

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】平成27年8月6日(2015.8.6)

【公表番号】特表2014-524744(P2014-524744A)

【公表日】平成26年9月25日(2014.9.25)

【年通号数】公開・登録公報2014-052

【出願番号】特願2014-520368(P2014-520368)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 0 7 K	16/28	(2006.01)
C 1 2 N	1/15	(2006.01)
C 1 2 N	1/19	(2006.01)
C 1 2 N	1/21	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
C 0 7 K	14/705	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 K	39/395	(2006.01)
G 0 1 N	33/574	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	A
C 0 7 K	16/28	Z N A
C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/00	1 0 1
C 1 2 N	5/00	1 0 3
C 1 2 N	5/00	1 0 2
C 0 7 K	14/705	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 K	39/395	T
G 0 1 N	33/574	A

【手続補正書】

【提出日】平成27年6月19日(2015.6.19)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

葉酸受容体アルファ(FR)に特異的な単離抗体またはその抗原結合フラグメントであって、

配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1、

配列番号27のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2、

配列番号28のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3、

配列番号30のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1、

配列番号31のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2、および

配列番号32のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3

を含むことを特徴とする単離抗体または抗原結合フラグメント。

【請求項 2】

前記抗体はマウス抗体、キメラ抗体又はヒト化抗体であることを特徴とする請求項 1 に記載の単離抗体または抗原結合フラグメント。

【請求項 3】

配列番号 29 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域および/または配列番号 33 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を有することを特徴とする請求項 1 に記載の単離抗体または抗原結合フラグメント。

【請求項 4】

葉酸受容体アルファ (F R ) に特異的な抗体またはその抗原結合フラグメントをコードする単離ポリヌクレオチド配列であって、

前記コードされる抗体の軽鎖 C D R 1 が、配列番号 26 のアミノ酸配列を含み、  
前記コードされる抗体の軽鎖 C D R 2 が、配列番号 27 のアミノ酸配列を含み、  
前記コードされる抗体の軽鎖 C D R 3 が、配列番号 28 のアミノ酸配列を含み、  
前記コードされる抗体の重鎖 C D R 1 が、配列番号 30 のアミノ酸配列を含み、  
前記コードされる抗体の重鎖 C D R 2 が、配列番号 31 のアミノ酸配列を含み、および  
前記コードされる抗体の重鎖 C D R 3 が、配列番号 32 のアミノ酸配列を含む  
ことを特徴とする単離ポリヌクレオチド。

【請求項 5】

配列番号 61 のヌクレオチド配列および配列番号 65 のヌクレオチド配列を含むことを特徴とする、請求項 4 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 6】

配列番号 58 の核酸配列、配列番号 59 の核酸配列、配列番号 60 の核酸配列、配列番号 62 の核酸配列、配列番号 63 の核酸配列、および配列番号 64 の核酸配列を含むことを特徴とする請求項 4 に記載の単離ポリヌクレオチド。

【請求項 7】

請求項 5 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の単離ポリヌクレオチドを含むことを特徴とするベクター。

【請求項 8】

請求項 7 に記載のベクターを含むことを特徴とする遺伝子組み換え細胞。

【請求項 9】

前記細胞は真核細胞、植物細胞、または細菌であることを特徴とする請求項 8 に記載の遺伝子組み換え細胞。

【請求項 10】

A T C C に寄託され受託番号 P T A - 1 1 8 8 5 を有する細胞株によって產生されることを特徴とする、葉酸受容体アルファ (F R ) に特異的な単離抗体。

【請求項 11】

生体試料中の葉酸受容体アルファ (F R ) または F R を発現する癌を検出する方法であって、請求項 1 もしくは 10 に記載の抗体またはその抗原結合フラグメントに前記試料を曝して、葉酸受容体アルファ (F R ) を検出することを特徴とする方法。

【請求項 12】

前記生体試料は、ヒト、齧歯類、非ヒト靈長類、ウサギ、または、犬に由来することを特徴とする請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

対象者における葉酸受容体アルファを発現する癌を診断する方法であって、

- a . 前記対象者の生体試料を、
  - i . 請求項 1 もしくは 10 に記載の抗体もしくはその抗原結合フラグメントに、または
    - ii . 請求項 1 もしくは 10 に記載の抗体が結合する、葉酸受容体アルファ (F R ) のエピトープに結合することが可能な抗体もしくはその抗原結合フラグメントに曝すこと

と；

- b . 前記試料に存在する葉酸受容体アルファ ( F R ) の量を定量化すること；
- c . 前記試料に存在する葉酸受容体アルファ ( F R ) の量を既知の基準と比較すること；および
- d . 前記対象者の葉酸受容体アルファ ( F R ) レベルが、癌に関連する葉酸受容体アルファ ( F R ) のレベルの範囲に入るかを判断することを含むことを特徴とする方法。

【請求項 14】

前記対象者の腺癌細胞が葉酸受容体アルファを発現することが認められることは、前記腺癌細胞が葉酸受容体アルファを発現しない場合に比べて、前記対象者の 5 年生存率が改善された可能性が高いことを示すことを特徴とする請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

対象者における葉酸受容体アルファを発現する癌を監視する方法であつて、

- a . 前記対象者の生体試料を、
- i . 請求項 1 もしくは 10 に記載の抗体もしくはその抗原結合フラグメントに、または

i i . 請求項 1 もしくは 10 に記載の抗体が結合する、葉酸受容体アルファ ( F R ) のエピトープに結合することが可能な抗体もしくはその抗原結合フラグメントに曝すこと；

b . 前記抗体またはその抗原結合フラグメントが結合した、前記試料に存在する葉酸受容体アルファ ( F R ) の量を定量化すること；

c . 前記試料に存在する葉酸受容体アルファ ( F R ) の量を、

i . 既知の基準、または

i i . 前記対象者からより早い時点に得た生体試料のいずれかと比較すること；および

d . 前記対象者の葉酸受容体アルファ ( F R ) レベルが、癌の進行、退行、または安定を示すかを判断することを含むことを特徴とする方法。

【請求項 16】

前記生体試料は、尿、血液、血清、血漿、唾液、腹水、循環細胞、循環癌細胞、組織に関連しない細胞、組織、手術摘出癌組織、生検、細針吸引試料、または、組織プレパラートに由来することを特徴とする請求項 11 ~ 15 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 17】

前記癌は、乳癌、甲状腺癌、結腸直腸癌、子宮内膜癌、卵管癌、または卵巣癌であることを特徴とする請求項 13 に記載の方法。

【請求項 18】

前記癌は肺癌であることを特徴とする請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記肺癌は腺癌であることを特徴とする請求項 18 に記載の方法。

【請求項 20】

前記既知の基準は、

a 瘤がないと確認された対象者に由来する葉酸受容体アルファ ( F R ) レベル、または、既知の濃度の葉酸受容体アルファタンパクの調製物、

b 早期ステージにある葉酸受容体アルファを発現する癌を有すると確認された対象者に由来する F R レベル、

c 中期ステージにある葉酸受容体アルファを発現する癌を有すると確認された対象者に由来する F R レベル、または

d 後期ステージにある葉酸受容体アルファを発現する癌を有すると確認された対象者に由来する F R レベル

を含むことを特徴とする請求項 13 に記載の方法。

## 【請求項 2 1】

前記癌は、乳癌、甲状腺癌、結腸直腸癌、子宮内膜癌、卵管癌、卵巣癌、または肺癌であることを特徴とする請求項 2 0 に記載の方法。

## 【請求項 2 2】

請求項 1 3 ~ 2 1 のいずれか 1 項に記載の方法であって、

前記対象者の生体試料を

i . 請求項 1 もしくは 1 0 に記載の抗体もしくはその抗原結合フラグメントに、または

i i . 請求項 1 もしくは 1 0 に記載の抗体が結合する、葉酸受容体アルファ ( F R ) のエピトープに結合することが可能な抗体もしくはその抗原結合フラグメントに曝すことは、

さらに、前記対象者の前記生体試料を、

i i i . 請求項 1 に記載の抗体、

i v . 請求項 1 0 に記載の抗体、

v . 葉酸受容体アルファ ( F R ) に特異的な単離抗体またはその抗原結合フラグメントであって、配列番号 1 0 のアミノ酸配列を有する軽鎖 C D R 1 、配列番号 1 1 のアミノ酸配列を有する軽鎖 C D R 2 、配列番号 1 2 のアミノ酸配列を有する軽鎖 C D R 3 、配列番号 1 4 のアミノ酸配列を有する重鎖 C D R 1 、配列番号 1 5 のアミノ酸配列を有する重鎖 C D R 2 、および配列番号 1 6 のアミノ酸配列を有する重鎖 C D R 3 を含むことを特徴とする単離抗体または抗原結合フラグメント、

v i . A T C C に寄託され受託番号 P T A - 1 1 8 8 4 を有する細胞株によって產生されることを特徴とする、葉酸受容体アルファ ( F R ) に特異的な単離抗体、

v i i . 葉酸受容体アルファ ( F R ) に特異的な単離抗体またはその抗原結合フラグメントであって、配列番号 1 8 のアミノ酸配列を有する軽鎖 C D R 1 、配列番号 1 9 のアミノ酸配列を有する軽鎖 C D R 2 、配列番号 2 0 のアミノ酸配列を有する軽鎖 C D R 3 、配列番号 2 2 のアミノ酸配列を有する重鎖 C D R 1 、配列番号 2 3 のアミノ酸配列を有する重鎖 C D R 2 、および配列番号 2 4 のアミノ酸配列を有する重鎖 C D R 3 を含むことを特徴とする単離抗体または抗原結合フラグメント、

v i i i . A T C C に寄託され受託番号 P T A - 1 1 8 8 6 を有する細胞株によって產生されることを特徴とする、葉酸受容体アルファ ( F R ) に特異的な単離抗体、

i x . 葉酸受容体アルファ ( F R ) に特異的な単離抗体またはその抗原結合フラグメントであって、配列番号 2 のアミノ酸配列を有する軽鎖 C D R 1 、配列番号 3 のアミノ酸配列を有する軽鎖 C D R 2 、配列番号 4 のアミノ酸配列を有する軽鎖 C D R 3 、配列番号 6 のアミノ酸配列を有する重鎖 C D R 1 、配列番号 7 のアミノ酸配列を有する重鎖 C D R 2 、および配列番号 8 のアミノ酸配列を有する重鎖 C D R 3 を含むことを特徴とする単離抗体または抗原結合フラグメント、

x . A T C C に寄託され受託番号 P T A - 1 1 8 8 7 を有する細胞株によって產生されることを特徴とする、葉酸受容体アルファ ( F R ) に特異的な単離抗体、

x i . i i i ) 、 i v ) 、 v ) 、 v i ) 、 v i i ) 、 v i i i ) 、 i x ) または x ) のいずれか 1 つに記載の抗体が結合する、葉酸受容体アルファ ( F R ) のエピトープに結合することが可能な抗体もしくはその抗原結合フラグメント

から選択される第 2 の抗体またはその抗原結合フラグメントに曝すことを含むことを特徴とする方法。

## 【請求項 2 3】

前記第 2 の抗体は第 1 の抗体とは異なることを特徴とする請求項 2 2 に記載の方法。

## 【請求項 2 4】

前記対象者の前記生体試料は、請求項 1 もしくは 1 0 に記載の抗体もしくはその抗原結合フラグメントに曝され、次いで、

a . 葉酸受容体アルファ ( F R ) に特異的な単離抗体またはその抗原結合フラグメントであって、配列番号 1 0 のアミノ酸配列を有する軽鎖 C D R 1 、配列番号 1 1 のアミノ酸配列を有する軽鎖 C D R 2 、配列番号 1 2 のアミノ酸配列を有する軽鎖 C D R 3 、配列

番号 14 のアミノ酸配列を有する重鎖 C D R 1 、配列番号 15 のアミノ酸配列を有する重鎖 C D R 2 、および配列番号 16 のアミノ酸配列を有する重鎖 C D R 3 を含むことを特徴とする単離抗体または抗原結合フラグメント、

b . A T C C に寄託され受託番号 P T A - 1 1 8 8 4 を有する細胞株によって產生されることを特徴とする、葉酸受容体アルファ ( F R ) に特異的な単離抗体、

c . 葉酸受容体アルファ ( F R ) に特異的な単離抗体またはその抗原結合フラグメントであって、配列番号 18 のアミノ酸配列を有する軽鎖 C D R 1 、配列番号 19 のアミノ酸配列を有する軽鎖 C D R 2 、配列番号 20 のアミノ酸配列を有する軽鎖 C D R 3 、配列番号 22 のアミノ酸配列を有する重鎖 C D R 1 、配列番号 23 のアミノ酸配列を有する重鎖 C D R 2 、および配列番号 24 のアミノ酸配列を有する重鎖 C D R 3 を含むことを特徴とする単離抗体または抗原結合フラグメント、

d . A T C C に寄託され受託番号 P T A - 1 1 8 8 6 を有する細胞株によって產生されることを特徴とする、葉酸受容体アルファ ( F R ) に特異的な単離抗体、

e . 葉酸受容体アルファ ( F R ) に特異的な単離抗体またはその抗原結合フラグメントであって、配列番号 2 のアミノ酸配列を有する軽鎖 C D R 1 、配列番号 3 のアミノ酸配列を有する軽鎖 C D R 2 、配列番号 4 のアミノ酸配列を有する軽鎖 C D R 3 、配列番号 6 のアミノ酸配列を有する重鎖 C D R 1 、配列番号 7 のアミノ酸配列を有する重鎖 C D R 2 、および配列番号 8 のアミノ酸配列を有する重鎖 C D R 3 を含むことを特徴とする単離抗体または抗原結合フラグメント、

f . A T C C に寄託され受託番号 P T A - 1 1 8 8 7 を有する細胞株によって產生されることを特徴とする、葉酸受容体アルファ ( F R ) に特異的な単離抗体、

g . a ) 、 b ) 、 c ) 、 d ) 、 e ) または f ) の抗体が結合する、葉酸受容体アルファ ( F R ) のエピトープに結合することが可能な抗体もしくその抗原結合フラグメントに曝される

ことを特徴とする請求項 22 に記載の方法。

#### 【請求項 25】

前記対象者の癌の治療に続いて行われることを特徴とする請求項 15 ~ 21 のいずれか 1 項に記載の方法。

#### 【請求項 26】

前記抗体または抗体フラグメントは、標識されることを特徴とする請求項 11 ~ 25 のいずれか 1 項に記載の方法。

#### 【請求項 27】

前記標識は、放射性標識、蛍光標識、エピトープタグ、ビオチン、発色団標識、 E C L 標識、または酵素であることを特徴とする請求項 26 に記載の方法。

#### 【請求項 28】

前記曝される葉酸受容体アルファ ( F R ) は細胞に結合している、または結合していないことを特徴とする請求項 11 ~ 25 のいずれか 1 項に記載の方法。

#### 【請求項 29】

前記試料における葉酸受容体アルファ ( F R ) の存在は、ウエスタンプロット、免疫組織化学、フローサイトメトリー、ラジオイムノアッセイ、免疫沈降、電気化学発光免疫アッセイ ( E C L I A ) または E L I S A を使用して検出されることを特徴とする請求項 11 ~ 25 のいずれか 1 項に記載の方法。

#### 【請求項 30】

生体試料における葉酸受容体アルファ ( F R ) の存在を検出するためのキットであって、

i . 請求項 1 もしくは 10 に記載の少なくとも 1 つの抗体もしくはその抗原結合フラグメント、および / または、

i i . 請求項 10 に記載の抗体が結合する、葉酸受容体アルファ ( F R ) のエピトープに結合することが可能な抗体もしくはその抗原結合フラグメント；ならびに

使用しないときに前記抗体を収容するための容器、および、前記抗体の使用の指示

を含むことを特徴とするキット。

【請求項 3 1】

生体試料における葉酸受容体アルファ ( F R ) の存在を検出するためのキットであつて、

i . 請求項 1 もしくは 10 に記載の少なくとも 1 つの抗体もしくはその抗原結合フラグメント、および / または、

ii . 請求項 10 に記載の抗体が結合する、葉酸受容体アルファ ( F R ) のエピトープに結合することが可能な抗体もしくはその抗原結合フラグメントを含み、

前記含まれる抗体またはその抗原結合フラグメントが、固体支持体に貼付されていることを特徴とするキット。

【請求項 3 2】

生体試料における葉酸受容体アルファ ( F R ) の存在を検出するためのキットであつて、

i . 請求項 1 もしくは 10 に記載の少なくとも 1 つの抗体もしくはその抗原結合フラグメント、および / または、

ii . 請求項 10 に記載の抗体が結合する、葉酸受容体アルファ ( F R ) のエピトープに結合することが可能な抗体もしくはその抗原結合フラグメントを含み、

前記含まれる抗体またはその抗原結合フラグメントが、検出可能に標識されていることを特徴とするキット。

【請求項 3 3】

前記対象者の葉酸受容体アルファ ( F R ) レベルは、前記対象者が患う癌の種類を示すことを特徴とする請求項 13 ~ 14 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 4】

前記癌は肺腺癌または肺扁平上皮癌であることを特徴とする請求項 33 に記載の方法。

【請求項 3 5】

前記抗体は検出可能に標識されていることを特徴とする請求項 1 ~ 3 または 10 のいずれか 1 項に記載の単離抗体。

【請求項 3 6】

前記識別可能な標識は、放射性標識、蛍光標識、エピトープタグ、ビオチン、発色団標識、E C L 標識、または酵素であることを特徴とする請求項 35 に記載の抗体。

【請求項 3 7】

前記標識は、ルテニウム、<sup>111</sup>I n - D O T A 、<sup>111</sup>I n - ジエチレントリアミン 5 酢酸 ( D T P A ) 、ホースラディッシュペルオキシダーゼ、アルカリ性ホスファターゼおよびベータガラクトシダーゼ、またはポリヒスチジンであることを特徴とする請求項 36 に記載の抗体。

【請求項 3 8】

前記抗体または抗原結合フラグメントは、固体支持体に貼付されていることを特徴とする請求項 11 ~ 21 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 9】

請求項 13 ~ 14 のいずれか 1 項に記載の方法であつて、葉酸受容体アルファ ( F R ) を発現する腺癌を有する対象者の好ましい転帰を予測することをさらに含み、前記好ましい転帰は、5 年生存率が高くなることであると定義されることを特徴とする方法。