、ＭＲＩ手順を必要とする可能性が、そうでない可能性より高いと決定するステップ；又は（ｃ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１０００ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高く、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約２０００ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高い場合に、対象が、ＭＲＩ手順を必要とする可能性が、そうでない可能性より高いと決定するステップを含みうる。

【０２８７】

一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約１０ｐｇ／ｍＬ～約１０００ｐｇ／ｍＬの間であることが可能であり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約４０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの間でありうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約１５ｐｇ／ｍＬ～約１０００ｐｇ／ｍＬの間であることが可能であり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約５０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの間でありうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約２５ｐｇ／ｍＬ～約１０００ｐｇ／ｍＬの間であることが可能であり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約７５ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの間でありうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約５０ｐｇ／ｍＬ～約１０００ｐｇ／ｍＬの間であることが可能であり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約１００ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの間でありうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約７５ｐｇ／ｍＬ～約１０００ｐｇ／ｍＬの間であることが可能であり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約１５０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの間でありうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約１００ｐｇ／ｍＬ～約１０００ｐｇ／ｍＬの間であることが可能であり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約２００ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの間でありうる。

【０２８８】

一部の実施形態において、試料は、頭部への損傷又は推測される損傷から、約０～約４時間以内、約０～約８時間以内、約０～約１２時間以内、約０～約１６時間以内、約０～約２０時間以内、約０～約２４時間以内及び約０～約４８時間以内など、約４８時間以内に、ヒト対象から採取される。一部の実施形態において、試料は、約４時間～約８時間以内、約８時間～約１２時間以内、約１２時間～約１６時間以内、約１６時間～約２０時間以内、約２０時間～約２４時間以内及び約２４時間～約４８時間以内に、ヒト対象から採取される。他の実施形態において、試料は、頭部への損傷又は推測される損傷から、約０分、約３０分、約６０分、約９０分、約１２０分、約３時間、約４時間、約５時間、約６時間、７時間、約８時間、約９時間、約１０時間、約１１時間、約１２時間、約１３時間、約１４時間、約１５時間、約１６時間、約１７時間、約１８時間、約１９時間、約２０時間、約２１時間、約２２時間、約２３時間、又は約２４時間以内に、ヒト対象から採取されうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰとＵＣＨ－Ｌ１との組合せの存在の開始は、頭部への損傷の後、約０分、約３０分、約６０分、約９０分、約１２０分、約３時間、約４時間、約５時間、約６時間、７時間、約８時間、約９時間、約１０時間、約１１時間、約１２時間、約１３時間、約１４時間、約１５時間、約１６時間、約１７時間、約１８時間、約１９時間、約２０時間、約２１時間、約２２時間、約２３時間、又は約２４時間以内に現れる。一態様において、試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約１６時間以内に、対象から得られる。別の態様において、試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られる。さらに別の態様において、試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られる。さらにまた別の態様において、試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られる。

【０２８９】

一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、下記において、より詳細に論じられる通り、約８０％～約９８％の感度及び約３０％～約８

５％の特異度を有する方法により決定される。
【０２９０】
一部の実施形態において、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約７０％～約１００％の間の感度及び少なくとも約３０％～約１００％の間の特異度を有するアッセイにより決定される。一部の実施形態において、感度は、少なくとも約７０％～約１００％の間、少なくとも約７０％～少なくとも約９９％の間、少なくとも約７０％～少なくとも約９５％の間、少なくとも約７０％～少なくとも約９０％の間、少なくとも約７０％～少なくとも約８５％の間、少なくとも約７５％～約１００％の間、少なくとも約７５％～少なくとも約９９％の間、少なくとも約７５％～少なくとも約９５％の間、少なくとも約７５％～少なくとも約９０％の間、少なくとも約７５％～少なくとも約８５％の間、少なくとも約８０％～約１００％の間、少なくとも約８０％～少なくとも約９９％の間、少なくとも約８０％～少なくとも約９５％の間、少なくとも約８０％～少なくとも約９０％の間、少なくとも約８０％～少なくとも約８５％の間、少なくとも約８５％～約１００％の間、少なくとも約８５％～少なくとも約９９％の間、少なくとも約８５％～少なくとも約９５％の間、少なくとも約８５％～少なくとも約９０％の間、少なくとも約９０％～約１００％の間、少なくとも約９０％～少なくとも約９９％の間、少なくとも約９０％～少なくとも約９５％の間、少なくとも約９５％～約１００％の間、または少なくとも約９５％～少なくとも約９９％の間である。一部の実施形態において、感度は、少なくとも約７０．０％、少なくとも約７５．０％、少なくとも約８０．０％、少なくとも約８５．０％、少なくとも約８７．５％、少なくとも約９０．０％、少なくとも約９５．０％、少なくとも約９９．０％、少なくとも約９９．１％、少なくとも約９９．２％、少なくとも約９９．３％、少なくとも約９９．４％、少なくとも約９９．５％、少なくとも約９９．６％、少なくとも約９９．７％、少なくとも約９９．８％、少なくとも約９９．９％、または少なくとも約１００．０％である。
【０２９１】
一部の実施形態において、特異度は、少なくとも約３０％～約１００％の間、少なくとも約３０％～約９９％の間、少なくとも約３０％～約９５％の間、少なくとも約３０％～約９０％の間、少なくとも約３０％～約８５％の間、少なくとも約３０％～約８０％の間、少なくとも約３０％～約７５％の間、少なくとも約３０％～約７０％の間、少なくとも約３０％～約６０％の間、少なくとも約３０％～約５０％の間、少なくとも約４０％～約１００％の間、少なくとも約４０％～約９９％の間、少なくとも約４０％～約９５％の間、少なくとも約４０％～約９０％の間、少なくとも約４０％～約８５％の間、少なくとも約４０％～約８０％の間、少なくとも約４０％～約７５％の間、少なくとも約４０％～約７０％の間、少なくとも約４０％～約６０％の間、少なくとも約４０％～約５０％の間、少なくとも約５０％～約１００％の間、少なくとも約５０％～約９９％の間、少なくとも約５０％～約９５％の間、少なくとも約５０％～約９０％の間、少なくとも約５０％～約８５％の間、少なくとも約５０％～約８０％の間、少なくとも約５０％～約７５％の間、少なくとも約５０％～約７０％の間、少なくとも約５０％～約６０％の間、少なくとも約６０％～約１００％の間、少なくとも約６０％～約９９％の間、少なくとも約６０％～約９５％の間、少なくとも約６０％～約９０％の間、少なくとも約６０％～約８５％の間、少なくとも約６０％～約８０％の間、少なくとも約６０％～約７５％の間、少なくとも約６０％～約７０％の間、少なくとも約７０％～約１００％の間、少なくとも約７０％～約９９％の間、少なくとも約７０％～約９５％の間、少なくとも約７０％～約９０％の間、少なくとも約７０％～約８５％の間、少なくとも約７０％～約８０％の間、少なくとも約７０％～約７５％の間、少なくとも約８０％～約１００％の間、少なくとも約８０％～約９９％の間、少なくとも約８０％～約９５％の間、少なくとも約８０％～約９０％の間、少なくとも約８０％～約８５％の間、少なくとも約９０％～約１００％の間、少なくとも約９０％～約９９％の間、少なくとも約９０％～約９５％の間、少なくとも約９５％～約９９％の間、または少なくとも約９５％～約１００の間である。一部の実施形態において、特異度は、少なくとも約３０．０％、少なくとも約３１．０％、少なくとも約３２．０

％、少なくとも約３３．０％、少なくとも約３４．０％、少なくとも約３５．０％、少なくとも約３６．０％、少なくとも約３７．０％、少なくとも約３８．０％、少なくとも約３９．０％、少なくとも約４０．０％、少なくとも約４５．０％、少なくとも約５０．０％、少なくとも約５５．０％、少なくとも約６０．０％、少なくとも約６５．０％、少なくとも約７０．０％、少なくとも約７５．０％、少なくとも約８０．０％、少なくとも約８５．０％、少なくとも約９０．０％、少なくとも約９１．０％、少なくとも約９２．０％、少なくとも約９３．０％、少なくとも約９４．０％、少なくとも約９５．０％、少なくとも約９６．０％、少なくとも約９７．０％、少なくとも約９８．０％、少なくとも約９９．０％、少なくとも約９９．１％、少なくとも約９９．２％、少なくとも約９９．３％、少なくとも約９９．４％、少なくとも約９９．５％、少なくとも約９９．６％、少なくとも約９９．７％、少なくとも約９９．８％、少なくとも約９９．９％、または少なくとも約１００．０％である。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約８０％～約９８％の感度及び約３０％～約８５％の特異度を有する方法により決定される。

【０２９２】

一部の実施形態において、試料は、損傷後、約２４時間～約４８時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約３５ｐｇ／ｍＬであり、アッセイは、９４％以上の感度及び３０％以上の特異度を有する。さらに他の実施形態において、試料は、損傷後、約２４時間～約４８時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約１４３ｐｇ／ｍＬであり、アッセイは、８８％以上の感度及び５０％以上の特異度を有する。試料は、損傷後、約２４時間～約４８時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルは、約６０２ｐｇ／ｍＬであり、アッセイは、５７％以上の感度及び９５％以上の特異度を有する。

【０２９３】

一部の実施形態において、方法は、アッセイが実施される前に、又は実施された後において、ＣＴスキャンを受けている対象に対して実施され、場合によって、ＣＴスキャンは、ＴＢＩが生じなかったこと（すなわち、正常なＣＴスキャン）を指し示す。このような場合に、対象のＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、例えば、ＭＲＩ手順が要求されることを指し示せば、方法は、対象を診断及び査定し、かつ／又はどのような種類のＴＢＩが、対象に負われたのかを決定するために、ＣＴスキャン結果から独立のＭＲＩ手順が実施されるべきことを決定するステップを含みうる。一部の実施形態において、対象は、アッセイを実施する前に、又は実施した後において、ＣＴスキャンを受けていない。このような場合に、対象のＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、例えば、ＭＲＩ手順が要求されることを指し示せば、方法は、対象を診断及び査定し、かつ／又はどのような種類のＴＢＩが、対象に負われたのかを決定するために、陰性のＣＴスキャンの非存在から独立のＭＲＩ手順が実施されるべきことを決定するステップを含みうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、陽性のＭＲＩスキャン又は陽性の頭部ＣＴスキャン（すなわち、頭蓋内病変の存在）と相関する。

【０２９４】

他の実施形態において、方法は、基準レベルと比較した、ＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１のレベルに基づき、ＴＢＩを負った対象が、ＭＲＩ手順を必要とするのかどうかを決定する一助となりうる。これらの実施形態に従い、方法は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して、アッセイを実施して、ＧＦＡＰの試料中レベルと、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルとの組合せを測定又は検出するステップ；及び（ａ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約０ｐｇ／ｍＬ～約６８ｐｇ／ｍＬの基準レベルと等しい、又はＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約０ｐｇ／ｍＬ～約９９ｇ／ｍＬの基準レベルと等しい場合に、対象が、ＭＲＩ手順を必要としないと決定するステップ；又は（ｂ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約６８ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高い、又はＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約９９ｇ／ｍＬの基準レベルより高い場合に、対象が、ＭＲＩ手順を必要とする可能性が、

そうでない可能性より高いと決定するステップを含みうる。

【０２９５】

一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約１ｐｇ／ｍＬ～約６８ｐｇ／ｍＬの間でありうる、又はＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約１ｐｇ／ｍＬ～約９９ｐｇ／ｍＬの間でありうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約５ｐｇ／ｍＬ～約６８ｐｇ／ｍＬの間でありうる、又はＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約５ｐｇ／ｍＬ～約９９ｐｇ／ｍＬの間でありうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約５ｐｇ／ｍＬ～約６５ｐｇ／ｍＬの間でありうる、又はＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約５ｐｇ／ｍＬ～約９５ｐｇ／ｍＬの間でありうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約５ｐｇ／ｍＬ～約６０ｐｇ／ｍＬの間でありうる、又はＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約５ｐｇ／ｍＬ～約９０ｐｇ／ｍＬの間でありうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約５ｐｇ／ｍＬ～約５５ｐｇ／ｍＬの間でありうる、又はＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約５ｐｇ／ｍＬ～約８５ｐｇ／ｍＬの間でありうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約５ｐｇ／ｍＬ～約５０ｐｇ／ｍＬの間でありうる、又はＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約５ｐｇ／ｍＬ～約８０ｐｇ／ｍＬの間でありうる。

【０２９６】

一部の実施形態において、試料は、頭部への損傷又は推測される損傷から、約０～約４時間以内、約０～約８時間以内、約０～約１２時間以内、約０～約１６時間以内、約０～約２０時間以内、約０～約２４時間以内及び約０～約４８時間以内など、約４８時間以内に、ヒト対象から採取される。一部の実施形態において、試料は、約４時間～約８時間以内、約８時間～約１２時間以内、約１２時間～約１６時間以内、約１６時間～約２０時間以内、約２０時間～約２４時間以内及び約２４時間～約４８時間以内に、ヒト対象から採取される。他の実施形態において、試料は、頭部への損傷又は推測される損傷から、約０分、約３０分、約６０分、約９０分、約１２０分、約３時間、約４時間、約５時間、約６時間、７時間、約８時間、約９時間、約１０時間、約１１時間、約１２時間、約１３時間、約１４時間、約１５時間、約１６時間、約１７時間、約１８時間、約１９時間、約２０時間、約２１時間、約２２時間、約２３時間、又は約２４時間以内に、ヒト対象から採取されうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰとＵＣＨ－Ｌ１との組合せの存在の開始は、頭部への損傷の後、約０分、約３０分、約６０分、約９０分、約１２０分、約３時間、約４時間、約５時間、約６時間、７時間、約８時間、約９時間、約１０時間、約１１時間、約１２時間、約１３時間、約１４時間、約１５時間、約１６時間、約１７時間、約１８時間、約１９時間、約２０時間、約２１時間、約２２時間、約２３時間、又は約２４時間以内に現れる。一態様において、試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約１６時間以内に、対象から得られる。別の態様において、試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られる。さらに別の態様において、試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られる。さらにまた別の態様において、試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られる。

【０２９７】

一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、下記の表において、より詳細に論じられる通り、約９０％～約９５％の感度及び約３１％～約４６％の特異度を有する方法により決定される。

【０２９８】

【表２】

		感度					
特異度	31%	90%	91%	92%	93%	94%	95%
	32%	90%	91%	92%	93%	94%	95%
	33%	90%	91%	92%	93%	94%	95%
	34%	90%	91%	92%	93%	94%	95%
	35%	90%	91%	92%	93%	94%	95%
	36%	90%	91%	92%	93%	94%	95%
	37%	90%	91%	92%	93%	94%	95%
	38%	90%	91%	92%	93%	94%	95%
	39%	90%	91%	92%	93%	94%	95%
	40%	90%	91%	92%	93%	94%	95%
	41%	90%	91%	92%	93%	94%	95%
	42%	90%	91%	92%	93%	94%	95%
	43%	90%	91%	92%	93%	94%	95%
	44%	90%	91%	92%	93%	94%	95%
	45%	90%	91%	92%	93%	94%	95%
	46%	90%	91%	92%	93%	94%	95%

【０２９９】

一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、下記の表において、より詳細に論じられる通り、約８１％～約８４％の感度及び約３１％～約３４％の特異度を有する方法により決定される。

【０３００】

【表３】

		感度			
特異度	31%	81%	82%	83%	84%
	32%	81%	82%	83%	84%
	33%	81%	82%	83%	84%
	34%	81%	82%	83%	84%

【０３０１】

一部の実施形態において、方法は、アッセイが実施される前に、又は実施された後において、ＣＴスキャンを受けている対象に対して実施され、場合によって、ＣＴスキャンは、ＴＢＩが生じなかったこと（すなわち、正常なＣＴスキャン）を指し示す。このような場合に、対象のＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、例えば、ＭＲＩ手順が要求されることを指し示せば、方法は、対象を診断及び査定し、かつ／又はどのような種類のＴＢＩが、対象に負われたのかを決定するために、ＣＴスキャン結果から独立のＭＲＩ手順が実

施されるべきことを決定するステップを含みうる。一部の実施形態において、対象は、アッセイを実施する前に、又は実施した後において、ＣＴスキャンを受けていない。このような場合に、対象のＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、例えば、ＭＲＩ手順が要求されることを指し示せば、方法は、対象を診断及び査定し、かつ／又はどのような種類のＴＢＩが、対象に負われたのかを決定するために、陰性のＣＴスキャンの非存在から独立のＭＲＩ手順が実施されるべきことを決定するステップを含みうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、陽性のＭＲＩスキャン又は陽性の頭部ＣＴスキャン（すなわち、頭蓋内病変の存在）と相関する。

【０３０２】

４．頭部損傷を負ったヒト対象の転帰を予測する一助となる方法

本開示は、他の方法の中でも、頭部への損傷を負った、又は負った可能性がある対象の転帰を予測する方法に関する。本明細書において記載された通り、頭部損傷を負った対象の転帰を予測することは、基準レベルと比較した、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルに基づき、ＴＢＩを負った対象の、思わしい転帰又は思わしくない転帰を予測することを含む。これらの実施形態に従い、方法は、実際の損傷又は推測される頭部への損傷の後、約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して、アッセイを実施して、ＧＦＡＰの試料中レベルと、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルとの組合せを測定又は検出するステップを含みうる。

【０３０３】

一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約７０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの間であることが可能であり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約１００ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの間でありうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約１００ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの間であることが可能であり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約１５０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの間でありうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約２００ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの間であることが可能であり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約２００ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの間でありうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約３００ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの間であることが可能であり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約３００ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの間でありうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベルは、約８０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの間であることが可能であり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約１３０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの間でありうる。

【０３０４】

一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、下記において、より詳細に論じられる通り、約８０％～約９７％の感度及び約３０％～約９５％の特異度を有する方法により決定される。

【０３０５】

一部の実施形態において、対象は、方法が実施された後において、ＧＯＳＥ（Ｅｘｔｅｎｄｅｄ　Ｇｌａｓｇｏｗ　Ｏｕｔｃｏｍｅ　Ｓｃａｌｅ）スコアを受けており、ＧＯＳＥスコアに基づき、思わしい転帰又は思わしくない転帰（例えば、転帰不良）を有することが予測される。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、１のＧＯＳＥスコアに基づき、転帰不良を有する対象と相関する。

【０３０６】

一部の実施形態において、方法は、ＴＢＩについての医学的診断を受けていない対象（例えば、頭部への損傷を負った、又は負った可能性があるが、ＴＢＩは診断されていない場合の対象）に対して実施される。このような場合に、対象のＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、例えば、思わしくない転帰を予測する基準レベルを上回るなら、方法は、対象を診断及び査定し、かつ／又はどのような種類のＴＢＩを、対象が負った可能性があるのかを決定するために、ＣＴスキャン及び／又はＭＲＩ手順の実施など、さらなる医学的

介入が要求されることを決定するステップを含みうる。一部の実施形態において、対象は、ＴＢＩを負ったと診断を受けている場合がある。このような場合に、方法は、対象のＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、基準レベルを上回るのかどうかを決定するステップ、これにより、診断を確認するステップ、及び思わしくない転帰を予測するステップを含みうる。しかし、一部の実施形態において、対象のＧＦＡＰレベル及びＵＣＨ－Ｌ１レベルは、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルを下回り、このため、思わしい転帰を予測することにより、ＴＢＩ診断と矛盾する場合がある。このような場合に、方法は、ＭＲＩ手順又は頭部ＣＴスキャン（すなわち、頭蓋内病変の存在を検出するための）などにより、対象が、ＴＢＩを負っているのかどうかを再査定するステップを含みうる。

【０３０７】

一部の実施形態において、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、少なくとも約７０％～約１００％の間の感度及び少なくとも約３０％～約１００％の間の特異度を有するアッセイにより決定される。一部の実施形態において、感度は、少なくとも約７０％～約１００％の間、少なくとも約７０％～少なくとも約９９％の間、少なくとも約７０％～少なくとも約９５％の間、少なくとも約７０％～少なくとも約９０％の間、少なくとも約７０％～少なくとも約８５％の間、少なくとも約７５％～約１００％の間、少なくとも約７５％～少なくとも約９９％の間、少なくとも約７５％～少なくとも約９５％の間、少なくとも約７５％～少なくとも約９０％の間、少なくとも約７５％～少なくとも約８５％の間、少なくとも約８０％～約１００％の間、少なくとも約８０％～少なくとも約９９％の間、少なくとも約８０％～少なくとも約９５％の間、少なくとも約８０％～少なくとも約９０％の間、少なくとも約８０％～少なくとも約８５％の間、少なくとも約８５％～約１００％の間、少なくとも約８５％～少なくとも約９９％の間、少なくとも約８５％～少なくとも約９５％の間、少なくとも約８５％～少なくとも約９０％の間、少なくとも約９０％～約１００％の間、少なくとも約９０％～少なくとも約９９％の間、少なくとも約９０％～少なくとも約９５％の間、少なくとも約９５％～約１００％の間、または少なくとも約９５％～少なくとも約９９％の間である。一部の実施形態において、感度は、少なくとも約７０．０％、少なくとも約７５．０％、少なくとも約８０．０％、少なくとも約８５．０％、少なくとも約８７．５％、少なくとも約９０．０％、少なくとも約９５．０％、少なくとも約９９．０％、少なくとも約９９．１％、少なくとも約９９．２％、少なくとも約９９．３％、少なくとも約９９．４％、少なくとも約９９．５％、少なくとも約９９．６％、少なくとも約９９．７％、少なくとも約９９．８％、少なくとも約９９．９％、または少なくとも約１００．０％である。

【０３０８】

一部の実施形態において、特異度は、少なくとも約３０％～約１００％の間、少なくとも約３０％～約９９％の間、少なくとも約３０％～約９５％の間、少なくとも約３０％～約９０％の間、少なくとも約３０％～約８５％の間、少なくとも約３０％～約８０％の間、少なくとも約３０％～約７５％の間、少なくとも約３０％～約７０％の間、少なくとも約３０％～約６０％の間、少なくとも約３０％～約５０％の間、少なくとも約４０％～約１００％の間、少なくとも約４０％～約９９％の間、少なくとも約４０％～約９５％の間、少なくとも約４０％～約９０％の間、少なくとも約４０％～約８５％の間、少なくとも約４０％～約８０％の間、少なくとも約４０％～約７５％の間、少なくとも約４０％～約７０％の間、少なくとも約４０％～約６０％の間、少なくとも約４０％～約５０％の間、少なくとも約５０％～約１００％の間、少なくとも約５０％～約９９％の間、少なくとも約５０％～約９５％の間、少なくとも約５０％～約９０％の間、少なくとも約５０％～約８５％の間、少なくとも約５０％～約８０％の間、少なくとも約５０％～約７５％の間、少なくとも約５０％～約７０％の間、少なくとも約５０％～約６０％の間、少なくとも約６０％～約１００％の間、少なくとも約６０％～約９９％の間、少なくとも約６０％～約９５％の間、少なくとも約６０％～約９０％の間、少なくとも約６０％～約８５％の間、少なくとも約６０％～約８０％の間、少なくとも約６０％～約７５％の間、少なくとも約６０％～約７０％の間、少なくとも約７０％～約１００％の間、少なくとも約７０％～約

９９％の間、少なくとも約７０％～約９５％の間、少なくとも約７０％～約９０％の間、少なくとも約７０％～約８５％の間、少なくとも約７０％～約８０％の間、少なくとも約７０％～約７５％の間、少なくとも約８０％～約１００％の間、少なくとも約８０％～約９９％の間、少なくとも約８０％～約９５％の間、少なくとも約８０％～約９０％の間、少なくとも約８０％～約８５％の間、少なくとも約９０％～約１００％の間、少なくとも約９０％～約９９％の間、少なくとも約９０％～約９５％の間、少なくとも約９５％～約９９％の間、または少なくとも約９５％～約１００の間である。一部の実施形態において、特異度は、少なくとも約３０．０％、少なくとも約３１．０％、少なくとも約３２．０％、少なくとも約３３．０％、少なくとも約３４．０％、少なくとも約３５．０％、少なくとも約３６．０％、少なくとも約３７．０％、少なくとも約３８．０％、少なくとも約３９．０％、少なくとも約４０．０％、少なくとも約４５．０％、少なくとも約５０．０％、少なくとも約５５．０％、少なくとも約６０．０％、少なくとも約６５．０％、少なくとも約７０．０％、少なくとも約７５．０％、少なくとも約８０．０％、少なくとも約８５．０％、少なくとも約９０．０％、少なくとも約９１．０％、少なくとも約９２．０％、少なくとも約９３．０％、少なくとも約９４．０％、少なくとも約９５．０％、少なくとも約９６．０％、少なくとも約９７．０％、少なくとも約９８．０％、少なくとも約９９．０％、少なくとも約９９．１％、少なくとも約９９．２％、少なくとも約９９．３％、少なくとも約９９．４％、少なくとも約９９．５％、少なくとも約９９．６％、少なくとも約９９．７％、少なくとも約９９．８％、少なくとも約９９．９％、または少なくとも約１００．０％である。一部の実施形態において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルは、約８０％～約９７％の感度及び約３０％～約９５％の特異度を有する方法により決定される。一部の実施形態において、試料は、頭部への損傷又は推測される損傷から、約０～約４時間以内、約０～約８時間以内、約０～約１２時間以内、約０～約１６時間以内、約０～約２０時間以内、約０～約２４時間以内及び約０～約４８時間以内など、約４８時間以内に、ヒト対象から採取される。一部の実施形態において、試料は、約４時間～約８時間以内、約８時間～約１２時間以内、約１２時間～約１６時間以内、約１６時間～約２０時間以内、約２０時間～約２４時間以内及び約２４時間～約４８時間以内に、ヒト対象から採取される。他の実施形態において、試料は、頭部への損傷又は推測される損傷から、約０分、約３０分、約６０分、約９０分、約１２０分、約３時間、約４時間、約５時間、約６時間、７時間、約８時間、約９時間、約１０時間、約１１時間、約１２時間、約１３時間、約１４時間、約１５時間、約１６時間、約１７時間、約１８時間、約１９時間、約２０時間、約２１時間、約２２時間、約２３時間、又は約２４時間以内に、ヒト対象から採取されうる。一部の実施形態において、ＧＦＡＰとＵＣＨ－Ｌ１との組合せの存在の開始は、頭部への損傷の後、約０分、約３０分、約６０分、約９０分、約１２０分、約３時間、約４時間、約５時間、約６時間、７時間、約８時間、約９時間、約１０時間、約１１時間、約１２時間、約１３時間、約１４時間、約１５時間、約１６時間、約１７時間、約１８時間、約１９時間、約２０時間、約２１時間、約２２時間、約２３時間、又は約２４時間以内に現れる。一態様において、試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約１６時間以内に、対象から得られる。別の態様において、試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られる。さらに別の態様において、試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られる。さらにまた別の態様において、試料は、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られる。

【０３０９】

５．頭部への損傷を負った対象の処置及びモニタリング

上記において記載された方法において、軽度外傷性脳損傷又は中等度～重度の外傷性脳損傷のような外傷性脳損傷を有すると同定又は評価された対象は、処置又はモニタリングされうる。一部の実施形態において、方法は、外傷性脳損傷を有すると評価されたヒト対象を、当技術分野において公知である、任意の処置のような、外傷性脳損傷処置により処置するステップをさらに含む。例えば、外傷性脳損傷の処置は、頭部への損傷の重症度に

応じて、様々な形態を取りうる。例えば、軽度ＴＢＩを患う対象の場合、処置は、休息、症状を悪化させるイベント（スポーツなど）の抑制、日向に出るときの、光線の回避又はサングラスの着用、頭痛又は偏頭痛を緩和するための薬物、抗悪心薬などの投与など、症状の管理を含みうる。重度のＴＢＩを患う患者のための処置は、１つ以上の適切な薬物（例えば、利尿剤、抗痙攣薬物、個体を鎮静させ、薬物誘導性昏睡へと導く薬物など）又は他の医薬若しくは生物医薬（ＴＢＩの処置のために公知の医薬又は将来開発される医薬）、１つ以上の手術手順（例えば、血腫の除去、頭蓋骨骨折の修復、減圧開頭術など）及び１つ以上の治療（例えば、１つ以上のリハビリ、認知行動療法、アンガーマネージメント、心理カウンセリングなど）を含みうる。一部の実施形態において、方法は、外傷性脳損傷（例えば、軽度又は中等度～重度の外傷性脳損傷）を有すると評価されたヒト対象をモニタリングするステップをさらに含む。一部の実施形態において、軽度外傷性脳損傷又は重度外傷性脳損傷のような外傷性脳損傷を有すると同定された対象は、ＣＴスキャン又はＭＲＩによりモニタリングされうる。

【０３１０】

６．ＵＣＨ－Ｌ１のレベルを測定するための方法

上記において記載された方法において、ＵＣＨ－Ｌ１レベルは、イムノアッセイ、タンパク質免疫沈降、免疫電気泳動、化学解析、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ及びウェスタンブロット解析若しくはタンパク質免疫染色のような抗体依存的方法などの電気泳動解析、タンパク質アッセイ、競合的結合アッセイ、機能的タンパク質アッセイ、又は高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）若しくは液体クロマトグラフィー－質量分析（ＬＣ／ＭＳ）などのクロマトグラフィー法又は分光法などの、任意の手段により測定されうる。また、当業者に公知のものなど、臨床化学フォーマットのアッセイ又は単一分子検出アッセイも利用されうる。

【０３１１】

一部の実施形態において、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルを測定するステップは、試料を、第１の特異的結合メンバー及び第２の特異的結合メンバーと接触させるステップを含む。一部の実施形態において、第１の特異的結合メンバーは、捕捉抗体であり、第２の特異的結合メンバーは、検出抗体である。一部の実施形態において、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルを測定するステップは、試料を、同時に、又は逐次的に、任意の順序において、（１）ＵＣＨ－Ｌ１上又はＵＣＨ－Ｌ１断片上のエピトープに結合して少なくとも１つの捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原複合体（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原複合体）を形成する少なくとも１つの捕捉抗体（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体）、及び（２）検出可能な標識を含み、捕捉抗体が結合していないＵＣＨ－Ｌ１上のエピトープに結合してＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つの検出抗体複合体（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１抗原－ＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体）を形成する少なくとも１つの検出抗体（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１検出抗体）と接触させて、少なくとも１つの捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つの検出抗体複合体（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原－ＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体）を形成すること、並びにＵＣＨ－Ｌ１の、試料中量又は試料中濃度を、捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原－検出抗体複合体内の検出可能な標識により発生したシグナルに基づき測定することを含む。

【０３１２】

一部の実施形態において、方法は、検出可能な標識を含み、捕捉抗体及び第１の検出抗体が結合していないＵＣＨ－Ｌ１上のエピトープに結合する、第２の検出抗体など、第３の特異的結合メンバーをさらに含む。

【０３１３】

一部の実施形態において、第１の特異的結合メンバーは、固体支持体上に固定化される。一部の実施形態において、第２の特異的結合メンバーは、固体支持体上に固定化される。一部の実施形態において、第１の特異的結合メンバーは、下記で記載されるＵＣＨ－Ｌ１抗体である。

【０３１４】

一部の実施形態において、試料は、希釈される、又は希釈されない。試料は、約１～約２５マイクロリットル、約１～約２４マイクロリットル、約１～約２３マイクロリットル、約１～約２２マイクロリットル、約１～約２１マイクロリットル、約１～約２０マイクロリットル、約１～約１８マイクロリットル、約１～約１７マイクロリットル、約１～約１６マイクロリットル、約１５マイクロリットル又は約１マイクロリットル、約２マイクロリットル、約３マイクロリットル、約４マイクロリットル、約５マイクロリットル、約６マイクロリットル、約７マイクロリットル、約８マイクロリットル、約９マイクロリットル、約１０マイクロリットル、約１１マイクロリットル、約１２マイクロリットル、約１３マイクロリットル、約１４マイクロリットル、約１５マイクロリットル、約１６マイクロリットル、約１７マイクロリットル、約１８マイクロリットル、約１９マイクロリットル、約２０マイクロリットル、約２１マイクロリットル、約２２マイクロリットル、約２３マイクロリットル、約２４マイクロリットル又は約２５マイクロリットルでありうる。一部の実施形態において、試料は、約１～約１５０マイクロリットル若しくはこれ未満又は約１～約２５マイクロリットル若しくはこれ未満である。

【０３１５】

ポイントオブケアデバイス以外の、一部の測定器（例えば、Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ製の測定器であるＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）及び他のコア検査測定器など）は、ＵＣＨ－Ｌ１の、２５，０００ｐｇ／ｍＬ以上の試料中レベルを測定することが可能でありうる。

【０３１６】

他の検出法は、例えば、単一分子検出のための、ナノポアデバイス又はナノウェルデバイスの使用を含む、又はこれらにおける使用に適合させられうる。ナノポアデバイスの例については、参照によりその全体において本明細書に組み込まれた、国際特許公開第２０１６／１６１４０２号において記載されている。ナノウェルデバイスの例については、参照によりその全体において本明細書に組み込まれた、国際特許公開第２０１６／１６１４００号において記載されている。単一分子検出に適切な、他のデバイス及び方法もまた、利用されうる。

【０３１７】

７．ＵＣＨ－Ｌ１抗体

本明細書において記載された方法は、「ＵＣＨ－Ｌ１抗体」と称される、ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（「ＵＣＨ－Ｌ１」）（又はこの断片）に特異的に結合する単離抗体を使用しうる。ＵＣＨ－Ｌ１抗体は、ＵＣＨ－Ｌ１状態を、外傷性脳損傷の尺度として評価する、ＵＣＨ－Ｌ１の、試料中の存在を検出する、試料中に存在するＵＣＨ－Ｌ１の量を定量する、又はＵＣＨ－Ｌ１の、試料中の存在を検出し、かつ、ＵＣＨ－Ｌ１の、試料中量を定量するのに使用されうる。

【０３１８】

ａ．ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）

「ユビキチンＣ末端ヒドロラーゼ」としてもまた公知のユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）（「ＵＣＨ－Ｌ１」）は、脱ユビキチン化酵素である。ＵＣＨ－Ｌ１は、その産物が、ユビキチンの、小型のＣ末端付加物を加水分解して、ユビキチン単量体を発生させる遺伝子ファミリーのメンバーである。ＵＣＨ－Ｌ１の発現は、ニューロン及びびまん性神経内分泌系の細胞並びにそれらの腫瘍に、高度に特異的である。ＵＣＨ－Ｌ１は、全てのニューロン内に、豊富に存在し（全脳タンパク質のうちの、１～２％を占める）、とりわけ、ニューロン及び精巣／卵巣において発現する。ＵＣＨ－Ｌ１の触媒三残基は、そのヒドロラーゼ活性の一因となる、９０位におけるシステイン、１７６位におけるアスパラギン酸及び１６１位におけるヒスチジンを含有する。

【０３１９】

ヒトＵＣＨ－Ｌ１は、以下のアミノ酸配列：

【０３２０】

【化１】

MQLKPMEINPEMLNKVLSRLGVAGQWRFVDVLGLEEESLGSVPAPACALLLL
FPLTAQHENFRKKQIEELKGQEVSPKVYFMKQTIGNSCGTIGLIHAVANNQDKLGFEDGS
VLKQFLSETEKMSPEDRAKCFEKNEAIQAAHDAVAQEGQCRVDDKVNFHFILFNNVDG
HLYELDGRMPFPVNHGASSEDTLLKDAAKVCREFTEREQGEVRFSAVALCKAA（配列番号：1）

を有しうる。

【０３２１】

ヒトＵＣＨ－Ｌ１は、配列番号１の断片又は変異体でありうる。ＵＣＨ－Ｌ１の断片は、５～２２５アミノ酸の間、１０～２２５アミノ酸の間、５０～２２５アミノ酸の間、６０～２２５アミノ酸の間、６５～２２５アミノ酸の間、１００～２２５アミノ酸の間、１５０～２２５アミノ酸の間、１００～１７５アミノ酸の間又は１７５～２２５アミノ酸の間の長さでありうる。断片は、配列番号１に由来する、連続番号のアミノ酸を含みうる。

【０３２２】

ｂ．ＵＣＨ－Ｌ１認識抗体

抗体は、ＵＣＨ－Ｌ１、この断片、ＵＣＨ－Ｌ１のエピトープ又はこの変異体に結合する抗体である。抗体は、抗ＵＣＨ－Ｌ１抗体の断片又はこの変異体若しくは誘導体でありうる。抗体は、ポリクローナル又はモノクローナル抗体でありうる。抗体は、キメラ抗体、単鎖抗体、アフィニティー成熟抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、完全ヒト抗体又はＦａｂ断片のような抗体断片又はこれらの混合物でありうる。抗体の断片又は誘導体は、Ｆ（ａｂ’）$_2$断片、Ｆｖ断片又はｓｃＦｖ断片を含みうる。抗体の誘導体は、ペプチド模倣体により作製されうる。さらに、単鎖抗体を作製するために記載されている技法は、単鎖抗体を作製するように適合させられうる。

【０３２３】

抗ＵＣＨ－Ｌ１抗体は、キメラ抗ＵＣＨ－Ｌ１又はヒト化抗ＵＣＨ－Ｌ１抗体でありうる。一実施形態において、ヒト化抗体及びキメラ抗体のいずれも、一価である。一実施形態において、ヒト化抗体及びキメラ抗体のいずれも、Ｆｃ領域へと連結された、単一のＦａｂ領域を含む。

【０３２４】

ヒト抗体は、ファージディスプレイ技術又はヒト免疫グロブリン遺伝子を発現するトランスジェニックマウスから導出されうる。ヒト抗体は、ヒトのインビボにおける免疫応答の結果として作出及び単離されうる。例えば、Ｆｕｎａｒｏら、ＢＭＣ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、２００８（８）：８５を参照されたい。したがって、抗体は、ヒトの産物であることが可能であり、動物レパートリーではない場合がある。抗体は、ヒト由来であるため、自己抗原に対する反応性の危険性は、最小化されうる。代替的に、標準的な酵母ディスプレイライブラリー及び酵母ディスプレイ技術は、ヒト抗ＵＣＨ－Ｌ１抗体を選択及び単離するのに使用されうる。例えば、ナイーブヒト単鎖可変断片（ｓｃＦｖ）のライブラリーは、ヒト抗ＵＣＨ－Ｌ１抗体を選択するのに使用されうる。トランスジェニック動物は、ヒト抗体を発現させるのに使用されうる。

【０３２５】

ヒト化抗体は、所望の抗原に結合する非ヒト種抗体に由来する抗体分子であって、非ヒト種に由来する、１つ以上の相補性決定領域（ＣＤＲ）及びヒト免疫グロブリン分子に由来するフレームワーク領域を有する抗体分子でありうる。

【０３２６】

抗体は、それが、当技術分野において公知の抗体と異なる生物学的機能を保有するという点で、公知の抗体と識別可能である。

【０３２７】

（１）エピトープ

抗体は、ＵＣＨ－Ｌ１（配列番号１）、この断片又はこの変異体に免疫特異的に結合しうる。抗体は、エピトープ領域内の、少なくとも３アミノ酸、少なくとも４アミノ酸、少なくとも５アミノ酸、少なくとも６アミノ酸、少なくとも７アミノ酸、少なくとも８アミノ酸、少なくとも９アミノ酸又は少なくとも１０アミノ酸を免疫特異的に認識することが可能であり、これらに結合しうる。抗体は、エピトープ領域のうちの、少なくとも３連続アミノ酸、少なくとも４連続アミノ酸、少なくとも５連続アミノ酸、少なくとも６連続アミノ酸、少なくとも７連続アミノ酸、少なくとも８連続アミノ酸、少なくとも９連続アミノ酸又は少なくとも１０連続アミノ酸を有するエピトープを免疫特異的に認識することが可能であり、これらに結合しうる。

【０３２８】

ｃ．例示的な抗ＵＣＨ－Ｌ１抗体

抗ＵＣＨ－Ｌ１抗体は、本明細書において記載された技法を使用して、並びに、当技術分野において公知である、規定の技法を使用して作出されうる。一部の実施形態において、抗ＵＣＨ－Ｌ１抗体は、Ｕｎｉｔｅｄ Ｓｔａｔｅ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ（型番：０３１３２０）、Ｃｅｌｌ Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ（型番：３５２４）、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ（型番：ＨＰＡ００５９９３）、Ｓａｎｔａ Ｃｒｕｚ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．（型番：ｓｃ－５８５９３又はｓｃ－５８５９４）、Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ（型番：ＭＡＢ６００７）、Ｎｏｖｕｓ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌｓ（型番：ＮＢ６００－１１６０）、Ｂｉｏｒｂｙｔ（型番：ｏｒｂ３３７１５）、Ｅｎｚｏ Ｌｉｆｅ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｉｎｃ．（型番：ＡＤＩ－９０５－５２０－１）、Ｂｉｏ－Ｒａｄ（型番：ＶＭＡ００００４）、ＢｉｏＶｉｓｉｏｎ（型番：６１３０－５０）、Ａｂｃａｍ（型番：ａｂ７５２７５又はａｂ１０４９３８）、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ（型番：４８００１２）、ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ（型番：ＭＡ１－４６０７９、ＭＡ５－１７２３５、ＭＡ１－９０００８又はＭＡ１－８３４２８）、ＥＭＤ Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ（型番：ＭＡＢＮ４８）又はＳｉｎｏ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｃ．（型番：５０６９０－Ｒ０１１）から市販されているＵＣＨ－Ｌ１抗体などの非コンジュゲートＵＣＨ－Ｌ１抗体でありうる。抗ＵＣＨ－Ｌ１抗体は、ＢｉｏＶｉｓｉｏｎ（型番：６９６０－２５）又はＡｖｉｖａ Ｓｙｓｔｅｍｓ Ｂｉｏｌｏｇｙ（型番：ＯＡＡＦ０１９０４－ＦＩＴＣ）から市販されている、コンジュゲートＵＣＨ－Ｌ１抗体など、フルオロフォアへとコンジュゲートされうる。本明細書において記載された方法において使用されうる、他のＵＣＨ－Ｌ１抗体は、その内容が、参照により本明細書に組み込まれた、ＷＯ２０１８／０８１６４９において記載されているＵＣＨ－Ｌ１抗体を含む。

【０３２９】

ｄ．抗体の調製／作製

抗体は、当業者に周知の技法を含む、様々な技法のうちのいずれかにより調製されうる。一般に、抗体は、組換えでありうる抗体の作製を可能とするように、従来の技法を介する、又は抗体の遺伝子、重鎖及び／若しくは軽鎖の、適切な細菌細胞宿主若しくは哺乳動物細胞宿主へのトランスフェクションを介する、モノクローナル抗体の作出を含む細胞培養法により作製されうる。「トランスフェクション」という用語の多様な形態は、外因性ＤＮＡの、原核宿主細胞又は真核宿主細胞への導入のために一般に使用されている、多種多様な技法、例えば、電気穿孔、リン酸カルシウム沈殿、ＤＥＡＥ－デキストラントランスフェクションなどを包含することが意図される。抗体を、原核宿主細胞又は真核宿主細胞において発現させることが可能であるが、そのような真核細胞（そして、特に、哺乳動物の細胞）は、原核細胞より、アセンブルし、適正にフォールディングされ、免疫学的に活性である抗体を分泌する可能性が高いため、抗体の、真核細胞内の発現が好ましく、哺乳動物宿主細胞内の発現が最も好ましい。

【０３３０】

組換え抗体を発現させるための、例示的な哺乳動物宿主細胞は、例えば、Ｋａｕｆｍａ

ｎ及びＳｈａｒｐ、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、１５９：６０１～６２１（１９８２）において記載されているようにＤＨＦＲ選択用マーカーと共に使用されるチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞（Ｕｒｌａｕｂ及びＣｈａｓｉｎ、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、７７：４２１６～４２２０（１９８０）において記載されているｄｈｆｒ－ＣＨＯ細胞を含む）、ＮＳ０骨髄腫細胞、ＣＯＳ細胞及びＳＰ２細胞を含む。抗体遺伝子をコードする組換え発現ベクターが、哺乳動物宿主細胞へと導入される場合、抗体は、宿主細胞内の抗体の発現又は、より好ましくは、宿主細胞が増殖される培養培地への抗体の分泌を可能とするのに十分な時間にわたり、宿主細胞を培養することにより作製される。抗体は、標準的なタンパク質精製法を使用して、培養培地から回収されうる。

【０３３１】

宿主細胞はまた、Ｆａｂ断片又はｓｃＦｖ分子のような、機能的抗体断片を作製するのにも使用されうる。上記の手順に対する変動は、実施されうることが理解される。例えば、宿主細胞に、抗体の軽鎖及び／又は重鎖の機能的断片をコードするＤＮＡをトランスフェクトすることが所望されうる。組換えＤＮＡ技術はまた、目的の抗原への結合に必要でない軽鎖及び重鎖の一方又は両方をコードするＤＮＡの一部又は全部を除去するのにも使用されうる。また、このような切断型ＤＮＡ分子から発現させた分子も、抗体に包含される。加えて、１つの重鎖及び１つの軽鎖が、抗体（すなわち、ヒトＵＣＨ－Ｌ１に結合する抗体）であり、他の重鎖及び軽鎖が、ヒトＵＣＨ－Ｌ１以外の抗原に特異的である、二官能性抗体も、抗体を、標準的な化学的架橋法を介して、第２の抗体へと架橋することにより作製されうる。

【０３３２】

抗体又はこの抗原結合性部分を組換え発現させるための好ましい系において、抗体重鎖及び抗体軽鎖の両方をコードする組換え発現ベクターが、リン酸カルシウム媒介型トランスフェクションにより、ｄｈｆｒ－ＣＨＯ細胞へと導入される。組換え発現ベクター内において、高レベルの遺伝子の転写を駆動するように、抗体重鎖遺伝子及び抗体軽鎖遺伝子の各々が、ＣＭＶエンハンサー／ＡｄＭＬＰプロモーター調節エレメントへと作動的に連結される。組換え発現ベクターはまた、メトトレキサートによる選択／増幅を使用するベクターをトランスフェクトされたＣＨＯ細胞の選択を可能とするＤＨＦＲ遺伝子も保有する。抗体の重鎖及び軽鎖の発現を可能とするように、選択された形質転換体の宿主細胞が培養され、無傷抗体が培養培地から回収される。組換え発現ベクターを調製し、宿主細胞にトランスフェクトし、形質転換体について選択し、宿主細胞を培養し、抗体を培養培地から回収するのに、標準的な分子生物学法が使用される。なおさらに、組換え抗体を合成する方法は、組換え抗体が合成されるまで、宿主細胞を、適切な培養培地中において培養することによる。方法は、組換え抗体を、培養培地から単離するステップをさらに含みうる。

【０３３３】

モノクローナル抗体を調製する方法は、所望の特異性を有する抗体を作製することが可能な不死細胞株の調製を伴う。このような細胞株は、免疫化された動物から得られた脾臓細胞から作製されうる。動物は、ＵＣＨ－Ｌ１又はこの断片及び／若しくは変異体により免疫化されうる。動物を免疫化するのに使用されるペプチドは、ヒトＦｃ、例えば、ヒト抗体のＦｃ（ｆｒａｇｍｅｎｔ　ｃｒｙｓｔａｌｌｉｚａｂｌｅ）領域又はテール領域をコードするアミノ酸を含みうる。次いで、脾臓細胞が、例えば、骨髄腫細胞融合パートナーとの融合により不死化される。様々な融合法が利用されうる。例えば、脾臓細胞及び骨髄腫細胞が、非イオン性界面活性剤と、数分間にわたり組み合わされ、次いで、低密度において、ハイブリッド細胞の増殖を支援するが、骨髄腫細胞の増殖を支援しない選択培地上に播種される。このような一技法は、ヒポキサンチン、アミノプテリン、チミジン（ＨＡＴ）選択を使用する。別の技法は、電気融合を含む。十分な時間、通例、約１～２週間の後、ハイブリッド体のコロニーが観察される。単一のコロニーが選択され、それらの培養物上清は、ポリペプチドに対する結合活性について試験される。高度な反応性及び特異性を有するハイブリドーマが使用されうる。

【０３３４】
モノクローナル抗体は、増殖するハイブリドーマコロニーの上清から単離されうる。加えて、収率を増強するように、ハイブリドーマ細胞株の、マウスのような、適切な脊椎動物宿主の腹腔への注射のような、多様な技法が利用されうる。次いで、モノクローナル抗体は、腹水又は血液から採取されうる。夾雑物は、クロマトグラフィー、ゲル濾過、沈殿及び抽出のような、従来の技法により、抗体から除去されうる。アフィニティークロマトグラフィーは、抗体を精製する工程において使用されうる方法の例である。
【０３３５】
タンパク質分解酵素であるパパインは、ＩｇＧ分子を優先的にいくつかの断片に切断して、これらのうちの２つの（Ｆ（ａｂ）断片）の各々が、無傷の抗原結合部位を含む、共有結合的ヘテロ二量体を含む断片をもたらす。酵素であるペプシンは、ＩｇＧ分子を切断して、両方の抗原結合性部位を含む、Ｆ（ａｂ’）$_2$断片を含む、いくつかの断片をもたらすことが可能である。
【０３３６】
Ｆｖ断片は、ＩｇＭの、優先的なタンパク質分解性切断により作製されうるが、まれな場合に、ＩｇＧ免疫グロブリン分子又はＩｇＡ免疫グロブリン分子の優先的なタンパク質分解性切断によっても作製されうる。Ｆｖ断片は、組換え法を使用して導出されうる。Ｆｖ断片は、天然抗体分子の抗原認識能及び抗原結合能の大半を保持する抗原結合部位を含む、非共有結合的ＶＨ：：ＶＬヘテロ二量体を含む。
【０３３７】
抗体、抗体断片又は誘導体は、それぞれ、ＣＤＲに対する支持をもたらし、ＣＤＲの、互いに対する空間的関係を規定する、重鎖及び軽鎖のフレームワーク（「ＦＲ」）のセットの間に挿入された、重鎖及び軽鎖の相補性決定領域（「ＣＤＲ」）のセットを含みうる。ＣＤＲのセットは、重鎖Ｖ領域又は軽鎖Ｖ領域からなる、３つの超可変領域を含有しうる。
【０３３８】
必須の特異性を有する抗体を作製又は単離する、他の適する方法であって、当技術分野において公知の方法を使用して、例えば、Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ（Ｃａｍｂｒｉｄｇｅｓｈｉｒｅ、ＵＫ）、ＭｏｒｐｈｏＳｙｓ（Ｍａｒｔｉｎｓｒｅｉｄ／Ｐｌａｎｅｇｇ、Ｄｅｌ．）、Ｂｉｏｖａｔｉｏｎ（Ａｂｅｒｄｅｅｎ、Ｓｃｏｔｌａｎｄ、ＵＫ）、ＢｉｏＩｎｖｅｎｔ（Ｌｕｎｄ、Ｓｗｅｄｅｎ）のような、多様な市販品の販売元から市販されている、ペプチドライブラリー又はタンパク質ライブラリー（例えば、バクテリオファージライブラリー、リボソームライブラリー、オリゴヌクレオチドライブラリー、ＲＮＡライブラリー、ｃＤＮＡライブラリー、酵母ライブラリーなどのディスプレイライブラリーであるがこれらに限定されない）から組換え抗体を選択する方法を含むがこれらに限定されない方法が使用されうる。米国特許第４，７０４，６９２号；同第５，７２３，３２３号；同第５，７６３，１９２号；同第５，８１４，４７６号；同第５，８１７，４８３号；同第５，８２４，５１４号；同第５，９７６，８６２号を参照されたい。代替的な方法は、ヒト抗体のレパートリーを作製することが可能な、トランスジェニック動物の免疫化（例えば、ＳＣＩＤマウス、Ｎｇｕｙｅｎら（１９９７）、Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、４１：９０１～９０７；Ｓａｎｄｈｕら（１９９６）、Ｃｒｉｔ．Ｒｅｖ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．、１６：９５～１１８；Ｅｒｅｎら（１９９８）、Ｉｍｍｕｎｏｌ．、９３：１５４～１６１）であって、当技術分野において公知であり、かつ／又は本明細書において記載された、トランスジェニック動物の免疫化に依拠する。このような技法は、リボソームディスプレイ（Ｈａｎｅｓら（１９９７）、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、９４：４９３７～４９４２；Ｈａｎｅｓら（１９９８）、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、９５：１４１３０～１４１３５）；単一細胞による抗体作製技術（例えば、選択リンパ球抗体法（「ＳＬＡＭ」）（米国特許第５，６２７，０５２号、Ｗｅｎら（１９８７）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１７：８８７～８９２；Ｂａｂｃｏｏｋら（１９９６）、Ｐｒｏｃ．

Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、９３：７８４３～７８４８）；ゲル微小液滴及びフローサイトメトリー（Ｐｏｗｅｌｌら（１９９０）、Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．、８：３３３－３３７；Ｏｎｅ Ｃｅｌｌ Ｓｙｓｔｅｍｓ（Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ、Ｍａｓｓ．）；Ｇｒａｙら（１９９５）、Ｊ．Ｉｍｍ．Ｍｅｔｈ．、１８２：１５５～１６３；Ｋｅｎｎｙら（１９９５）、Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌ．、１３：７８７～７９０）；Ｂ細胞の選択（Ｓｔｅｅｎｂａｋｋｅｒｓら（１９９４）、Ｍｏｌｅｃ．Ｂｉｏｌ．Ｒｅｐｏｒｔｓ、１９：１２５～１３４（１９９４））を含むがこれらに限定されない。

【０３３９】

アフィニティー成熟抗体は、当技術分野において公知である、多数の手順のうちのいずれか１つにより作製されうる。例えば、Ｍａｒｋｓら、ＢｉｏＴｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、１０：７７９～７８３（１９９２）は、ＶＨとＶＬとのドメインシャッフリングによるアフィニティー成熟について記載している。ＣＤＲ残基及び／又はフレームワーク残基のランダム突然変異誘発については、Ｂａｒｂａｓら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、９１：３８０９～３８１３（１９９４）；Ｓｃｈｉｅｒら、Ｇｅｎｅ、１６９：１４７～１５５（１９９５）；Ｙｅｌｔｏｎら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１５５：１９９４～２００４（１９９５）；Ｊａｃｋｓｏｎら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１５４（７）：３３１０～３３１９（１９９５）；Ｈａｗｋｉｎｓら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、２２６：８８９～８９６（１９９２）により記載されている。選択的突然変異誘発位置及び活性増強アミノ酸残基を伴う接触位置又は超変異位置における選択的突然変異については、米国特許第６，９１４，１２８Ｂ１号において記載されている。

【０３４０】

抗体の変異体はまた、抗体をコードするポリヌクレオチドを、トランスジェニック動物又はこのような抗体をそれらのミルク中に産生するヤギ、ウシ、ウマ、ヒツジなどのような哺乳動物をもたらすのに適する宿主へと送達することを使用しても調製されうる。これらの方法は、当技術分野において公知であり、例えば、米国特許第５，８２７，６９０号；同第５，８４９，９９２号；同第４，８７３，３１６号；同第５，８４９，９９２号；同第５，９９４，６１６号；同第５，５６５，３６２号及び同第５，３０４，４８９号において記載されている。

【０３４１】

抗体の変異体はまた、このような抗体、指定された部分又は変異体を、植物の部分又はこれらから培養された細胞において産生する、トランスジェニック植物及び培養植物細胞（例えば、タバコ、トウモロコシ、及びウキクサであるがこれらに限定されない）をもたらすように、ポリヌクレオチドを送達することによっても調製されうる。例えば、Ｃｒａｍｅｒら（１９９９）、Ｃｕｒｒ．Ｔｏｐ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、２４０：９５～１１８及びこの文献において引用された参考文献は、例えば、誘導性プロモーターを使用する、大量の組換えタンパク質を発現するトランスジェニックのタバコ葉の産生について記載している。トランスジェニックトウモロコシは、他の組換え系において産生された、又は天然の供給源から精製された哺乳動物タンパク質と同等の生物学的活性を伴う哺乳動物タンパク質を、市販品生産のレベルにおいて発現させるのに使用されている。例えば、Ｈｏｏｄら、Ａｄｖ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．Ｂｉｏｌ．（１９９９）、４６４：１２７～１４７及びこの文献において引用された参考文献を参照されたい。抗体の変異体はまた、単鎖抗体（ｓｃＦｖ）のような抗体断片を含むトランスジェニック植物の種子であって、タバコの種子及びバレイショの塊茎を含む種子からも大量に作製されている。例えば、Ｃｏｎｒａｄら（１９９８）、Ｐｌａｎｔ Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、３８：１０１～１０９及びこの文献において引用された参考文献を参照されたい。したがって、抗体はまた、公知の方法に従いトランスジェニック植物を使用しても作製されうる。

【０３４２】

抗体の誘導体は、例えば、外因性配列を付加して、免疫原性を修飾する、又は結合、アフィニティー、オン速度、オフ速度、アビディティー、特異性、半減期若しくは他の任意の適切な特徴を低減、増強若しくは修飾することにより作製されうる。一般に、可変領域

及び定常領域の非ヒト配列を、ヒトアミノ酸又は他のアミノ酸により置換しながら、非ヒトＣＤＲ配列又はヒトＣＤＲ配列のうちの一部又は全部は維持される。

【０３４３】

小型の抗体断片は、２つの抗原結合性部位を有するダイアボディーであって、断片が、同じポリペプチド鎖において、軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）へと接続された重鎖可変ドメイン（ＶＨ）（ＶＨ－ＶＬ）を含む、ダイアボディーでありうる。例えば、ＥＰ４０４，０９７；ＷＯ９３／１１６１及びＨｏｌｌｉｎｇｅｒら（１９９３）、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、９０：６４４４～６４４８を参照されたい。同じ鎖上の２つのドメイン間の対合を可能とするには短すぎるリンカーを使用することにより、ドメインは、別の鎖の相補性ドメインと対合し、２つの抗原結合性部位を創出するように強いられる。また、参照によりその全体において本明細書に組み込まれ、かつ、１つ以上のアミノ酸が、親抗体の超可変領域内へと挿入され、標的抗原に対する結合アフィニティーが、この抗原に対する親抗体の結合アフィニティーの少なくとも約２倍強い抗体変異体についても開示する、Ｃｈｅｎらによる、米国特許第６，６３２，９２６号も参照されたい。

【０３４４】

抗体は、直鎖状抗体でありうる。当技術分野において、直鎖状抗体を作るための手順が公知であり、Ｚａｐａｔａら（１９９５）、Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｎｇ．、８（１０）：１０５７～１０６２において記載されている。略述すると、これらの抗体は、抗原結合領域の対を形成する、タンデムのＦｄセグメント（ＶＨ－ＣＨ１－ＶＨ－ＣＨ１）の対を含む。直鎖状抗体は、二重特異性又は単一特異性でありうる。

【０３４５】

抗体は、プロテインＡ精製、硫酸アンモニウム沈殿又はエタノール沈殿、酸抽出、アニオン交換クロマトグラフィー又はカチオン交換クロマトグラフィー、ホスホセルロースクロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー及びレクチンクロマトグラフィーを含むがこれらに限定されない、公知の方法により、組換え細胞培養物から回収及び精製されうる。高速液体クロマトグラフィー（「ＨＰＬＣ」）もまた、精製のために使用されうる。

【０３４６】

抗体を検出可能に標識することは、有用でありうる。抗体を、これらの薬剤へとコンジュゲートさせるための方法は、当技術分野において公知である。例示だけを目的として述べると、抗体は、放射性原子、発色団、フルオロフォアなどのような検出可能部分により標識されうる。このような標識抗体は、インビボにおける、又は単離された被験試料中の診断法のために使用されうる。このような標識抗体は、サイトカイン、リガンド、別の抗体へと連結されうる。抗腫瘍効果を達成するための、抗体へのカップリングに適する薬剤は、インターロイキン２（ＩＬ－２）及び腫瘍壊死因子（ＴＮＦ）のようなサイトカイン；光力学療法における使用のための光増感剤であって、アルミニウム（ＩＩＩ）フタロシアニンテトラスルホン酸、ヘマトポルフィリン及びフタロシアニンを含む光増感剤；ヨウ素１３１（１３１Ｉ）、イットリウム９０（９０Ｙ）、ビスマス２１２（２１２Ｂｉ）、ビスマス２１３（２１３Ｂｉ）、テクネシウム９９ｍ（９９ｍＴｃ）、レニウム１８６（１８６Ｒｅ）及びレニウム１８８（１８８Ｒｅ）のような放射性核種；ドキソルビシン、アドリアマイシン、ダウノルビシン、メトトレキサート、ダウノマイシン、ネオカルチノスタチン及びカルボプラチンのような抗生剤；ジフテリア毒素、緑膿菌外毒素Ａ、ブドウ球菌エンテロトキシンＡ、アブリンＡ毒素、リシンＡ（脱グリコシル化リシンＡ及び天然リシンＡ）、ＴＧＦ－アルファ毒素、タイワンコブラに由来する細胞毒素（ナジャ・ナジャ・アトラ）及びゲロニン（植物毒素）のような、細菌毒素、植物毒素及び他の毒素；レストリクトシン（アスペルギルス・レストリクツスにより産生されたリボソーム不活化タンパク質）、サポリン（サポナリア・オフィキナリスに由来するリボソーム不活化タンパク質）及びＲＮアーゼのような、植物、細菌及び真菌に由来する、リボソーム不活化タンパク質；チロシンキナーゼ阻害剤；ｌｙ２０７７０２（二フッ素化プリンヌクレオシド）；抗嚢胞剤を含有するリポソーム（例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド、毒素をコ

ードするプラスミド、メトトレキサートなど）並びに他の抗体又はＦ（ａｂ）のような抗体断片を含む。

【０３４７】

ハイブリドーマ技術、選択リンパ球抗体法（ＳＬＡＭ）、トランスジェニック動物及び組換え抗体ライブラリーの使用を介する抗体の作製については、下記において、より詳細に記載される。

【０３４８】

（１）ハイブリドーマ技術を使用する、抗ＵＣＨ－Ｌ１モノクローナル抗体

モノクローナル抗体は、当技術分野において公知の、多種多様な技法であって、ハイブリドーマ、組換え及びファージディスプレイ技術又はこれらの組合せの使用を含む技法を使用して調製されうる。例えば、モノクローナル抗体は、当技術分野において公知であり、例えば、Ｈａｒｌｏｗら、「Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ」、２版（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ、１９８８）；Ｈａｍｍｅｒｌｉｎｇら、「Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｔ－Ｃｅｌｌ Ｈｙｂｒｉｄｏｍａｓ」（Ｅｌｓｅｖｉｅｒ、Ｎ．Ｙ．、１９８１）において教示されているハイブリドーマ法を含むハイブリドーマ法を使用して作製されうる。また、本明細書において使用された「モノクローナル抗体」という用語は、ハイブリドーマ技術を介して作製された抗体に限定されないことも留意される。「モノクローナル抗体」という用語は、任意の真核生物クローン、原核生物クローン又はファージクローンを含む単一クローンに由来する抗体を指し、それが作製された方法を指すものではない。

【０３４９】

方法により作製されるモノクローナル抗体並びに抗体を作出する方法は、抗体を分泌するハイブリドーマ細胞を培養するステップを含みうるが、この場合、ハイブリドーマは、ＵＣＨ－Ｌ１により免疫化された動物、例えば、ラット又はマウスから単離された脾臓細胞を、骨髄腫細胞と融合させ、次いで、融合体から生じるハイブリドーマを、ポリペプチドに結合することが可能な抗体を分泌するハイブリドーマクローンについてスクリーニングすることにより作出されることが好ましい。略述すると、ラットは、ＵＣＨ－Ｌ１抗原により免疫化されうる。好ましい実施形態において、ＵＣＨ－Ｌ１抗原は、免疫応答を刺激するように、アジュバントと共に投与される。このようなアジュバントは、フロイント完全アジュバント又はフロイント不完全アジュバント、ＲＩＢＩ（ムラミルジペプチド）又はＩＳＣＯＭ（免疫刺激性複合体）を含む。このようなアジュバントは、ポリペプチドを、局所的な沈着物内に封入することにより、急速な分散から保護しうる、又はこのようなアジュバントは、マクロファージ及び免疫系の他の構成要素に対して走化性である因子を分泌するように、宿主を刺激する物質を含有しうる。ポリペプチドが投与される場合、免疫化スケジュールは、何週間かにわたる、２回以上のポリペプチドの投与を伴うことが好ましいが、ポリペプチドの単回投与もまた、使用されうる。

【０３５０】

ＵＣＨ－Ｌ１抗原による動物の免疫化の後、抗体及び／又は抗体産生細胞が、動物から得られうる。抗ＵＣＨ－Ｌ１抗体含有血清は、動物から採血する、又は動物を　　殺することにより、動物から得られる。血清は、動物から得られたままに使用されうる、免疫グロブリン画分は、血清から得られうる、又は抗ＵＣＨ－Ｌ１抗体は、血清から精製されうる。このようにして得られた血清又は免疫グロブリンは、ポリクローナルであるので、一連の異種特性を有する。

【０３５１】

免疫応答が検出されたら、例えば、ラット血清中において、抗原であるＵＣＨ－Ｌ１に特異的な抗体が検出されたら、ラット脾臓が摘出され、脾臓細胞が単離される。次いで、脾臓細胞が、周知の技法により、任意の適切な骨髄腫細胞、例えば、Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ（ＡＴＣＣ、Ｍａｎａｓｓａｓ、Ｖａ．、ＵＳ）から市販されている細胞株である、ＳＰ２０に由来する細胞へと融合させられる

。ハイブリドーマが選択され、限界希釈によりクローニングされる。次いで、ハイブリドーマクローンが、当技術分野において公知の方法により、ＵＣＨ－Ｌ１に結合することが可能な抗体を分泌する細胞についてアッセイされる。ラットを、陽性のハイブリドーマクローンにより免疫化することにより、一般に、高レベルの抗体を含有する腹水が作出されうる。

【０３５２】

別の実施形態において、抗体を産生する不死化ハイブリドーマが、免疫化された動物から調製されうる。免疫化の後、動物は、　　殺され、当技術分野において周知の通り、脾臓Ｂ細胞は、不死化骨髄腫細胞へと融合される。例えば、Ｈａｒｌｏｗ及びＬａｎｅ、前出を参照されたい。好ましい実施形態において、骨髄腫細胞は、免疫グロブリンポリペプチドを分泌しない（非分泌性細胞株）。融合及び抗生剤による選択の後、ハイブリドーマは、ＵＣＨ－Ｌ１若しくはこの部分又はＵＣＨ－Ｌ１を発現する細胞を使用してスクリーニングされる。好ましい実施形態において、初期スクリーニングは、酵素免疫測定アッセイ（ＥＬＩＳＡ）又はラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）、好ましくはＥＬＩＳＡを使用して実施される。ＥＬＩＳＡスクリーニングの例は、ＰＣＴ公開第００／３７５０４号において提示されている。

【０３５３】

抗ＵＣＨ－Ｌ１抗体を産生するハイブリドーマは、ロバストなハイブリドーマの増殖、高度な抗体の産生、及び所望の抗体特徴を含む、所望の特徴について選択され、クローニングされ、さらにスクリーニングされる。ハイブリドーマは、インビボの同系動物、免疫系を欠く動物、例えば、ヌードマウスにおいて、又はインビトロの細胞培養物中において培養され、拡大されうる。ハイブリドーマを選択し、クローニングし、拡大する方法は、当業者に周知である。

【０３５４】

好ましい実施形態において、ハイブリドーマは、ラットハイブリドーマである。別の実施形態において、ハイブリドーマは、マウス、ヒツジ、ブタ、ヤギ、ウシ又はウマのような、ヒト以外でラット以外の種において作製される。さらに別の好ましい実施形態において、ハイブリドーマは、ヒト非分泌性骨髄腫が、抗ＵＣＨ－Ｌ１抗体を発現するヒト細胞と融合させられた、ヒトハイブリドーマである。

【０３５５】

特異的エピトープを認識する抗体断片は、公知の技法により作出されうる。例えば、Ｆａｂ断片及びＦ（ａｂ’）$_2$断片は、パパイン（２つの同一なＦａｂ断片をもたらす）又はペプシン（Ｆ（ａｂ’）$_2$断片をもたらす）のような酵素を使用する、免疫グロブリン分子のタンパク質分解性切断により作製されうる。ＩｇＧ分子のＦ（ａｂ’）$_2$断片は、大型の（「親」）ＩｇＧ分子の、２つの抗原結合性部位であって、親ＩｇＧ分子の、両方の軽鎖（軽鎖可変領域及び定常領域を含有する）、重鎖のＣＨ１ドメイン及びジスルフィド形成ヒンジ領域を含む、抗原結合性部位を保持する。したがって、Ｆ（ａｂ’）$_2$断片は、親ＩｇＧ分子と同様に、抗原分子を架橋することが可能である。

【０３５６】

（２）ＳＬＡＭを使用する、抗ＵＣＨ－Ｌ１モノクローナル抗体

別の態様において、組換え抗体は、米国特許第５，６２７，０５２号；ＰＣＴ公開第９２／０２５５１号及びＢａｂｃｏｏｋら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、９３：７８４３～７８４８（１９９６）において記載されている通り、当技術分野において、選択リンパ球抗体法（ＳＬＡＭ）と称される手順を使用して、単一の単離リンパ球から作出される。この方法において、ビオチンのようなリンカーを使用して、抗原であるＵＣＨ－Ｌ１、ＵＣＨ－Ｌ１のサブユニット又はこの断片が、ヒツジ赤血球へとカップリングされ、ＵＣＨ－Ｌ１に対する特異性を伴う抗体を分泌する単一細胞を同定するのに使用される、抗原特異的溶血プラークアッセイを使用して、目的の抗体を分泌する、単一の細胞、例えば、免疫化された動物のうちのいずれか１つに由来するリンパ球がスクリーニングされる。目的の抗体分泌細胞を同定した後、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域のｃＤ

ＮＡが、逆転写酵素ＰＣＲ（ＲＴ－ＰＣＲ）により、細胞からレスキューされ、次いで、これらの可変領域を、ＣＯＳ細胞又はＣＨＯ細胞のような、哺乳動物宿主細胞内の、適切な免疫グロブリン定常領域（例えば、ヒト定常領域）の文脈において発現させる。次いで、インビボにおいて選択されたリンパ球に由来する、増幅された免疫グロブリン配列をトランスフェクトされた宿主細胞は、例えば、ＵＣＨ－Ｌ１に対する抗体を発現する細胞を単離するように、トランスフェクト細胞をパニングすることにより、インビトロにおいて、さらなる解析及び選択を経る場合がある。増幅された免疫グロブリン配列は、インビトロアフィニティー成熟法によるように、インビトロにおいて、さらに操作されうる。例えば、ＰＣＴ公開第９７／２９１３１号及びＰＣＴ公開第００／５６７７２号を参照されたい。

【０３５７】

（３）トランスジェニック動物を使用する、抗ＵＣＨ－Ｌ１モノクローナル抗体

別の実施形態において、抗体は、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の一部又は全部を含む非ヒト動物を、ＵＣＨ－Ｌ１抗原により免疫化することにより作製される。ある実施形態において、非ヒト動物は、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の大型断片を含み、マウス抗体の作製が欠損する操作マウス株である、ＸＥＮＯＭＯＵＳＥ（登録商標）トランスジェニックマウスである。例えば、Ｇｒｅｅｎら、Ｎａｔｕｒｅ　Ｇｅｎｅｔｉｃｓ、７：１３～２１（１９９４）並びに米国特許第５，９１６，７７１号；同第５，９３９，５９８号；同第５，９８５，６１５号；同第５，９９８，２０９号；同第６，０７５，１８１号；同第６，０９１，００１号；同第６，１１４，５９８号及び同第６，１３０，３６４号を参照されたい。また、ＰＣＴ公開第９１／１０７４１号；ＰＣＴ公開第９４／０２６０２号；ＰＣＴ公開第９６／３４０９６号；ＰＣＴ公開第９６／３３７３５号；ＰＣＴ公開第９８／１６６５４号；ＰＣＴ公開第９８／２４８９３号；ＰＣＴ公開第９８／５０４３３号；ＰＣＴ公開第９９／４５０３１号；ＰＣＴ公開第９９／５３０４９号；ＰＣＴ公開第００／０９５６０号及びＰＣＴ公開第００／３７５０４号も参照されたい。ＸＥＮＯＭＯＵＳＥ（登録商標）トランスジェニックマウスは、完全ヒト抗体の成人様ヒトレパートリーを産生し、抗原特異的ヒトモノクローナル抗体を発生させる。ＸＥＮＯＭＯＵＳＥ（登録商標）トランスジェニックマウスは、ヒト重鎖遺伝子座及びｘ軽鎖遺伝子座の、メガ塩基サイズの、生殖細胞系列構成のＹＡＣ断片を導入することにより、ヒト抗体レパートリーのうちの約８０％を含有する。その開示が参照により組み込まれた、Ｍｅｎｄｅｚら、Ｎａｔｕｒｅ　Ｇｅｎｅｔｉｃｓ、１５：１４６～１５６（１９９７）；Ｇｒｅｅｎ及びＪａｋｏｂｏｖｉｔｓ、Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．、１８８：４８３～４９５（１９９８）を参照されたい。

【０３５８】

（４）組換え抗体ライブラリーを使用する、抗ＵＣＨ－Ｌ１モノクローナル抗体

インビトロ法もまた、抗体を作るのに使用されうる場合があり、この場合、所望のＵＣＨ－Ｌ１結合特異性を有する抗体を同定するのに、抗体ライブラリーがスクリーニングされる。組換え抗体ライブラリーの、このようなスクリーニングのための方法は、当技術分野において周知であり、例えば、それらの各々の内容が、参照により本明細書に組み込まれた、米国特許第５，２２３，４０９号（Ｌａｄｎｅｒら）；ＰＣＴ公開第９２／１８６１９号（Ｋａｎｇら）；ＰＣＴ公開第９１／１７２７１号（Ｄｏｗｅｒら）；ＰＣＴ公開第９２／２０７９１号（Ｗｉｎｔｅｒら）；ＰＣＴ公開第９２／１５６７９号（Ｍａｒｋｌａｎｄら）；ＰＣＴ公開第９３／０１２８８号（Ｂｒｅｉｔｌｉｎｇら）；ＰＣＴ公開第９２／０１０４７号（ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙら）；ＰＣＴ公開第９２／０９６９０号（Ｇａｒｒａｒｄら）；Ｆｕｃｈｓら、Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、９：１３６９～１３７２（１９９１）；Ｈａｙら、Ｈｕｍ．Ａｎｔｉｂｏｄ．Ｈｙｂｒｏｄｏｍａｓ、３：８１～８５（１９９２）；Ｈｕｓｅら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、２４６：１２７５～１２８１（１９８９）；ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙら、Ｎａｔｕｒｅ、３４８：５５２～５５４（１９９０）；Ｇｒｉｆｆｉｔｈｓら、ＥＭＢＯＪ．、１２：７２５～７３４（１９９３）；Ｈａｗｋｉｎｓら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、２２６：８８９～８９６（１９９２）；Ｃｌａ

ｃｋｓｏｎら、Ｎａｔｕｒｅ、３５２：６２４～６２８（１９９１）；Ｇｒａｍら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、８９：３５７６～３５８０（１９９２）；Ｇａｒｒａｒｄら、Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、９：１３７３～１３７７（１９９１）；Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍら、Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．、１９：４１３３～４１３７（１９９１）；Ｂａｒｂａｓら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、８８：７９７８～７９８２（１９９１）；米国特許出願公開第２００３／０１８６３７４号及びＰＣＴ公開第９７／２９１３１号、において記載されている方法を含む。

【０３５９】

組換え抗体ライブラリーは、ＵＣＨ－Ｌ１又はＵＣＨ－Ｌ１の部分により免疫化された対象に由来しうる。代替的に、組換え抗体ライブラリーは、ヒトＵＣＨ－Ｌ１により免疫化されていないヒト対象に由来する、ヒト抗体ライブラリーのように、ナイーブ対象、すなわち、ＵＣＨ－Ｌ１により免疫化されていない対象に由来しうる。抗体は、ヒトＵＣＨ－Ｌ１を含むペプチドを伴う組換え抗体ライブラリーをスクリーニングして、これにより、ＵＣＨ－Ｌ１を認識する抗体を選択することにより選択される。このようなスクリーニング及び選択を行うための方法は、前出の段落内の参考文献において記載されている方法のように、当技術分野において周知である。ＵＣＨ－Ｌ１に対して、特定の結合アフィニティーを有する、抗体であって、ヒトＵＣＨ－Ｌ１から、特定のK_{off}速度定数により解離する抗体のような抗体を選択するために、所望のK_{off}速度定数を有する抗体を選択するように、当技術分野において公知の表面プラズモン共鳴法が使用されうる。ｈＵＣＨ－Ｌ１に対する、特定の中和活性を有する抗体であって、特定のIC_{50}を伴う抗体のような抗体を選択するために、ＵＣＨ－Ｌ１活性の阻害を評価するための、当技術分野において公知の標準的方法が使用されうる。

【０３６０】

一態様において、本開示は、ヒトＵＣＨ－Ｌ１に結合する、単離抗体又はこの抗原結合性部分に関する。好ましくは、抗体は、中和抗体である。多様な実施形態において、抗体は、組換え抗体又はモノクローナル抗体である。

【０３６１】

例えば、抗体はまた、当技術分野において公知である、多様なファージディスプレイ法を使用しても作出されうる。ファージディスプレイ法において、機能的な抗体ドメインは、それらをコードするポリヌクレオチド配列を保有するファージ粒子の表面に提示される。このようなファージは、レパートリー又はコンビナトリアル抗体ライブラリー（例えば、ヒト又はマウスの）から発現させた抗原結合性ドメインを提示するのに用いられうる。目的の抗原に結合する抗原結合性ドメインを発現するファージは、抗原により、例えば、標識抗原又は固体表面若しくはビーズに結合された、若しくはこれらへと捕捉された抗原を使用して選択又は同定されうる。これらの方法において使用されたファージは典型的に、ファージから発現させたｆｄ結合性ドメイン及びＭ１３結合性ドメインを、組換えにより、ファージ遺伝子ＩＩＩタンパク質又はファージ遺伝子ＶＩＩＩタンパク質へと融合させた、Ｆａｂ抗体ドメイン、Ｆｖ抗体ドメイン又はジスルフィド安定化Ｆｖ抗体ドメインと共に含む、繊維状ファージである。抗体を作るのに使用されうるファージディスプレイ法の例は、Ｂｒｉｎｋｍａｎｎら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ、１８２：４１～５０（１９９５）；Ａｍｅｓら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ、１８４：１７７～１８６（１９９５）；Ｋｅｔｔｌｅｂｏｒｏｕｇｈら、Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、２４：９５２～９５８（１９９４）；Ｐｅｒｓｉｃら、Ｇｅｎｅ、１８７：９～１８（１９９７）；Ｂｕｒｔｏｎら、Ａｄｖａｎｃｅｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、５７：１９１～２８０（１９９４）；ＰＣＴ公開第９２／０１０４７号；ＰＣＴ公開第９０／０２８０９号；ＰＣＴ公開第９１／１０７３７号；ＰＣＴ公開第９２／０１０４７号；ＰＣＴ公開第９２／１８６１９号；ＰＣＴ公開第９３／１１２３６号；ＰＣＴ公開第９５／１５９８２号；ＰＣＴ公開第９５／２０４０１号及び米国特許第５，６９８，４２６号；同第５，２２３，４０９号；同第５，４０３，４８４号；同第５，５８０，７１７号；同第５，４２７，９０８号；同第５，７５０，７５３号；同第５，８２１，０４７号；同第５

，５７１，６９８号；同第５，４２７，９０８号；同第５，５１６，６３７号；同第５，７８０，２２５号；同第５，６５８，７２７号；同第５，７３３，７４３号及び同第５，９６９，１０８号において開示されているファージディスプレイ法を含む。

【０３６２】

上記の参考文献において記載された通り、ファージ選択の後、ファージに由来する抗体のコード領域は、単離され、ヒト抗体を含む全抗体又は他の任意の所望の抗原結合性断片を作出するのに使用され、例えば、下記において詳細に記載される通り、哺乳動物細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵母及び細菌を含む、任意の所望の宿主内において発現させうる。ＰＣＴ公開第９２／２２３２４号；Ｍｕｌｌｉｎａｘら、ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ、１２（６）：８６４～８６９（１９９２）；Ｓａｗａｉら、Ａｍ．Ｊ．Ｒｅｐｒｏｄ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、３４：２６～３４（１９９５）及びＢｅｔｔｅｒら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、２４０：１０４１～１０４３（１９８８）において開示されている方法のような、当技術分野において公知の方法を使用して、例えば、Ｆａｂ断片、Ｆａｂ’断片及びＦ（ａｂ’）2断片を組換えにより作製する技法もまた利用されうる。単鎖Ｆｖ抗体を作製するのに使用されうる技法の例は、米国特許第４，９４６，７７８号及び同第５，２５８，４９８号；Ｈｕｓｔｏｎら、Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ、２０３：４６～８８（１９９１）；Ｓｈｕら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、９０：７９９５～７９９９（１９９３）及びＳｋｅｒｒａら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、２４０：１０３８～１０４１（１９８８）において記載されている技法を含む。

【０３６３】

ファージディスプレイによる組換え抗体ライブラリーのスクリーニングに対する代替法である、大型のコンビナトリアルライブラリーをスクリーニングするための、当技術分野において公知である、他の方法も、抗体の同定へと適用されうる。代替的発現系の１つの種類は、組換え抗体ライブラリーをＲＮＡ－タンパク質融合体として発現させた発現系であって、ＰＣＴ公開第９８／３１７００号（Ｓｚｏｓｔａｋ及びＲｏｂｅｒｔｓ）並びにＲｏｂｅｒｔｓ及びＳｚｏｓｔａｋ、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、９４：１２２９７～１２３０２（１９９７）において記載されている発現系である。３’末端において、ペプチジルアクセプター抗生剤であるピューロマイシンを保有する、合成ｍＲＮＡのインビトロ翻訳により、この系の、ｍＲＮＡと、ｍＲＮＡがコードする、ペプチド又はタンパク質との間において、共有結合的融合が創出される。したがって、特異的ｍＲＮＡは、抗体又はこの部分の、二重特異性抗原への結合のような、コードされたペプチド又はタンパク質、例えば、抗体又はこの部分の特性に基づき、ｍＲＮＡの複合体混合物（例えば、コンビナトリアルライブラリー）から濃縮されうる。このようなライブラリーのスクリーニングから回収された、抗体又はこの部分をコードする核酸配列は、上記された（例えば、哺乳動物の宿主細胞内の）組換え手段により発現され、さらに、突然変異が、当初選択された配列へと導入された、ｍＲＮＡ－ペプチド融合体のスクリーニングのさらなるラウンドにより、又は上記された、インビトロにおける、組換え抗体のアフィニティー成熟のための他の方法により、さらなるアフィニティー成熟にかけられうる。この方法論の好ましい例は、ＰＲＯｆｕｓｉｏｎディスプレイ技術である。

【０３６４】

別の手法において、抗体はまた、当技術分野において公知の酵母ディスプレイ法を使用しても作出されうる。酵母ディスプレイ法において、抗体ドメインを、酵母細胞壁へとテザリングし、それらを、酵母の表面上に提示するのに、遺伝子法が使用される。特に、このような酵母は、レパートリー又はコンビナトリアル抗体ライブラリー（例えば、ヒト又はマウスの）から発現させた抗原結合性ドメインを提示するのに用いられうる。抗体を作るのに使用されうる、酵母ディスプレイ法の例は、参照により本明細書に組み込まれた、米国特許第６，６９９，６５８号（Ｗｉｔｔｒｕｐら）において開示された酵母ディスプレイ法を含む。

【０３６５】

ｅ．組換えＵＣＨ－Ｌ１抗体の作製

抗体は、当技術分野において公知である、多数の技法のうちのいずれかにより作製されうる。例えば、重鎖及び軽鎖をコードする発現ベクターが、標準的技法により、宿主細胞へとトランスフェクトされた、宿主細胞からの発現である。「トランスフェクション」という用語の多様な形態は、外因性ＤＮＡの、原核宿主細胞又は真核宿主細胞への導入のために一般に使用されている、多種多様な技法、例えば、電気穿孔、リン酸カルシウム沈殿、ＤＥＡＥ－デキストラントランスフェクションなどを包含することが意図される。抗体を、原核宿主細胞又は真核宿主細胞において発現させることが可能であるが、そのような真核細胞（そして、特に、哺乳動物の細胞）は、原核細胞より、アセンブルし、適正にフォールディングさせられ、免疫学的に活性である抗体を分泌する可能性が高いため、抗体の、真核細胞内の発現が好ましく、哺乳動物宿主細胞内の発現が最も好ましい。

【０３６６】

組換え抗体を発現させるための、例示的な哺乳動物宿主細胞は、例えば、Ｋａｕｆｍａｎ及びＳｈａｒｐ、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、１５９：６０１～６２１（１９８２）において記載されているようにＤＨＦＲ選択用マーカーと共に使用されるチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞（Ｕｒｌａｕｂ及びＣｈａｓｉｎ、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、７７：４２１６～４２２０（１９８０））において記載されている、ｄｈｆｒ－ＣＨＯ細胞を含む）、ＮＳ０骨髄腫細胞、ＣＯＳ細胞及びＳＰ２細胞を含む。抗体遺伝子をコードする組換え発現ベクターが、哺乳動物宿主細胞へと導入される場合、抗体は、宿主細胞内の抗体の発現又は、より好ましくは、宿主細胞が増殖される培養培地への抗体の分泌を可能とするのに十分な時間にわたり、宿主細胞を培養することにより作製される。抗体は、標準的なタンパク質精製法を使用して、培養培地から回収されうる。

【０３６７】

宿主細胞はまた、Ｆａｂ断片又はｓｃＦｖ分子のような、機能的抗体断片を作製するのにも使用されうる。上記の手順に対する変動は、実施されうることが理解される。例えば、宿主細胞に、抗体の軽鎖及び／又は重鎖の機能的断片をコードするＤＮＡをトランスフェクトすることが所望されうる。組換えＤＮＡ技術はまた、目的の抗原への結合に必要でない軽鎖及び重鎖の一方又は両方をコードするＤＮＡの一部又は全部を除去するのにも使用されうる。また、このような切断型ＤＮＡ分子から発現させた分子も、抗体に包含される。加えて、１つの重鎖及び１つの軽鎖が、抗体（すなわち、ヒトＵＣＨ－Ｌ１に結合する抗体）であり、他の重鎖及び軽鎖が、ヒトＵＣＨ－Ｌ１以外の抗原に特異的である、二官能性抗体も、抗体を、標準的な化学的架橋法を介して、第２の抗体へと架橋することにより作製されうる。二官能性抗体はまた、二官能性抗体をコードするように操作された核酸を発現させることによっても作製されうる。

【０３６８】

抗体又はこの抗原結合性部分を組換え発現させるための好ましい系において、抗体重鎖及び抗体軽鎖の両方をコードする組換え発現ベクターが、リン酸カルシウム媒介型トランスフェクションにより、ｄｈｆｒ－ＣＨＯ細胞へと導入される。組換え発現ベクター内において、高レベルの遺伝子の転写を駆動するように、抗体重鎖遺伝子及び抗体軽鎖遺伝子の各々が、ＣＭＶエンハンサー／ＡｄＭＬＰプロモーター調節エレメントへと作動的に連結される。組換え発現ベクターはまた、メトトレキサートによる選択／増幅を使用するベクターをトランスフェクトされたＣＨＯ細胞の選択を可能とするＤＨＦＲ遺伝子も保有する。抗体の重鎖及び軽鎖の発現を可能とし、無傷抗体が培養培地から回収されるように、選択された形質転換体の宿主細胞が培養される。組換え発現ベクターを調製し、宿主細胞にトランスフェクトし、形質転換体について選択し、宿主細胞を培養し、抗体を培養培地から回収するのに、標準的な分子生物学法が使用される。なおさらに、本開示は、組換え抗体が合成されるまで、宿主細胞を、適切な培養培地中において培養することにより、組換え抗体を合成する方法を提供する。方法は、組換え抗体を、培養培地から単離するステップをさらに含みうる。

【０３６９】

（１）ヒト化抗体

ヒト化抗体は、目的の抗原に免疫特異的に結合し、ヒト抗体のアミノ酸配列を実質的に有するフレームワーク（ＦＲ）領域及び非ヒト抗体のアミノ酸配列を実質的に有する相補性決定領域（ＣＤＲ）を含む、抗体又はこの変異体、誘導体、類似体若しくは部分でありうる。ヒト化抗体は、所望の抗原に結合する非ヒト種抗体であって、非ヒト種に由来する、１つ以上の相補性決定領域（ＣＤＲ）及びヒト免疫グロブリン分子に由来するフレームワーク領域を有する非ヒト種抗体に由来しうる。

【０３７０】

本明細書において使用された、ＣＤＲの文脈における「実質的に」という用語は、非ヒト抗体ＣＤＲのアミノ酸配列と、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％又は少なくとも９９％同一なアミノ酸配列を有するＣＤＲを指す。ヒト化抗体は、少なくとも１つであるが、典型的に２つの可変ドメイン（Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、ＦａｂＣ、Ｆｖ）であって、ＣＤＲ領域の全て又は実質的に全てが、非ヒト免疫グロブリン（すなわち、ドナー抗体）のＣＤＲ領域に対応し、フレームワーク領域の全て又は実質的に全てが、ヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のフレームワーク領域である可変ドメインの実質的に全てを含む。一態様に従い、ヒト化抗体はまた、免疫グロブリン定常領域（Ｆｃ）、典型的に、ヒト免疫グロブリンのＦｃ領域の少なくとも一部も含む。一部の実施形態において、ヒト化抗体は、軽鎖、及び重鎖の少なくとも可変ドメインの両方を含有する。抗体はまた、重鎖の、ＣＨ１領域、ヒンジ領域、ＣＨ２領域、ＣＨ３領域及びＣＨ４領域も含みうる。一部の実施形態において、ヒト化抗体は、ヒト化軽鎖だけを含有する。一部の実施形態において、ヒト化抗体は、ヒト化重鎖だけを含有する。具体的な実施形態において、ヒト化抗体は、軽鎖及び／又は重鎖のヒト化可変ドメインだけを含有する。

【０３７１】

ヒト化抗体は、ＩｇＭ、ＩｇＧ、ＩｇＤ、ＩｇＡ、及びＩｇＥを含む、免疫グロブリンの任意のクラス、並びに、限定なしに述べると、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、及びＩｇＧ４を含む、任意のアイソタイプから選択されうる。ヒト化抗体は、１つを超えるクラス又はアイソタイプに由来する配列を含むことが可能であり、特定の定常ドメインは、当技術分野において周知の技法を使用して、所望のエフェクター機能を最適化するように選択されうる。

【０３７２】

ヒト化抗体のフレームワーク領域及びＣＤＲは、親配列に正確に対応する必要がない、例えば、ドナー抗体ＣＤＲ又はコンセンサスフレームワークは、この部位におけるＣＤＲ残基又はフレームワーク残基が、ドナー抗体又はコンセンサスフレームワークに対応しないように、少なくとも１つのアミノ酸残基の置換、挿入及び／又は欠失により突然変異誘発されうる。しかし、一実施形態において、このような突然変異は、広範にわたる突然変異ではない。通例、ヒト化抗体残基のうちの、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％又は少なくとも９９％は、親のＦＲ配列及びＣＤＲ配列の残基に対応する。本明細書において使用された「コンセンサスフレームワーク」という用語は、コンセンサスの免疫グロブリン配列内のフレームワーク領域を指す。本明細書において使用された「コンセンサスの免疫グロブリン配列」という用語は、類縁の免疫グロブリン配列のファミリーにおいて、最も高頻度で発生するアミノ酸（又はヌクレオチド）から形成された配列（例えば、Ｗｉｎｎａｋｅｒ、「Ｆｒｏｍ Ｇｅｎｅｓ ｔｏ Ｃｌｏｎｅｓ」（Ｖｅｒｌａｇｓｇｅｓｅｌｌｓｃｈａｆｔ、Ｗｅｉｎｈｅｉｍ、Ｇｅｒｍａｎｙ、１９８７）を参照されたい）を指す。免疫グロブリンのファミリーにおいて、コンセンサス配列内の各位置は、ファミリー内のこの位置において、最も高頻度で発生するアミノ酸により占有されている。２つのアミノ酸が、同等に高頻度で発生する場合、いずれもが、コンセンサス配列内に含まれうる。

【０３７３】

ヒト化抗体は、ヒトレシピエントにおける、これらの部分の治療適用の持続時間及び有効性を制限する、抗ヒト齧歯動物抗体に対する、望ましくない免疫応答を最小化するようにデザインされうる。ヒト化抗体は、非ヒトである供給源から、それへと導入された、１

つ以上のアミノ酸残基を有しうる。これらの非ヒト残基は、典型的に、可変ドメインから採取される、「インポート」残基と称されることが多い。ヒト化は、超可変領域配列を、ヒト抗体の対応する配列で置換することにより実施されうる。したがって、このような「ヒト化」抗体は、実質的に無傷に満たないヒト可変ドメインが、非ヒト種に由来する、対応する配列により置換されたキメラ抗体である。例えば、その内容が、参照により本明細書に組み込まれた、米国特許第４，８１６，５６７号を参照されたい。ヒト化抗体は、一部の超可変領域残基と、おそらく、一部のＦＲ残基とが、齧歯動物抗体内の相似部位に由来する残基により置換されたヒト抗体でありうる。本開示の抗体のヒト化又は操作は、米国特許第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号及び同第４，８１６，５６７号において記載されている方法のようであるがこれらに限定されない、任意の公知の方法を使用して実施されうる。

【０３７４】

ヒト化抗体は、ＵＣＨ－Ｌ１に対する高アフィニティー及び他の好適な生物学的特性を保持しうる。ヒト化抗体は、親配列及びヒト化配列についての三次元モデルを使用して、親配列及び多様な概念的ヒト化産物を解析する工程により調製されうる。三次元免疫グロブリンモデルは、一般に利用可能である。選択された候補免疫グロブリン配列の、可能な三次元コンフォメーション構造を例示及び提示するコンピュータプログラムが利用可能である。これらの表示の検討は、残基の、候補免疫グロブリン配列の機能における、鍵となる役割についての解析、すなわち、候補免疫グロブリンが、その抗原に結合する能力に影響を及ぼす残基についての解析を可能とする。このようにして、ＵＣＨ－Ｌ１に対するアフィニティーの上昇のような、所望の抗体特徴が、達成されるように、ＦＲ残基が、レシピエント及びインポート配列から選択され、組み合わされうる。一般に、超可変領域残基は、直接、かつ、最も実質的に、抗原結合への影響に関与しうる。

【０３７５】

ヒト化に対する代替法として、ヒト抗体（本明細書において、「完全ヒト抗体」ともまた言及された）が作出されうる。例えば、ＰＲＯｆｕｓｉｏｎ及び／又は酵母関連技術を介して、ヒト抗体を、ライブラリーから単離することが可能である。また、トランスジェニック動物（例えば、免疫化すると、内因性の免疫グロブリン産生の非存在下において、ヒト抗体の完全レパートリーを作製することが可能なマウス）を作製することも可能である。例えば、キメラマウス及び生殖細胞系列突然変異体マウスにおける、抗体重鎖接合領域（J_H）遺伝子のホモ接合性の欠失は、内因性抗体産生の完全な阻害を結果としてもたらす。ヒト生殖細胞系列免疫グロブリン遺伝子アレイの、このような生殖細胞系列突然変異体マウスへの移入は、抗原投与時における、ヒト抗体の産生を結果としてもたらす。ヒト化抗体又は完全ヒト抗体は、それらの各々の内容が、参照により本明細書に組み込まれた、米国特許第５，７７０，４２９号；同第５，８３３，９８５号；同第５，８３７，２４３号；同第５，９２２，８４５号；同第６，０１７，５１７号；同第６，０９６，３１１号；同第６，１１１，１６６号；同第６，２７０，７６５号；同第６，３０３，７５５号；同第６，３６５，１１６号；同第６，４１０，６９０号；同第６，６８２，９２８号及び同第６，９８４，７２０号において記載されている方法に従い調製されうる。

【０３７６】

８．ＧＦＡＰのレベルを測定するための方法

上記において記載された方法において、ＧＦＡＰレベルは、イムノアッセイ、タンパク質免疫沈降、免疫電気泳動、化学解析、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ及びウェスタンブロット解析若しくはタンパク質免疫染色などの抗体依存的方法、電気泳動解析、タンパク質アッセイ、競合的結合アッセイ、機能的タンパク質アッセイ又は高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）若しくは液体クロマトグラフィー－質量分析（ＬＣ／ＭＳ）などのクロマトグラフ

ィー法又は分光法など、任意の手段により測定されうる。また、当業者に公知の臨床化学フォーマットのアッセイ又は単一分子検出アッセイも利用されうる。

【０３７７】

一部の実施形態において、ＧＦＡＰのレベルを測定するステップは、試料を、第１の特異的結合メンバー及び第２の特異的結合メンバーと接触させるステップを含む。一部の実施形態において、第１の特異的結合メンバーは、捕捉抗体であり、第２の特異的結合メンバーは、検出抗体である。一部の実施形態において、ＧＦＡＰのレベルを測定するステップは、試料を、同時に、又は逐次的に、任意の順序において、（１）ＧＦＡＰ上又はＧＦＡＰ断片上のエピトープに結合して、少なくとも１つの捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原複合体（例えば、ＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原複合体）を形成する、少なくとも１つの捕捉抗体（例えば、ＧＦＡＰ捕捉抗体）、及び（２）検出可能な標識を含み、捕捉抗体が結合していないＧＦＡＰ上のエピトープに結合して、ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つの検出抗体複合体（例えば、ＧＦＡＰ抗原－ＧＦＡＰ検出抗体複合体）を形成する、少なくとも１つの検出抗体（例えば、ＧＦＡＰ検出抗体）と接触させて、少なくとも１つの捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つの検出抗体複合体（例えば、ＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原－ＧＦＡＰ検出抗体複合体）を形成すること、並びにＧＦＡＰの、試料中量又は試料中濃度を、少なくとも１つの捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つの検出抗体複合体内の検出可能な標識により発生したシグナルに基づき測定することを含む。

【０３７８】

一部の実施形態において、第１の特異的結合メンバーは、固体支持体上に固定化される。一部の実施形態において、第２の特異的結合メンバーは、固体支持体上に固定化される。一部の実施形態において、第１の特異的結合メンバーは、下記において記載されるＧＦＡＰ抗体である。

【０３７９】

一部の実施形態において、試料は、希釈される、又は希釈されない。試料は、約１～約２５マイクロリットル、約１～約２４マイクロリットル、約１～約２３マイクロリットル、約１～約２２マイクロリットル、約１～約２１マイクロリットル、約１～約２０マイクロリットル、約１～約１８マイクロリットル、約１～約１７マイクロリットル、約１～約１６マイクロリットル、約１５マイクロリットル又は約１マイクロリットル、約２マイクロリットル、約３マイクロリットル、約４マイクロリットル、約５マイクロリットル、約６マイクロリットル、約７マイクロリットル、約８マイクロリットル、約９マイクロリットル、約１０マイクロリットル、約１１マイクロリットル、約１２マイクロリットル、約１３マイクロリットル、約１４マイクロリットル、約１５マイクロリットル、約１６マイクロリットル、約１７マイクロリットル、約１８マイクロリットル、約１９マイクロリットル、約２０マイクロリットル、約２１マイクロリットル、約２２マイクロリットル、約２３マイクロリットル、約２４マイクロリットル又は約２５マイクロリットルでありうる。一部の実施形態において、試料は、約１～約１５０マイクロリットル若しくはこれ未満又は約１～約２５マイクロリットル若しくはこれ未満である。

【０３８０】

ポイントオブケアデバイス以外の、一部の測定器（例えば、Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ製の測定器であるＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）及び他のコア検査測定器など）は、ＧＦＡＰの、５０，０００ｐｇ／ｍＬ以上の試料中レベルを測定することが可能でありうる。

【０３８１】

他の検出法は、例えば、単一分子検出のための、ナノポアデバイス又はナノウェルデバイスの使用を含む、又はこれらにおける使用に適合させられうる。ナノポアデバイスの例については、参照によりその全体において本明細書に組み込まれた、国際特許公開第２０１６／１６１４０２号において記載されている。ナノウェルデバイスの例については、参照によりその全体において本明細書に組み込まれた、国際特許公開第２０１６／１６１４００号において記載されている。単一分子検出に適切な、他のデバイス及び方法もまた、

利用されうる。

【０３８２】

９．ＧＦＡＰ抗体

本明細書において記載された方法は、「ＧＦＡＰ抗体」と称される、グリア細胞線維性酸性タンパク質（「ＧＦＡＰ」）（又はこの断片）に特異的に結合する単離抗体を使用しうる。ＧＦＡＰ抗体は、ＧＦＡＰ状態を、外傷性脳損傷の尺度として評価する、ＧＦＡＰの、試料中の存在を検出する、ＧＦＡＰの、試料中に存在する量を定量する、又はＧＦＡＰの、試料中の存在を検出し、かつ、ＧＦＡＰの、試料中量を定量するのに使用されうる。

【０３８３】

ａ．グリア細胞線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）

グリア細胞線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）とは、星状細胞内の細胞骨格の部分を構成し、星状細胞由来の細胞についての、最も特異的マーカーであることが実証されている、５０ｋＤａの細胞質内線維性タンパク質である。ＧＦＡＰタンパク質は、ヒトにおいて、ＧＦＡＰ遺伝子によりコードされる。ＧＦＡＰとは、成熟星状細胞の、主要な中間体線維である。分子中央のロッドドメインにおいて、ＧＦＡＰは、他の中間体線維との、大きな構造的相同性を共有する。ＧＦＡＰは、星状細胞突起へと、構造的安定性をもたらすことにより、星状細胞の運動性及び形状に関与する。グリア細胞線維性酸性タンパク質及びその分解産物（ＧＦＡＰ－ＢＤＰ）とは、外傷性脳損傷（ＴＢＩ）後において、病態生理学的応答の一部として、血液へと放出された脳特異的タンパク質である。外傷、遺伝障害又は化学物質により引き起こされたヒトＣＮＳへの損傷に続き、星状細胞は、増殖し、細胞体及び細胞突起の、多大な肥大を示し、ＧＦＡＰは、顕著に上方調節される。これに対し、星状細胞の悪性腫瘍が増大すると、進行性の、ＧＦＡＰ産生の喪失が見られる。ＧＦＡＰはまた、シュワン細胞、消化管グリア細胞、唾液腺新生物、転移性腎癌、喉頭蓋軟骨、下垂体細胞、未成熟希突起膠細胞、乳頭状髄膜腫及び乳腺の筋上皮細胞においても検出されうる。

【０３８４】

ヒトＧＦＡＰは、以下のアミノ酸配列：

【０３８５】

【化２】

MERRRITSAARRSYVSSGEMMVGGLAPGRRLGPGTRLSLARMPPPLPTRVDFS
LAGALNAGFKETRASERAEMMELNDRFASYIEKVRFLEQQNKALAAELNQLRAKEPTK
LADVYQAELRELRLRLDQLTANSARLEVERDNLAQDLATVRQKLQDETNLRLEAENNL
AAYRQEADEATLARLDLERKIESLEEEIRFLRKIHEEEVRELQEQLARQQVHVELDVAKP
DLTAALKEIRTQYEAMASSNMHEAEEWYRSKFADLTDAAARNAELLRQAKHEANDYR
RQLQSLTCDLESLRGTNESLERQMREQEERHVREAASYQEALARLEEEGQSLKDEMAR
HLQEYQDLLNVKLALDIEIATYRKLLEGEENRITIPVQTFSNLQIRETSLDTKSVSEGHLK
RNIVVKTVEMRDGEVIKESKQEHKDVM (配列番号 ：2)

を有しうる。

【０３８６】

ヒトＧＦＡＰは、配列番号２の断片又は変異体でありうる。ＧＦＡＰの断片は、５～４００アミノ酸の間、１０～４００アミノ酸の間、５０～４００アミノ酸の間、６０～４００アミノ酸の間、６５～４００アミノ酸の間、１００～４００アミノ酸の間、１５０～４００アミノ酸の間、１００～３００アミノ酸の間又は２００～３００アミノ酸の間の長さでありうる。断片は、配列番号２に由来する、連続番号のアミノ酸を含みうる。配列番号２の、ヒトＧＦＡＰの断片又は変異体は、ＧＦＡＰ分解産物（ＢＤＰ）でありうる。ＧＦＡＰ　ＢＤＰは、３８ｋＤａ、４２ｋＤａ（薄いバンド：４１ｋＤａ）、４７ｋＤａ（薄いバンド：４５ｋＤａ）；２５ｋＤａ（薄いバンド：２３ｋＤａ）；１９ｋＤａ又は２０

ｋＤａでありうる。

【０３８７】

ＧＦＡＰタンパク質配列（配列番号２）のアミノ酸６０～３８３により規定された、３８ｋＤａのＢＤＰなど、ＧＦＡＰ分解産物（ＢＤＰ）内の非重複エピトープに結合する、少なくとも２つの抗体の使用は、イムノアッセイのダイナミックレンジ及び低値側の感度を維持することの一助となりうることが見出されている。一態様において、少なくとも２つの抗体は、３８ｋＤａのＢＤＰのＮ末端近傍の非重複エピトープに結合する。別の態様において、少なくとも２つの抗体は、配列番号２のアミノ酸６０～３８３の間の非重複エピトープに結合する。別の態様において、少なくとも１つの第１の抗体（捕捉抗体など）は、３８ｋＤａのＢＤＰのＮ末端近傍のエピトープに結合し、少なくとも１つの第２の抗体（検出抗体など）は、第１の抗体と重複しない、３８ｋＤａのＢＤＰの中央部近傍のエピトープに結合する。別の態様において、少なくとも１つの第１の抗体（捕捉抗体など）は、配列番号２のアミノ酸６０～３８３の間のエピトープに結合し、少なくとも１つの第２の抗体は、第１の抗体と重複しない、配列番号２のアミノ酸６０～３８３の間のエピトープに結合する。第１の抗体により結合させられるエピトープは、１０アミノ酸、１１アミノ酸、１２アミノ酸、１３アミノ酸、１４アミノ酸又は１５アミノ酸の長さでありうる。第２の抗体により結合させられるエピトープは、１０アミノ酸、１１アミノ酸、１２アミノ酸、１３アミノ酸、１４アミノ酸又は１５アミノ酸の長さでありうる。当業者は、当技術分野において公知の規定の技法を使用して、配列番号２のアミノ酸６０～３８３により規定された、３８ｋＤａのＢＤＰ内の非重複エピトープに結合する抗体をたやすく決定しうる。

【０３８８】

同様に、イムノアッセイのダイナミックレンジ及び低値側の感度を維持することの一助となりうる他の抗体も選択されうる可能性がある。例えば、３８ｋＤａのＢＤＰのＮ末端近傍のエピトープに結合する、少なくとも１つの第１の抗体（捕捉抗体など）及び３８ｋＤａのＢＤＰの中央部近傍のエピトープ、例えば、３８ｋＤａのＢＤＰの中央部にあり、第１の抗体と重複しないエピトープに結合する、少なくとも１つの第２の抗体（検出抗体など）を選択することが有用でありうる。他の変化形も可能であり、短いペプチドへの結合を検討することにより、抗体が、異なるエピトープに結合することを確認し、次いで、低較正物質濃度を使用して、抗体対をスクリーニングすることなどにより、当業者により、たやすく調べられうる。さらに、ＧＦＡＰに対するアフィニティーが異なる抗体の選択もまた、アッセイのダイナミックレンジを維持する、又は増大させる一助となりうる。ＧＦＡＰ抗体は、文献において記載されており、市販されている。

【０３８９】

ｂ．ＧＦＡＰ認識抗体

抗体は、ＧＦＡＰ、この断片、ＧＦＡＰのエピトープ又はこの変異体に結合する抗体である。抗体は、抗ＧＦＡＰ抗体の断片又はこの変異体若しくは誘導体でありうる。抗体は、ポリクローナル又はモノクローナル抗体でありうる。抗体は、キメラ抗体、単鎖抗体、アフィニティー成熟抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、完全ヒト抗体又はＦａｂ断片などの抗体断片又はこれらの混合物でありうる。抗体の断片又は誘導体は、Ｆ（ａｂ’）$_2$断片、Ｆｖ断片又はｓｃＦｖ断片を含みうる。抗体の誘導体は、ペプチド模倣体により作製されうる。さらに、単鎖抗体を作製するために記載されている技法は、単鎖抗体を作製するように適合させられうる。

【０３９０】

抗ＧＦＡＰ抗体は、キメラ抗ＧＦＡＰ又はヒト化抗ＧＦＡＰ抗体でありうる。一実施形態において、ヒト化抗体及びキメラ抗体のいずれも、一価である。一実施形態において、ヒト化抗体及びキメラ抗体のいずれも、Ｆｃ領域へと連結された、単一のＦａｂ領域を含む。

【０３９１】

ヒト抗体は、ファージディスプレイ技術又はヒト免疫グロブリン遺伝子を発現させるト

ランスジェニックマウスにより導出されうる。ヒト抗体は、ヒトのインビボにおける免疫応答の結果として作出及び単離されうる。例えば、Ｆｕｎａｒｏら、ＢＭＣ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、２００８（８）：８５を参照されたい。したがって、抗体は、ヒトの産物であることが可能であり、動物レパートリーではない場合がある。抗体は、ヒト由来であるため、自己抗原に対する反応性の危険性は、最小化されうる。代替的に、標準的な酵母ディスプレイライブラリー及び酵母ディスプレイ技術は、ヒト抗ＧＦＡＰ抗体を選択及び単離するのに使用されうる。例えば、ナイーブヒト単鎖可変断片（ｓｃＦｖ）のライブラリーは、ヒト抗ＧＦＡＰ抗体を選択するのに使用されうる。トランスジェニック動物は、ヒト抗体を発現させるのに使用されうる。

【０３９２】

ヒト化抗体は、所望の抗原に結合する非ヒト種抗体に由来する抗体分子であって、非ヒト種に由来する、１つ以上の相補性決定領域（ＣＤＲ）及びヒト免疫グロブリン分子に由来するフレームワーク領域を有する抗体分子でありうる。

【０３９３】

抗体は、それが、当技術分野において公知の抗体と異なる生物学的機能を保有するという点において、公知の抗体と識別可能である。

【０３９４】

（１）エピトープ

抗体は、ＧＦＡＰ（配列番号２）、この断片又はこの変異体に免疫特異的に結合しうる。抗体は、エピトープ領域内の、少なくとも３アミノ酸、少なくとも４アミノ酸、少なくとも５アミノ酸、少なくとも６アミノ酸、少なくとも７アミノ酸、少なくとも８アミノ酸、少なくとも９アミノ酸又は少なくとも１０アミノ酸を免疫特異的に認識することが可能であり、これらに結合しうる。抗体は、エピトープ領域のうちの、少なくとも３連続アミノ酸、少なくとも４連続アミノ酸、少なくとも５連続アミノ酸、少なくとも６連続アミノ酸、少なくとも７連続アミノ酸、少なくとも８連続アミノ酸、少なくとも９連続アミノ酸又は少なくとも１０連続アミノ酸を有するエピトープを免疫特異的に認識することが可能であり、これらに結合しうる。

【０３９５】

ｃ．例示的な抗ＧＦＡＰ抗体

抗ＧＦＡＰ抗体は、本明細書において記載された技法を使用して、並びに、当技術分野において公知である、規定の技法を使用して作出されうる。一部の実施形態において、抗ＧＦＡＰ抗体は、Ｄａｋｏ（型番：Ｍ０７６１）、ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ（型番：ＭＡ５－１２０２３、Ａ－２１２８２、１３－０３００、ＭＡ１－１９１７０、ＭＡ１－１９３９５、ＭＡ５－１５０８６、ＭＡ５－１６３６７、ＭＡ１－３５３７７、ＭＡ１－０６７０１又はＭＡ１－２００３５）、ＡｂＣａｍ（型番：ａｂ１００６２、ａｂ４６４８、ａｂ６８４２８、ａｂ３３９２２、ａｂ２０７１６５、ａｂ１９０２８８、ａｂ１１５８９８又はａｂ２１８３７）、ＥＭＤ Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ（型番：ＦＣＭＡＢ２５７Ｐ、ＭＡＢ３６０、ＭＡＢ３４０２、０４－１０３１、０４－１０６２、ＭＡＢ５６２８）、Ｓａｎｔａ Ｃｒｕｚ（型番：ｓｃ－１６６４８１、ｓｃ－１６６４５８、ｓｃ－５８７６６、ｓｃ－５６３９５、ｓｃ－５１９０８、ｓｃ－１３５９２１、ｓｃ－７１１４３、ｓｃ－６５３４３又はｓｃ－３３６７３）、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ（型番：Ｇ３８９３又はＧ６１７１）又はＳｉｎｏ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｃ．（型番：１００１４０－Ｒ０１２－５０）から市販されているＧＦＡＰ抗体などの非コンジュゲートＧＦＡＰ抗体でありうる。抗ＧＦＡＰ抗体は、ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ（型番：Ａ－２１２９５又はＡ－２１２９４）、ＥＭＤ Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ（型番：ＭＡＢ３４０２Ｘ、ＭＡＢ３４０２Ｂ又は ＭＡＢ３４０２Ｃ３）又はＡｂＣａｍ（型番：ａｂ４９８７４又はａｂ１９４３２５）から市販されている、コンジュゲートＧＦＡＰ抗体のように、フルオロフォアへとコンジュゲートされうる。本明細書において記載された方法において使用されうる、他のＧＦＡＰ抗体は、その内容が、参照により本明細書に組み込まれた、ＷＯ２０１８／０８１６４９において記載されてい

るＧＦＡＰ抗体を含む。

【０３９６】

ｄ．抗体の調製／作製

抗体は、当業者に周知の技法を含む、様々な技法のうちのいずれかにより調製されうる。一般に、抗体は、従来の技法を介する、又は抗体の遺伝子、重鎖及び／若しくは軽鎖の、適切な細菌細胞宿主若しくは哺乳動物細胞宿主へのトランスフェクションであって、組換えでありうる抗体の作製を可能とするためのトランスフェクションを介する、モノクローナル抗体の作出を含む細胞培養法により作製されうる。「トランスフェクション」という用語の多様な形態は、外因性ＤＮＡの、原核宿主細胞又は真核宿主細胞への導入のために一般に使用されている、多種多様な技法、例えば、電気穿孔、リン酸カルシウム沈殿、ＤＥＡＥ－デキストラントランスフェクションなどを包含することが意図される。抗体を、原核宿主細胞又は真核宿主細胞において発現させることが可能であるが、そのような真核細胞（そして、特に、哺乳動物の細胞）は、原核細胞より、アセンブルし、適正にフォールディングされ、免疫学的に活性である抗体を分泌する可能性が高いため、抗体の、真核細胞内の発現が好ましく、哺乳動物宿主細胞内の発現が最も好ましい。

【０３９７】

組換え抗体を発現させるための、例示的な哺乳動物宿主細胞は、例えば、Ｋａｕｆｍａｎ及びＳｈａｒｐ、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、１５９：６０１～６２１（１９８２）において記載されているように、ＤＨＦＲ選択用マーカーと共に使用されるチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞（Ｕｒｌａｕｂ及びＣｈａｓｉｎ、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、７７：４２１６～４２２０（１９８０）において記載されているｄｈｆｒ－ＣＨＯ細胞を含む）、ＮＳ０骨髄腫細胞、ＣＯＳ細胞及びＳＰ２細胞を含む。抗体遺伝子をコードする組換え発現ベクターが、哺乳動物宿主細胞へと導入される場合、抗体は、宿主細胞内の抗体の発現又は、より好ましくは、宿主細胞が増殖される培養培地への抗体の分泌を可能とするのに十分な時間にわたり、宿主細胞を培養することにより作製される。抗体は、標準的なタンパク質精製法を使用して、培養培地から回収されうる。

【０３９８】

宿主細胞はまた、Ｆａｂ断片又はｓｃＦｖ分子などの、機能的抗体断片を作製するのにも使用されうる。上記の手順に対する変動は、実施されうることが理解される。例えば、宿主細胞に、抗体の軽鎖及び／又は重鎖の機能的断片をコードするＤＮＡをトランスフェクトすることが所望されうる。組換えＤＮＡ技術はまた、目的の抗原への結合に必要でない軽鎖及び重鎖の一方又は両方をコードするＤＮＡの一部又は全部を除去するのにも使用されうる。また、このような切断型ＤＮＡ分子から発現された分子も、抗体に包含される。加えて、１つの重鎖及び１つの軽鎖が、抗体（すなわち、ヒトＧＦＡＰに結合する抗体）であり、他の重鎖及び軽鎖が、ヒトＧＦＡＰ以外の抗原に特異的である、二官能性抗体も、抗体を、標準的な化学的架橋法を介して、第２の抗体へと架橋することにより作製されうる。

【０３９９】

抗体又はこの抗原結合性部分を組換え発現させるための好ましい系において、抗体重鎖及び抗体軽鎖の両方をコードする組換え発現ベクターが、リン酸カルシウム媒介型トランスフェクションにより、ｄｈｆｒ－ＣＨＯ細胞へと導入される。組換え発現ベクター内において、高レベルの遺伝子の転写を駆動するように、抗体重鎖遺伝子及び抗体軽鎖遺伝子の各々が、ＣＭＶエンハンサー／ＡｄＭＬＰプロモーター調節エレメントへと作動的に連結される。組換え発現ベクターはまた、メトトレキサートによる選択／増幅を使用するベクターをトランスフェクトされたＣＨＯ細胞の選択を可能とするＤＨＦＲ遺伝子も保有する。抗体の重鎖及び軽鎖の発現を可能とするように、選択された形質転換体の宿主細胞が培養され、無傷抗体が培養培地から回収される。組換え発現ベクターを調製し、宿主細胞にトランスフェクトし、形質転換体について選択し、宿主細胞を培養し、抗体を培養培地から回収するのに、標準的な分子生物学法が使用される。なおさらに、組換え抗体を合成する方法は、組換え抗体が合成されるまで、宿主細胞を、適切な培養培地中において培養

することによることが可能である。方法は、組換え抗体を、培養培地から単離するステップをさらに含みうる。

【０４００】

モノクローナル抗体を調製する方法は、所望の特異性を有する抗体を作製することが可能な不死細胞株の調製を伴う。このような細胞株は、免疫化された動物から得られた脾臓細胞から作製されうる。動物は、ＧＦＡＰ又はこの断片及び／若しくは変異体により免疫化されうる。動物を免疫化するのに使用されるペプチドは、ヒトＦｃ、例えば、ヒト抗体のＦｃ（ｆｒａｇｍｅｎｔ　ｃｒｙｓｔａｌｌｉｚａｂｌｅ）領域又はテール領域をコードするアミノ酸を含みうる。次いで、脾臓細胞が、例えば、骨髄腫細胞融合パートナーとの融合により不死化される。様々な融合法が利用されうる。例えば、脾臓細胞及び骨髄腫細胞が、非イオン性界面活性剤と、数分間にわたり組み合わされ、次いで、低密度において、ハイブリッド細胞の増殖を支援するが、骨髄腫細胞の増殖を支援しない、選択培地上に播種される。このような一技法は、ヒポキサンチン、アミノプテリン、チミジン（ＨＡＴ）選択を使用する。別の技法は、電気融合を含む。十分な時間、通例、約１～２週間の後、ハイブリッド体のコロニーが観察される。単一のコロニーが選択され、それらの培養物上清は、ポリペプチドに対する結合活性について試験される。高度な反応性及び特異性を有するハイブリドーマが使用されうる。

【０４０１】

モノクローナル抗体は、増殖するハイブリドーマコロニーの上清から単離されうる。加えて、収率を増強するように、ハイブリドーマ細胞株の、マウスなどの、適切な脊椎動物宿主の腹腔への注射などの、多様な技法が利用されうる。次いで、モノクローナル抗体は、腹水又は血液から採取されうる。夾雑物は、クロマトグラフィー、ゲル濾過、沈殿及び抽出などの、従来の技法により、抗体から除去されうる。アフィニティークロマトグラフィーは、抗体を精製する工程において使用されうる方法の例である。

【０４０２】

タンパク質分解酵素であるパパインは、ＩｇＧ分子を優先的にいくつかの断片に切断して、これらのうちの２つの（Ｆ（ａｂ）断片）の各々が、無傷の抗原結合部位を含む、共有結合的ヘテロ二量体を含む断片をもたらす。酵素であるペプシンは、ＩｇＧ分子を切断して、両方の抗原結合性部位を含む、Ｆ（ａｂ’）$_2$断片を含む、いくつかの断片をもたらすことが可能である。

【０４０３】

Ｆｖ断片は、ＩｇＭの、優先的なタンパク質分解性切断により作製されうるが、まれな場合に、ＩｇＧ免疫グロブリン分子又はＩｇＡ免疫グロブリン分子の優先的なタンパク質分解性切断によっても作製されうる。Ｆｖ断片は、組換え法を使用して導出されうる。Ｆｖ断片は、天然抗体分子の抗原認識能及び抗原結合能の大半を保持する抗原結合部位を含む、非共有結合的ＶＨ：：ＶＬヘテロ二量体を含む。

【０４０４】

抗体、抗体断片又は誘導体は、それぞれ、ＣＤＲに対する支持をもたらし、ＣＤＲの、互いに対する空間的関係を規定する、重鎖及び軽鎖のフレームワーク（「ＦＲ」）のセットの間に挿入された、重鎖及び軽鎖の相補性決定領域（「ＣＤＲ」）のセットを含みうる。ＣＤＲのセットは、重鎖Ｖ領域又は軽鎖Ｖ領域からなる、３つの超可変領域を含有しうる。

【０４０５】

必須の特異性を有する抗体を作製又は単離する、他の適する方法であって、当技術分野において公知の方法を使用して、例えば、Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ　Ａｎｔｉｂｏｄｙ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ（Ｃａｍｂｒｉｄｇｅｓｈｉｒｅ、ＵＫ）、ＭｏｒｐｈｏＳｙｓ（Ｍａｒｔｉｎｓｒｅｉｄ／Ｐｌａｎｅｇｇ、Ｄｅｌ．）、Ｂｉｏｖａｔｉｏｎ（Ａｂｅｒｄｅｅｎ、Ｓｃｏｔｌａｎｄ、ＵＫ）、ＢｉｏＩｎｖｅｎｔ（Ｌｕｎｄ、Ｓｗｅｄｅｎ）などの、多様な市販品の販売元から市販されている、ペプチドライブラリー又はタンパク質ライブラリー（例えば、バクテリオファージライブラリー、リボソームライブラリー、オ

リゴヌクレオチドライブラリー、ＲＮＡライブラリー、ｃＤＮＡライブラリー、酵母ライブラリーなどのディスプレイライブラリーであるがこれらに限定されない）から組換え抗体を選択する方法を含むがこれらに限定されない方法が使用されうる。米国特許第４，７０４，６９２号；同第５，７２３，３２３号；同第５，７６３，１９２号；同第５，８１４，４７６号；同第５，８１７，４８３号；同第５，８２４，５１４号；同第５，９７６，８６２号を参照されたい。代替的な方法は、ヒト抗体のレパートリーを作製することが可能な、トランスジェニック動物の免疫化（例えば、ＳＣＩＤマウス、Ｎｇｕｙｅｎら（１９９７）、Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、４１：９０１～９０７；Ｓａｎｄｈｕら（１９９６）、Ｃｒｉｔ．Ｒｅｖ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．、１６：９５～１１８；Ｅｒｅｎら（１９９８）、Ｉｍｍｕｎｏｌ．、９３：１５４～１６１）であって、当技術分野において公知であり、かつ／又は本明細書において記載された、トランスジェニック動物の免疫化に依拠する。このような技法は、リボソームディスプレイ（Ｈａｎｅｓら（１９９７）、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、９４：４９３７～４９４２；Ｈａｎｅｓら（１９９８）、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、９５：１４１３０～１４１３５）；単一細胞による抗体作製技術（例えば、選択リンパ球抗体法（「ＳＬＡＭ」）（米国特許第５，６２７，０５２号、Ｗｅｎら（１９８７）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１７：８８７～８９２；Ｂａｂｃｏｏｋら（１９９６）、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、９３：７８４３～７８４８）；ゲル微小液滴及びフローサイトメトリー（Ｐｏｗｅｌｌら（１９９０）、Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．、８：３３３－３３７；Ｏｎｅ Ｃｅｌｌ Ｓｙｓｔｅｍｓ（Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ、Ｍａｓｓ．）；Ｇｒａｙら（１９９５）、Ｊ．Ｉｍｍ．Ｍｅｔｈ．、１８２：１５５～１６３；Ｋｅｎｎｙら（１９９５）、Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌ．、１３：７８７～７９０）；Ｂ細胞の選択（Ｓｔｅｅｎｂａｋｋｅｒｓら（１９９４）、Ｍｏｌｅｃ．Ｂｉｏｌ．Ｒｅｐｏｒｔｓ、１９：１２５～１３４（１９９４））を含むがこれらに限定されない。

【０４０６】

アフィニティー成熟抗体は、当技術分野において公知である、多数の手順のうちのいずれか１つにより作製されうる。例えば、Ｍａｒｋｓら、ＢｉｏＴｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、１０：７７９～７８３（１９９２）は、ＶＨとＶＬとのドメインシャッフリングによるアフィニティー成熟について記載している。ＣＤＲ残基及び／又はフレームワーク残基のランダム突然変異誘発については、Ｂａｒｂａｓら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、９１：３８０９～３８１３（１９９４）；Ｓｃｈｉｅｒら、Ｇｅｎｅ、１６９：１４７～１５５（１９９５）；Ｙｅｌｔｏｎら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１５５：１９９４～２００４（１９９５）；Ｊａｃｋｓｏｎら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１５４（７）：３３１０～３３１９（１９９５）；Ｈａｗｋｉｎｓら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、２２６：８８９～８９６（１９９２）により記載されている。選択的突然変異誘発位置及び活性増強アミノ酸残基を伴う接触位置又は超変異位置における選択的突然変異については、米国特許第６，９１４，１２８Ｂ１号において記載されている。

【０４０７】

抗体の変異体はまた、抗体をコードするポリヌクレオチドを、トランスジェニック動物又はこのような抗体をそれらのミルク中に産生するヤギ、ウシ、ウマ、ヒツジなどのような哺乳動物をもたらすのに適する宿主へと送達することを使用しても調製されうる。これらの方法は、当技術分野において公知であり、例えば、米国特許第５，８２７，６９０号；同第５，８４９，９９２号；同第４，８７３，３１６号；同第５，８４９，９９２号；同第５，９９４，６１６号；同第５，５６５，３６２号及び同第５，３０４，４８９号において記載されている。

【０４０８】

抗体の変異体はまた、このような抗体、指定された部分又は変異体を、植物の部分又はこれらから培養された細胞において産生する、トランスジェニック植物及び培養植物細胞（例えば、タバコ、トウモロコシ、及びウキクサであるがこれらに限定されない）をもたらすように、ポリヌクレオチドを送達することによっても調製されうる。例えば、Ｃｒａ

ｍｅｒら（１９９９）、Ｃｕｒｒ．Ｔｏｐ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、２４０：９５～１１８及びこの文献において引用された参考文献は、例えば、誘導性プロモーターを使用する、大量の組換えタンパク質を発現させるトランスジェニックのタバコ葉の産生について記載している。トランスジェニックトウモロコシは、他の組換え系において産生された、又は天然の供給源から精製された哺乳動物タンパク質と同等の生物学的活性を伴う哺乳動物タンパク質を、市販品生産のレベルにおいて発現させるのに使用されている。例えば、Ｈｏｏｄら、Ａｄｖ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．Ｂｉｏｌ．（１９９９）、４６４：１２７～１４７及びこの文献において引用された参考文献を参照されたい。抗体の変異体はまた、単鎖抗体（ｓｃＦｖ）などの抗体断片を含むトランスジェニック植物の種子であって、タバコの種子及びバレイショの塊茎を含む種子からも大量に作製されている。例えば、Ｃｏｎｒａｄら（１９９８）、Ｐｌａｎｔ Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、３８：１０１～１０９及びこの文献において引用された参考文献を参照されたい。したがって、抗体はまた、公知の方法に従いトランスジェニック植物を使用しても作製されうる。

【０４０９】

抗体の誘導体は、例えば、外因性配列を付加して、免疫原性を修飾する、又は結合、アフィニティー、オン速度、オフ速度、アビディティー、特異性、半減期若しくは他の任意の適切な特徴を低減、増強若しくは修飾することにより作製されうる。一般に、可変領域及び定常領域の非ヒト配列を、ヒトアミノ酸又は他のアミノ酸により置換しながら、非ヒトＣＤＲ配列又はヒトＣＤＲ配列のうちの一部又は全部は維持される。

【０４１０】

小型の抗体断片は、２つの抗原結合性部位を有するダイアボディーであって、断片が、同じポリペプチド鎖において、軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）へと接続された重鎖可変ドメイン（ＶＨ）（ＶＨ－ＶＬ）を含む、ダイアボディーでありうる。例えば、ＥＰ４０４，０９７；ＷＯ９３／１１６１及びＨｏｌｌｉｎｇｅｒら（１９９３）、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、９０：６４４４～６４４８を参照されたい。同じ鎖上の２つのドメイン間の対合を可能とするには短すぎるリンカーを使用することにより、ドメインは、別の鎖の相補性ドメインと対合し、２つの抗原結合性部位を創出するように強いられる。また、参照によりその全体において本明細書に組み込まれ、かつ、１つ以上のアミノ酸が、親抗体の超可変領域内へと挿入され、標的抗原に対する結合アフィニティーが、この抗原に対する親抗体の結合アフィニティーの少なくとも約２倍強い抗体変異体についても開示する、Ｃｈｅｎらによる、米国特許第６，６３２，９２６号も参照されたい。

【０４１１】

抗体は、直鎖状抗体でありうる。当技術分野において、直鎖状抗体を作るための手順が公知であり、Ｚａｐａｔａら（１９９５）、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．、８（１０）：１０５７～１０６２において記載されている。略述すると、これらの抗体は、抗原結合領域の対を形成する、タンデムのＦｄセグメント（ＶＨ－ＣＨ１－ＶＨ－ＣＨ１）の対を含む。直鎖状抗体は、二重特異性又は単一特異性でありうる。

【０４１２】

抗体は、プロテインＡ精製、硫酸アンモニウム沈殿又はエタノール沈殿、酸抽出、アニオン交換クロマトグラフィー又はカチオン交換クロマトグラフィー、ホスホセルロースクロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー及びレクチンクロマトグラフィーを含むがこれらに限定されない、公知の方法により、組換え細胞培養物から回収及び精製されうる。高速液体クロマトグラフィー（「ＨＰＬＣ」）もまた、精製のために使用されうる。

【０４１３】

抗体を検出可能に標識することは、有用でありうる。抗体を、これらの薬剤へとコンジュゲートさせるための方法は、当技術分野において公知である。例示だけを目的として述べると、抗体は、放射性原子、発色団、フルオロフォアなどの検出可能部分により標識されうる。このような標識抗体は、インビボにおける、又は単離された被験試料中の診断法のために使用されうる。このような標識抗体は、サイトカイン、リガンド、別の抗体へと

連結されうる。抗腫瘍効果を達成するための、抗体へのカップリングに適する薬剤は、インターロイキン２（ＩＬ－２）及び腫瘍壊死因子（ＴＮＦ）などのサイトカイン；光力学療法における使用のための光増感剤であって、アルミニウム（ＩＩＩ）フタロシアニンテトラスルホン酸、ヘマトポルフィリン及びフタロシアニンを含む光増感剤；ヨウ素１３１（１３１Ｉ）、イットリウム９０（９０Ｙ）、ビスマス２１２（２１２Ｂｉ）、ビスマス２１３（２１３Ｂｉ）、テクネシウム９９ｍ（９９ｍＴｃ）、レニウム１８６（１８６Ｒｅ）及びレニウム１８８（１８８Ｒｅ）などの放射性核種；ドキソルビシン、アドリアマイシン、ダウノルビシン、メトトレキサート、ダウノマイシン、ネオカルチノスタチン及びカルボプラチンなどの抗生剤；ジフテリア毒素、緑膿菌外毒素Ａ、ブドウ球菌エンテロトキシンＡ、アブリンＡ毒素、リシンＡ（脱グリコシル化リシンＡ及び天然リシンＡ）、ＴＧＦ－アルファ毒素、タイワンコブラに由来する細胞毒素（ナジャ・ナジャ・アトラ）及びゲロニン（植物毒素）などの、細菌毒素、植物毒素及び他の毒素；レストリクトシン（アスペルギルス・レストリクツスにより産生されたリボソーム不活化タンパク質）、サポリン（サポナリア・オフィキナリスに由来するリボソーム不活化タンパク質）及びＲＮアーゼなどの、植物、細菌及び真菌に由来する、リボソーム不活化タンパク質；チロシンキナーゼ阻害剤；ｌｙ２０７７０２（二フッ素化プリンヌクレオシド）；抗嚢胞剤を含有するリポソーム（例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド、毒素をコードするプラスミド、メトトレキサートなど）並びに他の抗体又はＦ（ａｂ）などの抗体断片を含む。

【０４１４】

ハイブリドーマ技術、選択リンパ球抗体法（ＳＬＡＭ）、トランスジェニック動物及び組換え抗体ライブラリーの使用を介する抗体の作製については、下記において、より詳細に記載される。

【０４１５】

（１）ハイブリドーマ技術を使用する、抗ＧＦＡＰモノクローナル抗体

モノクローナル抗体は、当技術分野において公知の、多種多様な技法であって、ハイブリドーマ、組換え及びファージディスプレイ技術又はこれらの組合せの使用を含む技法を使用して調製されうる。例えば、モノクローナル抗体は、当技術分野において公知であり、例えば、Ｈａｒｌｏｗら、「Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ」、２版（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ、１９８８）；Ｈａｍｍｅｒｌｉｎｇら、「Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｔ－Ｃｅｌｌ Ｈｙｂｒｉｄｏｍａｓ」（Ｅｌｓｅｖｉｅｒ、Ｎ．Ｙ．、１９８１）において教示されているハイブリドーマ法を含むハイブリドーマ法を使用して作製されうる。また、本明細書において使用された「モノクローナル抗体」という用語は、ハイブリドーマ技術を介して作製された抗体に限定されないことも留意される。「モノクローナル抗体」という用語は、任意の真核生物クローン、原核生物クローン又はファージクローンを含む単一クローンに由来する抗体を指し、それが作製された方法を指すものではない。

【０４１６】

方法により作製されるモノクローナル抗体並びに抗体を作出する方法は、抗体を分泌するハイブリドーマ細胞を培養するステップを含みうるが、この場合、ハイブリドーマは、ＧＦＡＰにより免疫化された動物、例えば、ラット又はマウスから単離された脾臓細胞を、骨髄腫細胞と融合させ、次いで、融合体から生じるハイブリドーマを、ポリペプチドに結合することが可能な抗体を分泌するハイブリドーマクローンについてスクリーニングすることにより作出されることが好ましい。略述すると、ラットは、ＧＦＡＰ抗原により免疫化されうる。好ましい実施形態において、ＧＦＡＰ抗原は、免疫応答を刺激するように、アジュバントと共に投与される。このようなアジュバントは、フロイント完全アジュバント又はフロイント不完全アジュバント、ＲＩＢＩ（ムラミルジペプチド）又はＩＳＣＯＭ（免疫刺激性複合体）を含む。このようなアジュバントは、ポリペプチドを、局所的な沈着物内に封入することにより、急速な分散から保護しうる、又はこのようなアジュバントは、マクロファージ及び免疫系の他の構成要素に対して走化性である因子を分泌するよ

うに、宿主を刺激する物質を含有しうる。ポリペプチドが投与される場合、免疫化スケジュールは、何週間かにわたる、２回以上のポリペプチドの投与を伴うことが好ましいが、ポリペプチドの単回投与もまた、使用されうる。

【０４１７】

ＧＦＡＰ抗原による動物の免疫化の後、抗体及び／又は抗体産生細胞が、動物から得られうる。抗ＧＦＡＰ抗体含有血清は、動物から採血する、又は動物を　　殺することにより、動物から得られる。血清は、動物から得られたままに使用されうる、免疫グロブリン画分は、血清から得られうる、又は抗ＧＦＡＰ抗体は、血清から精製されうる。このようにして得られた血清又は免疫グロブリンは、ポリクローナルであるので、一連の異種特性を有する。

【０４１８】

免疫応答が検出されたら、例えば、ラット血清中において、抗原であるＧＦＡＰに特異的な抗体が検出されたら、ラット脾臓が摘出され、脾臓細胞が単離される。次いで、脾臓細胞が、周知の技法により、任意の適切な骨髄腫細胞、例えば、Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ（ＡＴＣＣ、Ｍａｎａｓｓａｓ、Ｖａ．、ＵＳ）から市販されている細胞株である、ＳＰ２０に由来する細胞へと融合させられる。ハイブリドーマが選択され、限界希釈によりクローニングされる。次いで、ハイブリドーマクローンが、当技術分野において公知の方法により、ＧＦＡＰに結合することが可能な抗体を分泌する細胞についてアッセイされる。ラットを、陽性のハイブリドーマクローンにより免疫化することにより、一般に、高レベルの抗体を含有する腹水が作出されうる。

【０４１９】

別の実施形態において、抗体を産生する不死化ハイブリドーマが、免疫化された動物から調製されうる。免疫化の後、動物は、　　殺され、当技術分野において周知の通り、脾臓Ｂ細胞は、不死化骨髄腫細胞へと融合される。例えば、Ｈａｒｌｏｗ及びＬａｎｅ、前出を参照されたい。好ましい実施形態において、骨髄腫細胞は、免疫グロブリンポリペプチドを分泌しない（非分泌性細胞株）。融合及び抗生剤による選択の後、ハイブリドーマは、ＧＦＡＰ若しくはこの部分又はＧＦＡＰを発現する細胞を使用してスクリーニングされる。好ましい実施形態において、初期スクリーニングは、酵素免疫測定アッセイ（ＥＬＩＳＡ）又はラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）、好ましくはＥＬＩＳＡを使用して実施される。ＥＬＩＳＡスクリーニングの例は、ＰＣＴ公開第００／３７５０４号において提示されている。

【０４２０】

抗ＧＦＡＰ抗体を産生するハイブリドーマは、ロバストなハイブリドーマの増殖、高度な抗体の産生及び所望の抗体特徴を含む、所望の特徴について選択され、クローニングされ、さらにスクリーニングされる。ハイブリドーマは、インビボの同系動物、免疫系を欠く動物、例えば、ヌードマウスにおいて、又はインビトロの細胞培養物中において培養され、拡大されうる。ハイブリドーマを選択し、クローニングし、拡大する方法は、当業者に周知である。

【０４２１】

好ましい実施形態において、ハイブリドーマは、ラットハイブリドーマである。別の実施形態において、ハイブリドーマは、マウス、ヒツジ、ブタ、ヤギ、ウシ又はウマなど、ヒト以外でラット以外の種において作製される。さらに別の好ましい実施形態において、ハイブリドーマは、ヒト非分泌性骨髄腫が、抗ＧＦＡＰ抗体を発現するヒト細胞と融合させられた、ヒトハイブリドーマである。

【０４２２】

特異的エピトープを認識する抗体断片は、公知の技法により作出されうる。例えば、Ｆａｂ断片及びＦ（ａｂ’）$_2$断片は、パパイン（２つの同一なＦａｂ断片をもたらす）又はペプシン（Ｆ（ａｂ’）$_2$断片をもたらす）などの酵素を使用する、免疫グロブリン分子のタンパク質分解性切断により作製されうる。ＩｇＧ分子のＦ（ａｂ’）$_2$断片は、大型の（「親」）ＩｇＧ分子の、２つの抗原結合性部位であって、親ＩｇＧ分子の、両方の軽鎖（

軽鎖可変領域及び軽鎖定常領域を含有する）、重鎖のＣＨ１ドメイン及びジスルフィド形成ヒンジ領域を含む、抗原結合性部位を保持する。したがって、Ｆ（ａｂ’）$_2$断片は、親ＩｇＧ分子と同様に、抗原分子を架橋することが可能である。

【０４２３】

（２）ＳＬＡＭを使用する、抗ＧＦＡＰモノクローナル抗体

別の態様において、組換え抗体は、米国特許第５，６２７，０５２号；ＰＣＴ公開第９２／０２５５１号及びＢａｂｃｏｏｋら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、９３：７８４３～７８４８（１９９６）において記載されている通り、当技術分野において、選択リンパ球抗体法（ＳＬＡＭ）と称される手順を使用して、単一の単離リンパ球から作出される。この方法において、ビオチンなどのリンカーを使用して、抗原であるＧＦＡＰ、ＧＦＡＰのサブユニット又はこの断片が、ヒツジ赤血球へとカップリングされ、ＧＦＡＰに対する特異性を伴う抗体を分泌する単一細胞を同定するのに使用される、抗原特異的溶血プラークアッセイを使用して、目的の抗体を分泌する、単一の細胞、例えば、免疫化された動物のうちのいずれか１つに由来するリンパ球がスクリーニングされる。目的の抗体分泌細胞を同定した後、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域のｃＤＮＡが、逆転写酵素ＰＣＲ（ＲＴ－ＰＣＲ）により、細胞からレスキューされ、次いで、これらの可変領域が、ＣＯＳ細胞又はＣＨＯ細胞など、哺乳動物宿主細胞内の、適切な免疫グロブリン定常領域（例えば、ヒト定常領域）の文脈において発現されうる。次いで、インビボにおいて選択されたリンパ球に由来する、増幅された免疫グロブリン配列をトランスフェクトされた宿主細胞は、例えば、ＧＦＡＰに対する抗体を発現する細胞を単離するように、トランスフェクト細胞をパニングすることにより、インビトロにおいて、さらなる解析及び選択を経る場合がある。増幅された免疫グロブリン配列は、インビトロアフィニティー成熟法によるように、インビトロにおいて、さらに操作されうる。例えば、ＰＣＴ公開第９７／２９１３１号及びＰＣＴ公開第００／５６７７２号を参照されたい。

【０４２４】

（３）トランスジェニック動物を使用する、抗ＧＦＡＰモノクローナル抗体

別の実施形態において、抗体は、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の一部又は全部を含む非ヒト動物を、ＧＦＡＰ抗原により免疫化することにより作製される。ある実施形態において、非ヒト動物は、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の大型断片を含み、マウス抗体の産生が欠損する操作マウス株である、ＸＥＮＯＭＯＵＳＥ（登録商標）トランスジェニックマウスである。例えば、Ｇｒｅｅｎら、Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ、７：１３～２１（１９９４）並びに米国特許第５，９１６，７７１号；同第５，９３９，５９８号；同第５，９８５，６１５号；同第５，９９８，２０９号；同第６，０７５，１８１号；同第６，０９１，００１号；同第６，１１４，５９８号及び同第６，１３０，３６４号を参照されたい。また、ＰＣＴ公開第９１／１０７４１号；ＰＣＴ公開第９４／０２６０２号；ＰＣＴ公開第９６／３４０９６号；ＰＣＴ公開第９６／３３７３５号；ＰＣＴ公開第９８／１６６５４号；ＰＣＴ公開第９８／２４８９３号；ＰＣＴ公開第９８／５０４３３号；ＰＣＴ公開第９９／４５０３１号；ＰＣＴ公開第９９／５３０４９号；ＰＣＴ公開第００／０９５６０号及びＰＣＴ公開第００／３７５０４号も参照されたい。ＸＥＮＯＭＯＵＳＥ（登録商標）トランスジェニックマウスは、完全ヒト抗体の成人様ヒトレパートリーを産生し、抗原特異的ヒトモノクローナル抗体を発生させる。ＸＥＮＯＭＯＵＳＥ（登録商標）トランスジェニックマウスは、ヒト重鎖遺伝子座及びｘ軽鎖遺伝子座の、メガ塩基サイズの、生殖細胞系列構成のＹＡＣ断片を導入することにより、ヒト抗体レパートリーのうちの約８０％を含有する。その開示が参照により組み込まれた、Ｍｅｎｄｅｚ ら、Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ、１５：１４６～１５６（１９９７）；Ｇｒｅｅｎ及びＪａｋｏｂｏｖｉｔｓ、Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．、１８８：４８３～４９５（１９９８）を参照されたい。

【０４２５】

（４）組換え抗体ライブラリーを使用する、抗ＧＦＡＰモノクローナル抗体

インビトロ法もまた、抗体を作るのに使用される場合があり、この場合、所望のＧＦＡ

Ｐ結合特異性を有する抗体を同定するのに、抗体ライブラリーがスクリーニングされる。組換え抗体ライブラリーの、このようなスクリーニングのための方法は、当技術分野において周知であり、例えば、それらの各々の内容が、参照により本明細書に組み込まれた、米国特許第５，２２３，４０９号（Ｌａｄｎｅｒら）；ＰＣＴ公開第９２／１８６１９号（Ｋａｎｇら）；ＰＣＴ公開第９１／１７２７１号（Ｄｏｗｅｒら）；ＰＣＴ公開第９２／２０７９１号（Ｗｉｎｔｅｒら）；ＰＣＴ公開第９２／１５６７９号（Ｍａｒｋｌａｎｄら）；ＰＣＴ公開第９３／０１２８８号（Ｂｒｅｉｔｌｉｎｇら）；ＰＣＴ公開第９２／０１０４７号（ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙら）；ＰＣＴ公開第９２／０９６９０号（Ｇａｒｒａｒｄら）；Ｆｕｃｈｓら、Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、９：１３６９～１３７２（１９９１）；Ｈａｙら、Ｈｕｍ．Ａｎｔｉｂｏｄ．Ｈｙｂｒｏｄｏｍａｓ、３：８１～８５（１９９２）；Ｈｕｓｅら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、２４６：１２７５～１２８１（１９８９）；ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙら、Ｎａｔｕｒｅ、３４８：５５２～５５４（１９９０）；Ｇｒｉｆｆｉｔｈｓら、ＥＭＢＯＪ．、１２：７２５～７３４（１９９３）；Ｈａｗｋｉｎｓら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、２２６：８８９～８９６（１９９２）；Ｃｌａｃｋｓｏｎら、Ｎａｔｕｒｅ、３５２：６２４～６２８（１９９１）；Ｇｒａｍら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、８９：３５７６～３５８０（１９９２）；Ｇａｒｒａｒｄら、Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、９：１３７３～１３７７（１９９１）；Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍら、Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．、１９：４１３３～４１３７（１９９１）；Ｂａｒｂａｓら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、８８：７９７８～７９８２（１９９１）；米国特許出願公開第２００３／０１８６３７４号及びＰＣＴ公開第９７／２９１３１号において記載されている方法を含む。

【０４２６】

組換え抗体ライブラリーは、ＧＦＡＰ又はＧＦＡＰの部分により免疫化された対象に由来しうる。代替的に、組換え抗体ライブラリーは、ヒトＧＦＡＰにより免疫化されていないヒト対象に由来する、ヒト抗体ライブラリーなど、ナイーブ対象、すなわち、ＧＦＡＰにより免疫化されていない対象に由来しうる。抗体は、ヒトＧＦＡＰを含むペプチドを伴う組換え抗体ライブラリーをスクリーニングして、これにより、ＧＦＡＰを認識する抗体を選択することにより選択される。このようなスクリーニング及び選択を行うための方法は、前出の段落内の参考文献において記載されている方法など、当技術分野において周知である。ＧＦＡＰに対して、特定の結合アフィニティーを有する抗体であって、ヒトＧＦＡＰから、特定のK_{off}速度定数により解離する抗体などの抗体を選択するために、所望のK_{off}速度定数を有する抗体を選択するように、当技術分野において公知の表面プラズモン共鳴法が使用されうる。ｈＧＦＡＰに対する、特定の中和活性を有する抗体であって、特定のIC_{50}を伴う抗体などの抗体を選択するために、ＧＦＡＰ活性の阻害を評価するための、当技術分野において公知の標準的方法が使用されうる。

【０４２７】

一態様において、本開示は、ヒトＧＦＡＰに結合する、単離抗体又はこの抗原結合性部分に関する。好ましくは、抗体は、中和抗体である。多様な実施形態において、抗体は、組換え抗体又はモノクローナル抗体である。

【０４２８】

例えば、抗体はまた、当技術分野において公知である、多様なファージディスプレイ法を使用しても作出されうる。ファージディスプレイ法において、機能的な抗体ドメインは、それらをコードするポリヌクレオチド配列を保有するファージ粒子の表面に提示される。このようなファージは、レパートリー又はコンビナトリアル抗体ライブラリー（例えば、ヒト又はマウスの）から発現させた抗原結合性ドメインを提示するのに用いられうる。目的の抗原に結合する抗原結合性ドメインを発現するファージは、抗原により、例えば、標識された抗原又は固体表面若しくはビーズに結合された、若しくはこれらへと捕捉された抗原を使用して選択又は同定されうる。これらの方法において使用されたファージは典型的に、ファージから発現させたｆｄ結合性ドメイン及びＭ１３結合性ドメインを、組換えにより、ファージ遺伝子ＩＩＩタンパク質又はファージ遺伝子ＶＩＩＩタンパク質へと

融合させた、Ｆａｂ抗体ドメイン、Ｆｖ抗体ドメイン又はジスルフィド安定化Ｆｖ抗体ドメインと共に含む、繊維状ファージである。抗体を作るのに使用されうるファージディスプレイ法の例は、Ｂｒｉｎｋｍａｎｎら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ、１８２：４１～５０（１９９５）；Ａｍｅｓら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ、１８４：１７７～１８６（１９９５）；Ｋｅｔｔｌｅｂｏｒｏｕｇｈら、Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、２４：９５２～９５８（１９９４）；Ｐｅｒｓｉｃら、Ｇｅｎｅ、１８７：９～１８（１９９７）；Ｂｕｒｔｏｎら、Ａｄｖａｎｃｅｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、５７：１９１～２８０（１９９４）；ＰＣＴ公開第９２／０１０４７号；ＰＣＴ公開第９０／０２８０９号；ＰＣＴ公開第９１／１０７３７号；ＰＣＴ公開第９２／０１０４７号；ＰＣＴ公開第９２／１８６１９号；ＰＣＴ公開第９３／１１２３６号；ＰＣＴ公開第９５／１５９８２号；ＰＣＴ公開第９５／２０４０１号並びに米国特許第５，６９８，４２６号；同第５，２２３，４０９号；同第５，４０３，４８４号；同第５，５８０，７１７号；同第５，４２７，９０８号；同第５，７５０，７５３号；同第５，８２１，０４７号；同第５，５７１，６９８号；同第５，４２７，９０８号；同第５，５１６，６３７号；同第５，７８０，２２５号；同第５，６５８，７２７号；同第５，７３３，７４３号及び同第５，９６９，１０８号において開示されているファージディスプレイ法を含む。

【０４２９】

上記の参考文献において記載された通り、ファージ選択の後、ファージに由来する抗体のコード領域は、単離され、ヒト抗体を含む全抗体又は他の任意の所望の抗原結合性断片を作出するのに使用され、例えば、下記において詳細に記載される通り、哺乳動物細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵母及び細菌を含む、任意の所望の宿主内において発現させうる。ＰＣＴ公開第９２／２２３２４号；Ｍｕｌｌｉｎａｘら、ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ、１２（６）：８６４～８６９（１９９２）；Ｓａｗａｉら、Ａｍ．Ｊ．Ｒｅｐｒｏｄ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、３４：２６～３４（１９９５）及びＢｅｔｔｅｒら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、２４０：１０４１～１０４３（１９８８）において開示されている方法など、当技術分野において公知の方法を使用して、例えば、Ｆａｂ断片、Ｆａｂ’断片及びＦ（ａｂ’）2断片を組換えにより作製する技法もまた利用されうる。単鎖Ｆｖ及び抗体を作製するのに使用されうる技法の例は、米国特許第４，９４６，７７８号及び同第５，２５８，４９８号；Ｈｕｓｔｏｎら、Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ、２０３：４６～８８（１９９１）；Ｓｈｕら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、９０：７９９５～７９９９（１９９３）及びＳｋｅｒｒａら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、２４０：１０３８～１０４１（１９８８）において記載されている技法を含む。

【０４３０】

ファージディスプレイによる組換え抗体ライブラリーのスクリーニングに対する代替法である、大型のコンビナトリアルライブラリーをスクリーニングするための、当技術分野において公知である、他の方法も、抗体の同定へと適用されうる。代替的発現系の１つの種類は、組換え抗体ライブラリーをＲＮＡ－タンパク質融合体として発現させた発現系であって、ＰＣＴ公開第９８／３１７００号（Ｓｚｏｓｔａｋ及びＲｏｂｅｒｔｓ）並びにＲｏｂｅｒｔｓ及びＳｚｏｓｔａｋ、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、９４：１２２９７～１２３０２（１９９７）において記載されている発現系である。３’末端において、ペプチジルアクセプター抗生剤であるピューロマイシンを保有する、合成ｍＲＮＡのインビトロ翻訳により、この系の、ｍＲＮＡと、ｍＲＮＡがコードする、ペプチド又はタンパク質との間において、共有結合的融合が創出される。したがって、特異的ｍＲＮＡは、抗体又はこの部分の、二重特異性抗原への結合などの、コードされたペプチド又はタンパク質、例えば、抗体又はこの部分の特性に基づき、ｍＲＮＡの複合体混合物（例えば、コンビナトリアルライブラリー）から濃縮されうる。このようなライブラリーのスクリーニングから回収された、抗体又はこの部分をコードする核酸配列は、上記された（例えば、哺乳動物の宿主細胞内の）組換え手段により発現され、さらに、突然変異が、当初選択された配列へと導入された、ｍＲＮＡ－ペプチド融合体のスクリーニングのさらなるラウンドにより、又は上記された、インビトロにおける、組換え抗体のアフィニティ

ー成熟のための他の方法により、さらなるアフィニティー成熟にかけられうる。この方法の好ましい例は、ＰＲＯｆｕｓｉｏｎディスプレイ技術である。

【０４３１】

別の手法において、抗体はまた、当技術分野において公知の酵母ディスプレイ法を使用しても作出されうる。酵母ディスプレイ法において、抗体ドメインを、酵母細胞壁へとテザリングし、それらを、酵母の表面上に提示するのに、遺伝子法が使用される。特に、このような酵母は、レパートリー又はコンビナトリアル抗体ライブラリー（例えば、ヒト又はマウスの）から発現させた抗原結合性ドメインを提示するのに用いられうる。抗体を作るのに使用されうる、酵母ディスプレイ法の例は、参照により本明細書に組み込まれた、米国特許第６，６９９，６５８号（Ｗｉｔｔｒｕｐら）において開示された酵母ディスプレイ法を含む。

【０４３２】

ｅ．組換えＧＦＡＰ抗体の作製

抗体は、当技術分野において公知である、多数の技法のうちのいずれかにより作製されうる。例えば、重鎖及び軽鎖をコードする発現ベクターが、標準的技法により、宿主細胞へとトランスフェクトされた、宿主細胞からの発現である。「トランスフェクション」という用語の多様な形態は、外因性ＤＮＡの、原核宿主細胞又は真核宿主細胞への導入のために一般に使用されている、多種多様な技法、例えば、電気穿孔、リン酸カルシウム沈殿、ＤＥＡＥ－デキストラントランスフェクションなどを包含することが意図される。本発明の抗体を、原核宿主細胞又は真核宿主細胞において発現させることが可能であるが、そのような真核細胞（そして、特に、哺乳動物の細胞）は、原核細胞より、アセンブルし、適正にフォールディングさせられ、免疫学的に活性である抗体を分泌する可能性が高いため、抗体の、真核細胞内の発現が好ましく、哺乳動物宿主細胞内の発現が最も好ましい。

【０４３３】

本発明の組換え抗体を発現させるための、例示的な哺乳動物宿主細胞は、例えば、Ｋａｕｆｍａｎ及びＳｈａｒｐ、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、１５９：６０１～６２１（１９８２）において記載されているようにＤＨＦＲ選択用マーカーと共に使用されるチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞（Ｕｒｌａｕｂ及びＣｈａｓｉｎ、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、７７：４２１６～４２２０（１９８０））において記載されている、ｄｈｆｒ－　ＣＨＯ細胞を含む）、ＮＳ０骨髄腫細胞、ＣＯＳ細胞及びＳＰ２細胞を含む。抗体遺伝子をコードする組換え発現ベクターが、哺乳動物宿主細胞へと導入される場合、抗体は、宿主細胞内の抗体の発現又は、より好ましくは、宿主細胞が増殖される培養培地への抗体の分泌を可能とするのに十分な時間にわたり、宿主細胞を培養することにより作製される。抗体は、標準的なタンパク質精製法を使用して、培養培地から回収されうる。

【０４３４】

宿主細胞はまた、Ｆａｂ断片又はｓｃＦｖ分子などの、機能的抗体断片を作製するのにも使用されうる。上記の手順に対する変動は、実施されうることが理解される。例えば、宿主細胞に、抗体の軽鎖及び／又は重鎖の機能的断片をコードするＤＮＡをトランスフェクトすることが所望されうる。組換えＤＮＡ技術はまた、目的の抗原への結合に必要でない軽鎖及び重鎖の一方又は両方をコードするＤＮＡの一部又は全部を除去するのにも使用されうる。また、このような切断型ＤＮＡ分子から発現された分子も、抗体に包含される。加えて、１つの重鎖及び１つの軽鎖が、抗体（すなわち、ヒトＧＦＡＰに結合する抗体）であり、他の重鎖及び軽鎖が、ヒトＧＦＡＰ以外の抗原に特異的である、二官能性抗体も、抗体を、標準的な化学的架橋法を介して、第２の抗体へと架橋することにより作製されうる。

【０４３５】

本発明の抗体又はこの抗原結合性部分を組換え発現させるための好ましい系において、抗体重鎖及び抗体軽鎖の両方をコードする組換え発現ベクターが、リン酸カルシウム媒介型トランスフェクションにより、ｄｈｆｒ－ＣＨＯ細胞へと導入される。組換え発現ベク

ター内において、高レベルの遺伝子の転写を駆動するように、抗体重鎖遺伝子及び抗体軽鎖遺伝子の各々が、ＣＭＶエンハンサー／ＡｄＭＬＰプロモーター調節エレメントへと作動的に連結される。組換え発現ベクターはまた、メトトレキサートによる選択／増幅を使用するベクターをトランスフェクトされたＣＨＯ細胞の選択を可能とするＤＨＦＲ遺伝子も保有する。抗体の重鎖及び軽鎖の発現を可能とし、無傷抗体が培養培地から回収されるように、選択された形質転換体の宿主細胞が培養される。組換え発現ベクターを調製し、宿主細胞にトランスフェクトし、形質転換体について選択し、宿主細胞を培養し、抗体を培養培地から回収するのに、標準的な分子生物学法が使用される。なおさらに、本開示は、組換え抗体が合成されるまで、宿主細胞を、適切な培養培地中において培養することにより、組換え抗体を合成する方法を提供する。方法は、組換え抗体を、培養培地から単離するステップをさらに含みうる。

【０４３６】

（１）ヒト化抗体

ヒト化抗体は、目的の抗原に免疫特異的に結合し、ヒト抗体のアミノ酸配列を実質的に有するフレームワーク（ＦＲ）領域及び非ヒト抗体のアミノ酸配列を実質的に有する相補性決定領域（ＣＤＲ）を含む、抗体又はこの変異体、誘導体、類似体若しくは部分でありうる。ヒト化抗体は、所望の抗原に結合する非ヒト種抗体であって、非ヒト種に由来する、１つ以上の相補性決定領域（ＣＤＲ）及びヒト免疫グロブリン分子に由来するフレームワーク領域を有する非ヒト種抗体に由来しうる。

【０４３７】

本明細書において使用された、ＣＤＲの文脈における「実質的に」という用語は、非ヒト抗体ＣＤＲのアミノ酸配列と、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％又は少なくとも９９％同一なアミノ酸配列を有するＣＤＲを指す。ヒト化抗体は、少なくとも１つであるが、典型的に２つの可変ドメイン（Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、ＦａｂＣ、Ｆｖ）であって、ＣＤＲ領域の全て又は実質的に全てが、非ヒト免疫グロブリン（すなわち、ドナー抗体）のＣＤＲ領域に対応し、フレームワーク領域の全て又は実質的に全てが、ヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のフレームワーク領域である可変ドメインの実質的に全てを含む。一態様に従い、ヒト化抗体はまた、免疫グロブリン定常領域（Ｆｃ）、典型的に、ヒト免疫グロブリンのＦｃ領域の少なくとも一部も含む。一部の実施形態において、ヒト化抗体は、軽鎖、及び重鎖の少なくとも可変ドメインの両方を含有する。抗体はまた、重鎖の、ＣＨ１領域、ヒンジ領域、ＣＨ２領域、ＣＨ３領域及びＣＨ４領域も含みうる。一部の実施形態において、ヒト化抗体は、ヒト化軽鎖だけを含有する。一部の実施形態において、ヒト化抗体は、ヒト化重鎖だけを含有する。具体的な実施形態において、ヒト化抗体は、軽鎖及び／又は重鎖のヒト化可変ドメインだけを含有する。

【０４３８】

ヒト化抗体は、ＩｇＭ、ＩｇＧ、ＩｇＤ、ＩｇＡ及びＩｇＥを含む、免疫グロブリンの任意のクラス、並びに、限定なしに述べると、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３及びＩｇＧ４を含む、任意のアイソタイプから選択されうる。ヒト化抗体は、１つを超えるクラス又はアイソタイプに由来する配列を含むことが可能であり、特定の定常ドメインは、当技術分野において周知の技法を使用して、所望のエフェクター機能を最適化するように選択されうる。

【０４３９】

ヒト化抗体のフレームワーク領域及びＣＤＲは、親配列に正確に対応する必要がない、例えば、ドナー抗体ＣＤＲ又はコンセンサスフレームワークは、この部位におけるＣＤＲ残基又はフレームワーク残基が、ドナー抗体又はコンセンサスフレームワークに対応しないように、少なくとも１つのアミノ酸残基の置換、挿入及び／又は欠失により突然変異誘発されうる。しかし、一実施形態において、このような突然変異は、広範にわたる突然変異ではない。通例、ヒト化抗体残基のうちの、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％又は少なくとも９９％は、親のＦＲ配列及びＣＤＲ配列の残基に対応する。本明細書において使用された「コンセンサスフレームワーク」という用語は、コンセン

サスの免疫グロブリン配列内のフレームワーク領域を指す。本明細書において使用された「コンセンサスの免疫グロブリン配列」という用語は、類縁の免疫グロブリン配列のファミリーにおいて、最も高頻度で発生するアミノ酸（又はヌクレオチド）から形成された配列（例えば、Ｗｉｎｎａｋｅｒ、「Ｆｒｏｍ Ｇｅｎｅｓ ｔｏ Ｃｌｏｎｅｓ」（Ｖｅｒｌａｇｓｇｅｓｅｌｌｓｃｈａｆｔ、Ｗｅｉｎｈｅｉｍ、Ｇｅｒｍａｎｙ、１９８７）を参照されたい）を指す。免疫グロブリンのファミリーにおいて、コンセンサス配列内の各位置は、ファミリー内のこの位置において、最も高頻度で発生するアミノ酸により占有されている。２つのアミノ酸が、同等に高頻度で発生する場合、いずれもが、コンセンサス配列内に含まれうる。

【０４４０】

ヒト化抗体は、ヒトレシピエントにおける、これらの部分の治療適用の持続時間及び有効性を制限する、抗ヒト齧歯動物抗体に対する、望ましくない免疫応答を最小化するようにデザインされうる。ヒト化抗体は、非ヒトである供給源から、それへと導入された、１つ以上のアミノ酸残基を有しうる。これらの非ヒト残基は、典型的に、可変ドメインから採取される、「インポート」残基と称されることが多い。ヒト化は、超可変領域配列を、ヒト抗体の対応する配列で置換することにより実施されうる。したがって、このような「ヒト化」抗体は、実質的に無傷に満たないヒト可変ドメインが、非ヒト種に由来する、対応する配列により置換されたキメラ抗体である。例えば、その内容が、参照により本明細書に組み込まれた、米国特許第４，８１６，５６７号を参照されたい。ヒト化抗体は、一部の超可変領域残基と、おそらく、一部のＦＲ残基とが、齧歯動物抗体内の相似部位に由来する残基により置換されたヒト抗体でありうる。本開示の抗体のヒト化又は操作は、米国特許第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号及び同第４，８１６，５６７号において記載されている方法などであるがこれらに限定されない、任意の公知の方法を使用して実施されうる。

【０４４１】

ヒト化抗体は、ＧＦＡＰに対する高アフィニティー及び他の好適な生物学的特性を保持しうる。ヒト化抗体は、親配列及びヒト化配列についての三次元モデルを使用して、親配列及び多様な概念的ヒト化産物を解析する工程により調製されうる。三次元免疫グロブリンモデルは、一般に利用可能である。選択された候補免疫グロブリン配列の、可能な三次元コンフォメーション構造を例示及び提示するコンピュータプログラムが利用可能である。これらの表示の検討は、残基の、候補免疫グロブリン配列の機能における、鍵となる役割についての解析、すなわち、候補免疫グロブリンが、その抗原に結合する能力に影響を及ぼす残基についての解析を可能とする。このようにして、ＧＦＡＰに対するアフィニティーの上昇など、所望の抗体特徴が、達成されるように、ＦＲ残基が、レシピエント及びインポート配列から選択され、組み合わされうる。一般に、超可変領域残基は、直接、かつ、最も実質的に、抗原結合への影響に関与しうる。

【０４４２】

ヒト化に対する代替法として、ヒト抗体（本明細書において、「完全ヒト抗体」ともまた言及された）が作出されうる。例えば、ＰＲＯｆｕｓｉｏｎ及び／又は酵母関連技術を介して、ヒト抗体を、ライブラリーから単離することが可能である。また、トランスジェニック動物（例えば、免疫化すると、内因性の免疫グロブリン産生の非存在下において、ヒト抗体の完全レパートリーを作製することが可能なマウス）を作製することも可能である。例えば、キメラマウス及び生殖細胞系列突然変異体マウスにおける、抗体重鎖接合領域（J_H）遺伝子のホモ接合性の欠失は、内因性抗体産生の完全な阻害を結果としてもたらす。ヒト生殖細胞系列免疫グロブリン遺伝子アレイの、このような生殖細胞系列突然変異体マウスへの移入は、抗原投与時における、ヒト抗体の産生を結果としてもたらす。ヒ

ト化抗体又は完全ヒト抗体は、それらの各々の内容が、参照により本明細書に組み込まれた、米国特許第５，７７０，４２９号；同第５，８３３，９８５号；同第５，８３７，２４３号；同第５，９２２，８４５号；同第６，０１７，５１７号；同第６，０９６，３１１号；同第６，１１１，１６６号；同第６，２７０，７６５号；同第６，３０３，７５５号；同第６，３６５，１１６号；同第６，４１０，６９０号；同第６，６８２，９２８号及び同第６，９８４，７２０号において記載されている方法に従い調製されうる。

【０４４３】

１０．方法の変化形

試料中に存在する目的の解析物（ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰ）の存在又は量を決定する、開示された方法は、上記された通りでありうる。方法はまた、解析物を解析するための他の方法を念頭に置いて、適合させられる場合もある。周知の変化形の例は、酵素による検出（酵素イムノアッセイ（ＥＩＡ）又は酵素免疫測定アッセイ（ＥＬＩＳＡ））を含む、サンドイッチイムノアッセイ（例えば、モノクローナル－ポリクローナルサンドイッチイムノアッセイ）、競合阻害イムノアッセイ（例えば、フォワード競合阻害イムノアッセイ及びリバース競合阻害イムノアッセイ）、酵素多重化イムノアッセイ法（ＥＭＩＴ）、競合結合アッセイのようなイムノアッセイ、生物発光エネルギー移動（ＢＲＥＴ）、ワンステップ抗体検出アッセイ、同種アッセイ、異種アッセイ、キャプチャーオンザフライアッセイ、単一分子検出アッセイなどを含むがこれらに限定されない。

【０４４４】

ａ．イムノアッセイ

目的の解析物及びペプチド又はこれらの断片（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰ及び／又はペプチド若しくはこれらの断片、すなわち、ＵＣＨ－Ｌ１及び／又はＧＦＡＰ断片）は、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰ抗体を、イムノアッセイにおいて使用して解析されうる。解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰ）の存在又は量は、抗体を使用し、解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰ）への特異的結合を検出して決定されうる。例えば、抗体又はこの抗体断片は、解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１及び／又はＧＦＡＰ）に特異的に結合しうる。所望の場合、抗体のうちの１つ以上は、１つ以上の、市販のモノクローナル／ポリクローナル抗体と組み合わせて使用されうる。このような抗体は、Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｉｎｃ．（Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ、ＭＮ）及びＥｎｚｏ Ｌｉｆｅ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ，Ｉｎｃ．（Ｐｌｙｍｏｕｔｈ Ｍｅｅｔｉｎｇ、ＰＡ）のような企業から市販されている。

【０４４５】

体内試料中に存在する、解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰ）の存在又は量は、サンドイッチイムノアッセイ（例えば、放射性同位元素の検出（ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ））及び酵素による検出（酵素イムノアッセイ（ＥＩＡ）又は酵素免疫測定アッセイ（ＥＬＩＳＡ）（例えば、Ｑｕａｎｔｉｋｉｎｅ ＥＬＩＳＡ Ａｓｓａｙ、Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ、Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ、ＭＮ）を含む、モノクローナル－モノクローナルサンドイッチイムノアッセイ、モノクローナル－ポリクローナルサンドイッチイムノアッセイ）のようなイムノアッセイを使用して、たやすく決定されうる。使用されうるポイントオブケアデバイスの例は、ｉ－ＳＴＡＴ（登録商標）（Ａｂｂｏｔｔ、Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ａｂｂｏｔｔ Ｐａｒｋ、ＩＬ）である。使用されうる、他の方法は、化学発光マイクロ粒子イムノアッセイ、特に、例として述べると、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）自動式解析器（Ａｂｂｏｔｔ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ａｂｂｏｔｔ Ｐａｒｋ、ＩＬ）を利用する化学発光マイクロ粒子イムノアッセイを含む。他の方法は、例えば、質量分析及び解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰ）に対する抗解析物（例えば、抗ＵＣＨ－Ｌ１及び抗ＧＦＡＰ）抗体（モノクローナル、ポリクローナル、キメラ、ヒト化、ヒトなど）又はこれらの抗体断片を使用する、免疫組織化学（例えば、組織生検に由来する切片を伴う）を含む。他の検出法は、例えば、それらの各々が、参照によりその全体において本明細書に組み込まれた、米国特許第６，１４３，５７６号；同第６，１１３，８５５号；同第６，０１９，９４４号；同第５，９８５，５７９号；同第５，９４

７，１２４号；同第５，９３９，２７２号；同第５，９２２，６１５号；同第５，８８５，５２７号；同第５，８５１，７７６号；同第５，８２４，７９９号；同第５，６７９，５２６号；同第５，５２５，５２４号及び同第５，４８０，７９２号において記載されている検出法を含む。抗体の、解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）への特異的免疫的結合は、抗体へと接合された、蛍光タグ又は発光タグ、金属及び放射性核種のような直接的標識を介して、又はアルカリホスファターゼ又は西洋ワサビペルオキシダーゼのような間接的標識を介して検出されうる。

【０４４６】

固定化された抗体又はこの断片の使用は、イムノアッセイへと組み込まれうる。抗体は、磁性粒子又はクロマトグラフィーマトリックス粒子、アッセイプレート（マイクロ滴定プレートなど）の表面、固体基質材料の小片などのような、様々な支持体へと固定化されうる。アッセイストリップは、固体支持体上のアレイ内の抗体又は複数の抗体をコーティングすることにより調製されうる。次いで、このストリップは、被験試料へと浸漬させられ、有色スポットのような、測定可能なシグナルを発生させるように、洗浄及び検出ステップを介して、速やかに処理されうる。

【０４４７】

同種フォーマットが使用されうる。例えば、被験試料が、対象から得られた後に、混合物が調製されうる。混合物は、解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰ）について評価される被験試料、第１の特異的結合パートナー及び第２の特異的結合パートナーを含有する。混合物を形成するのに、被験試料、第１の特異的結合パートナー及び第２の特異的結合パートナーが添加される順序は、それほど重要ではない。被験試料は、第１の特異的結合パートナー及び第２の特異的結合パートナーと同時に接触される。一部の実施形態において、第１の特異的結合パートナーと、被験試料中に含有された、任意のＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰとは、第１の特異的結合パートナー－解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）抗原複合体を形成することが可能であり、第２の特異的結合パートナーは、第１の特異的結合パートナー－目的の解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）－第２の特異的結合パートナー複合体を形成しうる。一部の実施形態において、第２の特異的結合パートナーと、被験試料中に含有された、任意のＵＣＨ－Ｌ１及び／又はＧＦＡＰとは、第２の特異的結合パートナー－解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１）抗原複合体を形成することが可能であり、第１の特異的結合パートナーは、第１の特異的結合パートナー－目的の解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）－第２の特異的結合パートナー複合体を形成しうる。第１の特異的結合パートナーは、抗解析物抗体（例えば、配列番号１の、少なくとも３連続アミノ酸を含むアミノ酸配列を有するエピトープに結合する抗ＵＣＨ－Ｌ１抗体又は配列番号２の、少なくとも３連続アミノ酸を含むアミノ酸配列を有するエピトープに結合する抗ＧＦＡＰ抗体）でありうる。第２の特異的結合パートナーは、抗解析物抗体（例えば、配列番号１の、少なくとも３連続アミノ酸を含むアミノ酸配列を有するエピトープに結合する抗ＵＣＨ－Ｌ１抗体又は配列番号２の、少なくとも３連続アミノ酸を含むアミノ酸配列を有するエピトープに結合する抗ＧＦＡＰ抗体）でありうる。さらに、第２の特異的結合パートナーは、上記において記載された、検出可能な標識により標識される、又はこれを含有する。

【０４４８】

異種フォーマットが使用されうる。例えば、被験試料が、対象から得られた後に、第１の混合物が調製されうる。混合物は、解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰ）について評価される被験試料及び第１の特異的結合パートナーを含有し、この場合、第１の特異的結合パートナーと、被験試料中に含有された、任意のＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰとは、第１の特異的結合パートナー－解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）抗原複合体を形成する。第１の特異的結合パートナーは、抗解析物抗体（例えば、配列番号１の、少なくとも３連続アミノ酸を含むアミノ酸配列を有するエピトープに結合する抗ＵＣＨ－Ｌ１抗体又は配列番号２の、少なくとも３連続アミノ酸を含むアミノ酸配列を有するエピトープに結合する抗ＧＦＡＰ抗体）でありうる。混合物を形成するのに、被験試料及び第

１の特異的結合パートナーが添加される順序は、それほど重要ではない。
【０４４９】
第１の特異的結合パートナーは、固相上に固定化されうる。（第１の特異的結合パートナー、及び、任意選択的に、第２の特異的結合パートナーのための）イムノアッセイにおいて使用される固相は、磁性粒子、ビーズ、試験管、マイクロ滴定プレート、キュベット、膜、足場形成分子、薄膜、濾紙、ディスク及びチップのようであるがこれらに限定されない、当技術分野において公知である、任意の固相でありうる。固相がビーズである実施形態において、ビーズは、磁気ビーズ又は磁性粒子でありうる。磁気ビーズ／磁性粒子は、強磁性、フェリ磁性、常磁性、超常磁性又は磁性流体でありうる。例示的な強磁性材料は、Ｆｅ、Ｃｏ、Ｎｉ、Ｇｄ、Ｄｙ、CrO_2、ＭｎＡｓ、ＭｎＢｉ、ＥｕＯ及びNiO／Ｆｅを含む。フェリ磁性材料の例は、$NiFe_2O_4$、$CoFe_2O_4$、Fe_3O_4（又は$FeO \cdot Fe_2O_3$）を含む。ビーズは、磁性であり、１つ以上の非磁性層により取り囲まれた固体コア部分を有しうる。代替的に、磁性部分は、非磁性コアの周囲の層でありうる。第１の特異的結合メンバーが固定化される固体支持体は、乾燥形態又は液体で保管されうる。磁気ビーズは、第１の特異的結合メンバーが固定化される磁気ビーズを伴う試料と接触させる前に、又はこの後で、磁界下に置かれうる。
【０４５０】
第１の特異的結合パートナー－解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）抗原複合体を含有する混合物が形成された後に、当技術分野において公知である、任意の技法を使用して、任意の結合していない解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）が、複合体から除去される。例えば、結合していない解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）は、洗浄することにより除去されうる。しかし、被験試料中に存在する、全ての解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）に、第１の特異的結合パートナーが結合するように、第１の特異的結合パートナーは、被験試料中に存在する、任意の解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）に対する過剰量において存在することが所望される。
【０４５１】
任意の結合していない解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）が除去された後に、第２の特異的結合パートナーを、混合物へと添加して、第１の特異的結合パートナー－目的の解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）－第２の特異的結合パートナー複合体を形成する。第２の特異的結合パートナーは、抗解析物抗体（例えば、配列番号１の、少なくとも３連続アミノ酸を含むアミノ酸配列を有するエピトープに結合する抗ＵＣＨ－Ｌ１抗体又は配列番号２の、少なくとも３連続アミノ酸を含むアミノ酸配列を有するエピトープに結合する抗ＧＦＡＰ抗体）でありうる。さらに、第２の特異的結合パートナーは、上記された、検出可能な標識により標識されるか又はこれを含有する。
【０４５２】
固定化された抗体又はこの断片の使用は、イムノアッセイへと組み込まれうる。抗体は、磁性粒子又はクロマトグラフィーマトリックス粒子（磁気ビーズなど）、ラテックス粒子又は表面修飾ラテックス粒子、ポリマー又はポリマー薄膜、プラスチック又はプラスチック薄膜、平面状基質、アッセイプレート（マイクロ滴定プレートなど）の表面、固体基質材料の小片などのような、様々な支持体へと固定化されうる。アッセイストリップは、固体支持体上のアレイ内の抗体又は複数の抗体をコーティングすることにより調製されうる。次いで、このストリップは、被験試料へと浸漬させられ、有色スポットのような、測定可能なシグナルを発生させるように、洗浄及び検出ステップを介して、速やかに処理されうる。
【０４５３】
（１）サンドイッチイムノアッセイ
サンドイッチイムノアッセイは、抗体（すなわち、少なくとも１つの捕捉抗体）と、検出抗体（すなわち、少なくとも１つの検出抗体）とからなる、２つの層の間の抗原の量を測定する。捕捉抗体及び検出抗体は、抗原、例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰのような、目的の解析物上の、異なるエピトープに結合する。捕捉抗体の、エピトープへの結合は

、検出抗体の、エピトープへの結合に干渉しないことが所望される。モノクローナル抗体又はポリクローナル抗体のいずれも、サンドイッチイムノアッセイにおける、捕捉抗体及び検出抗体として使用されうる。

【０４５４】

一般に、少なくとも２つの抗体が、被験試料中の解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）を分離及び定量するのに利用される。より具体的に、少なくとも２つの抗体は、解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）の、ある特定のエピトープに結合し、「サンドイッチ」と称される免疫複合体を形成する。１つ以上の抗体が、被験試料中の解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰ）を捕捉する（これらの抗体は、しばしば、「捕捉」抗体（ａｎｔｉｂｏｄｙ）又は「捕捉」抗体（ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ）と称する）のに使用される場合があり、１つ以上の抗体が、検出可能な（すなわち、定量可能な）標識を、サンドイッチに結合させるのに使用される（これらの抗体は、しばしば、「検出」抗体（ａｎｔｉｂｏｄｙ）又は「検出」抗体（ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ）と称する）。サンドイッチアッセイにおいて、抗体の、そのエピトープへの結合は、アッセイ中の他の任意の抗体の、そのそれぞれのエピトープへの結合により減弱されない。抗体は、解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰ）を含有することが推測される被験試料と接触された、１つ以上の第１の抗体が、第２の抗体又は後続の抗体により認識されるエピトープの全部又は一部に結合せず、これにより、１つ以上の第２の検出抗体が、解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰ）に結合する能力に干渉しないように選択される。

【０４５５】

抗体は、前記イムノアッセイ中の、第１の抗体として使用されうる。抗体は、解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）上のエピトープに免疫特異的に結合する。本開示の抗体に加えて、前記イムノアッセイは、第１の抗体により認識されない、又は第１の抗体が結合しないエピトープに免疫特異的に結合する、第２の抗体を含みうる。

【０４５６】

解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰ）を含有することが推測される被験試料は、少なくとも１つの、第１の捕捉抗体（又は抗体）及び少なくとも１つの、第２の検出抗体と同時に、又は逐次的に接触されうる。サンドイッチアッセイフォーマットにおいて、被験試料を含有することが推測される解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰ）はまず、第１の抗体－解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）抗原複合体の形成を可能とする条件下で、特定のエピトープに特異的に結合する、少なくとも１つの、第１の捕捉抗体と接触される。１つを超える捕捉抗体が使用される場合、第１の複数の捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ抗原複合体が形成される。サンドイッチアッセイにおいて、抗体、好ましくは、少なくとも１つの捕捉抗体は、被験試料に予測される解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）の最大量に対するモル過剰量において使用される。例えば、マイクロ粒子コーティング緩衝液１ｍｌ当たり約５μｇ／ｍｌ～約１ｍｇ／ｍｌの抗体が使用されうる。

【０４５７】

ｉ．抗ＵＣＨ－Ｌ１及び／又はＧＦＡＰ捕捉抗体

任意選択的に、被験試料を、少なくとも１つの、第１の捕捉抗体と接触させる前に、少なくとも１つの、第１の捕捉抗体は、第１の抗体－解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１及び／又はＧＦＡＰ）複合体の、被験試料からの分離を容易とする固体支持体に結合されうる。当技術分野において公知である、任意の固体支持体であって、ウェル、チューブ又はビーズ（マイクロ粒子など）の形態のポリマー材料から作られた固体支持体を含むがこれらに限定されない固体支持体が使用されうる。抗体（ａｎｔｉｂｏｄｙ（又はａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ））は、そのような結合が、解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１及び／又はＧＦＡＰ）に結合する抗体の能力に干渉しないという条件において、吸着により、化学的カップリング剤を使用する共有結合により、又は当技術分野において公知である他の手段により、固体支持体に結合されうる。さらに、必要な場合、固体支持体は、抗体上の多様な官能基との反応性を可能とするように、誘導体化されうる。このような誘導体化は、無水マレイン

酸、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド及び１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）カルボジイミドのようであるがこれらに限定されない、ある特定のカップリング剤の使用を必要とする。

【０４５８】

その後、解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１及び／又はＧＦＡＰ）を含有することが推測される被験試料は、第１の捕捉抗体（又は複数の抗体）－解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１及び／又はＧＦＡＰ）複合体の形成を可能とするためにインキュベートされる。インキュベーションは、約４．５～約１０．０のｐＨ、約２℃～約４５℃の温度において、少なくとも約１分間～約１８時間、約２～６分間、約７～１２分間、約５～１５分間又は約３～４分間の時間にわたり実行されうる。

【０４５９】

ｉｉ．検出抗体

次いで、第１の／複数の捕捉抗体－解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１及び／又はＧＦＡＰ）複合体の形成後、複合体は、少なくとも１つの、第２の検出抗体（第１の／複数の抗体－解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）抗原－第２の抗体複合体の形成を可能とする条件下において）と接触される。一部の実施形態において、被験試料は、捕捉抗体と同時に、検出抗体と接触される。第１の抗体－解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）複合体が、１つを超える検出抗体と接触される場合、第１の／複数の捕捉抗体－解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）－複数の抗体検出複合体が形成される。少なくとも第２の（及び後続の）抗体が、第１の抗体－解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）複合体と接触される場合、第１の抗体と同様に、上記された条件と同様の条件下におけるインキュベーション時間が、第１の／複数の抗体－解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）－第２の／複数の抗体複合体の形成に要求される。好ましくは、少なくとも１つの、第２の抗体は、検出可能な標識を含有する。検出可能な標識は、第１の／複数の抗体－解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）－第２の／複数の抗体複合体の形成の前に、これと同時に、又はこの後に、少なくとも１つの、第２の抗体に結合されうる。当技術分野において公知である、任意の検出可能な標識が使用されうる。

【０４６０】

化学発光アッセイは、Ａｄａｍｃｚｙｋら、Ａｎａｌ．Ｃｈｉｍ．Ａｃｔａ、５７９（１）：６１～６７（２００６）において記載されている方法に従い実施されうる。任意の適切なアッセイフォーマットが使用されうるが、マイクロプレート用化学発光測定器（Ｍｉｔｈｒａｓ ＬＢ－９４０、Ｂｅｒｔｈｏｌｄ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ Ｕ．Ｓ．Ａ．，ＬＬＣ、Ｏａｋ Ｒｉｄｇｅ、ＴＮ）は、小容量の複数の試料についてのアッセイを、迅速に可能とする。化学発光測定器は、９６ウェル黒色ポリスチレン製マイクロプレート（Ｃｏｓｔａｒ、型番：３７９２）を使用する、複数の試薬注入器を装備されうる。各試料が、個別のウェルへと添加されうるのに続き、利用されたアッセイの種類により決定される通り、他の試薬の同時的／逐次的な添加がなされうる。酸性化によるように、アクリジニウムアリールエステルを利用する、中性溶液中又は塩基性溶液中の擬塩基の形成は回避されることが所望される。次いで、化学発光応答が、ウェルごとに記録される。この点で、化学発光応答を記録するための時間は、部分的に、利用された試薬の添加と、特定のアクリジニウムの添加との間の遅延に依存する。

【０４６１】

化学発光アッセイのための混合物を形成するのに、被験試料及び特異的結合パートナーが添加される順序は、それほど重要ではない。第１の特異的結合パートナーが、アクリジニウム化合物により、検出可能に標識される場合、検出可能に標識された第１の特異的結合パートナー－抗原（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）複合体が形成される。代替的に、第２の特異的結合パートナーが使用され、第２の特異的結合パートナーが、アクリジニウム化合物により、検出可能に標識される場合、検出可能に標識された第１の特異的結合パートナー－解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）－第２の特異的結合パートナー複合体が形成される。標識されたものであれ、標識されていないものであれ、結合し

ていない任意の特異的結合パートナーは、洗浄のような、当技術分野において公知である、任意の技法を使用して、混合物から除去されうる。

【０４６２】

過酸化水素は、混合物中、インサイチューにおいて発生されうる、又は上記されたアクリジニウム化合物の添加の前に、これと同時に、又はこの後に、混合物へと施されうる、若しくは供給されうる。過酸化水素は、当業者に明らかであるような、多数の方式により、インサイチューにおいて発生されうる。

【０４６３】

代替的に、過酸化水素の供給源は、混合物へと、単純に添加されうる。例えば、過酸化水素の供給源は、過酸化水素を含有することが公知である、１つ以上の緩衝液又は他の溶液でありうる。この点で、過酸化水素の溶液が、単純に添加されうる。

【０４６４】

少なくとも１つの塩基性溶液を、試料へと、同時的に、又はその後において添加したら、検出可能なシグナル、すなわち、解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）の存在を示す化学発光シグナルが発生する。塩基性溶液は、少なくとも１つの塩基を含有し、１０以上、好ましくは、１２以上のｐＨを有する。塩基性溶液の例は、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム、水酸化アンモニウム、水酸化マグネシウム、ナトリウム炭酸、炭酸水素ナトリウム、水酸化カルシウム、炭酸カルシウム及び重炭酸カルシウムを含むがこれらに限定されない。試料へと添加される塩基性溶液の量は、塩基性溶液の濃度に依存する。使用された塩基性溶液の濃度に基づき、当業者は、試料へと添加される塩基性溶液の量を容易に決定しうる。化学発光標識以外の他の標識も利用されうる。例えば、酵素標識（アルカリホスファターゼを含むがこれに限定されない）が利用されうる。

【０４６５】

発生した化学発光シグナル又は他のシグナルは、当業者に公知の規定の技法を使用して検出されうる。発生したシグナルの強度に基づき、目的の解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰ）の、試料中の量が定量されうる。具体的に、目的の解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰ）の、試料中の量は、発生したシグナルの強度に比例する。存在する解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰ）の量は、発生した光の量を、解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）についての検量線と比較することにより、又は参照標準物質との比較により定量されうる。検量線は、解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）の公知の濃度の系列希釈液又は溶液を使用して、質量分析、重量測定法及び当技術分野において公知の他の技法により作成されうる。パネルアッセイ及びマルチプレックスアッセイのための定量についてもまた、学術文献において記載されており、当業者に公知である。

【０４６６】

（２）フォワード競合阻害アッセイ

フォワード競合フォーマットにおいて、公知の濃度の、標識された目的の解析物（例えば、蛍光標識、切断可能なリンカーと接合されたタグなどを有する解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰ））のアリコートが、被験試料中の目的の解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰ）と、目的の解析物抗体（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ抗体）への結合について競合するように使用される。

【０４６７】

フォワード競合アッセイにおいて、固定化された特異的結合パートナー（抗体など）は、被験試料及び標識された目的の解析物、目的の解析物の断片又は目的の解析物の変異体と、逐次的に、又は同時に接触されうる。目的の解析物ペプチド、目的の解析物の断片又は目的の解析物の変異体は、切断可能なリンカーと接合されたタグから構成された、検出可能な標識を含む、任意の検出可能な標識により標識されうる。このアッセイにおいて、抗体は、固体支持体へと固定化されうる。代替的に、抗体は、マイクロ粒子又は平面状基質のような固体支持体上に固定化された、抗分子種抗体のような抗体へとカップリングされうる。

【０４６８】
標識された目的の解析物、被験試料及び抗体は、サンドイッチアッセイフォーマットとの関連において、上記で記載された条件と同様の条件下においてインキュベートされる。次いで、抗体－目的の解析物複合体の、２つの異なる分子種が作出されうる。具体的に述べると、作出された抗体－目的の解析物複合体のうちの１つが、検出可能な標識（例えば、蛍光標識など）を含有するのに対し、他の抗体－目的の解析物複合体は、検出可能な標識を含有しない。抗体－目的の解析物複合体は、検出可能な標識の定量の前に、残りの被験試料から分離されうるが、そうされなくともよい。次いで、抗体－目的の解析物複合体が、残りの被験試料から分離されるのかどうかに関わらず、抗体－目的の解析物複合体内において検出可能な標識の量が定量される。次いで、目的の解析物（膜に会合した目的の解析物、可溶性の目的の解析物、可溶性の目的の解析物の断片、目的の解析物（膜に会合した目的の解析物又は可溶性の目的の解析物）の変異体又はこれらの任意の組合せなど）の、被験試料中濃度が、例えば、上記で記載された通りに決定されうる。
【０４６９】
（３）リバース競合阻害アッセイ
リバース競合アッセイにおいて、固定化された目的の解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）は、被験試料及び少なくとも１つの標識された抗体と、逐次的に、又は同時に接触されうる。
【０４７０】
目的の解析物は、上記においてサンドイッチアッセイフォーマットとの関連において論じられた固体支持体のような固体支持体に結合される。
【０４７１】
固定化された目的の解析物、被験試料及び少なくとも１つの標識された抗体は、サンドイッチアッセイフォーマットとの関連において、上記された条件と同様の条件下においてインキュベートされる。次いで、目的の解析物－抗体複合体の２つの異なる分子種が作出されうる。具体的に述べると、作出された目的の解析物－抗体複合体のうちの１つが、固定化され、検出可能な標識（例えば、蛍光標識など）を含有するのに対し、他の目的の解析物－抗体複合体は、固定化されず、検出可能な標識を含有しない。固定化されなかった目的の解析物－抗体複合体及び残りの被験試料は、洗浄のような、当技術分野において公知の技法を介して、固定化された目的の解析物－抗体複合体の存在から除去される。次いで、固定化されなかった目的の解析物－抗体複合体が除去されたら、タグの切断後に、固定化された、目的の解析物－抗体複合体内の、検出可能な標識の量が定量される。次いで、目的の解析物の、被験試料中濃度が、上記で記載された通り、検出可能な標識の数量を比較することにより決定されうる。
【０４７２】
（４）ワンステップイムノアッセイ又は「キャプチャーオンザフライ」アッセイ
キャプチャーオンザフライアッセイにおいて、固体基質は、固定化剤によりあらかじめコーティングされている。捕捉剤、解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）及び検出剤が、固体基質へと併せて添加されるのに続き、検出の前に、洗浄ステップがなされる。捕捉剤は、解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）に結合することが可能であり、固定化剤のためのリガンドを含む。捕捉剤及び検出剤は、本明細書において記載された、又は当技術分野で公知である、捕捉又は検出が可能な、抗体又は他の任意の部分でありうる。リガンドは、ペプチドタグを含むことが可能であり、固定化剤は、抗ペプチドタグ抗体を含みうる。代替的に、リガンド及び固定化剤は、キャプチャーオンザフライアッセイのために利用されるように、併せて結合することが可能な薬剤の任意の対（例えば、特異的結合対及び当技術分野で公知であるような他の対）でありうる。１つを超える解析物が測定されうる。一部の実施形態において、固体基質は、抗原によりコーティングされる場合があり、解析される解析物は、抗体である。
【０４７３】
ワンステップイムノアッセイ又は「キャプチャーオンザフライ」における、ある特定の

、他の実施形態において、固定化剤（ビオチン、ストレプトアビジンなど）によりあらかじめコーティングされた固体支持体（マイクロ粒子など）並びに少なくとも第１の特異的結合メンバー及び第２の特異的結合メンバー（それぞれ、捕捉試薬及び検出試薬として機能する）が使用される。第１の特異的結合メンバーは、固定化剤のためのリガンド（例えば、固体支持体上の固定化剤が、ストレプトアビジンである場合、第１の特異的結合メンバー上のリガンドは、ビオチンでありうる）を含み、また、目的の解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）にも結合する。第２の特異的結合メンバーは、検出可能な標識を含み、目的の解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ）に結合する。固体支持体並びに第１の特異的結合メンバー及び第２の特異的結合メンバーは、被験試料へと（逐次的に、又は同時に）添加されうる。第１の特異的結合メンバー上のリガンドは、固体支持体上の固定化剤に結合して、固体支持体／第１の特異的結合メンバー複合体を形成する。試料中に存在する、任意の目的の解析物は、固体支持体／第１の特異的結合メンバー複合体に結合して、固体支持体／第１の特異的結合メンバー／解析物複合体を形成する。第２の特異的結合メンバーは、固体支持体／第１の特異的結合メンバー／解析物複合体に結合し、検出可能な標識が検出される。検出の前に、任意選択の洗浄ステップが利用されうる。ワンステップアッセイにおける、ある特定の実施形態において、１つを超える解析物が測定されうる。ある特定の、他の実施形態において、２つを超える特異的結合メンバーが利用されうる。ある特定の、他の実施形態において、複数の検出可能な標識が添加されうる。ある特定の、他の実施形態において、複数の、目的の解析物が検出されうる、又はこれらの量、レベル若しくは濃度が、測定、決定若しくは評価されうる。

【０４７４】

キャプチャーオンザフライアッセイの使用は、本明細書において記載され、当技術分野において公知である、様々なフォーマットにおいてなされうる。例えば、フォーマットは、上記されたようなサンドイッチアッセイでありうるが、代替的に、競合アッセイであることも可能であり、単一特異性の結合メンバーを利用しうる、又は公知であるような、他の変化形も使用しうる。

【０４７５】

（５）単一分子検出アッセイ

また、ナノポアデバイス又はナノウェルデバイスの使用など、単一分子検出アッセイ及び単一分子検出法も使用されうる。ナノポアデバイスの例については、参照によりその全体において本明細書に組み込まれた、国際特許公開第２０１６／１６１４０２号において記載されている。ナノウェルデバイスの例については、参照によりその全体において本明細書に組み込まれた、国際特許公開第２０１６／１６１４００号において記載されている。単一分子の検出に適切な、他のデバイス及び方法もまた利用されうる。

【０４７６】

１１．他の因子

上記された、診断法、予後診断法及び／又は評価法は、診断、予後診断及び評価のための他の因子の使用をさらに含みうる。一部の実施形態において、外傷性脳損傷は、ＧＣＳ（Ｇｌａｓｇｏｗ　Ｃｏｍａ　Ｓｃａｌｅ）を使用して診断されうる、又は外傷性脳損傷の転帰は、ＧＯＳＥ（Ｅｘｔｅｎｄｅｄ　Ｇｌａｓｇｏｗ　Ｏｕｔｃｏｍｅ　Ｓｃａｌｅ）を使用して予測されうる。他の検査、スケール又は指標もまた、単独で、又はＧＣＳ（Ｇｌａｓｇｏｗ　Ｃｏｍａ　Ｓｃａｌｅ）と組み合わせて使用されうる。例は、ＲＬＡＳ（Ｒａｎｃｈｏｓ　Ｌｏｓ　Ａｍｉｇｏｓ　Ｓｃａｌｅ）である。ＲＬＡＳ（Ｒａｎｃｈｏｓ　Ｌｏｓ　Ａｍｉｇｏｓ　Ｓｃａｌｅ）は、意識、認知、行動及び環境との相互作用のレベルを測定する。ＲＬＡＳ（Ｒａｎｃｈｏｓ　Ｌｏｓ　Ａｍｉｇｏｓ　Ｓｃａｌｅ）は、レベルＩ：応答なし；レベルＩＩ：一般的な応答；レベルＩＩＩ：局所的応答；レベルＩＶ：混乱（興奮）；レベルＶ：混乱（不適切）；レベルＶＩ：混乱（適切）；レベルＶＩＩ：自動的（適切）及びレベルＶＩＩＩ：意図的（適切）を含む。

【０４７７】

当技術分野で公知である、任意の分類システムなど、ＣＴスキャン結果に基づく、他の

分類システムも、患者における転帰を予測するのに使用されうる。例は、患者を、脳の非造影ＣＴスキャンについての所見に基づく、昇順重度の６つの類型（Ｉ～ＶＩ）の１つに分類する、外傷性脳損傷のマーシャル分類である。重度の大きな類型は、予後診断不良であり、生存率も低い。マーシャル分類は、主に、２つの特色：１）正中線のシフト及び／又は基底槽の圧迫により決定される、腫脹の程度、並びに２）「高密度又は混合密度の病変」と称される、挫傷／出血の存在及びサイズに関する。別の例は、さらなる変数（例えば、くも膜下出血）及び認識されているマーシャルシステムの限界の一部に対処しようとする試みであって、複数種類の損傷を有する患者を分類しようとする取組みなどの試みを組み込む、ロッテルダムスコアである。ロッテルダム分類は、４つの独立に評定された要素を含む。マーシャルシステムと同様に、ロッテルダム分類は、１）基底槽の圧迫の程度及び２）正中線シフトの程度を含む。しかし、ロッテルダム分類は、挫傷を含まず、大きな病変を、３）硬膜外血腫に限定し、４）脳室内出血及び／又はくも膜下出血を追加する。これらの各々にスコアが与えられ、総計に１を加えて、これらのスコアが集計される。スコアが大きいほど、予後診断不良であり、生存率も低い。

【０４７８】

１２．試料

一部の実施形態において、試料は、ヒト対象が、物理的振盪、閉鎖性頭部外傷若しくは開放性頭部外傷をもたらす外部の機械的力若しくは他の力、１回以上の転倒、爆発若しくは爆破による鈍的衝撃により引き起こされた頭部損傷又は他の種類の鈍的外傷を負った後において得られる。一部の実施形態において、ヒト対象が、化学物質、毒素又は化学物質と毒素との組合せを摂取した後又はこれらへと曝露された後において、試料が得られる。このような化学物質及び／又は毒素の例は、火、カビ、アスベスト、害虫駆除剤、殺虫剤、有機溶剤、塗料、糊、ガス（一酸化炭素、硫化水素及びシアン化物など）、有機金属（メチル水銀、テトラエチル鉛及び有機スズなど）及び／又は１つ以上の乱用薬物を含む。一部の実施形態において、試料は、自己免疫疾患、代謝性障害、脳腫瘍、低酸素症、１つ以上のウイルス、髄膜炎、水頭症又はこれらの組合せを患うヒト対象から得られる。

【０４７９】

さらに別の実施形態において、本明細書において記載された方法は、また、下記において記載される抗ＵＣＨ－Ｌ１及び抗ＧＦＡＰ抗体又はこれらの抗体断片を使用して、対象におけるＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰのレベルを決定することにより、対象が、軽度外傷性脳損傷を有するか、又はこれを発症する危険性があるのかどうかを決定するのにも使用されうる試料を使用する。したがって、特定の実施形態において、本開示はまた、本明細書において論じられ、当技術分野において公知である、外傷性脳損傷を有するか、又はこの危険性がある対象が、治療又は処置の候補であるのかどうかを決定するための方法も提示する。一般に、対象は、少なくとも（ｉ）頭部への損傷を受けた対象；（ｉｉ）１つ以上の化学物質及び／若しくは毒素を摂取した、及び／若しくはこれらへと曝露された対象；（ｉｉｉ）自己免疫疾患、代謝性障害、脳腫瘍、低酸素症、１つ以上のウイルス、髄膜炎、水頭症を患う、若しくはこれらの任意の組合せを患う対象又は（ｉｖ）（ｉ）～（ｉｉｉ）の任意の組合せ若しくはＴＢＩを有するか、又はＴＢＩの危険性があると診断された対象（例えば、自己免疫疾患、代謝性障害、脳腫瘍、低酸素症、１つ以上のウイルス、髄膜炎、水頭症若しくはこれらの組合せを患う対象など）及び／又は本明細書において記載された、望ましくない（すなわち、臨床的に所望されない）濃度又は量のＵＣＨ－Ｌ１若しくはＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１断片若しくはＧＦＡＰ断片を顕示した対象である。

【０４８０】

ａ．被験又は生物学的試料

本明細書において使用された「試料」、「被験試料」、「生物学的試料」とは、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰを含有するか、又はこれを含有することが推測される体液試料を指す。試料は、任意の適切な供給源に由来しうる。場合によって、試料は、液体、流動性の粒子状固体又は固体粒子の懸濁流体を含みうる。場合によって、試料は、本明細書において記載された解析の前に処理されうる。例えば、試料は、解析の前に、その供給源から、分

離又は精製されうるが、ある特定の実施形態において、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰを含有する非処理試料が、直接的にアッセイされうる。特定の例において、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰを含有する供給源は、ヒト体内物質（例えば、体液、全血、血清、血漿のような血液、尿、唾液、汗、痰、精液、粘液、涙液、リンパ液、羊水、間質液、肺洗浄液、脳脊髄液、糞便、組織、臓器など）である。組織は、骨格筋組織、肝臓組織、肺組織、腎臓組織、心筋組織、脳組織、骨髄、子宮頸部組織、皮膚などを含みうるがこれらに限定されない。試料は、液体試料又は固体試料の液体抽出物でありうる。ある特定の場合、試料の供給源は、組織の分解／細胞の溶解により可溶化されうる、臓器又は生検試料のような組織でありうる。

【０４８１】

広範にわたる容量の体液試料が解析されうる。少数の例示的な実施形態において、試料容量は、約０．５ｎＬ、約１ｎＬ、約３ｎＬ、約０．０１μＬ、約０．１μＬ、約１μＬ、約５μＬ、約１０μＬ、約１００μＬ、約１ｍＬ、約５ｍＬ、約１０ｍＬなどでありうる。場合によって、体液試料の容量は、約０．０１μＬ～約１０ｍＬの間、約０．０１μＬ～約１ｍＬの間、約０．０１μＬ～約１００μＬの間又は約０．１μＬ～約１０μＬの間である。

【０４８２】

場合によって、体液試料は、アッセイにおける使用の前に希釈されうる。例えば、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰの供給源が、ヒト体液（例えば、血液、血清）である実施形態において、体液は、適切な溶媒（例えば、ＰＢＳ緩衝液のような緩衝液）により希釈されうる。体液試料は、使用の前に、約１倍、約２倍、約３倍、約４倍、約５倍、約６倍、約１０倍、約１００倍以上希釈されうる。他の場合に、体液試料は、アッセイにおける使用の前に希釈されない。

【０４８３】

場合によって、試料は、解析前処理を経る場合がある。解析前処理は、非特異的タンパク質の除去及び／又は効果的であるが廉価で実施可能な混合機能性のような、さらなる機能性をもたらしうる。解析前処理の一般的方法は、動電トラッピング、ＡＣ動電現象、表面音響波、等速電気泳動、誘電泳動、電気泳動又は当技術分野において公知である、他の前濃縮法の使用を含みうる。場合によって、体液試料は、アッセイにおける使用の前に濃縮されうる。例えば、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰの供給源が、ヒト体液（例えば、血液、血清）である実施形態において、体液は、沈殿、蒸発、濾過、遠心分離又はこれらの組合せにより濃縮されうる。体液試料は、使用の前に、約１倍、約２倍、約３倍、約４倍、約５倍、約６倍、約１０倍、約１００倍以上濃縮されうる。

【０４８４】

ｂ．対照

対照（当技術分野において周知の陽性対照及び／又は陰性対照など）を含むことが所望でありうる。対照は、上記された通り、対象に由来する試料と共時的に解析されうる。対象試料から得られた結果は、対照試料から得られた結果又は情報と比較されうる。試料についてのアッセイ結果が比較されうる、検量線が用意されうる。このような検量線は、マーカーのレベルを、アッセイ単位（すなわち、蛍光標識が使用される場合なら、蛍光のシグナル強度）の関数として提示する。複数のドナーから採取された試料を使用して、正常健常組織におけるＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰの基準レベル並びに上記において明示された特徴のうちの１つ以上を有しうるドナーから採取された組織内の、「危険性がある」ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰのレベルについての検量線が用意されうる。場合によって、対照は、整形外科損傷を負っているが、見かけのＴＢＩを負っていない対象（「整形外科損傷対照」）から採取された試料若しくは情報又は見かけの損傷を有さない健常対象（「健常対照」）から採取された試料若しくは情報に関し（例えば、これに基づき）うる。一部の実施形態において、方法は、対象の臨床状態、対象の検査値、軽度、中等度、重度又は中等度～重度の外傷性脳損傷の罹患についての対象の分類及び前記対象が、整形外科損傷を負った可能性がある、任意の事象のタイミングからなる群から選択される因子に関わらず、

任意のヒト対象に対して実行されうる。

【０４８５】

したがって、上記を念頭に置いて、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰの、被験試料中の存在、量又は濃度を決定するための方法が提供される。方法は、例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ上のエピトープに結合する、少なくとも１つの捕捉抗体及び捕捉抗体に対するエピトープと異なる、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ上のエピトープに結合する、少なくとも１つの検出抗体を利用するイムノアッセイにより、被験試料を、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰについてアッセイするステップを含み、任意選択的に、検出可能な標識を含み、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰの、被験試料中の存在、量又は濃度についての、直接的指標又は間接的指標として、検出可能な標識により発生したシグナルを、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰの、較正物質中の存在、量又は濃度についての、直接的指標又は間接的指標として発生されたシグナルと比較するステップを含む。較正物質は、任意選択的に、較正物質の各々が、系列内の他の較正物質とＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰの濃度が異なる、較正物質の系列の一部であり、これが好ましい。

【０４８６】

１３．キット

本明細書において、被験試料を、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１断片及びＧＦＡＰ断片についてアッセイ又は評価するために、本明細書において記載された方法において使用されうるキットが提示される。キットは、被験試料を、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰについてアッセイするための、少なくとも１つの構成要素、被験試料を、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰについてアッセイするための指示書を含む。例えば、キットは、被験試料を、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰについて、イムノアッセイ、例えば、化学発光マイクロ粒子イムノアッセイによりアッセイするための指示書を含みうる。キット内に含まれる指示書は、パッケージング材料に貼付されうる、パッケージの添付文書として含まれうる、又はキットのパッケージング材料若しくは添付材料の一部として列挙される、特定のウェブサイトから閲覧若しくはダウンロードされうる。指示書は、典型的に、文書又は印刷物でありうるが、このようなものに限定されない。このような指示書を保存し、これらを末端使用者へと通信することが可能な、任意のメディアが、本開示により想定される。このようなメディアは、電子保存メディア（例えば、磁気ディスク、テープ、カートリッジ、チップ）、光学メディア（例えば、ＣＤ　ＲＯＭ）などを含むがこれらに限定されない。本明細書において使用された「指示書」は、指示書を提供するインターネットサイトのアドレスを含みうる。

【０４８７】

少なくとも１つの構成要素は、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰに特異的に結合する、１つ以上の単離抗体又はこれらの抗体断片を含む、少なくとも１つの組成物を含みうる。抗体は、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ捕捉抗体又はＵＣＨ－Ｌ１及び／又はＧＦＡＰ検出抗体でありうる。

【０４８８】

代替的に、又は、加えて、キットは、較正物質若しくは対照、例えば、精製され、任意選択的に、凍結乾燥させられたＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ並びに／又はアッセイを行うための、少なくとも１つの容器（例えば、抗ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰモノクローナル抗体により、あらかじめコーティングされうる、チューブ、マイクロ滴定プレート又はストリップ）並びに／又はそれらのうちの一方が濃縮溶液、検出可能な標識（例えば、酵素標識）のための基質溶液若しくは停止溶液として提供されうる、アッセイ緩衝液若しくは洗浄緩衝液のような緩衝液を含みうる。好ましくは、キットは、アッセイを実施するのに必要な、全ての構成要素、すなわち、試薬、標準物質、緩衝液、希釈剤などを含む。指示書はまた、検量線を作成するための指示書も含みうる。

【０４８９】

キットは、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰを定量するための参照標準物質をさらに含みうる。参照標準物質は、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰ濃度を内挿及び／又は外挿するための検量

線を確立するのに利用されうる。参照標準物質は、高度のＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰの濃度レベル、例えば、約１００００００ｐｇ／ｍＬ、約１２５０００ｐｇ／ｍＬ、約１５００００ｐｇ／ｍＬ、約１７５０００ｐｇ／ｍＬ、約２０００００ｐｇ／ｍＬ、約２２５０００ｐｇ／ｍＬ、約２５００００ｐｇ／ｍＬ、約２７５０００ｐｇ／ｍＬ又は約３００００００ｐｇ／ｍＬ；中程度のＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰの濃度レベル、例えば、約２５０００ｐｇ／ｍＬ、約４００００ｐｇ／ｍＬ、約４５０００ｐｇ／ｍＬ、約５００００ｐｇ／ｍＬ、約５５０００ｐｇ／ｍＬ、約６００００ｐｇ／ｍＬ、約７５０００ｐｇ／ｍＬ又は約１００００００ｐｇ／ｍＬ；並びに低度のＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰの濃度レベル、例えば、約１ｐｇ／ｍＬ、約５ｐｇ／ｍＬ、約１０ｐｇ／ｍＬ、約１２．５ｐｇ／ｍＬ、約１５ｐｇ／ｍＬ、約２０ｐｇ／ｍＬ、約２５ｐｇ／ｍＬ、約３０ｐｇ／ｍＬ、約３５ｐｇ／ｍＬ、約４０ｐｇ／ｍＬ、約４５ｐｇ／ｍＬ、約５０ｐｇ／ｍＬ、約５５ｐｇ／ｍＬ、約６０ｐｇ／ｍＬ、約６５ｐｇ／ｍＬ、約７０ｐｇ／ｍＬ、約７５ｐｇ／ｍＬ、約８０ｐｇ／ｍＬ、約８５ｐｇ／ｍＬ、約９０ｐｇ／ｍＬ、約９５ｐｇ／ｍＬ又は約１００ｐｇ／ｍＬを含みうる。

【０４９０】

ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰに特異的な組換え抗体のような、キット内に提供される任意の抗体に、フルオロフォア、放射性部分、酵素、ビオチン／アビジン標識、発色団、化学発光標識などのような、検出可能な標識を組み込むことが可能である、又はキットは、抗体を標識付けするための試薬若しくは抗体（例えば、検出抗体）を検出するための試薬及び／又は解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰ）を標識付けするための試薬若しくは解析物（例えば、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰ）を検出するための試薬を含みうる。抗体、較正物質及び／又は対照は、個別の容器内に用意されうる、又は適切なアッセイフォーマット、例えば、マイクロ滴定プレートへとあらかじめ分注されうる。

【０４９１】

任意選択的に、キットは、品質管理のための構成要素（例えば、感度パネル、較正物質及び陽性対照）を含む。品質管理試薬の調製は、当技術分野において周知であり、様々な免疫診断用生成物のための添付シート上に記載されている。感度パネルメンバーは、任意選択的に、アッセイ性能の特徴を確立するのに使用され、さらに、任意選択的に、イムノアッセイキット試薬の完全性及びアッセイの標準化についての、有用な指標である。

【０４９２】

キットはまた、任意選択的に、診断的アッセイを行うのに要求される、又は品質管理査定を容易とする、他の試薬であって、緩衝液、塩、酵素、酵素補因子、基質、検出試薬などのような試薬も含みうる。被験試料の単離及び／又は処理のための緩衝液及び溶液（例えば、前処理試薬）のような、他の構成要素もまた、キットに含まれうる。加えて、キットは、１つ以上の他の対照も含みうる。キットの構成要素のうちの１つ以上は、凍結乾燥させられる場合があり、この場合、キットは、凍結乾燥させられた構成要素の復元に適する試薬をさらに含みうる。

【０４９３】

キットの多様な構成要素は、必要に応じて、任意選択的に、適切な容器、例えば、マイクロ滴定プレートにより提供される。キットは、試料を保持又は保存するための容器（例えば、尿試料、全血試料、血漿試料又は血清試料のための容器又はカートリッジ）をさらに含みうる。適切な場合、キットはまた、任意選択的に、反応槽、混合槽及び試薬又は被験試料の調製を容易とする他の構成要素も含有しうる。キットはまた、シリンジ、ピペット、鉗子、計量スプーンなどのような、被験試料を得る一助となるための、１つ以上の器具も含みうる。

【０４９４】

検出可能な標識が、少なくとも１つのアクリジニウム化合物である場合、キットは、少なくとも１つのアクリジニウム－９－カルボキサミド、少なくとも１つのアクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステル、又はこれらの任意の組合せを含みうる。検出可能な標識が、少なくとも１つのアクリジニウム化合物である場合、キットはまた、緩衝

液、溶液及び／又は少なくとも１つの塩基性溶液のような、過酸化水素の供給源も含みうる。所望の場合、キットは、磁性粒子、ビーズ、試験管、マイクロ滴定プレート、キュベット、膜、足場形成分子、薄膜、濾紙、ディスク又はチップのような固相を含有しうる。

【０４９５】

所望の場合、キットは、単独で、又は被験試料を、外傷性脳損傷又は障害のバイオマーカーのようなバイオマーカーでありうる、別の解析物についてアッセイするための指示書とさらに組み合わせて、１つ以上の構成要素をさらに含みうる。

【０４９６】

ａ．キット及び方法の適合

本明細書において記載されたイムノアッセイにより、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰの、被験試料中濃度を評価又は決定するためのキット（又はこの構成要素）並びに方法は、例えば、米国特許第５，０６３，０８１号、米国特許出願公開第２００３／０１７０８８１号、同第２００４／００１８５７７号、同第２００５／００５４０７８号及び同第２００６／０１６０１６４号において記載されており、例えば、Ａｂｂｏｔｔ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ（Ａｂｂｏｔｔ Ｐａｒｋ、ＩＬ）により、Ａｂｂｏｔｔ Ｐｏｉｎｔ ｏｆ Ｃａｒｅ（ｉ－ＳＴＡＴ（登録商標）又はｉ－ＳＴＡＴ Ａｌｉｎｉｔｙ、Ａｂｂｏｔｔ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）として市販されている、様々な自動式システム及び半自動式システム（固相がマイクロ粒子を含むシステムを含む）のほか、米国特許第５，０８９，４２４号及び同第５，００６，３０９号において記載されており、例えば、Ａｂｂｏｔｔ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ（Ａｂｂｏｔｔ Ｐａｒｋ、ＩＬ）により、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）又はＡｂｂｏｔｔ Ａｌｉｎｉｔｙデバイスのシリーズとして市販されているシステムにおける使用に適合させられうる。

【０４９７】

自動式システム又は半自動式システムの、非自動式システム（例えば、ＥＬＩＳＡ）と比較した、一部の差違は、第１の特異的結合パートナー（例えば、解析物抗体又は捕捉抗体）が、接合された基質（サンドイッチの形成及び解析物の反応性に影響を及ぼしうる）並びに捕捉ステップ、検出ステップ及び／又は任意選択の洗浄ステップの長さ及びタイミングを含む。ＥＬＩＳＡのような非自動式フォーマットが、試料及び捕捉試薬（例えば、約２時間）を伴う、比較的長いインキュベーション時間を要求しうるのに対し、自動式フォーマット又は半自動式フォーマット（例えば、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）及び任意の後継のプラットフォーム、Ａｂｂｏｔｔ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）は、比較的短いインキュベーション時間（例えば、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）の場合、約１８分間）を有しうる。同様に、ＥＬＩＳＡのような非自動式フォーマットが、コンジュゲート試薬のような検出抗体を、比較的長いインキュベーション時間（例えば、約２時間）にわたりインキュベートするのに対し、自動式フォーマット又は半自動式フォーマット（例えば、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）及び任意の後継のプラットフォーム）は、比較的短いインキュベーション時間（例えば、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）及び任意の後継のプラットフォームの場合、約４分間）を有しうる。

【０４９８】

Ａｂｂｏｔｔ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓから市販されている、他のプラットフォームは、ＡｘＳＹＭ（登録商標）、ＩＭｘ（登録商標）（例えば、参照によりその全体において本明細書に組み込まれた、米国特許第５，２９４，４０４号を参照されたい）、ＰＲＩＳＭ（登録商標）、ＥＩＡ（ビーズ）及びＱｕａｎｔｕｍ（商標）ＩＩ並びに他のプラットフォームを含むがこれらに限定されない。加えて、アッセイ、キット及びキットの構成要素は、例えば、電気化学アッセイシステム又は他の携帯型アッセイシステム若しくはポイントオブケアアッセイシステム上の、他のフォーマットにおいて利用されうる。前述の通り、本開示は、例えば、サンドイッチイムノアッセイを実施する、市販の、Ａｂｂｏｔｔ Ｐｏｉｎｔ ｏｆ Ｃａｒｅ（ｉ－ＳＴＡＴ（登録商標）、Ａｂｂｏｔｔ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）電気化学イムノアッセイシステムに適用可能である。イムノセンサー並びにこれらの製造法及び単回使用のための検査デバイスにおける動作については、例えば

、参照によりこれに関するそれらの教示について本明細書に組み込まれた、米国特許第５，０６３，０８１号、米国特許出願公開第２００３／０１７０８８１号、同第２００４／００１８５７７号、同第２００５／００５４０７８号及び同第２００６／０１６０１６４号において記載されている。

【０４９９】

特に、アッセイの、ｉ－ＳＴＡＴ（登録商標）システムへの適合に関して、以下の構成が好ましい。微細加工シリコンチップが、金製の電流測定用作業電極及び銀塩化銀基準電極の対と共に作製される。作業電極のうちの１つにおいて、捕捉抗体を固定化されたポリスチレンビーズ（直径を０．２mmとする）が、電極上の、パターン化されたポリビニルアルコールのポリマーコーティングへと接着させられる。このチップが、イムノアッセイに適する流体フォーマットと共に、ｉ－ＳＴＡＴ（登録商標）カートリッジへとアセンブルされる。シリコンチップの部分に、それらのうちのいずれかは、検出可能に標識されうる、１つ以上のＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰ抗体（ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰに結合しうる、１つ以上のモノクローナル／ポリクローナル抗体又はこれらの断片、これらの変異体又はこれらの変異体の断片）又は１つ以上の抗ＵＣＨ－Ｌ１及び／又はＧＦＡＰ　ＤＶＤ－Ｉｇ（又はＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰに結合しうる、この断片、この変異体又はこの変異体の断片）のような、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰに対する特異的結合パートナーが存在する。カートリッジの流体パウチ内に、ｐ－アミノフェノールホスフェートを含む水性試薬が存在する。

【０５００】

作動時に、ＴＢＩを患うことが推測される対象に由来する試料が、検査カートリッジの保持チャンバーへと添加され、カートリッジが、ｉ－ＳＴＡＴ（登録商標）リーダーへと挿入される。カートリッジ内のポンプエレメントが、試料を、チップを含有する導管へと押し出す。試料は、センサーと接触され、酵素コンジュゲートを、試料へと溶存させる。試料は、センサーにわたり振動させられて、約２～１２分間にわたる、サンドイッチの形成を促進する。アッセイの最後から二番目のステップにおいて、試料は、廃液チャンバーへと押し出され、アルカリホスファターゼ酵素に対する基質を含有する洗浄液が、過剰量の酵素コンジュゲート及び試料を、センサーチップから洗い落とすのに使用される。アッセイの最後のステップにおいて、アルカリホスファターゼ標識は、ｐ－アミノフェノールホスフェートと反応して、リン酸基を切断し、作業電極において、遊離ｐ－アミノフェノールを、電気化学的に酸化させる。測定された電流に基づき、リーダーは、組み込まれたアルゴリズム及び工場において決定された較正曲線により、ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰの、試料中量を計算することが可能となる。ｉ－Ｓｔａｔに使用されたような、カートリッジの、マルチプレックス使用への適合については、例えば、その内容が参照により本明細書に組み込まれた、米国特許第６，４３８，４９８号などの特許文献において記載されている。

【０５０１】

本明細書において記載された方法及びキットは、必然的に、イムノアッセイを実行するための、他の試薬及び方法を包含する。例えば、当技術分野において公知であり、かつ／又は、コンジュゲート希釈剤及び／若しくは較正物質希釈剤として、例えば、洗浄用に、たやすく調製若しくは最適化され利用されうる、多様な緩衝液が包含される。例示的なコンジュゲート希釈剤は、ある特定のキット（Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ａｂｂｏｔｔ　Ｐａｒｋ、ＩＬ）において利用され、２－（Ｎ－モルホリノ）エタンスルホン酸（ＭＥＳ）、塩、タンパク質ブロッキング剤、抗微生物剤及び界面活性剤を含有する、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）コンジュゲート希釈剤である。例示的な較正物質希釈剤は、ＭＥＳ、他の塩、タンパク質ブロッキング剤及び抗微生物剤を含有する緩衝液を含む、ある特定のキット（Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ａｂｂｏｔｔ　Ｐａｒｋ、ＩＬ）において利用された、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）ヒト較正物質希釈剤である。加えて、２００８年１２月３１日に出願された、米国特許出願第６１／１４２，０４８号において記載されている通り、シグナル発生の改善は、例えば、シグナル増幅剤

としてのシグナル抗体へと連結された核酸配列を使用する、ｉ－ＳＴＡＴ（登録商標）カートリッジフォーマットにおいて得られうる。

【０５０２】

本明細書の、ある特定の実施形態は、外傷性脳損傷のような疾患を評価するのに利用されると有利であるが、アッセイ及びキットはまた、適宜、任意選択的に、他の疾患、障害及び状態におけるＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰを評価するのにも利用されうる。

【０５０３】

アッセイ法はまた、外傷性脳損傷のような疾患を改善する化合物を同定するのにも使用されうる。例えば、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰを発現する細胞は、候補化合物と接触されうる。本明細書において記載されたアッセイ法を使用して、化合物と接触された細胞内の、ＵＣＨ－Ｌ１又はＧＦＡＰの発現レベルは、対照細胞内の発現レベルと比較されうる。本明細書における本出願は、「グリア原線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）及び／又はユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）を使用する、ヒト対象における、外傷性脳損傷の診断及び決定の一助となるための方法」という題名を有する、２０１７年１２月Ｘ日に出願された、米国出願第ＸＸ／ＸＸＸ，ＸＸＸ号を参照する。

【実施例】

【０５０４】

本開示は、以下の非限定例により例示された、複数の態様を有する。

【０５０５】

１４．実施例

当業者に、本明細書において記載された、本開示の方法の、他の適切な改変及び適合は、容易に適用可能かつ認識可能であり、本開示の範囲又は本明細書において開示された態様及び実施形態から逸脱しない限りにおいて、適切な同等物を使用してなされうることが容易に明らかとなる。さて、本開示について詳細に記載してきたが、これは、本開示の実施形態の、一部の態様を例示することだけを意図するものであり、本開示の範囲に対して限定的であると考えられるべきではない、以下の例を参照することにより、より明確に理解される。本明細書において言及された、全ての雑誌の参考文献、米国特許及び刊行物の開示は、参照によりそれらの全体において本明細書に組み込まれている。

【０５０６】

本開示は、以下の非限定例により例示された、複数の態様を有する。

【０５０７】

［実施例１］

実施例において使用されたアッセイ

ｉ－ＳＴＡＴ（登録商標）ＵＣＨ－Ｌ１アッセイ：ｉ－ＳＴＡＴ（登録商標）ＵＣＨ－Ｌ１アッセイを、ＴＢＩ患者集団研究において使用した。捕捉モノクローナル抗体としての抗体Ａ及び検出モノクローナル抗体としての抗体Ｂ及び抗体Ｃなどのモノクローナル抗体対を使用した。抗体Ａは、Ａｂｂｏｔｔ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ（Ａｂｂｏｔｔ Ｐａｒｋ、ＩＬ）社内において開発された、例示的な抗ＵＣＨ－Ｌ１抗体である。Ｂａｎｙａｎ Ｂｉｏｍａｒｋｅｒｓ（Ａｌａｃｈｕａ、Ｆｌｏｒｉｄａ）により開発された、抗体Ｂ及び抗体Ｃは、ＵＣＨ－Ｌ１の異なるエピトープを認識し、試料中の抗原の検出を増強する。抗体の組合せは、併せて使用された場合、相乗効果をもたらし、組み合わされていない抗体の使用と比較して、シグナルの増大をもたらす。Ａｂｂｏｔｔ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ（Ａｂｂｏｔｔ Ｐａｒｋ、ＩＬ）社内において開発された、他の抗体もまた、捕捉抗体又は検出抗体として、多様な組合せにおいて、併せて使用された場合に、同様のシグナルの増強を示す、又はこれを示すことが期待されている。ＵＣＨ－Ｌ１アッセイデザインを、鍵となる性能属性に対して査定した。カートリッジ構成は、抗体構成：抗体Ａ（捕捉抗体）／抗体Ｂ＋Ｃ（検出抗体）；試薬条件：０．８％の固体、１２５μｇ／ｍＬのＦａｂアルカリホスファターゼクラスターコンジュゲート及び試料注入口の印字：ＵＣＨ－Ｌ１標準物質であった。アッセイ時間は、１０～１５分間（試料捕捉時間を７～１２分間とする）であった。

【０５０８】
ｉ－ＳＴＡＴ（登録商標）ＧＦＡＰアッセイ：ｉ－ＳＴＡＴ（登録商標）ＧＦＡＰアッセイを、ＴＢＩ患者集団研究において使用した。捕捉モノクローナル抗体としての抗体Ａ及び検出モノクローナル抗体としての抗体Ｂなどのモノクローナル抗体対を使用した。抗体Ａ及び抗体Ｂは、Ａｂｂｏｔｔ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ（Ａｂｂｏｔｔ Ｐａｒｋ、ＩＬ）社内において開発された、例示的な抗ＧＦＡＰ抗体である。抗体Ａ及び抗体Ｂのいずれも、同じＧＦＡＰ分解産物（ＢＤＰ）内のエピトープに結合する。抗体の組合せは、併せて使用された場合、相乗効果をもたらし、組み合わされていない抗体の使用と比較して、シグナルの増大をもたらした。ＧＦＡＰアッセイデザインを、鍵となる性能属性に対して査定した。カートリッジ構成は、抗体構成：抗体Ａ（捕捉抗体）／抗体Ｂ＋Ｃ（検出抗体）；試薬条件：０．８％の固体、２５０μｇ／ｍＬのＦａｂアルカリホスファターゼクラスターコンジュゲート及び試料注入口の印字：ＧＦＡＰ特異的であった。アッセイ時間は、１０～１５分間（試料捕捉時間を７～１２分間とする）であった。

【０５０９】
［実施例２］
ＴＢＩ集団研究（ＴＲＡＣＫ－ＴＢＩ）
Ｔｒａｎｓｆｏｒｍｉｎｇ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ａｎｄ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｋｎｏｗｌｅｄｇｅ ｉｎ Ｔｒａｕｍａｔｉｃ Ｂｒａｉｎ Ｉｎｊｕｒｙ（ＴＲＡＣＫ－ＴＢＩ）研究とは、大規模かつ複雑なプロジェクトである。その機関間連携及び官民連携は、１１の臨床施設、７つのコア、のべ約５０の共同研究機関、共同研究企業及び支援団体から構成される。３つの臨床施設からの臨床データに基づく初期のＴＲＡＣＫ－ＴＢＩパイロット研究は、ＴＢＩ Ｃｏｍｍｏｎ Ｄａｔａ Ｅｌｅｍｅｎｔｓを精緻化する一助となり、ＴＲＡＣＫ－ＴＢＩ研究のための、ＴＢＩ Ｉｎｆｏｍａｔｉｏｎ Ｃｏｍｍｏｎｓの原型を創出した。

【０５１０】
対象群：合計２，７００～３０００例のＴＢＩ患者を、３つの臨床群：１．救急科において査定され、退院した患者（ＥＤ）；２．入院したが、ＩＣＵ入院ではない患者（ＡＤＭ）及び３．ＩＣＵへの入院患者（ＩＣＵ）間に、均等に登録し、クリニカルケアパスにより細分化した。頭蓋外外傷を伴うが、ＴＢＩを伴わない、臨床群１つ当たりのさらなる患者１００例（ｎ＝３００）を、対照として登録して、患者の全登録数３０００例とした。この層別化計画は、比較有効性研究（ＣＥＲ）解析を容易とし、従来の「軽度ＴＢＩ／中等度ＴＢＩ／重度ＴＢＩ」への細分化による制約を受けなかった。データ収集は、クリニカルケアパス（ＥＤ、ＡＤＭ、ＩＣＵ）及び各目的の要件に依存した。各群内の患者を、収集されるデータの範囲を規定する、３つのコホートへと層別化した。

【０５１１】
対照は、以下の基準を満たした、成人の整形外科外傷患者（「整形外科損傷対照」）であった：１．これらの四肢末端及び／又は骨盤損傷及び／又は肋骨骨折について、略式損傷スコアが≦４であること（非致死性のスコア）；２．推測される頭部損傷について、ＥＤにおいて、ＣＴ又はＭＲＩを受けたという基準が該当しなかったことを除き、ＴＢＩ対象と同じ組入れ基準及び除外基準を満たしたこと。意識喪失（ＬＯＣ）、意識障害及び外傷後貧血（ＰＴＡ）／ＲＡについての潜在的なコントロールについてインタビューすることにより、ＴＢＩを、進行中の損傷として除外した；３．各施設が、ＴＢＩコホートに由来する年齢及び性別の分布に従い、標的に対する対照の数についての計画を提供されたこと；及び４．ＭＲＩ来院を完了させることができなかった場合、対照は、追跡のためのＣＡ－ＭＲＩコホートへと登録され、２週間後における総合評価（ＣＡ）へと送られたこと。

【０５１２】
対象の適格性：Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｃｏｎｇｒｅｓｓ ｏｆ Ｒｅｈａｂｉｌｉｔａｔｉｏｎ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ（ＡＣＲＭ）Ｃｒｉｔｅｒｉａに従う急性ＴＢＩの履歴を伴って救急科（ＥＤ）を訪れる全ての年齢の成人患者であって、以下：任意の期間にわたる意識喪失（ＬＯＣ）；事故の直前又は直後における、任意の記憶喪失事象（例えば、健忘症）

；事故時における、精神状態の任意の異変（放心、方向喪失及び／又は意識混濁の感覚）；及び／又は永続性の場合もあり、永続性でない場合もある、局所神経障害のうちの≧１つにより顕示された外傷誘導性の脳機能の生理学的破壊を負った成人患者を登録した。外傷誘導性は、頭部が殴打されること、頭部を物体にぶつけること又は外部からの、頭部への、直接的外傷を伴わずに、脳が加速／減速運動を受けること（例えば、むち打ち状態）を含んだ。

【０５１３】

使用された組入れ／除外基準を、表２に示す。

【０５１４】

【表４】

表2

基準	データ源	コメント
組入れ基準		
1. 0～89 歳	カルテ	
2. 記録/検証された TBI (ACRM 基準)	カルテ、問診	
3. 損傷は、<24 時間前に生じた	カルテ、問診	
4. 臨床ケアのための急性脳 CT	カルテ	対象は、脳 CT スキャンを施されていなければならない
5. 検査に十分な視力/聴力	カルテ、問診	
6. 英語又はスペイン語に流暢である	カルテ、問診	検査バッテリー又は検査人員の稼働可否
7. 説明同意文書を提出できること	問診	
除外基準		
1. 追跡及び転帰評価に抵触する、著明な多発外傷	カルテ	著明な身体外傷は、TBI 転帰の検査を交絡させうる。
2. 囚人又は拘留中の患者	カルテ、問診	
3. 女性対象における妊娠	カルテ、問診	
4. 精神科措置入院中の患者	カルテ	
5. 追跡及び転帰評価の妥当性に抵触する、ベースラインの、主要な消耗性の精神保健障害 (例えば、統合失調症又は双極性障害)	カルテ、問診	消耗性の精神障害は、追跡の信頼性に著しく影響を及ぼし、かつ/又はインデックス TBI への帰属に困難をもたらす
6. ベースラインの意識認知又は追跡及び転帰評価の妥当性を損なう、主要な消耗性の神経疾患 (例えば、脳卒中、CVA、認知症、腫瘍)	カルテ、問診	ベースラインの、記録された消耗性の認知機能障害は、同意可能性が完全でないことに加えて、転帰評価を交絡させる。
7. 追跡及び転帰評価に抵触する既に存在する状態の著明な履歴 (例えば、同意に抵触しうる、物質乱用、アルコール中毒、HIV/AIDS、主要な伝染性疾患、末期がん、学習障害、精神発達障害)	カルテ、問診	
8. MRI に対する禁忌 (CA+MRI コホートの場合)	MRI スクリーニング	

9. 追跡の可能性が小さいこと(例えば、無関心を表す参加者又は家族、別の州又は国における居住、ホームレス状態又は信頼できる連絡先の欠如)	問診	
10. 介入的試験(例えば、薬物試験、機器試験、行動学的試験)に現在参加中であること	カルテ、問診	Resuscitation Outcomes Consortium Prehospital Tranexamic Acid for TBI Study に参加している施設について、同時登録除外に対する例外措置が取られる
11. 穿通性TBI	カルテ	
12. ASIAスコアがC以下の脊髄損傷	カルテ	

【０５１５】

３つの臨床群（すなわち、ＥＤ、ＡＤＭ及びＩＣＵ）の各々について、対象を、３つの異なる評価コホート：略式評価（ＢＡ）コホート、圧縮評価（ＣＡ）コホート又は総合評価＋ＭＲＩ（ＣＡ＋ＭＲＩ）コホートのうちの１つに入れた。追跡率を８０％とするマイルストーン計画について、表３を参照されたい。

【０５１６】

【表５】

表３

	1年目			2年目			3年目			4年目	合計
群	CA+MRI	CA	例数	CA+MRI	CA	例数	CA	BA	例数	BA	例数
ED	150	87	237	50	58	108	155	100	255	300	900
ADM	150	87	237	50	58	108	155	100	255	300	900
ICU	150	87	237	50	58	108	155	100	255	300	900
対照	0	99	99	0	66	66	135	0	135	0	300
合計	450	360	810	150	240	390	600	300	900	900	3000

【０５１７】

略式評価（ＢＡ）コホートは、ＥＤ群、ＡＤＭ群及びＩＣＵ群について、４００例ずつの対象を伴う、合計１２００例の対象を含んだ。ＢＡコホートについて、以下のデータ：人口学的データ及び全臨床経過データ；１日目（損傷から＜２４時間）における、血清、血漿、ＤＮＡ及びＲＮＡのための採血；１日目におけるベースラインの回収から３～６時間以内における、血清のための採血の反復（この構成要素を含むことは、施設に応じて、任意選択的である）；入院経過の一部として、１日目から取得された臨床脳ＣＴスキャン；並びにＮＩＮＤＳ　ＣＤＥウェブサイト上に公開されている、ＮＩＨ　ＴＢＩ－ＣＤＥｖ．２．０のＣｏｒｅ転帰尺度を使用して、組織化された電話インタビューを介して、２週間後、３、６及び１２カ月後において収集された転帰データを収集した。

【０５１８】

圧縮評価（ＣＡ）コホートは、ＥＤ群、ＡＤＭ群及びＩＣＵ群について、３００例ずつの対象＋１００例ずつの対照を伴う、合計１２００例の対象を含んだ。ＣＡコホートについて、以下のデータ：人口学的データ及び全臨床経過データ；ＡＤＭ群及びＩＣＵ群についての、高密度の、毎日の臨床データ；１日目（損傷から＜２４時間）における、血清、血漿、ＲＮＡ及びＤＮＡのための採血；１日目におけるベースラインの回収から３～６時間以内における、血清のための採血の反復（この構成要素を含むことは、施設に応じて、任意選択的である）；ＡＤＭ及びＩＣＵについての、３日目（４８～７２時間後）及び５日目（９６～１２０時間後）の、血清、血漿及びＲＮＡのための採血；１～５日目における脳脊髄液の回収（この構成要素を含むことは、施設に応じて、任意選択的である）；入

院経過の一部として取得された、全ての臨床脳ＣＴスキャン；２週間後及び６カ月間後における、血清、血漿及びＲＮＡのための採血；並びにＮＩＨ　ＴＢＩ－ＣＤＥ　ｖ．２．０のＣｏｒｅ転帰尺度、Ｂａｓｉｃ転帰尺度及びＳｕｐｐｌｅｍｅｎｔａｌ転帰尺度を使用して、組織化された対面インタビューを介して、２週間後、６及び１２カ月後において収集され、組織化された電話インタビューを介して、３カ月後において収集された転帰データを収集した。

【０５１９】

総合評価＋ＭＲＩ（ＣＡ＋ＭＲＩ）コホートは、ＥＤ群、ＡＤＭ群及びＩＣＵ群について、２００例ずつを伴う、合計６００例の対象を含んだ。ＣＡ＋ＭＲＩコホートについて、以下のデータ：人口学的データ及び全臨床経過データ；ＡＤＭ群及びＩＣＵ群についての、高密度の、毎日の臨床データ；１日目（損傷から＜２４時間）における、血清、血漿、ＲＮＡ及びＤＮＡのための採血；１日目におけるベースラインの回収から３～６時間以内における、血清のための採血の反復（この構成要素を含むことは、施設に応じて、任意選択的である）；ＡＤＭ及びＩＣＵについての、３日目（４８～７２時間後）及び５日目（９６～１２０時間後）における、血清、血漿及びＲＮＡのための採血；１～５日目における脳脊髄液の回収（この構成要素を含むことは、施設に応じて、任意選択的である）；入院経過の一部として取得された、全ての臨床頭部ＣＴスキャン；２週間後及び６カ月間後における、血清、血漿及びＲＮＡのための採血；２週間後及び６カ月間後において取得された、３Ｔ精査のためのＭＲＩ；並びにＮＩＨ　ＴＢＩ－ＣＤＥ　ｖ．２．０のＣｏｒｅ転帰尺度、Ｂａｓｉｃ転帰尺度及びＳｕｐｐｌｅｍｅｎｔａｌ転帰尺度を使用して、組織化された対面インタビューを介して、２週間後、６及び１２カ月後において収集され、組織化された電話インタビューを介して、３カ月後において収集された転帰データを収集した。

【０５２０】

登録した後、院内において、データ収集が始まった。ＣＡ＋ＭＲＩ患者について、２週間後のＭＲＩは、損傷日から１４日±４日後に完了させた。対応する、２週間後の転帰は、２週間後のＭＲＩから±３日後に完了させた。ＣＡ患者及びＢＡ患者について、２週間後の転帰は、損傷日から１４日後の±４日後に完了させた。３カ月後の転帰は、損傷日から９０日後の±７日後に完了させた。ＣＡ＋ＭＲＩ患者について、６カ月後のＭＲＩは、損傷日から１８０日後の±１４日後に完了し、対応する６カ月後の転帰は、６カ月後のＭＲＩから±１４日後に完了させた。ＣＡ患者及びＢＡ患者について、６カ月後の転帰は、損傷日から１８０日後の±１４日後に完了させた。ＢＴＡＣＴ（Ｂｒｉｅｆ　Ｔｅｓｔ　ｏｆ　Ａｄｕｌｔ　Ｃｏｇｎｉｔｉｏｎ　ｂｙ　Ｔｅｌｅｐｈｏｎｅ）は、転帰から±７日後（しかし、同じ日ではなく、損傷から２０１日後以下である）に完了させるものとする。１２カ月後の転帰は、損傷日から３６０日後の±３０日後に完了させた。

【０５２１】

ＵＣＨ－Ｌ１及びＧＦＡＰを、ｉ－ＳＴＡＴアッセイフォーマットの、ＴＲＡＣＫ　ＴＢＩ患者５９例の小さな標本サイズにおいて測定した（表４）。

【０５２２】

【表６】

表4:CTスキャン及びMRIの結果による対象の特徴

対象の特徴	合計	CT又はMRIの陽性[a]	CT及びMRIの陰性[a]	p値
年齢	46.0 [24.0 to 60.0]	45.5 [23.0 to 60.0]	50.0 [39.0 to 57.0]	0.7419
性別				
男性	50 / 59 (85%)	39 / 46 (85%)	11 / 13 (85%)	1.0000
女性	9 / 59 (15%)	7 / 46 (15%)	2 / 13 (15%)	
人種/民族				
ｱﾌﾘｶ系ｱﾒﾘｶ人又はｱﾌﾘｶ人	6 / 58 (10%)	4 / 45 (9%)	2 / 13 (15%)	0.2398
白人	48 / 58 (83%)	39 / 45 (87%)	9 / 13 (69%)	
ﾋｽﾊﾟﾆｯｸ	4 / 58 (7%)	2 / 45 (4%)	2 / 13 (15%)	
TBI履歴				
あり(LOCを伴わない)	9 / 58 (16%)	3 / 43 (7%)	6 / 13 (46%)	0.0037
あり(LOCを伴う)	8 / 58 (14%)	6 / 43 (14%)	2 / 13 (15%)	
以前にTBIなし	39 / 58 (70%)	34 / 43 (79%)	5 / 13 (38%)	
EDへの来院				
意識喪失				
なし	6 / 58 (10%)	2 / 45 (4%)	4 / 13 (31%)	0.0827
あり	47 / 58 (81%)	38 / 45 (84%)	9 / 13 (69%)	
不明	5 / 58 (9%)	5 / 45 (11%)		
GCS(Glasgow Coma Scale)	15.0 [3.0 to 15.0]	14.0 [3.0 to 15.0]	15.0 [15.0 to 15.0]	0.0162
GCS(Glasgow Coma Scale)による分類				
重度(3～8)	16 / 59 (27%)	15 / 46 (33%)		0.0177
中等度(9～22)	3 / 59 (5%)	3 / 46 (7%)		
軽度(13～15	40 / 59 (68%)	27 / 46 (59%)	13 / 13 (100%)	
損傷の機構				
自動車(運転手/通行人)	10 / 59 (17%)	9 / 45 (20%)	1 / 13 (8%)	0.3975
ｵｰﾄﾊﾞｲ/ATV/ｺﾞﾙﾌ場のｶｰﾄ(運転手/通行人)	5 / 59 (8%)	3 / 46 (7%)	2 / 13 (15%)	
任意の種類の車両にぶつけられた個体	3 / 59 (5%)	2 / 46 (4%)	1 / 13 (8%)	
動く物体からの落下(自転車/ｽｹｰﾄﾎﾞｰﾄﾞ/馬など)	3 / 59 (5%)	3 / 46 (7%)		
静止する物体からの落下(屋根/梯子など)	27 / 59 (46%)	20 / 46 (43%)	7 / 13 (54%)	
攻撃	10 / 59 (17%)	9 / 45 (20%)	1 / 13 (8%)	
攻撃ではなく、頭部への物体による打撃(木など)	1 / 59 (2%)		1 / 13 (8%)	
ｱﾙｺｰﾙﾚﾍﾞﾙ(g/dL	0.1 [0.0 to 0.2]	0.1 [0.0 to 0.2]	0.0 [0.0 to 0.0]	0.1588
薬物ｽｸﾘｰﾝ				
陰性	51 / 59 (86%)	41 / 46 (89%)	10 / 13 (77%)	0.3567
陽性	8 / 59 (14%)	5 / 46 (11%)	3 / 13 (23%)	
ﾊﾞｲｵﾏｰｶｰ結果				
損傷後の回収時間(分)	771.0 (+/- 339.8)	779.4 (+/- 296.8)	743.0 (+/- 468.7)	0.7382
GFAP (pg/mL)	641.8 [188.6 to 2138.6]	876.6 [318.7 to 2400.3]	34.3 [26.3 to 166.2]	< 0.0001
UCH-L1 (pg/mL)	348.3 [102.8 to 718.3]	514.0 [167.2 to 850.8]	62.4 [44.3 to 126.8]	< 0.0001
予後診断ｽｺｱ				
GOS(Glasgow Outcome Scale)(3カ月後)	6.0 [5.0 to 7.0]	5.5 [4.0 to 7.0]	7.0 [7.0 to 7.0]	0.0130
GOS(Glasgow Outcome Scale)(6カ月後)	6.0 [5.0 to 7.0]	6.0 [4.0 to 7.0]	7.0 [5.5 to 7.5]	0.1941
GOS(Glasgow Outcome Scale)(12カ月後)	7.0 [5.0 to 8.0]	6.5 [5.0 to 8.0]	7.0 [6.0 to 8.0]	0.4432
ﾘﾊﾞｰﾐｰﾄﾞ質問票の最初の3項目(6カ月後)	0.0 [0.0 to 2.0]	0.0 [0.0 to 2.5]	0.0 [0.0 to 2.0]	0.6378
ﾘﾊﾞｰﾐｰﾄﾞ質問票の最後の13項目(6カ月後)	9.0 [4.0 to 15.0]	8.5 [4.0 to 15.0]	13.0 [0.0 to 27.0]	0.5449
WAIS-III処理速度指数(6カ月後)	30.0 [5.0 to 55.0]	30.0 [5.0 to 50.0]	43.0 [18.0 to 77.0]	0.3235
SWLS(Satisfaction with Life Scale)(6カ月後)	21.5 (+/- 6.2)	21.7 (+/- 8.7)	20.4 (+/- 8.5)	0.6205
機能的自立度評価法(6カ月後)	126.0 [125.0 to 126.0]	126.0 [124.0 to 126.0]	126.0 [126.0 to 126.0]	0.2958

[a]24例の対象がMRIを受けた。
連続変数は、中央値[四分位数範囲間の25~75%]として提示され、ｳｨﾙｺｸｿﾝの順位和検定を使用して比較される、又は平均値(±SD)として提示され、ﾃﾞｰﾀの分布に対するt検定を使用して比較される。
ｶﾃｺﾞﾘｰ変数は、数/合計(ﾊﾟｰｾﾝﾄ)として提示され、ｶｲ二乗検定又はﾌｨｯｼｬｰの正確検定を使用して比較される。

【０５２３】

脳損傷から２４時間以内における採血に加えて、各患者に、頭部ＣＴ、神経精神医学的検査、ＧＣＳ（Ｇｌａｓｇｏｗ　Ｃｏｍａ　Ｓｃａｌｅ）スコアを含む、広範な医学的査定を施し、また、多くの患者に、損傷の２週間以内に、追跡ＭＲＩも施した。細心の標準化採血プロトコール及び処理に続き、血漿試料を、－８０℃における保存のためにアリコート分割し、その後、融解させ、調べた。各試料を、二連の試行にかけ、列挙された結果は、２回の試行の平均とした。対象の例示的なサブセットにおいて、ＵＣＨ－Ｌ１レベル及びＧＦＡＰレベルは、損傷後、最初の２４時間（範囲：約２～２３時間）を通して、損傷と相関した（データは示さない）。ＥＴＯＨ消費は、ＴＢＩ、特に、重度ＴＢＩと関連す

ることが多いので、表４は、エタノール（ＥＴＯＨ）レベルが、バイオマーカーレベルと相関しなかったことを示す（ピアソン相関＝０．０２３、ｐ値＝０．８９）。

【０５２４】

データセット内に存在する、多様な条件（表５）において、ＧＦＡＰレベル及びＵＣＨ－Ｌ１レベルを測定し、平均値、最小値、最大値、第５百分位数及び第９５百分位数を計算した。頭部への損傷（又は推測される損傷）の後、４８時間にわたり、全ＧＦＡＰレベル及び全ＵＣＨ－Ｌ１レベルを評価することに加えて、また、損傷後、これらの４８時間中の、多様な時間区分においても、解析を実施した。下記に示される通り、０～４時間、４～８時間、８～１２時間、１２～１６時間、１６～２０時間、２０～２４時間及び２４～４８時間において、ＧＦＡＰレベル（表６）及びＵＣＨ－Ｌ１レベル（表７）を測定し、平均値、最小値、最大値、第５百分位数及び第９５百分位数を計算した。

【０５２５】

【表７】

表５　TRACK TBI データについての臨床解析(対象の特徴)

バイオマーカー	状態	例数	中央値	平均値	標準偏差	最小値	最大値	第5百分位数	第95百分位数
GFAP	対照	17	11	11	6.5	0	27	0	27
	整形外科損傷対照	38	14	22	29.7	2	181	2	67
	軽度TBI*	1123	244	803	2191.0	0	35085	9	3160
	軽度TBI又は中等度/重度のTBI	1378	335	1828	6529.4	0	130418	9	6459
	中等度/重度のTBI**	201	3095	7116	14607.8	5	130418	123	26717
UCH-L1	対照	17	53	55	23.9	26	106	26	106
	整形外科損傷対照	38	120	149	73.0	62	345	68	305
	軽度TBI*	1123	175	292	416.0	1	6399	39	870
	軽度TBI又は中等度/重度のTBI	1378	200	441	863.9	1	11020	42	1575
	中等度/重度のTBI**	201	684	1157	1636.3	42	10390	92	3385

*GCS(Glasgow Coma Scale)≧13

**GCS(Glasgow Coma Scale)≦12

【０５２６】

【表８】

表６　TRACK TBI データについての臨床解析(時間区分ごとのGFAPレベル)

時間バケット	種類	例数	平均値	標準偏差	最小値	最大値	第5百分位数	第95百分位数
0～4時間	軽度TBI*	86	162	243.8	3	1108	4	754
	軽度TBI又は中等度/重度のTBI	93	1726	13566.3	3	130418	4	931
	中等度/重度のTBI**	3	44204	74671.2	28	130418	28	130418
4～8時間	軽度TBI*	182	427	707.1	0	5251	10	1503
	軽度TBI又は中等度/重度のTBI	212	845	1744.9	0	11933	10	4192
	中等度/重度のTBI**	20	4230	3205.9	753	11933	802	10371
8～12時間	軽度TBI*	143	1030	3190.6	2	35085	12	3662
	軽度TBI又は中等度/重度のTBI	177	1677	4474.2	2	35085	12	6356
	中等度/重度のTBI**	30	4969	7617.8	10	33907	202	24659
12～16時間	軽度TBI*	192	951	1859.9	0	16445	8	4359
	軽度TBI又は中等度/重度のTBI	242	2129	5759.3	0	53244	9	7894
	中等度/重度のTBI**	42	6296	10701.7	73	53244	109	19745
16～20時間	軽度TBI*	208	869	1936.0	2	22515	9	3401
	軽度TBI又は中等度/重度のTBI	252	1619	3533.2	2	31671	9	6222
	中等度/重度のTBI**	38	5775	6529.9	5	31671	358	16294
20～24時間	軽度TBI*	264	1030	2938.8	1	35004	11	3757
	軽度TBI又は中等度/重度のTBI	335	2265	7829.2	1	101104	12	8374
	中等度/重度のTBI**	55	8731	16907.3	13	101104	83	31220
24～48時間	軽度TBI*	24	736	1270.5	5	6131	7	1634
	軽度TBI又は中等度/重度のTBI	38	2966	7248.2	5	41781	7	17388
	中等度/重度のTBI**	8	2789	2708.1	14	7179	14	7179

*GCS(Glasgow Coma Scale)≧13

**GCS(Glasgow Coma Scale)≦12

【０５２７】

【表９】

表７　TRACK TBI データについての臨床解析(時間区分ごとのUCH-L1 レベル)

時間バケット	状態	例数	平均値	標準偏差	最小値	最大値	第5百分位数	第95百分位数
0～4時間	軽度TBI*	86	350	325.0	22	2235	77	870
	軽度TBI又は中等度/重度のTBI	93	555	1321.9	22	10390	77	1183
	中等度/重度のTBI**	3	6036	5312.9	116	10390	116	10390
4～8時間	軽度TBI*	182	398	476.1	6	3134	56	1207
	軽度TBI又は中等度/重度のTBI	212	593	1054.3	6	9187	56	2124
	中等度/重度のTBI**	20	2258	2537.5	48	9187	129	9182
8～12時間	軽度TBI*	143	387	570.2	4	3666	50	1160
	軽度TBI又は中等度/重度のTBI	177	546	958.3	4	8542	51	2447
	中等度/重度のTBI**	30	1363	1771.2	100	8542	173	5816
12～16時間	軽度TBI*	192	312	581.4	6	6399	39	900
	軽度TBI又は中等度/重度のTBI	242	503	945.0	6	8235	43	2216
	中等度/重度のTBI**	42	1262	1605.9	62	8235	72	4348
16～20時間	軽度TBI*	208	224	227.2	1	1424	34	686
	軽度TBI又は中等度/重度のTBI	252	343	474.6	1	3488	38	1256
	中等度/重度のTBI**	38	920	735.5	90	2901	154	2532
20～24時間	軽度TBI*	264	203	215.1	9	1882	36	549
	軽度TBI又は中等度/重度のTBI	335	272	327.9	9	2062	38	996
	中等度/重度のTBI**	55	632	525.8	42	2062	74	1634
24～48時間	軽度TBI*	24	164	152.0	20	717	27	444
	軽度TBI又は中等度/重度のTBI	38	679	1895.3	20	11020	27	4481
	中等度/重度のTBI**	8	370	299.3	161	890	161	890

*GCS(Glasgow Coma Scale)≧13

**GCS(Glasgow Coma Scale)≦12

【０５２８】

図１Ａ～１Ｂは、中等度／重度のＴＢＩ群、軽度ＴＢＩ群並びに軽度及び中等度／重度のＴＢＩ群について、損傷後４８時間以内の多様な時点における、平均値ＧＦＡＰレベル（図１Ａ）及び平均値ＵＣＨ－Ｌ１レベル（図１Ｂ）を描示する代表的グラフを含む。中等度／重度のＴＢＩ群において、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のいずれのレベルも、損傷後０～４時間の間に最高となる。

【０５２９】

同様のデータは、健常対照（外傷を負っていない）及び整形外科損傷対照（整形外科損傷を負っているが、ＴＢＩを負っていない）のいずれからも得られた。図２Ａ～２Ｂは、軽度ＴＢＩ群、健常対照群及び整形外科損傷対照群について、損傷後４８時間以内の多様な時点における、平均値ＧＦＡＰレベル（図２Ａ）及び平均値ＵＣＨ－Ｌ１レベル（図２Ｂ）を描示する代表的グラフを含む。軽度ＴＢＩ群において、ＧＦＡＰレベル及びＵＣＨ

－Ｌ１レベルのいずれも、損傷後０～４８時間に、健常対照及び整形外科損傷対照のいずれと比較しても上昇した。ＵＣＨ－Ｌ１レベルはまた、健常対照群と比較した整形外科損傷対照群においても上昇した。

【０５３０】

損傷後４８時間にわたる多様な時点における、ＧＦＡＰレベル中央値及びＵＣＨ－Ｌ１レベルを、臨床転帰（ＧＣＳスコア、ＣＴスキャン結果又はＭＲＩスキャン結果）に基づくＴＢＩ診断と相関させるように、データ解析もまた実施した。図３Ａ～３Ｄは、ＧＣＳスコア（１３～１５＝軽度ＴＢＩ；９～１２＝中等度ＴＢＩ；８以下＝重度ＴＢＩ）を割り当てられた対象における、イメージング結果（図３ＣにおけるＣＴスキャン結果；図３ＤにおけるＭＲＩ結果）に基づく、時点ごとの、ＧＦＡＰレベル中央値についての代表的プロット（図３Ａ及び３Ｂ）を含む。図４Ａ～４Ｄは、ＧＣＳスコア（１３～１５＝軽度ＴＢＩ；９～１２＝中等度ＴＢＩ；８以下＝重度ＴＢＩ）を割り当てられた対象における、イメージング結果（図４ＣにおけるＣＴスキャン結果；図４ＤにおけるＭＲＩ結果）に基づく、時点ごとの、ＧＦＡＰレベル中央値についての代表的プロット（図４Ａ及び４Ｂ）を含む。まとめると、これらのデータは、損傷後４８時間にわたる多様な時点における、ＧＦＡＰレベル及びＵＣＨ－Ｌ１レベルの上昇が、軽度ＴＢＩ及び中等度／重度のＴＢＩの両方を含む、ＴＢＩの存在（例えば、「陽性」）を指し示す臨床転帰と良好に相関することを裏付ける。

【０５３１】

ＧＦＡＰレベル及びＵＣＨ－Ｌ１レベルを、ＧＯＳＥスコアと相関させるように、データ解析もまた実施した。図５Ａ～５Ｂは、ＧＯＳＥスコアに従い分類された対象における、ＧＦＡＰレベル（図５Ａ）及びＵＣＨ－Ｌ１レベル（図５Ｂ）についての代表的箱髭図を含む。裏付けられた通り、ＧＦＡＰレベル及びＵＣＨ－Ｌ１レベルのいずれも、ＧＯＳＥスコアが１（死／ＴＢＩ）に近い対象において、ＧＯＳＥスコアが８（回復／健常）に近い対象と比較して上昇した。

【０５３２】

ＴＢＩの多様な臨床指標とのＧＦＡＰレベル及びＵＣＨ－Ｌ１レベルの個別の相関を評価することに加えて、本開示によるデータはまた、対象が、ＴＢＩを負っているのかどうかの決定における、ＧＦＡＰの基準レベルとＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルとの組合せの予測診断的価値にも対処する。解析は、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１の両方についての、同時的な基準値又はカットオフの使用に基づいた。対象において測定又は検出されたＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、対応するＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１の基準値を超える場合、１つ以上の臨床転帰は、陽性であると予測される、又はこの対象におけるＴＢＩを示す。対象において測定又は検出されたＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルのいずれもが、対応するＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１の基準値未満である場合、１つ以上の臨床転帰は、陰性であると予測される、又はＴＢＩを負っていない対象（健常対象）を示す。

【０５３３】

ＣＴスキャン結果に基づき、ＴＢＩを有すると診断された対象における、ＧＦＡＰレベル及びＵＣＨ－Ｌ１レベル：図６は、ＣＴスキャン結果に基づき、ＴＢＩを有すると診断された対象（ＣＴ陽性）及び健常対照の対象（ＣＴ陰性）における、多様なＧＦＡＰレベル及びＵＣＨ－Ｌ１レベルについて、アッセイの感度及び特異度を比較する代表的グラフである。各データ点（「＋」符号を使用して描示された）は、ＣＴスキャンに基づき、ＴＢＩを有すると診断された対象又は健常対象（ＣＴ陰性）に由来する、ＧＦＡＰのレベル及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルと関連する、感度及び特異度を表す。図６に示す通り、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１の両方についての基準レベルの組合せを、ＣＴスキャン結果など、１つ以上の臨床転帰と相関させて、対象が、ＴＢＩを負っているのかどうかを決定しうる。

【０５３４】

下記の表８は、損傷後４８時間にわたる多様な時点において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルを、アッセイの感度及び特異度の範囲と相関させるデータの概要である。

【０５３５】
【表１０】

表８　CT結果、GCSスコア及びMRIに基づく、GFAP/UCH-L1の組合せについてのバイオマーカーのカットオフ(基準レベル)

推測されるTBIの、健常との対比		感度範囲	特異度範囲(%)	GFAP範囲(pg/mL)	UCH-L1範囲(pg/mL)	NPV範囲(pg/mL)	PPV範囲(pg/mL)
CT	全て	90.09～96.45	30.03～52.04	40～480	110～2000	84.13～93.65	43.29～52.61
	0～4時間	70%未満	90.38～97.12	395～1000	710～2000	96.15～97.96	23.08～42.86
	4～8時間	91.53～98.31	30～62.35	20～1000	130～2000	94.05～98.73	32.39～45.83
	8～12時間	91.30～98.55	30.40～52	35～670	90～2000	86.36～97.44	42.00～51.22
	12～16時間	90.52～99.14	30.49～61.59	20～1000	90～2000	84.72～98.04	48.65～62.50
	16～20時間	90.65～99.07	30.25～53.09	35～1000	80～2000	87.18～98.00	47.91～56.07
	20～24時間	90.32～96.77	30.46～55.84	30～1000	70～2000	82.14～92.42	51.25～62.01
	24～48時間	80.00～100	48.57～82.86	30～1000	70～2000	87.50～100	51.35～72.73
GCS	全て	90.05～97.51	30.01～65.65	70～1000	110～2000	96.11～98.68	17.77～29.77
	0～4時間	70%未満	90.65～97.20	605～1000	740～2000	98.98～99.05	16.67～40.00
	4～8時間	90.00～100.00	42.58～85.65	280～1000	210～2000	98.88～100	13.67～37.50
	8～12時間	90.00～96.67	30.49～79.27	80～1000	100～2000	96.70～98.82	20.28～44.26
	12～16時間	90.48～97.62	30.41～64.52	75～1000	100～2000	94.87～98.73	20.53～33.04
	16～20時間	92.11～97.37	30.30～66.23	60～1000	100～2000	97.87～99.19	18.69～30.97
	20～24時間	90.91～98.18	30.30～61.28	65～1000	90～2000	95.74～98.91	19.77～30.30
	24～48時間	100	61.7～65.96	540～1000	140～180	100	30.77～33.33
GOSE	全て	82.61～95.65	30～93.33	80～2000	130～2000	96.92～99.05	12.50～57.58
MRI	全て	80.60～97.01	30.19～84.91	15～1000	50～2000	77.59～94.44	63.73～87.69

【０５３６】
いくつかの時点について、下記の表９に示される通り、ＧＦＡＰについての基準レベルとＵＣＨ－Ｌ１についての基準レベルとの組合せを使用したところ、アッセイの感度及び特異度は、ＧＦＡＰの基準レベル単独に基づく、アッセイの感度及び特異度と比較して改善された。
【０５３７】

【表１１】

表9　GFAP/UCH-L1の組合せについての、GFAP単独と比較した、バイオマーカーのカットオフ(基準レベル)(CTスキャン結果に基づく)

	組合せバイオマーカーのカットオフ					GFAP単独
4～8時間	GFAP (pg/mL)	UCH-L1 (pg/mL)	感度(%)	特異度(%)		特異度(差違%)
	50	2000	97.5	51		42 (-9)
	110	2000	95	62		50 (-12)
	140	2000	91.5	66		61 (-5)
						感度(差違%)
	500	1450	76	80		75 (-1)
	840	2000	54	90		51 (-3)
8～12時間	GFAP (pg/mL)	UCH-L1 (pg/mL)	感度(%)	特異度(%)		特異度(差違%)
	115	110	97.5	32		21 (-11)
	95	2000	95	45		37 (-8)
	240	300	91.5	52		40 (-12)
						感度(差違%)
	800	900	61	80		57 (-4)
12～16時間	GFAP (pg/mL)	UCH-L1 (pg/mL)	感度(%)	特異度(%)		特異度(差違%)
	190	90	99	36		5 (-31)
	150	190	95	50		34 (-16)
	285	190	91.5	60		50 (-10)
	555	810	72	80		70 (-2)
	880	810	66	85		62 (-4)
	975	1580	60	87		58 (-2)

【０５３８】

ＧＣＳスコアに基づく、ＴＢＩを有すると診断された対象における、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のレベル：図７は、ＧＣＳスコアを割り当てられた対象における、多様なＧＦＡＰレベル及びＵＣＨ－Ｌ１レベルについて、アッセイの感度及び特異度を比較する代表的グラフであり；≦１２のＧＣＳスコアを割り当てられた対象は、陽性（中等度又は重度のＴＢＩ）であり、１２＞のＧＣＳスコアを割り当てられた対象は、陰性（軽度ＴＢＩ又は健常対照）であった。各データ点（「＋」符号を使用して描示された）は、割り当てられたＧＣＳスコアに基づき、ＴＢＩを有すると診断された対象に由来する、ＧＦＡＰのレベル及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルと関連する感度及び特異度を表す。図７に示す通り、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１の両方についての基準レベルの組合せを、ＧＣＳスコアなど、１つ以上の臨床転帰と相関させて、対象が、ＴＢＩを負っているのかどうかを決定しうる。

【０５３９】

例えば、上記において論じられたＣＴスキャン結果に加えて、表６は、ＧＳＣスコアに基づき、損傷後４８時間にわたる多様な時点において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルを、アッセイの感度及び特異度の範囲と相関させるデータの概要を含む。いくつかの時点について、下記の表１０に示される通り、ＧＦＡＰについての基準レベルとＵＣＨ－Ｌ１についての基準レベルとの組合せを使用したところ、アッセイの感度及び特異度は、ＧＦＡＰの基準レベル単独に基づく、アッセイの感度及び特異度と比較して改善された。

【０５４０】

【表１２】

表10　GFAP/UCH-L1の組合せについての、GFAP単独と比較した、バイオマーカーのカットオフ(基準レベル)(GCSスコアに基づく)

	組合せバイオマーカーのカットオフ					GFAP単独
8～12時間	GFAP (pg/mL)	UCH-L1 (pg/mL)	感度(%)	特異度(%)		特異度(差違%)
	240	860	97	51		40 (-11)
	265	860	93	53		44 (-9)
	890	920	90	79		45 (-34)
12～16時間	GFAP (pg/mL)	UCH-L1 (pg/mL)	感度(%)	特異度(%)		特異度(差違%)
	105	840	97.5	36		30 (-6)
	370	110	95	33		31 (-2)
	505	1580	90	66		63 (-3)
						感度(差違%)
	695	1570	88	70		84 (-4)
	150	2000	79	75		77 (-2)

【０５４１】

ＭＲＩスキャン結果に基づき、ＴＢＩを有すると診断された対象における、ＧＦＡＰレベル及びＵＣＨ－Ｌ１レベル：図８は、ＭＲＩ結果に基づき、ＴＢＩを有すると診断された対象（陽性のＭＲＩ）及び健常対照の対象（陰性のＭＲＩ）における、多様なＧＦＡＰレベル及びＵＣＨ－Ｌ１レベルについて、アッセイの感度及び特異度を比較する代表的グラフである。各データ点（「＋」符号を使用して描示された）は、ＭＲＩスキャンに基づき、ＴＢＩを有すると診断された対象に由来するＧＦＡＰのレベル及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルと関連する感度及び特異度を表す。図８に示す通り、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１の両方についての基準レベルの組合せを、ＭＲＩスキャン結果など、１つ以上の臨床転帰と相関させて、対象が、ＴＢＩを負っているのかどうかを決定しうる。

【０５４２】

ＧＯＳＥスコアに基づき、ＴＢＩを有すると診断された対象における、ＧＦＡＰレベル及びＵＣＨ－Ｌ１レベル：図９は、ＧＯＳＥスコアに基づき、ＴＢＩを有すると診断された対象（１＝ＴＢＩ／死）及び健常対照の対象（８＝健常／回復）における、多様なＧＦＡＰレベル及びＵＣＨ－Ｌ１レベルについて、アッセイの感度及び特異度を比較する代表的グラフである。各データ点（「＋」符号を使用して描示された）は、８のＧＯＳＥスコアに基づき、ＴＢＩを有すると診断された対象に由来する、ＧＦＡＰのレベル及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルと関連する感度及び特異度を表す。図９に示す通り、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１の両方についての基準レベルの組合せを、ＧＯＳＥスコアなど、１つ以上の臨床転帰と相関させて、ＴＢＩを負った対象における回復を予測しうる。

【０５４３】

ＴＢＩを有するものとして提示された対象における、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のレベル：下記の表１１は、多様な時点（すなわち、４～８時間、８～１２時間及び１２～１６時間）において、ＧＦＡＰについての基準レベルとＵＣＨ－Ｌ１についての基準レベルとの組合せを使用したところ、アッセイの感度及び特異度が、ＧＦＡＰの基準レベル単独に基づく、アッセイの感度及び特異度と比較して改善されたことを示す。

【０５４４】

【表１３】

表11　GFAP/UCH-L1の組合せについての、GFAP単独と比較した、バイオマーカーのカットオフ(基準レベル)(推測されるTBI)

	組合せバイオマーカーのカットオフ					GFAP単独
4～8時間	GFAP (pg/mL)	UCH-L1 (pg/mL)	感度(%)	特異度(%)		特異度(差違%)
	15	70	97	59		35 (-24)
	30	70	95	76		47 (-29)
	40	100	90	94		64 (-30)
						感度(差違%)
	30	110	98	100		76 (-22)
8～12時間	GFAP (pg/mL)	UCH-L1 (pg/mL)	感度(%)	特異度(%)		特異度(差違%)
	15	90	97	71		47 (-24)
	15	150	95	82		53 (-29)
						感度(差違%)
	30	110	92	100		89 (-3)
12～16時間	GFAP (pg/mL)	UCH-L1 (pg/mL)	感度(%)	特異度(%)		特異度(差違%)
	10	60	97.5	35		18 (-17)
	20	60	95	65		35 (-30)
						感度(差違%)
	30	110	90	100		86 (-4)

【０５４５】

整形外科損傷対照と対比した、ＴＢＩを有すると診断された対象における、ＧＦＡＰレベル及びＵＣＨ－Ｌ１レベル：健常対照を使用する、ＴＢＩについての多様な臨床指標とのＧＦＡＰレベル及びＵＣＨ－Ｌ１レベルの個別の相関を評価することに加えて、本開示によるデータはまた、整形外科損傷を負った対象がまた、ＴＢＩも負ったのかどうかの決定における、ＧＦＡＰの基準レベルとＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルとの組合せの予測診断的価値にも対処する。解析は、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１の両方についての、同時的な基準値又はカットオフの使用に基づいた。

【０５４６】

下記の表１２は、損傷後４８時間にわたる多様な時点において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルを、アッセイの感度及び特異度の範囲と相関させるデータの概要である。

【０５４７】

【表１４】

表12　CT結果、GCSスコア及びMRI(整形外科損傷対照)に基づく、GFAP/UCH-L1の組合せについての、バイオマーカーのカットオフ(基準レベル)

推測されるTBIの、整形外科損傷対照との対比		感度の範囲	特異度の範囲	GFAPの範囲	UCH-L1の範囲	NPVの範囲	PPVの範囲
CT	全て	90.09～96.64	30～53.01	40～480	110～2000	84.04～93.98	42.54～52.55
	0～4時間	70%未満	90.40～97.60	370～1000	700～2000	96.8～98.32	25.00～42.86
	4～8時間	91.53～98.31	30.37～65.97	20～1000	130～2000	95.10～98.98	30.00～45.45
	8～12時間	91.30～98.55	30.14～56.85	25～350	120～2000	89.09～97.92	39.29～50.00
	12～16時間	90.52～99.14	30.07～58.74	20～1000	70～2000	85.90～97.87	52.61～64.02
	16～20時間	90.65～99.07	30.05～56.83	25～1000	100～2000	87.14～98.28	43.61～55.11
	20～24時間	90.32～96.13	30.28～59.63	25～305	100～2000	82.14～93.33	48.29～61.74
	24～48時間	70.00～100	32.14～91.07	25～1000	110～2000	89.47～100	32.73～75.00
GCS	全て	90.05～97.51	30.06～66.22	65～1000	120～2000	96.17～98.7	17.54～29.77
	0～4時間	70%未満	90.63～97.66	395～1000	710～2000	99.15～99.21	14.29～40.00
	4～8時間	90.00～100.00	43.91～86.96	200～1000	210～2000	99.00～100	12.84～37.50
	8～12時間	83.33～96.67	30.27～81.62	40～1000	110～2000	96.79～99.06	18.35～43.33
	12～16時間	90.48～97.62	30.25～67.65	75～1000	110～2000	95.12～98.99	19.02～33.04
	16～20時間	81.58～97.37	30.16～80.16	45～1000	120～2000	96.65～99.31	17.37～38.27
	20～24時間	80.00～98.18	30.19～81.13	45～1000	100～2000	95.05～98.99	18.38～42.31
	24～48時間	100	60.29	320～1000	180～220	100	22.86
GOSE	全て	82.61～95.65	30～93.33	80～2000	130～2000	96.92～99.05	12.50～57.58
MRI	全て	80.60～97.01	31.08～89.19	15～1000	80～2000	82.43～96.36	55.26～87.69

【０５４８】

加えて、表１２は、ＧＣＳスコアに基づき、損傷後４８時間にわたる多様な時点において、ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルを、アッセイの感度及び特異度の範囲と相関させるデータの概要を含む。図１０は、ＭＲＩ結果に基づき、ＴＢＩを有すると診断された対象（陽性のＭＲＩ）及び整形外科損傷対照の対象（陰性のＭＲＩ）における、多様なＧＦＡＰレベル及びＵＣＨ－Ｌ１レベルについて、アッセイの感度及び特異度を比較する代表的グラフである。各データ点（「＋」符号を使用して描示された）は、ＭＲＩスキャンに基づき、ＴＢＩを有すると診断された対象に由来するＧＦＡＰのレベル及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルと関連する感度及び特異度を表す。図１０に示す通り、ＧＦＡ

Ｐ及びＵＣＨ－Ｌ１の両方についての基準レベルの組合せを、ＭＲＩスキャン結果など、１つ以上の臨床転帰と相関させて、対象が、ＴＢＩを負っているのかどうかを決定しうる。

【０５４９】

図１１は、ＧＯＳＥスコアに基づき、ＴＢＩを有すると診断された対象（１＝ＴＢＩ／死）及び整形外科損傷対照の対象（８＝健常／回復）における、多様なＧＦＡＰレベル及びＵＣＨ－Ｌ１レベルについて、アッセイの感度及び特異度を比較する代表的グラフである。各データ点（「＋」符号を使用して描示された）は、８のＧＯＳＥスコアに基づき、ＴＢＩを有すると診断された対象に由来する、ＧＦＡＰのレベル及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルと関連する感度及び特異度を表す。図１１に示す通り、ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１の両方についての基準レベルの組合せを、ＧＯＳＥスコアなど、１つ以上の臨床転帰と相関させて、ＴＢＩを負った対象における回復を予測しうる。

【０５５０】

前出の詳細な記載及び付属の実施例は、例示的なものであるに過ぎず、併載の特許請求の範囲及びそれらの均等物だけによって規定される、範囲に対する限定として理解されないものとすることが理解される。

【０５５１】

開示された実施形態に対する、多様な変化及び改変が、当業者に明らかである。この精神及び範囲から逸脱しない限りにおいて、限定せずに述べると、化学構造、置換基、誘導体、中間体、合成、組成物、製剤又は使用法に関する変化及び改変を含む、このような変化及び改変がなされうる。

【０５５２】

完全を期するために、多様な態様は、以下の番号付けされた条項に明示される。

【０５５３】

条項１．頭部への損傷を負った、又は負った可能性があるヒト対象が、中等度～重度の外傷性脳損傷（ＴＢＩ）を有するのかどうかの診断の一助となる又はこれを決定する方法であって、

実際の損傷又は推測される損傷の後、約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して、アッセイを実施して、グリア原線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）の試料中レベルと、ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）の試料中レベルとの組合せを測定又は検出するステップ；及び

（ａ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１０５ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満であり、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約１１０ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満である場合に、対象が、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを負っていないと決定するステップ；又は

（ｂ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１０５ｐｇ／ｍＬ～約８９０ｐｇ／ｍＬの基準レベルと等しく、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約１１０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｇ／ｍＬの基準レベルと等しい場合に、対象が、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを負っていないと決定するステップ；又は

（ｃ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約８９０ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高く、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約２０００ｇ／ｍＬの基準レベルより高い場合に、対象が、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを負っている可能性が、そうでない可能性より高いと決定するステップ

を含む方法。

【０５５４】

条項２．対象が、アッセイが実施される前に、又は実施された後において、ＧＣＳ（Ｇｌａｓｇｏｗ　Ｃｏｍａ　Ｓｃａｌｅ）スコアを受けており、対象が、ＧＣＳスコアに基づき、中等度～重度のＴＢＩを有すると推測される、条項１に記載の方法。

【０５５５】

条項３．ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、１２以下のＧＣＳスコアに基づき、中等度～重度のＴＢＩを有する対象と相関する、条項２に記載の方法。

【０５５６】
条項４．ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約７９％以上の感度及び約３３％以上の特異度を有するアッセイにより決定される、条項１～３のいずれかに記載の方法。
【０５５７】
条項５．試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１６時間以内に、対象から得られる、条項１～４のいずれかに記載の方法。
【０５５８】
条項６．アッセイが、ＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１を、個別に測定又は検出するアッセイと比較して、少なくとも２％高い感度及び少なくとも３％高い特異度を有する、条項１～５のいずれかに記載の方法。
【０５５９】
条項７．試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルが、約２４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約８６０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイが、９７％以上の感度及び５１％以上の特異度を有する、条項１～６のいずれかに記載の方法。
【０５６０】
条項８．試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルが、約１０５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約８４０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイが、９７．５％以上の感度及び３６％以上の特異度を有する、条項１～６のいずれかに記載の方法。
【０５６１】
条項９．試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルが、約８９０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約９２０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイが、９０％以上の感度及び７９％以上の特異度を有する、条項１～６のいずれかに記載の方法。
【０５６２】
条項１０．試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルが、約５０５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約１５８０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイが、９０％以上の感度及び６６％以上の特異度を有する、条項１～６のいずれかに記載の方法。
【０５６３】
条項１１．頭部への損傷を負った、又は負った可能性があるヒト対象に対して、頭部コンピュータ断層撮影（ＣＴ）スキャンを実施するのかどうかの決定の一助となる又はこれを決定する方法であって、
実際の損傷又は推測される損傷の後、約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して、アッセイを実施して、グリア原線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）の試料中レベルと、ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）の試料中レベルとの組合せを測定又は検出するステップ；及び
（ａ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約５０ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満であり、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約９０ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満である場合に、対象が、ＣＴスキャンを必要としないと決定するステップ；又は
（ｂ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約５０ｐｇ／ｍＬ～約９７５ｇ／ｍＬの基準レベルと等しく、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約９０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｇ／ｍＬの基準レベルと等しい場合に、対象が、ＣＴスキャンを必要としないと決定するステップ；又は
（ｃ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約９７５ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高く、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約２０００ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高い場合に、対象が、ＣＴスキャンを必要とする可能性が、そうでない可能性より高いと決定するステップ

を含む方法。
【０５６４】
条項１２．対象が、アッセイが実施される前に、又は実施された後において、ＣＴスキャンを受けており、対象が、ＣＴスキャン結果に基づき、ＴＢＩを有すると推測される、条項１１に記載の方法。
【０５６５】
条項１３．ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、陰性のＣＴスキャン結果と相関する、条項１２に記載の方法。
【０５６６】
条項１４．ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約５４％以上の感度及び約３２％以上の特異度を有するアッセイにより決定される、条項１１～１３のいずれかに記載の方法。
【０５６７】
条項１５．試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約１６時間以内に、対象から得られる、条項１１～１４のいずれかに記載の方法。
【０５６８】
条項１６．アッセイが、ＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１を、個別に測定又は検出するアッセイと比較して、少なくとも２％高い感度及び少なくとも４％高い特異度を有する、条項１１～１５のいずれかに記載の方法。
【０５６９】
条項１７．試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルが、約１１０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約２０００ｐｇ／ｍＬであり；アッセイが、９５％以上の感度及び６２％以上の特異度を有する、条項１１～１６のいずれかに記載の方法。
【０５７０】
条項１８．試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルが、約２４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約３００ｐｇ／ｍＬであり；アッセイが、９１．５％以上の感度及び５２％以上の特異度を有する、条項１１～１６のいずれかに記載の方法。
【０５７１】
条項１９．試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルが、約１９０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約９０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイが、９９％以上の感度及び３６％以上の特異度を有する、条項１１～１６のいずれかに記載の方法。
【０５７２】
条項２０．頭部への損傷を負ったヒト対象が、外傷性脳損傷（ＴＢＩ）を負ったのかどうかの決定の一助となる又はこれを決定する方法であって、
損傷後、約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して、アッセイを実施して、グリア原線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）の試料中レベルと、ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）の試料中レベルとの組合せを測定又は検出するステップ；及び
（ａ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１５ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満であり、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約７０ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満である場合に、対象が、ＴＢＩを負っていないと決定するステップ；又は
（ｂ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１５ｐｇ／ｍＬ～約４０ｇ／ｍＬの基準レベルと等しく、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約７０ｐｇ／ｍＬ～約１５０ｇ／ｍＬの基準レベルと等しい場合に、対象が、ＴＢＩを負っている可能性が、そうでない可能性より高いと決定するステップ；又は
（ｃ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約４０ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高く、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約１５０ｐｇ／ｍＬの基準レベル

より高い場合に、対象が、ＴＢＩを負っている可能性が、そうでない可能性より高いと決定するステップ
を含む方法。
【０５７３】
条項２１．ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約９０％以上の感度及び約３５％以上の特異度を有するアッセイにより決定される、条項２０に記載の方法。
【０５７４】
条項２２．試料が、損傷後、約４時間～約１６時間以内に、対象から得られる、条項２０又は２１に記載の方法。
【０５７５】
条項２３．アッセイが、ＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１を、個別に測定又は検出するアッセイと比較して、少なくとも３％高い感度及び少なくとも１７％高い特異度を有する、条項２０～２１のいずれかに記載の方法。
【０５７６】
条項２４．試料が、損傷後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルが、約３０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約１１０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイが、９２％以上の感度及び９９％以上の特異度を有する、条項２０～２３のいずれかに記載の方法。
【０５７７】
条項２５．試料が、損傷後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルが、約３０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約１１０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイが、９０％以上の感度及び９９％以上の特異度を有する、条項２０～２３のいずれかに記載の方法。
【０５７８】
条項２６．試料が、損傷後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルが、約４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約１００ｐｇ／ｍＬであり；アッセイが、９０％以上の感度及び９４％以上の特異度を有する、条項２０～２３のいずれかに記載の方法。
【０５７９】
条項２７．試料が、損傷後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルが、約１５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約１５０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイが、９５％以上の感度及び８２％以上の特異度を有する、条項２０～２３のいずれかに記載の方法。
【０５８０】
条項２８．試料が、損傷後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルが、約２０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約６０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイが、９５％以上の感度及び６５％以上の特異度を有する、条項２０～２３のいずれかに記載の方法。
【０５８１】
条項２９．頭部への損傷を負った、又は負った可能性があるヒト対象に対して、頭部核磁気共鳴イメージング（ＭＲＩ）手順を実施するのかどうかの決定の一助となる又はこれを決定する方法であって、
実際の損傷又は推測される損傷の後、約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して、アッセイを実施して、グリア原線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）の試料中レベルと、ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）の試料中レベルとの組合せを測定又は検出するステップ；及び
（ａ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１５ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満であり、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約５０ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満である場合に、対象が、ＭＲＩ手順を必要としないと決定するステップ；又は
（ｂ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１５ｐｇ／ｍＬ～約１０００ｇ／ｍ

Ｌの基準レベルと等しく、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約５０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｇ／ｍＬの基準レベルと等しい場合に、対象が、ＭＲＩ手順を必要とする可能性が、そうでない可能性より高いと決定するステップ；又は
（ｃ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１０００ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高く、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約２０００ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高い場合に、対象が、ＭＲＩ手順を必要とする可能性が、そうでない可能性より高いと決定するステップ
を含む方法。
【０５８２】
条項３０．対象が、アッセイが実施された後において、ＭＲＩを受けており、対象が、ＭＲＩ結果に基づき、ＴＢＩを有すると推測される、条項２９に記載の方法。
【０５８３】
条項３１．ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、陰性のＭＲＩ結果と相関する、条項３０に記載の方法。
【０５８４】
条項３２．ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約８０％～約９８％の感度及び約３０％～約８５％の特異度を有するアッセイにより決定される、条項２９～３１のいずれかに記載の方法。
【０５８５】
条項３３．対象が、アッセイが実施される前に、陰性のＣＴスキャン結果を受けている、条項２９～３２のいずれかに記載の方法。
【０５８６】
条項３４．頭部への損傷を負った、又は負った可能性があるヒト対象に対して、頭部核磁気共鳴イメージング（ＭＲＩ）手順を実施するのかどうかの決定の一助となる又はこれを決定する方法であって、
実際の損傷又は推測される損傷の後、約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して、アッセイを実施して、グリア原線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）の試料中レベルと、ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）の試料中レベルとの組合せを測定又は検出するステップ；及び
（ａ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約０ｐｇ／ｍＬ～約６８ｇ／ｍＬの基準レベルと等しい、若しくはＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約０ｐｇ／ｍＬ～約９９ｐｇ／ｍＬの基準レベルと等しい場合に、対象が、ＭＲＩ手順を必要としないと決定するステップ；又は
（ｂ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約６８ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高く、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約９９ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高い場合に、対象が、ＭＲＩ手順を必要とする可能性が、そうでない可能性より高いと決定するステップ
を含む方法。
【０５８７】
条項３５．対象が、アッセイが実施された後において、ＭＲＩを受けており、対象が、ＭＲＩ結果に基づき、ＴＢＩを有すると推測される、条項３４に記載の方法。
【０５８８】
条項３６．ＧＦＡＰの基準レベル又はＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、陰性のＭＲＩ結果と相関する、条項３４に記載の方法。
【０５８９】
条項３７．ＧＦＡＰの基準レベルが、約９０％～約９５％の感度及び３１％～約４６％の特異度を有するアッセイにより決定される、条項３４～３６のいずれかに記載の方法。
【０５９０】
条項３８．ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約８１％～約８４％の感度及び３１％～約３４％の特異度を有するアッセイにより決定される、条項３４～３６のいずれかに記載の方

法。
【０５９１】
条項３９．対象が、アッセイが実施される前に、陰性のＣＴスキャン結果を受けている、条項３４～３６のいずれかに記載の方法。
【０５９２】
条項４０．頭部損傷を負った、又は負った可能性があるヒト対象の転帰を予測する一助となる、又は予測するための方法であって、
実際の損傷又は推測される損傷の後、約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して、アッセイを実施して、グリア原線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）の試料中レベルと、ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）の試料中レベルとの組合せを測定又は検出するステップ；及び
（ａ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約８０ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満であり、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約１３０ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満である場合に、対象について、思わしい転帰を予測するステップ；又は
（ｂ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約８０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｇ／ｍＬの基準レベルと等しく、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約１３０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｇ／ｍＬの基準レベルと等しい場合に、対象について、思わしくない転帰を予測する可能性が、そうでない可能性より高いステップ；又は
（ｃ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約２０００ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高く、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約２０００ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高い場合に、対象について、思わしくない転帰を予測する可能性が、そうでない可能性より高いステップ
を含む方法。
【０５９３】
条項４１．対象が、アッセイが実施された後において、ＧＯＳＥ（Ｅｘｔｅｎｄｅｄ Ｇｌａｓｇｏｗ Ｏｕｔｃｏｍｅ Ｓｃａｌｅ）スコアを受けており、対象が、ＧＯＳＥスコアに基づき、転帰不良を有すると推測される、条項４０に記載の方法。
【０５９４】
条項４２．ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、１のＧＯＳＥスコアに基づき、転帰不良を有する対象と相関する、条項４１に記載の方法。
【０５９５】
条項４３．ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約８０％～約９７％の感度及び約３０％～約９５％の特異度を有するアッセイにより決定される、条項４０～４２のいずれかに記載の方法。
【０５９６】
条項４４．ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、イムノアッセイ又は臨床化学アッセイを使用して測定又は検出される、条項１～４３のいずれか一項に記載の方法。
【０５９７】
条項４５．ＧＦＡＰ及びＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、単一分子検出アッセイを使用して測定又は検出される、条項１～４３のいずれか一項に記載の方法。
【０５９８】
条項４６．ＧＦＡＰのレベルを測定するステップが、
（ａ）試料を、同時に、又は逐次的に、任意の順序において、
（１）ＧＦＡＰ上又はＧＦＡＰ断片上のエピトープに結合して、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原複合体を形成する、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体、及び
（２）検出可能な標識を含み、ＧＦＡＰ捕捉抗体が結合していないＧＦＡＰ上のエピトープに結合して、ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体を形成する、少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体
と接触させて、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧ

ＧＦＡＰ検出抗体複合体を形成すること；並びに
（ｂ）ＧＦＡＰの、試料中量又は試料中濃度を、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体内の検出可能な標識により発生したシグナルに基づき測定すること
を含む、条項１～４３のいずれか一項に記載の方法。
【０５９９】
条項４７．ＵＣＨ－Ｌ１のレベルを測定するステップが、
（ａ）試料を、同時に、又は逐次的に、任意の順序において、
（１）ＵＣＨ－Ｌ１上又はＵＣＨ－Ｌ１断片上のエピトープに結合して、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原複合体を形成する、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体、及び
（２）検出可能な標識を含み、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体が結合していないＵＣＨ－Ｌ１上のエピトープに結合して、ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体を形成する、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体
と接触させて、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体を形成すること；並びに
（ｂ）ＵＣＨ－Ｌ１の、試料中量又は試料中濃度を、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体内の検出可能な標識により発生したシグナルに基づき測定すること
を含む、条項１～４３及び４６のいずれか一項に記載の方法。
【０６００】
条項４８．試料が、全血試料、血清試料、脳脊髄液試料及び血漿試料からなる群から選択される、条項１～４７のいずれか一項に記載の方法。
【０６０１】
条項４９．対象が、物理的振盪、閉鎖性頭部外傷若しくは開放性頭部外傷をもたらす外部の機械的力若しくは他の力、１回以上の転倒、爆発若しくは爆破による鈍的衝撃により引き起こされた頭部損傷又は他の種類の鈍力外傷を負った後において、試料が得られる、条項１～４８のいずれか一項に記載の方法。
【０６０２】
条項５０．対象が、化学物質、毒素又は化学物質と毒素との組合せを摂取した、又はこれらへと曝露された後において、試料が得られる、条項１～４８のいずれか一項に記載の方法。
【０６０３】
条項５１．試料が、自己免疫疾患、代謝性障害、脳腫瘍、低酸素症、ウイルス、髄膜炎、水頭症又はこれらの組合せを患う対象から得られる、条項１～４８のいずれか一項に記載の方法。
【０６０４】
条項５２．対象の臨床状態、対象の検査値、軽度、中等度又は重度の外傷性脳損傷の罹患についての対象の分類、対象による、低レベル又は高レベルのＵＣＨ－Ｌ１の呈示及び前記対象が、頭部への損傷を負った可能性がある、任意の事象のタイミングからなる群から選択される因子に関わらず、任意のヒト対象に対して実行されうる、条項１～５１のいずれか一項に記載の方法。
【０６０５】
条項５３．対象を、外傷性脳損傷処置により処置するステップをさらに含む、条項１～５２のいずれか一項に記載の方法。
【０６０６】
条項５４．対象をモニタリングするステップをさらに含む、条項１～５３のいずれか一項に記載の方法。
【０６０７】
条項５５．試料が、対象が整形外科損傷を負った後において得られる、条項１～５２の

いずれか一項に記載の方法。
【０６０８】
条項５７．試料が、全血試料である、条項１～５２のいずれか一項に記載の方法。
【０６０９】
条項５８．試料が、血清試料である、条項１～４６のいずれか一項に記載の方法。
【０６１０】
条項５９．試料が、血漿試料である、条項１～４６のいずれか一項に記載の方法。
【０６１１】
条項６０．アッセイが、イムノアッセイである、条項５７～５９のいずれか一項に記載の方法。
【０６１２】
条項６１．アッセイが、臨床化学アッセイである、条項５７～５９のいずれか一項に記載の方法。
【０６１３】
条項６２．アッセイが、単一分子検出アッセイである、条項５７～５９のいずれか一項に記載の方法。
【０６１４】
条項６３．頭部への損傷を負った、又は負った可能性があるヒト対象が、中等度～重度の外傷性脳損傷（ＴＢＩ）を有するのかどうかの診断の一助となる又はこれを決定する方法であって、
実際の損傷又は推測される損傷の後、約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して、アッセイを実施して、グリア原線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）の試料中レベルと、ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）の試料中レベルとの組合せを測定するステップ；及び
ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１０５ｐｇ／ｍＬ～約８９０ｐｇ／ｍＬの基準レベルと等しく、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約１１０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの基準レベルと等しい場合に、対象が、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを負っていないことを決定するステップ
を含む方法。
【０６１５】
条項６４．対象が、アッセイが実施される前に、又は実施された後において、ＧＣＳ（Ｇｌａｓｇｏｗ　Ｃｏｍａ　Ｓｃａｌｅ）スコアを受けており、対象が、ＧＣＳスコアに基づき、中等度、重度又は中等度～重度のＴＢＩを有すると推測される、条項６３に記載の方法。
【０６１６】
条項６５．ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、３～１２のＧＣＳスコアに基づき、中等度～重度のＴＢＩを有する対象と相関する、条項６４に記載の方法。
【０６１７】
条項６６．試料が、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約０～約４時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約１６時間～約２０時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約２０時間～約２４時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約２４時間～約２８時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約２４時間～約４８時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約２８時間～約３２時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約３２時間～約３６時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約３６時間～約４０時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約４０時間～約４４時間以内、又は実際の損傷若しくは推測される損傷の後、４４～約４８時間以内に、対象から得られる、条項６３～６５のいずれかに記載の方法。

【０６１８】
条項６７．（ａ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約１０５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約８４０ｐｇ／ｍＬである；（ｂ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約１５０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約２０００ｐｇ／ｍＬである；（ｃ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約２４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約８６０ｐｇ／ｍＬである；（ｄ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約２６５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約８６０ｐｇ／ｍＬである；（ｅ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約３７０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約１１０ｐｇ／ｍＬである；（ｆ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約５０５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約１５８０ｐｇ／ｍＬである；（ｇ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約６９５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約１５７０ｐｇ／ｍＬである；又は（ｈ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約８９０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約９２０ｐｇ／ｍＬである、条項６３～６６のいずれかに記載の方法。
【０６１９】
条項６８．（ａ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルが、約２４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、約８６０ｐｇ／ｍＬである；（ｂ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルが、約２６５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、約８６０ｐｇ／ｍＬである；（ｃ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルが、約８９０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、約９２０ｐｇ／ｍＬである；（ｄ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルが、約１０５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、約８４０ｐｇ／ｍＬである；（ｅ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルが、約３７０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、約１１０ｐｇ／ｍＬである；（ｆ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルが、約３７０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、約１１０ｐｇ／ｍＬである；（ｇ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルが、約５０５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、約１５９０ｐｇ／ｍＬである；（ｈ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルが、約６９５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、約１５７０ｐｇ／ｍＬである；又は（ｉ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルが、約１５０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、約２０００ｐｇ／ｍＬである、条項６３～６６のいずれかに記載の方法。
【０６２０】
条項６９．ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約７９％以上の感度及び約３３％以上の特異度を有するアッセイにより決定される、条項６３～６８のいずれかに記載の方法。
【０６２１】
条項７０．試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１６時間以内に、対象から得られる、条項６３～６９のいずれかに記載の方法。
【０６２２】
条項７１．アッセイが、ＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１を、個別に測定又は検出するアッセイと比較して、少なくとも２％高い感度及び少なくとも３％高い特異度を有する、条項６３～７０のいずれかに記載の方法。
【０６２３】
条項７２．（ａ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルが、約２４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ

－Ｌ１の基準レベルが、約８６０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイが、９７％以上の感度及び５１％以上の特異度を有する；
（ｂ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルが、約１０５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約８４０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイが、９７．５％以上の感度及び３６％以上の特異度を有する；
（ｃ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルが、約８９０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約９２０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイが、９０％以上の感度及び７９％以上の特異度を有する；又は
（ｄ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルが、約５０５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約１５８０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイが、９０％以上の感度及び６６％以上の特異度を有する、
条項６３～７１のいずれかに記載の方法。

【０６２４】

条項７３．頭部への損傷を負った、又は負った可能性があるヒト対象に対して、頭部コンピュータ断層撮影（ＣＴ）スキャンを実施するのかどうかの決定の一助となる又はこれを決定する方法であって、
実際の損傷又は推測される損傷の後、約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して、アッセイを実施して、グリア原線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）の試料中レベルと、ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）の試料中レベルとの組合せを測定するステップ；及び
ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約５０ｐｇ／ｍＬ～約９７５ｇ／ｍＬの基準レベルと等しく、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約９０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの基準レベルと等しい場合に、対象が、ＣＴスキャンを必要としないと決定するステップ
を含む方法。

【０６２５】

条項７４．対象が、アッセイが実施される前に、又は実施された後において、ＣＴスキャンを受けており、対象が、ＣＴスキャン結果に基づき、ＴＢＩを有すると推測される、条項７３に記載の方法。

【０６２６】

条項７５．ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、陰性のＣＴスキャン結果と相関する、条項７４に記載の方法。

【０６２７】

条項７６．試料が、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約０～約４時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約１６時間～約２０時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約２０時間～約２４時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約２４時間～約２８時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約２４時間～約４８時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約２８時間～約３２時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約３２時間～約３６時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約３６時間～約４０時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約４０時間～約４４時間以内、又は実際の損傷若しくは推測される損傷の後、４４～約４８時間以内に、対象から得られる、条項７３～７５のいずれかに記載の方法。

【０６２８】

条項７７．（ａ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約５０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の

基準レベルが、約２０００ｐｇ／ｍＬである；（ｂ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約９５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約２０００ｐｇ／ｍＬである；（ｃ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約１１０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約２０００ｐｇ／ｍＬである；（ｄ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約１１５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約１１０ｐｇ／ｍＬである；（ｅ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約１４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約２０００ｐｇ／ｍＬである；（ｆ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約１５０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約１９０ｐｇ／ｍＬである；（ｇ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約１９０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約９０ｐｇ／ｍＬである；（ｈ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約２４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約３００ｐｇ／ｍＬである；（ｉ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約２８５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約１９０ｐｇ／ｍＬである；（ｊ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約５００ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約１４５０ｐｇ／ｍＬである；（ｋ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約５５５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約８１０ｐｇ／ｍＬである；（ｌ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約８００ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約９００ｐｇ／ｍＬである；（ｍ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約８４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約２０００ｐｇ／ｍＬである；（ｎ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約８８０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約８１０ｐｇ／ｍＬである；又は（ｏ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約９７５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約１５８０ｐｇ／ｍＬである、条項７３～７６のいずれかに記載の方法。

【０６２９】

条項７８．（ａ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルが、約５０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、約２０００ｐｇ／ｍＬである；（ｂ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルが、約１１０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、約２０００ｐｇ／ｍＬである；（ｃ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルが、約１４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、約２０００ｐｇ／ｍＬである；（ｄ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルが、約５００ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、約１４５０ｐｇ／ｍＬである；（ｅ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルが、約８９０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、約９２０ｐｇ／ｍＬである；（ｆ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルが、約１０５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、約８４０ｐｇ／ｍＬである；（ｇ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルが、約３７０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、約１１０ｐｇ／ｍＬである；（ｈ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルが、約５０５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、約１５８０ｐｇ／ｍＬである；（ｉ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルが、約６９５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、約１５７０ｐｇ／ｍＬである又は（ｊ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルが、約１５０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、約２０００ｐｇ／ｍＬである、条項７３～７６のいずれかに記載の方法。

【０６３０】

条項７９．ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約５４％以上の感度及び約３２％以上の特異度を有するアッセイにより決定される、条項７３～７８のいず

れかに記載の方法。
【０６３１】
条項８０．試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約１６時間以内に、対象から得られる、条項７３～７９のいずれかに記載の方法。
【０６３２】
条項８１．アッセイが、ＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１を、個別に測定又は検出するアッセイと比較して、少なくとも２％高い感度及び少なくとも４％高い特異度を有する、条項７３～８０のいずれかに記載の方法。
【０６３３】
条項８２．（ａ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルが、約１１０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約２０００ｐｇ／ｍＬであり；アッセイが、９５％以上の感度及び６２％以上の特異度を有する；
（ｂ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルが、約２４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約３００ｐｇ／ｍＬであり；アッセイが、９１．５％以上の感度及び５２％以上の特異度を有する；又は
（ｃ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルが、約１９０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約９０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイが、９９％以上の感度及び３６％以上の特異度を有する、
条項７３～８１のいずれかに記載の方法。
【０６３４】
条項８３．頭部への損傷を負ったヒト対象が、外傷性脳損傷（ＴＢＩ）を負ったのかどうかの決定の一助となる又はこれを決定する方法であって、
実際の損傷又は推測される損傷の後、約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して、アッセイを実施して、グリア原線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）の試料中レベルと、ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）の試料中レベルとの組合せを測定するステップ；及び
ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１５ｐｇ／ｍＬ～約４０ｇ／ｍＬの基準レベルと等しく、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約７０ｐｇ／ｍＬ～約１５０ｐｇ／ｍＬの基準レベルと等しい場合に、対象が、ＴＢＩを負っている可能性が、そうでない可能性より高いと決定するステップ
を含む方法。
【０６３５】
条項８４．試料が、損傷後、約０～約４時間以内、損傷後、約４時間～約８時間以内、損傷後、約８時間～約１２時間以内、損傷後、約１２時間～約１６時間以内、損傷後、約１６時間～約２０時間以内、損傷後、約２０時間～約２４時間以内、損傷後、約２４時間～約２８時間以内、損傷後、約２４時間～約４８時間以内、損傷後、約２８時間～約３２時間以内、損傷後、約３２時間～約３６時間以内、損傷後、約３６時間～約４０時間以内、損傷後、約４０時間～約４４時間以内、又は損傷後、４４～約４８時間以内に、対象から得られる、条項８３に記載の方法。
【０６３６】
条項８５．（ａ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約１０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約６０ｐｇ／ｍＬである；（ｂ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約１５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約７０ｐｇ／ｍＬである；（ｃ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約１５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約９０ｐｇ／ｍＬである；（ｄ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約１５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約１５０ｐｇ／ｍＬである；（ｅ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約２０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約６０ｐｇ／ｍＬである；（ｆ）ＧＦＡＰの

基準レベルが、約３０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約７０ｐｇ／ｍＬである；又は（ｇ）ＧＦＡＰの基準レベルが、約３０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約１１０ｐｇ／ｍＬである、条項８３又は８４に記載の方法。

【０６３７】

条項８６．（ａ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルが、約１５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、約７０ｐｇ／ｍＬである；（ｂ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルが、約３０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、約７０ｐｇ／ｍＬである；（ｃ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルが、約４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、約１００ｐｇ／ｍＬである；（ｄ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルが、約１５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、約９０ｐｇ／ｍＬである；（ｅ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルが、約１５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、約１５０ｐｇ／ｍＬである；（ｆ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルが、約３０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、約１１０ｐｇ／ｍＬである；（ｇ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルが、約１０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、約６０ｐｇ／ｍＬである；（ｈ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルが、約２０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、約６０ｐｇ／ｍＬである；又は（ｉ）試料が、実際の損傷又は推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ、ＧＦＡＰのレベルが、約３０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１のレベルが、約１１０ｐｇ／ｍＬである、条項８３又は８４に記載の方法。

【０６３８】

条項８７．ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約９０％以上の感度及び約３５％以上の特異度を有するアッセイにより決定される、条項８３～８６に記載の方法。

【０６３９】

条項８８．試料が、損傷後、約４時間～約１６時間以内に、対象から得られる、条項８３～８７のいずれか一項に記載の方法。

【０６４０】

条項８９．アッセイが、ＧＦＡＰ又はＵＣＨ－Ｌ１を、個別に測定又は検出するアッセイと比較して、少なくとも３％高い感度及び少なくとも１７％高い特異度を有する、条項８３～８８のいずれかに記載の方法。

【０６４１】

条項９０．（ａ）試料が、損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルが、約３０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約１１０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイが、９２％以上の感度及び９９％以上の特異度を有する；

（ｂ）試料が、損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルが、約３０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約１１０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイが、９０％以上の感度及び９９％以上の特異度を有する；

（ｃ）試料が、損傷の後、約４時間～約８時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルが、約４０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約１００ｐｇ／ｍＬであり；アッセイが、９０％以上の感度及び９４％以上の特異度を有する；

（ｄ）試料が、損傷の後、約８時間～約１２時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルが、約１５ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約１５０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイが、９５％以上の感度及び８２％以上の特異度を有する；又は

（ｅ）試料が、損傷の後、約１２時間～約１６時間以内に、対象から得られ；ＧＦＡＰの基準レベルが、約２０ｐｇ／ｍＬであり、ＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約６０ｐｇ／ｍＬであり；アッセイが、９５％以上の感度及び６５％以上の特異度を有する、
条項８３～８９のいずれかに記載の方法。
【０６４２】
条項９１．頭部への損傷を負った、又は負った可能性があるヒト対象に対して、頭部核磁気共鳴イメージング（ＭＲＩ）手順を実施するのかどうかの決定の一助となる又はこれを決定する方法であって、
実際の損傷又は推測される損傷の後、約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して、アッセイを実施して、グリア原線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）の試料中レベルと、ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）の試料中レベルとの組合せを測定するステップ；及び
（ａ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１５ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満であり、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約５０ｐｇ／ｍＬの基準レベル未満である場合に、対象が、ＭＲＩ手順を必要としないと決定するステップ；又は
（ｂ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１５ｐｇ／ｍＬ～約１０００ｇ／ｍＬの基準レベルと等しく、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約５０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｇ／ｍＬの基準レベルと等しい場合に、対象が、ＭＲＩ手順を必要とする可能性が、そうでない可能性より高いと決定するステップ；又は
（ｃ）ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約１０００ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高く、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約２０００ｐｇ／ｍＬの基準レベルより高い場合に、対象が、ＭＲＩ手順を必要とする可能性が、そうでない可能性より高いと決定するステップ
を含む方法。
【０６４３】
条項９２．対象が、アッセイが実施された後において、ＭＲＩを受けており、対象が、ＭＲＩ結果に基づき、ＴＢＩを有すると推測される、条項９１に記載の方法。
【０６４４】
条項９３．ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、陰性のＭＲＩ結果と相関する、条項９１に記載の方法。
【０６４５】
条項９４．試料が、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約０～約４時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約１６時間～約２０時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約２０時間～約２４時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約２４時間～約２８時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約２４時間～約４８時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約２８時間～約３２時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約３２時間～約３６時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約３６時間～約４０時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約４０時間～約４４時間以内、又は実際の損傷若しくは推測される損傷の後、４４～約４８時間以内に、対象から得られる、条項９１～９３のいずれかに記載の方法。
【０６４６】
条項９５．ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約８０％～約９８％の感度及び約３０％～約８５％の特異度を有するアッセイにより決定される、条項９１～９４のいずれかに記載の方法。
【０６４７】
条項９６．対象が、アッセイが実施される前に、陰性のＣＴスキャン結果受けている、条項９１～９５のいずれかに記載の方法。

【０６４８】
条項９７．頭部損傷を負った、又は負った可能性があるヒト対象の転帰を予測する一助となる、又は予測するための方法であって、
実際の損傷又は推測される損傷の後、約４８時間以内に、対象から得られた試料に対して、アッセイを実施して、グリア原線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）の試料中レベルと、ユビキチンカルボキシ末端ヒドロラーゼＬ１（ＵＣＨ－Ｌ１）の試料中レベルとの組合せを測定又は検出するステップ；及び
ＧＦＡＰの試料中レベルが、ＧＦＡＰの、約８０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｇ／ｍＬの基準レベルと等しく、ＵＣＨ－Ｌ１の試料中レベルが、ＵＣＨ－Ｌ１の、約１３０ｐｇ／ｍＬ～約２０００ｐｇ／ｍＬの基準レベルと等しい場合に、対象について、思わしくない転帰を予測する可能性が、そうでない可能性より高いステップ
を含む方法。
【０６４９】
条項９８．対象が、アッセイが実施された後において、ＧＯＳＥ（Ｅｘｔｅｎｄｅｄ Ｇｌａｓｇｏｗ Ｏｕｔｃｏｍｅ Ｓｃａｌｅ）スコアを受けており、対象が、ＧＯＳＥスコアに基づき、転帰不良を有すると推測される、条項９７に記載の方法。
【０６５０】
条項９９．ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、１のＧＯＳＥスコアに基づき、転帰不良を有する対象と相関する、条項９７に記載の方法。
【０６５１】
条項１００．試料が、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約０～約４時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約４時間～約８時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約８時間～約１２時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約１２時間～約１６時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約１６時間～約２０時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約２０時間～約２４時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約２４時間～約２８時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約２４時間～約４８時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約２８時間～約３２時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約３２時間～約３６時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約３６時間～約４０時間以内、実際の損傷若しくは推測される損傷の後、約４０時間～約４４時間以内、又は実際の損傷若しくは推測される損傷の後、４４～約４８時間以内に、対象から得られる、条項９７～９９のいずれかに記載の方法。
【０６５２】
条項１０１．ＧＦＡＰの基準レベル及びＵＣＨ－Ｌ１の基準レベルが、約８０％～約９７％の感度及び約３０％～約９５％の特異度を有するアッセイにより決定される、条項９７～１００のいずれかに記載の方法。
【０６５３】
条項１０２．ＧＦＡＰのレベルを測定するステップが、
（ａ）試料を、同時に、又は逐次的に、任意の順序において、
（１）ＧＦＡＰ上又はＧＦＡＰ断片上のエピトープに結合して、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原複合体を形成する、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体、及び
（２）検出可能な標識を含み、ＧＦＡＰ捕捉抗体が結合していないＧＦＡＰ上のエピトープに結合して、ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体を形成する、少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体
と接触させて、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体を形成すること；並びに
（ｂ）ＧＦＡＰの、試料中量又は試料中濃度を、少なくとも１つのＧＦＡＰ捕捉抗体－ＧＦＡＰ抗原－少なくとも１つのＧＦＡＰ検出抗体複合体内の検出可能な標識により発生したシグナルに基づき測定すること

を含む、条項６３～１０１のいずれか一項に記載の方法。
【０６５４】
条項１０３．ＵＣＨ－Ｌ１のレベルを測定するステップが、
（ａ）試料を、同時に、又は逐次的に、任意の順序において、
（１）ＵＣＨ－Ｌ１上又はＵＣＨ－Ｌ１断片上のエピトープに結合して、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原複合体を形成する、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体、及び
（２）検出可能な標識を含み、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体が結合していないＵＣＨ－Ｌ１上のエピトープに結合して、ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体を形成する、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体
と接触させて、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体を形成すること；並びに
（ｂ）ＵＣＨ－Ｌ１の、試料中量又は試料中濃度を、少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１捕捉抗体－ＵＣＨ－Ｌ１抗原－少なくとも１つのＵＣＨ－Ｌ１検出抗体複合体内の検出可能な標識により発生したシグナルに基づき測定すること
を含む、条項６３～１０２のいずれか一項に記載の方法。
【０６５５】
条項１０４．試料が、全血試料、血清試料、脳脊髄液試料及び血漿試料からなる群から選択される、条項６３～１０３のいずれか一項に記載の方法。
【０６５６】
条項１０５．試料が：
（ａ）対象が、物理的振盪、閉鎖性頭部外傷若しくは開放性頭部外傷をもたらす外部の機械的力若しくは他の力、１回以上の転倒、爆発若しくは爆破による鈍的衝撃により引き起こされた頭部への損傷又は他の種類の鈍力外傷を負った後において；
（ｂ）対象が、化学物質、毒素又は化学物質と毒素との組合せを摂取した、又はこれらへと曝露された後において；又は
（ｃ）自己免疫疾患、代謝性障害、脳腫瘍、低酸素症、ウイルス、髄膜炎、水頭症又はこれらの組合せを患う対象から
得られる、条項６３～１０４のいずれか一項に記載の方法。
【０６５７】
条項１０６．対象の臨床状態、対象の検査値、軽度、中等度又は重度の外傷性脳損傷の罹患についての対象の分類、対象による、低レベル又は高レベルのＵＣＨ－Ｌ１の呈示、及び前記対象が、頭部への損傷を負った可能性がある、任意の事象のタイミングからなる群から選択される因子に関わらず、任意の対象に対して実行されうる、条項６３～１０５のいずれか一項に記載の方法。
【０６５８】
条項１０７．対象を、外傷性脳損傷処置により処置するステップをさらに含む、条項６３～１０６のいずれか一項に記載の方法。
【０６５９】
条項１０８．対象をモニタリングするステップをさらに含む、条項６３～１０７のいずれか一項に記載の方法。
【０６６０】
条項１０９．試料が、対象が整形外科損傷を負った後において得られる、条項６３～１０７のいずれか一項に記載の方法。
【０６６１】
条項１１０．試料が、（ａ）全血試料；（ｂ）血清試料又は（ｃ）血漿試料である、条項６３～１０９のいずれか一項に記載の方法。
【０６６２】
条項１１１．アッセイが、（ａ）イムノアッセイ；（ｂ）臨床化学アッセイ又は（ｃ）単一分子検出アッセイである、条項６３～１１０のいずれか一項に記載の方法。

【図面】

【図１Ａ】

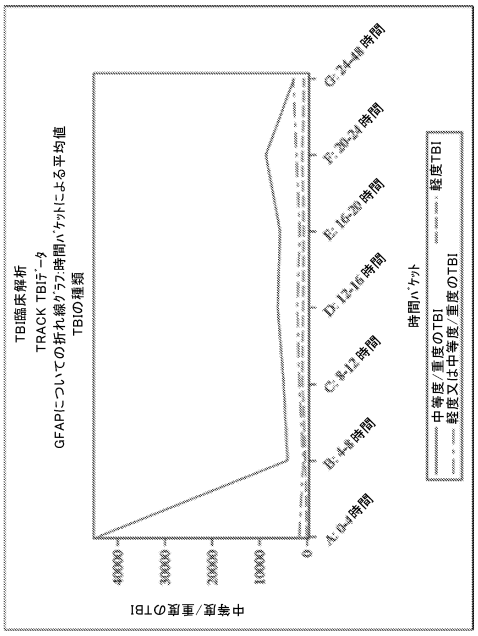

FIG. 1A

【図１Ｂ】

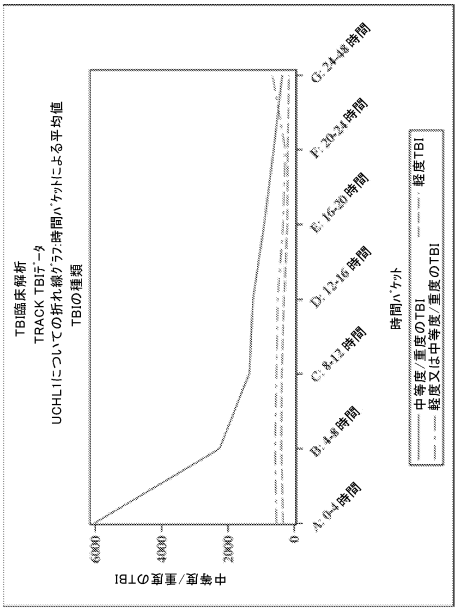

FIG. 1B

【図２Ａ】

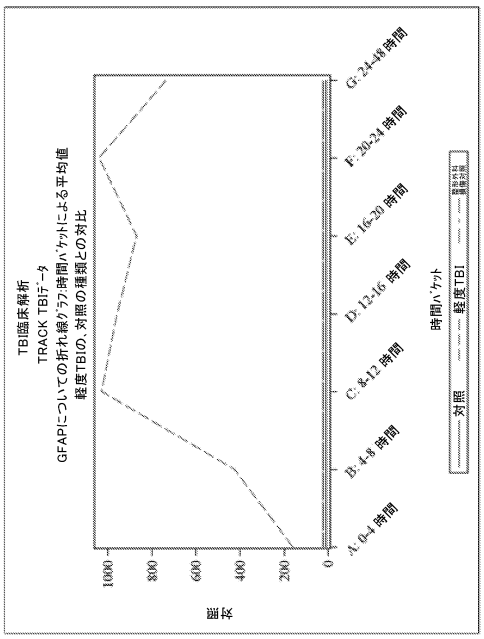

FIG. 2A

【図２Ｂ】

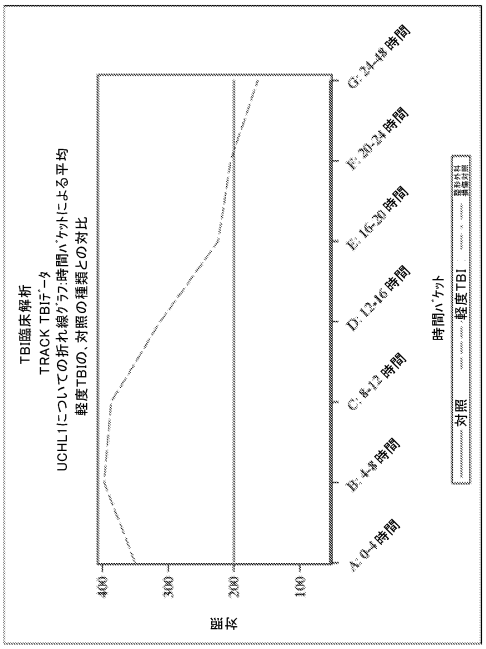

FIG. 2B

【図３Ａ】

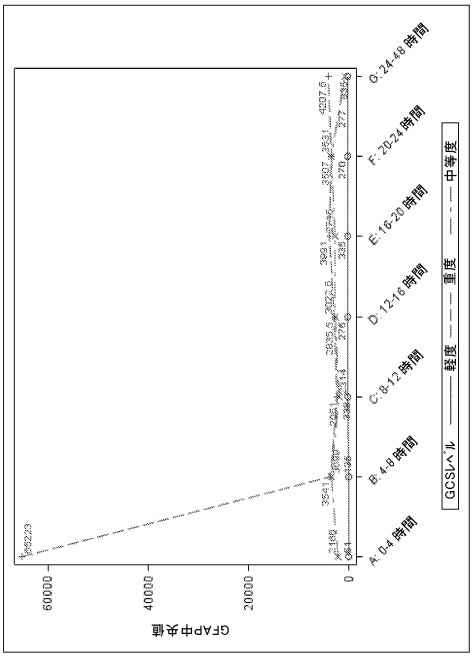

FIG. 3A

【図３Ｂ】

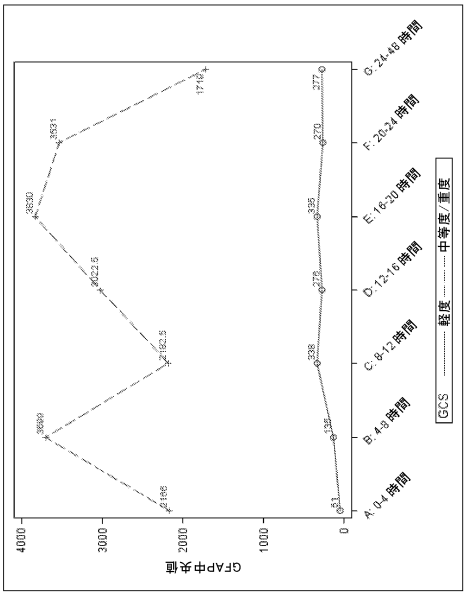

FIG. 3B

【図３Ｃ】

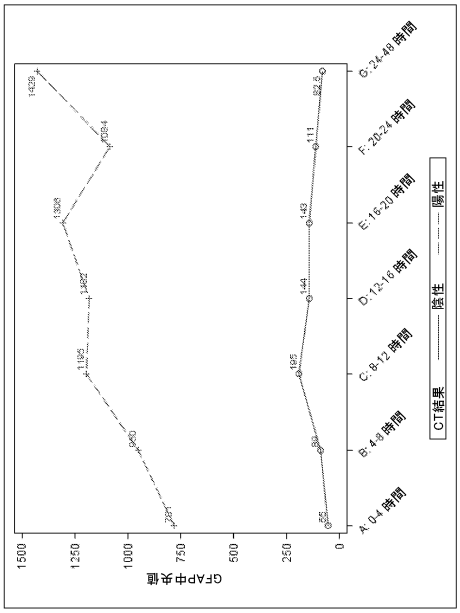

FIG. 3C

【図３Ｄ】

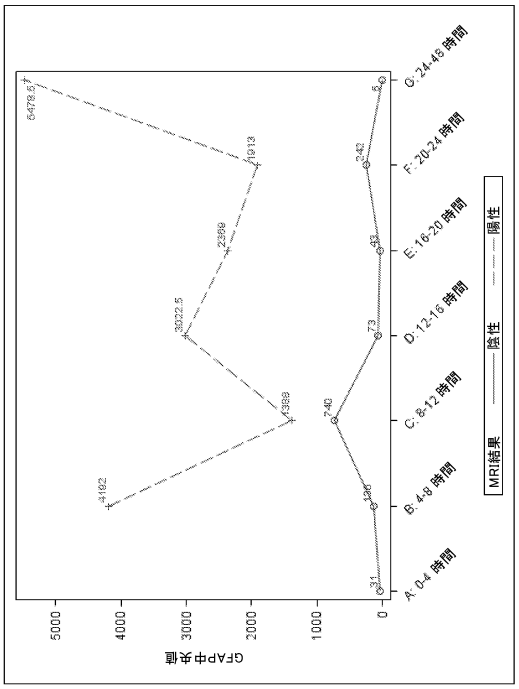

FIG. 3D

【図４Ａ】

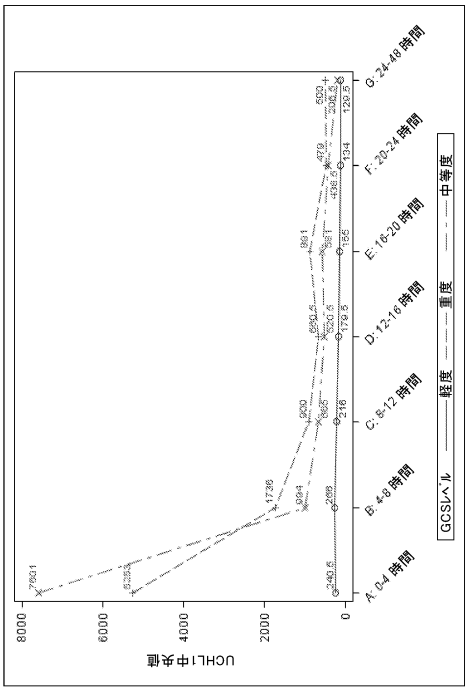

FIG. 4A

【図４Ｂ】

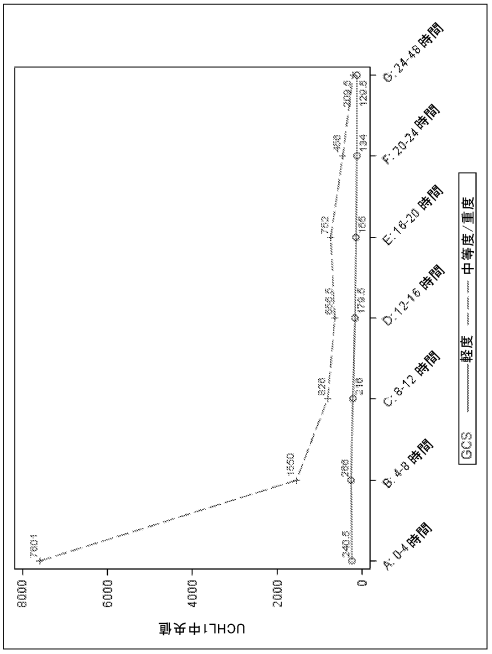

FIG. 4B

【図４Ｃ】

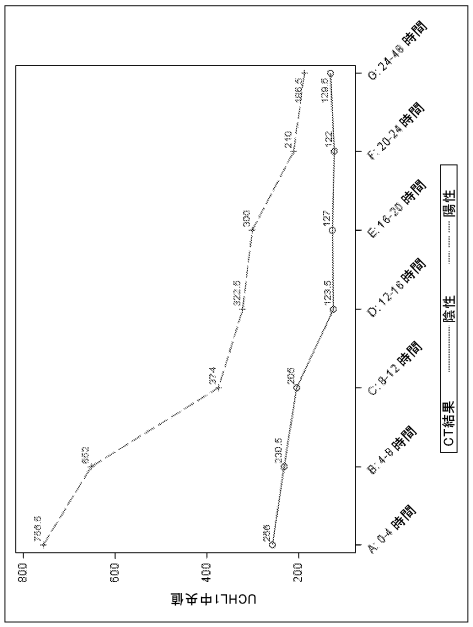

FIG. 4C

【図４Ｄ】

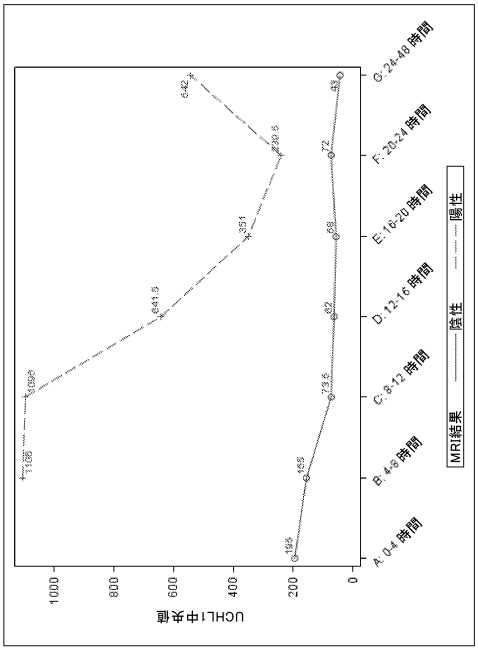

FIG. 4D

【図５Ａ】

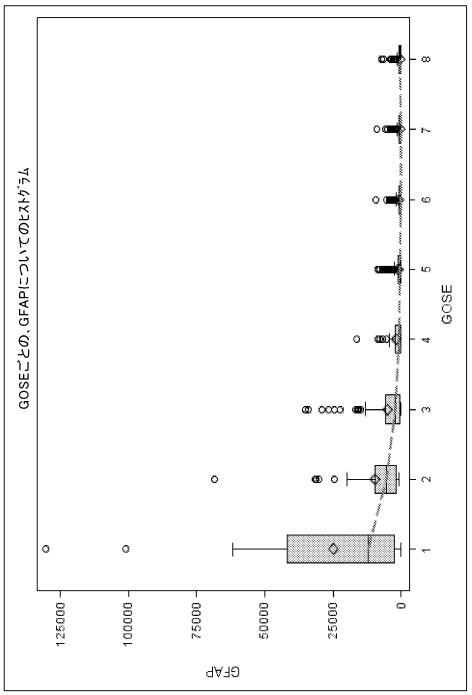

FIG. 5A

【図５Ｂ】

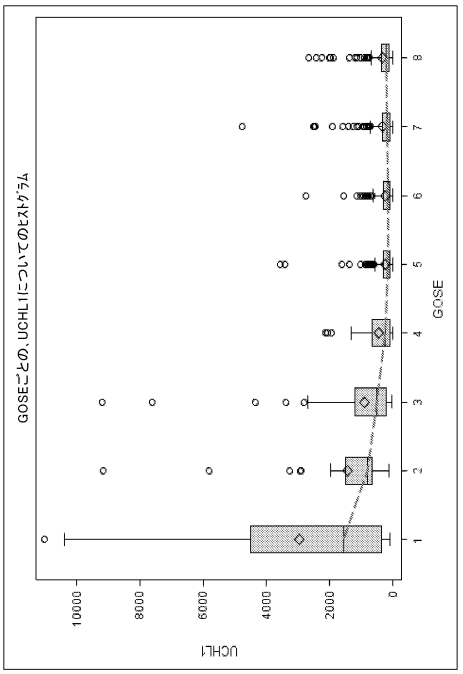

FIG. 5B

【図６】

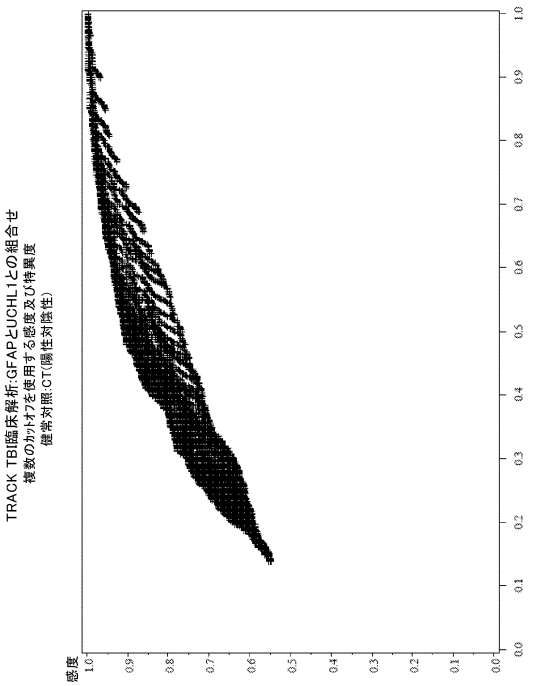

FIG. 6

【図７】

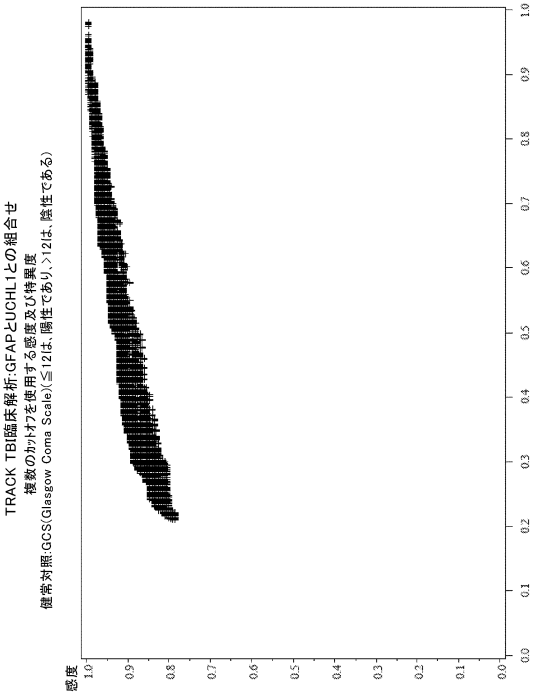

FIG. 7

【図８】

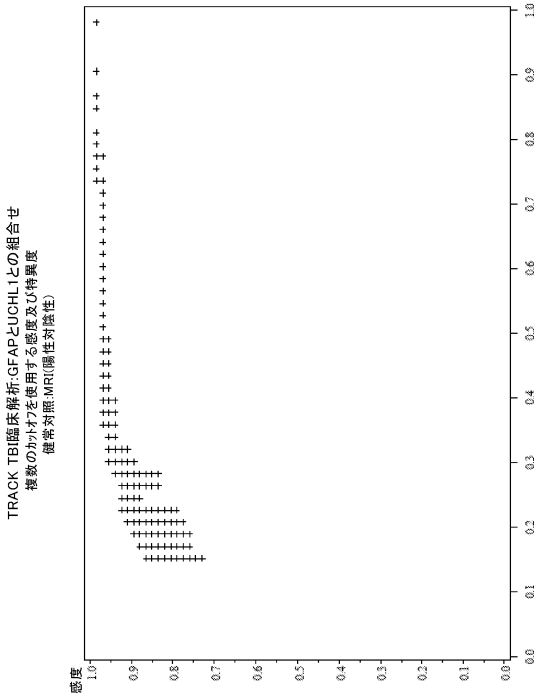

FIG. 8

【図９】

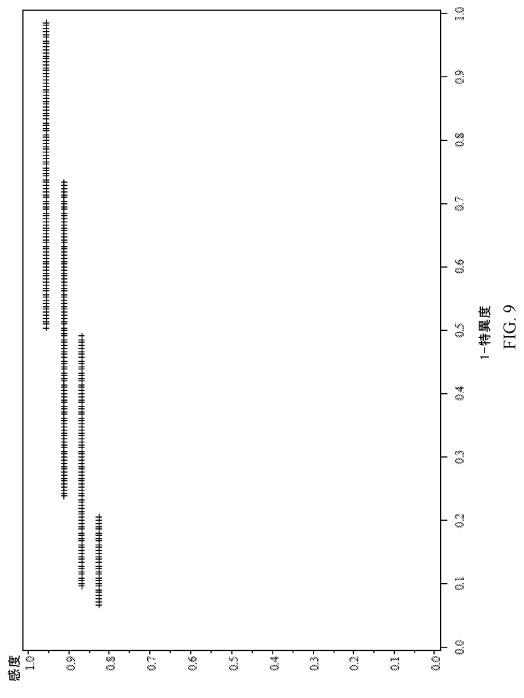

FIG. 9

【図１０】

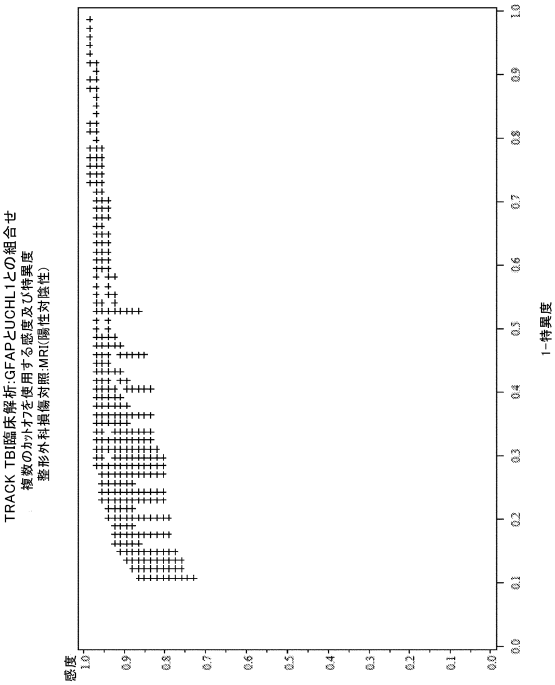

FIG. 10

【図１１】

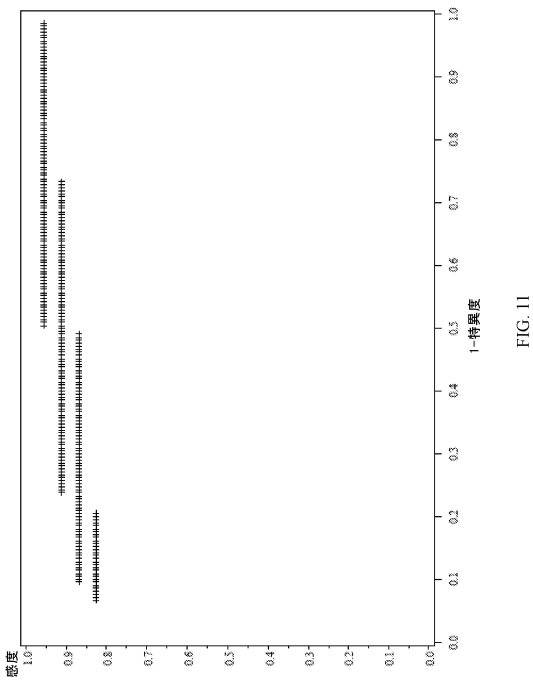

FIG. 11

【配列表】

0007379165000001.app

フロントページの続き

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/663,811
(32)優先日　平成30年4月27日(2018.4.27)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/667,227
(32)優先日　平成30年5月4日(2018.5.4)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
・ロード・１００、アボット・ラボラトリーズ気付
(72)発明者　チャンドラン，ラージ
アメリカ合衆国、イリノイ・６００６４、アボット・パーク、アボット・パーク・ロード・１００、アボット・ラボラトリーズ気付
(72)発明者　マリノ，ジェイミー
アメリカ合衆国、イリノイ・６００６４、アボット・パーク、アボット・パーク・ロード・１００、アボット・ラボラトリーズ気付
審査官　高田 亜希
(56)参考文献　特表２０１２－５００３８８（ＪＰ，Ａ）
特開２０１７－１２５８５３（ＪＰ，Ａ）
特表２０１６－５３３４９９（ＪＰ，Ａ）
PAPA, L. et al.，Time Course and Diagnostic Accuracy of Glial and Neuronal Blood Biomarkers GFAP and UCH-L1 in a Large Cohort of Trauma Patients With and Without Mild Traumatic Brain Injury，JAMA Neurology，2016年05月，vol.73, No.5，pp.551-560
KOU, Z. et al.，Combining Biochemical and Imaging Markers to Improve Diagnosis and Characterization of Mild Traumatic Brain Injury in the Acute Setting: Results from a Pilot Study，PLOS ONE，2013年11月，Vol.8, No.11，pp.1-14
DOUGLAS-ESCOBAR M. V. et al.，UCH-L1 and GFAP serum levels in neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy: a single center pilot study，frontiers in NEUROLOGY，2014年12月19日，Vol.5, Article 273，pp.1-7
(58)調査した分野　(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ｇ０１Ｎ　３３／４８　－　３３／９８
Ｃ０７Ｋ　１６／１８
Ｃ０７Ｋ　１６／４０
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）