(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111108385 A
(43)申请公布日 2020.05.05

(21)申请号 201880057644.0

(22)申请日 2018.09.05

(30)优先权数据
62/554,532 2017.09.05 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2020.03.05

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2018/049529 2018.09.05

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2019/050935 EN 2019.03.14

(83)生物保藏信息
PTA-10772 2010.04.07
PTA-10773 2010.04.07
PTA-10774 2010.04.07
PTA-120197 2013.04.16

(71)申请人 伊缪诺金公司
地址 美国马萨诸塞州

(72)发明人 雷蒙德·徐
凯瑞·库尔姆-默德克

(74)专利代理机构 上海胜康律师事务所 31263
代理人 樊英如 邱晓敏

(51)Int.Cl.
G01N 33/53(2006.01)
G01N 33/566(2006.01)
G01N 33/68(2006.01)

权利要求书5页 说明书32页
序列表35页 附图4页

(54)发明名称

用于检测患者样品中的叶酸受体1的方法

(57)摘要

本发明总体上涉及用于检测样品中的人叶酸受体1的方法和试剂盒。进一步提供了人叶酸受体1的肽。

CN 111108385 A

1.一种检测样品中的人叶酸受体1(FOLR1)的方法,所述方法包括:

(a)用结合于固体载体的免疫捕集试剂捕集所述叶酸受体1(FOLR1);

(b)从所述固体载体洗脱FOLR1;

(c)消化所洗脱FOLR1;和

(d)对经消化FOLR1进行液相色谱法-质谱测定法(LC/MS)分析,其中所述FOLR1通过监测至少一种特征FOLR1肽的色谱分离和质谱测定响应来检测。

2.如权利要求1所述的方法,其中所述样品中FOLR1的水平通过所述LC/MS分析来定量。

3.如权利要求2所述的方法,其中所述样品中FOLR1的所述水平通过将所述样品中FOLR1的所述水平与FOLR1的参照水平进行比较来定量。

4.如权利要求1-3中任一项所述的方法,其中所述免疫捕集试剂包括结合FOLR1的抗体或抗原结合片段。

5.如权利要求4所述的方法,其中所述抗体或抗原结合片段与FOLR1的结合不由IMGN853与FOLR1的结合竞争性抑制。

6.如权利要求4所述的方法,其中所述抗体或抗原结合片段与FOLR1的结合不由huMov19与FOLR1的结合竞争性抑制。

7.如权利要求4所述的方法,其中所述抗体或抗原结合片段与FOLR1的结合不由第二抗体或抗原结合片段与FOLR1的结合竞争性抑制,其中所述第二抗体或抗原结合片段包含:具有SEQ ID NO:59的可变轻链(VL)互补决定区(CDR)-1;具有SEQ ID NO:60的VL CDR-2;具有SEQ ID NO:61的VL CDR-3;具有SEQ ID NO:62的可变重链(VH)CDR-1;具有SEQ ID NO:64的VH CDR-2;和具有SEQ ID NO:65的VH CDR-3。

8.如权利要求4所述的方法,其中所述抗体或抗原结合片段与FOLR1的结合不由第二抗体或抗原结合片段与FOLR1的结合竞争性抑制,其中所述第二抗体或抗原结合片段包含具有序列SEQ ID NO:56的可变重链(VH)和具有序列SEQ ID NO:57或SEQ ID NO:58的可变轻链(VL)。

9.如权利要求4所述的方法,其中所述抗体或抗原结合片段与FOLR1的结合不由第二抗体或抗原结合片段与FOLR1的结合竞争性抑制,其中所述第二抗体或抗原结合片段包含(i)重链,所述重链包含与由以PTA-10772交托给美国典型培养物保藏中心(ATCC)的质粒编码的重链的氨基酸序列相同的氨基酸序列,和(ii)轻链,所述轻链包含与由以PTA-10774交托给ATCC的质粒编码的轻链的氨基酸序列相同的氨基酸序列。

10.如权利要求4所述的方法,其中所述抗体或抗原结合片段与FOLR1的结合不由叶酸与FOLR1的结合抑制。

11.如权利要求4所述的方法,其中所述抗体是muFR1-9。

12.如权利要求4所述的方法,其中所述抗体是muFR1-13。

13.如权利要求4所述的方法,其中所述抗体或抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:1的可变重链(VH)互补决定区(CDR)-1;具有SEQ ID NO:2的VH CDR-2;具有SEQ ID NO:3的VH CDR-3;具有SEQ ID NO:13的可变轻链(VL)互补决定区(CDR)-1;具有SEQ IDNO:14的VL CDR-2和具有SEQ ID NO:15的VL CDR-3。

14.如权利要求4所述的方法,其中所述抗体或抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:4的可变重链(VH)互补决定区(CDR)-1;具有SEQ ID NO:5的VH CDR-2;具有SEQ ID NO:6的VH

CDR-3;具有SEQ ID NO:16的可变轻链(VL)互补决定区(CDR)-1;具有SEQ ID NO:17的VL CDR-2和具有SEQ ID NO:18的VL CDR-3。

15.如权利要求4所述的方法,其中所述抗体或抗原结合片段包含与序列SEQ ID NO:25具有至少90%同一性的可变重链(VH)和与序列SEQ ID NO:29具有至少90%同一性的可变轻链(VL)。

16.如权利要求4所述的方法,其中所述抗体或抗原结合片段包含与序列SEQ ID NO:25具有至少95%同一性的可变重链(VH)和与序列SEQ ID NO:29具有至少95%同一性的可变轻链(VL)。

17.如权利要求4所述的方法,其中所述抗体或抗原结合片段包含与序列SEQ ID NO:26具有至少90%同一性的可变重链(VH)和与序列SEQ ID NO:30具有至少90%同一性的可变轻链(VL)。

18.如权利要求4所述的方法,其中所述抗体或抗原结合片段包含与序列SEQ ID NO:26具有至少95%同一性的可变重链(VH)和与序列SEQ ID NO:30具有至少95%同一性的可变轻链(VL)。

19.如权利要求4所述的方法,其中所述抗体或抗原结合片段包含具有序列SEQ ID NO:25的可变重链(VH)和具有序列SEQ ID NO:29的可变轻链(VL)。

20.如权利要求4所述的方法,其中所述抗体或抗原结合片段包含具有序列SEQ ID NO:26的可变重链(VH)和具有序列SEQ ID NO:30的可变轻链(VL)。

21.如权利要求4所述的方法,其中所述抗体或抗原结合片段包含具有序列SEQ ID NO:33的重链和具有序列SEQ ID NO:37的轻链。

22.如权利要求4所述的方法,其中所述抗体或抗原结合片段包含具有序列SEQ ID NO:34的重链和具有序列SEQ ID NO:38的轻链。

23.如权利要求4所述的方法,其中所述抗体或抗原结合片段以约1.0nM至约10nM的Kd结合人FOLR1。

24.如权利要求4所述的方法,其中所述抗体或抗原结合片段以约0.5nM至约5nM的Kd结合人FOLR1。

25.如权利要求1-24中任一项所述的方法,其中所述固体载体包括质谱测定性免疫测定(MSIA)微柱。

26.如权利要求1-24中任一项所述的方法,其中所述固体载体包括磁性珠粒。

27.如权利要求1-26中任一项所述的方法,其中在从所述固体载体洗脱FOLR1之前,进行至少一个洗涤步骤。

28.如权利要求27所述的方法,其中在从所述固体载体洗脱FOLR1之前,进行两个或更多个洗涤步骤。

29.如权利要求27或28所述的方法,其中所述洗涤步骤包括使结合于所述固体载体的所述FOLR1与洗涤缓冲液、盐溶液和清洁剂接触。

30.如权利要求1-29中任一项所述的方法,其中用酸性溶液从所述固体载体洗脱FOLR1。

31.如权利要求30所述的方法,其中在消化所述FOLR1之前,使所述FOLR1还原和烷基化。

32.如权利要求1-31中任一项所述的方法,其中用胰蛋白酶/Lys-C消化FOLR1。

33.如权利要求1-32中任一项所述的方法,其中消化所述FOLR1会产生包含序列SEQ ID NO:42的肽。

34.如权利要求1-33中任一项所述的方法,其中消化所述FOLR1会产生包含序列SEQ ID NO:43的肽。

35.如权利要求1-34中任一项所述的方法,其中消化所述FOLR1会产生包含序列SEQ ID NO:44的肽。

36.如权利要求1-35中任一项所述的方法,其中消化所述FOLR1会产生包含序列SEQ ID NO:45的肽。

37.如权利要求1-36中任一项所述的方法,其中在LC/MS分析步骤时,选择和监测FOLR1的至少两种特征肽。

38.如权利要求1-37中任一项所述的方法,其中在LC/MS分析步骤时,选择和监测FOLR1的至少三种特征肽。

39.如权利要求1-38中任一项所述的方法,其中在LC/MS分析步骤时,选择和监测FOLR1的至少四种特征肽。

40.如权利要求39所述的方法,其中所述特征肽包括:

(a)包含序列SEQ ID NO:42的肽;

(b)包含序列SEQ ID NO:43的肽;

(c)包含序列SEQ ID NO:44的肽;和

(d)包含序列SEQ ID NO:45的肽。

41.如权利要求1-40中任一项所述的方法,其中所述样品包括体液。

42.如权利要求41所述的方法,其中所述体液是血浆。

43.如权利要求41所述的方法,其中所述体液是血清。

44.如权利要求41所述的方法,其中所述体液是腹水液。

45.如权利要求1-40中任一项所述的方法,其中所述样品包括外周血液样品。

46.如权利要求1-45中任一项所述的方法,其中所述样品从患有癌症的患者获得。

47.如权利要求46所述的方法,其中所述癌症选自由以下组成的组:卵巢癌、脑癌、乳腺癌、子宫癌、子宫内膜癌、胰腺癌、肾癌、肺癌和腹膜癌。

48.如权利要求47所述的方法,其中所述癌症是卵巢癌。

49.如权利要求1-48中任一项所述的方法,其中检测FOLR1不由存在于所述样品中的IMGN853抑制。

50.如权利要求1-48中任一项所述的方法,其中检测FOLR1不由存在于所述样品中的huMov19抑制。

51.如权利要求1-48中任一项所述的方法,其中检测FOLR1不由存在于所述样品中的抗体或抗原结合片段抑制,其中所述抗体或抗原结合片段包含:具有SEQ ID NO:59的可变轻链(VL)互补决定区(CDR)-1;具有SEQ ID NO:60的VL CDR-2;具有SEQ ID NO:61的VL CDR-3;具有SEQ ID NO:62的可变重链(VH)CDR-1;具有SEQ ID NO:64的VH CDR-2;和具有SEQ ID NO:65的VH CDR-3。

52.如权利要求1-48中任一项所述的方法,其中检测FOLR1不由存在于所述样品中的抗

体或抗原结合片段抑制,其中所述抗体或抗原结合片段包含具有序列SEQ ID NO:56的可变重链(VH)和具有序列SEQ ID NO:57或SEQ ID NO:58的可变轻链(VL)。

53.如权利要求1-48中任一项所述的方法,其中检测FOLR1不由存在于所述样品中的抗体或抗原结合片段抑制,其中所述抗体或抗原结合片段包含(i)重链,所述重链包含与由以PTA-10772交托给美国典型培养物保藏中心(ATCC)的质粒编码的重链的氨基酸序列相同的氨基酸序列,和(ii)轻链,所述轻链包含与由以PTA-10774交托给ATCC的质粒编码的轻链的氨基酸序列相同的氨基酸序列。

54.如权利要求1-53中任一项所述的方法,其中检测FOLR1不由存在于所述样品中的叶酸抑制。

55.如权利要求1-54中任一项所述的方法,所述方法能够检测样品中至少0.5ng/mL FOLR1。

56.如权利要求1-54中任一项所述的方法,所述方法能够检测样品中至少0.3ng/mL FOLR1。

57.如权利要求1-54中任一项所述的方法,所述方法能够检测样品中至少0.25ng/mL FOLR1。

58.如权利要求1-57中任一项所述的方法,其中信噪比是至少5。

59.如权利要求1-57中任一项所述的方法,其中信噪比是至少10。

60.如权利要求1-59中任一项所述的方法,其中所述FOLR1是脱落FOLR1。

61.一种肽,所述肽由序列SEQ ID NO:42组成。

62.一种肽,所述肽由序列SEQ ID NO:43组成。

63.一种肽,所述肽由序列SEQ ID NO:44组成。

64.一种肽,所述肽由序列SEQ ID NO:45组成。

65.一种试剂盒,所述试剂盒包括:结合FOLR1的免疫捕集试剂、消化试剂、以及至少一种选自由以下组成的组的肽:

(a)包含序列SEQ ID NO:42的肽;

(b)包含序列SEQ ID NO:43的肽;

(c)包含序列SEQ ID NO:44的肽;和

(d)包含序列SEQ ID NO:45的肽。

66.如权利要求65所述的试剂盒,其中所述免疫捕集试剂包括结合FOLR1的抗体或抗原结合片段。

67.如权利要求66所述的试剂盒,其中所述抗体是muFR1-9。

68.如权利要求66所述的试剂盒,其中所述抗体是muFR1-13。

69.如权利要求66所述的试剂盒,其中所述抗体或抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:1的可变重链(VH)互补决定区(CDR)-1;具有SEQ ID NO:2的VH CDR-2;具有SEQ ID NO:3的VH CDR-3;具有SEQ ID NO:13的可变轻链(VL)互补决定区(CDR)-1;具有SEQ ID NO:14的VL CDR-2和具有SEQ ID NO:15的VL CDR-3。

70.如权利要求66所述的试剂盒,其中所述抗体或抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:4的可变重链(VH)互补决定区(CDR)-1;具有SEQ ID NO:5的VH CDR-2;具有SEQ ID NO:6的VH CDR-3;具有SEQ ID NO:16的可变轻链(VL)互补决定区(CDR)-1;具有SEQ ID NO:17的VL

CDR-2和具有SEQ ID NO:18的VL CDR-3。

71.如权利要求66所述的试剂盒,其中所述抗体或抗原结合片段包含与序列SEQ ID NO:25具有至少90%同一性的可变重链(VH)和与序列SEQ ID NO:29具有至少90%同一性的可变轻链(VL)。

72.如权利要求66所述的试剂盒,其中所述抗体或抗原结合片段包含与序列SEQ ID NO:25具有至少95%同一性的可变重链(VH)和与序列SEQ ID NO:29具有至少95%同一性的可变轻链(VL)。

73.如权利要求66所述的试剂盒,其中所述抗体或抗原结合片段包含与序列SEQ ID NO:26具有至少90%同一性的可变重链(VH)和与序列SEQ ID NO:30具有至少90%同一性的可变轻链(VL)。

74.如权利要求66所述的试剂盒,其中所述抗体或抗原结合片段包含与序列SEQ ID NO:26具有至少95%同一性的可变重链(VH)和与序列SEQ ID NO:30具有至少95%同一性的可变轻链(VL)。

75.如权利要求66所述的试剂盒,其中所述抗体或抗原结合片段包含具有序列SEQ ID NO:25的可变重链(VH)和具有序列SEQ ID NO:29的可变轻链(VL)。

76.如权利要求66所述的试剂盒,其中所述抗体或抗原结合片段包含具有序列SEQ ID NO:26的可变重链(VH)和具有序列SEQ ID NO:30的可变轻链(VL)。

77.如权利要求66所述的试剂盒,其中所述抗体或抗原结合片段包含具有序列SEQ ID NO:33的重链和具有序列SEQ ID NO:37的轻链。

78.如权利要求66所述的试剂盒,其中所述抗体或抗原结合片段包含具有序列SEQ ID NO:34的重链和具有序列SEQ ID NO:38的轻链。

79.如权利要求66所述的试剂盒,其中所述抗体或抗原结合片段以约1.0nM至约10nM的Kd结合人FOLR1。

80.如权利要求66所述的试剂盒,其中所述抗体或抗原结合片段以约0.5nM至约5nM的Kd结合人FOLR1。

用于检测患者样品中的叶酸受体1的方法

技术领域

[0001] 本发明的领域总体上涉及用于检测样品中的人叶酸受体1(FOLR1)的方法和试剂盒。

[0002] 发明背景

[0003] 在发达世界,癌症是一个主要死亡原因,单独在美国每年有超过100万人被诊断有癌症以及有超过500,000例死亡。总体来说,据估计超过1/3的人在他们的一生期间将显现某一形式的癌症。存在超过200种不同类型的癌症,其中四种—乳腺癌、肺癌、结肠直肠癌和前列腺癌—占所有新病例的超过一半(Jemal等,2003,Cancer J.Clin.53:5-26)。

[0004] 叶酸受体1(FOLR1),也称为叶酸受体-α或叶酸结合蛋白,是一种在细胞的质膜上表达的N-糖基化蛋白质。FOLR1对叶酸以及对若干经还原叶酸衍生物具有高亲和力。FOLR1介导生理性叶酸即5-甲基四氢叶酸向细胞的内部的递送。

[0005] FOLR1在绝大多数卵巢癌中,以及在许多子宫癌、子宫内膜癌、胰腺癌、肾癌、肺癌和乳腺癌中过度表达,而FOLR1在正常组织上的表达局限于肾近端小管中的上皮细胞的顶膜、肺的肺泡肺细胞、膀胱、睾丸、脉络丛和甲状腺(Weitman SD等,Cancer Res 52:3396-3401(1992);Antony AC,Annu Rev Nutr 16:501-521(1996);Kalli KR等Gynecol Oncol 108:619-626(2008))。FOLR1的这个表达样式使得它成为合乎FOLR1定向癌症疗法需要的靶标。

[0006] 因为卵巢癌通常是无症状的直至晚期阶段,所以它经常在晚期时被诊断,并且当用当前可用的程序治疗时具有不良预后,所述程序通常是在手术减积之后采用化学治疗药物(von Gruenigen V等,Cancer 112:2221-2227(2008);Ayhan A等,Am J Obstet Gynecol 196:81 e81-86(2007);Harry VN等,Obstet Gynecol Surv 64:548-560(2009))。因此,对于针对卵巢癌的更有效治疗剂,存在明确的未满足的医学需要。

[0007] 用于检测脱落FOLR1的一些先前测定对FOLR1不具有足够特异性。举例来说,一些测定不区分FOLR1与其他叶酸受体家族成员(FOLR2、FOLR3和FOLR4),或报告总FBP(叶酸结合蛋白)的数值。另外,一些测定需要人样品(例如血浆)以轻度酸洗涤步骤预处理以使叶酸从受体解离。一些测定结果也可由于抗体疗法与诊断抗体之间的竞争性作用而具有不准确性。另外,许多可商购获得的试剂盒在它们的试剂方面以及在它们的批次间稳定性方面向来均是不可靠的。这些试剂盒的评估已给出极其混乱的结果,并且意图仅供研究使用。许多试剂盒需要人样品在分析之前加以预稀释以使归因于“基质效应”的假阳性的概率降低。此外,许多当前测定例如基于ELISA的测定不提供足以区分脱落FOLR1在生理水平上的变化的灵敏性,并且受限于假阳性结果。因此,对于用以检测患者样品中的FOLR1的高度灵敏和准确的方法,存在明确需要。

发明内容

[0008] 本发明提供用于检测样品中的FOLR1,并且可例如用于定量样品中人FOLR1的水平的方法。

[0009] 在一个实施方案中，一种检测样品中的人叶酸受体1(FOLR1)的方法包括：(a)用结合于固体载体的免疫捕集试剂捕集所述叶酸受体1(FOLR1)；(b)从所述固体载体洗脱FOLR1；(c)消化所洗脱FOLR1；和(d)对经消化FOLR1进行液相色谱法-质谱测定法(LC/MS)分析，其中所述FOLR1通过监测至少一种特征FOLR1肽的色谱分离和质谱测定响应来检测。

[0010] 在一个实施方案中，样品中FOLR1的水平通过LC/MS分析来定量。在一个实施方案中，样品中FOLR1的水平通过将样品中FOLR1的水平与FOLR1的参照水平进行比较来定量。

[0011] 在一个实施方案中，免疫捕集试剂包括结合FOLR1的抗体或抗原结合片段。在一个实施方案中，抗体或抗原结合片段与FOLR1的结合不由IMGN853与FOLR1的结合竞争性抑制。在一个实施方案中，抗体或抗原结合片段与FOLR1的结合不由huMov19与FOLR1的结合竞争性抑制。在一个实施方案中，抗体或抗原结合片段与FOLR1的结合不由第二抗体或抗原结合片段与FOLR1的结合竞争性抑制，其中所述第二抗体或抗原结合片段包含：具有SEQ ID NO:59的可变轻链(VL)互补决定区(CDR)-1；具有SEQ ID NO:60的VL CDR-2；具有SEQ ID NO:61的VL CDR-3；具有SEQ ID NO:62的可变重链(VH)CDR-1；具有SEQ ID NO:64的VH CDR-2；和具有SEQ ID NO:65的VH CDR-3。在一个实施方案中，抗体或抗原结合片段与FOLR1的结合不由第二抗体或抗原结合片段与FOLR1的结合竞争性抑制，其中所述第二抗体或抗原结合片段包含具有序列SEQ ID NO:56的可变重链(VH)和具有序列SEQ ID NO:57或SEQ ID NO:58的可变轻链(VL)。在一个实施方案中，抗体或抗原结合片段与FOLR1的结合不由第二抗体或抗原结合片段与FOLR1的结合竞争性抑制，其中所述第二抗体或抗原结合片段包含(i)重链，所述重链包含与由以PTA-10772交托给美国典型培养物保藏中心(ATCC)的质粒编码的重链的氨基酸序列相同的氨基酸序列，和(ii)轻链，所述轻链包含与由以PTA-10774交托给ATCC的质粒编码的轻链的氨基酸序列相同的氨基酸序列。在一个实施方案中，抗体或抗原结合片段与FOLR1的结合不由叶酸与FOLR1的结合抑制。

[0012] 在一个实施方案中，抗体是muFR1-9。在一个实施方案中，抗体是muFR1-13。在一个实施方案中，抗体或抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:1的可变重链(VH)互补决定区(CDR)-1；具有SEQ ID NO:2的VH CDR-2；具有SEQ ID NO:3的VH CDR-3；具有SEQ ID NO:13的可变轻链(VL)互补决定区(CDR)-1；具有SEQ ID NO:14的VL CDR-2和具有SEQ ID NO:15的VL CDR-3。在一个实施方案中，抗体或抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:4的可变重链(VH)互补决定区(CDR)-1；具有SEQ ID NO:5的VH CDR-2；具有SEQ ID NO:6的VH CDR-3；具有SEQ ID NO:16的可变轻链(VL)互补决定区(CDR)-1；具有SEQ ID NO:17的VL CDR-2和具有SEQ ID NO:18的VL CDR-3。

[0013] 在一个实施方案中，抗体或抗原结合片段包含与序列SEQ ID NO:25具有至少90％同一性的可变重链(VH)和与序列SEQ ID NO:29具有至少90％同一性的可变轻链(VL)。在一个实施方案中，抗体或抗原结合片段包含与序列SEQ ID NO:25具有至少95％同一性的可变重链(VH)和与序列SEQ ID NO:29具有至少95％同一性的可变轻链(VL)。在一个实施方案中，抗体或抗原结合片段包含与序列SEQ ID NO:26具有至少90％同一性的可变重链(VH)和与序列SEQ ID NO:30具有至少90％同一性的可变轻链(VL)。在一个实施方案中，抗体或抗原结合片段包含与序列SEQ ID NO:26具有至少95％同一性的可变重链(VH)和与序列SEQ ID NO:30具有至少95％同一性的可变轻链(VL)。

[0014] 在一个实施方案中，抗体或抗原结合片段包含具有序列SEQ ID NO:25的可变重链

(VH)和具有序列SEQ ID NO:29的可变轻链(VL)。在一个实施方案中,抗体或抗原结合片段包含具有序列SEQ ID NO:26的可变重链(VH)和具有序列SEQ ID NO:30的可变轻链(VL)。在一个实施方案中,抗体或抗原结合片段包含具有序列SEQ ID NO:33的重链和具有序列SEQ ID NO:37的轻链。在一个实施方案中,抗体或抗原结合片段包含具有序列SEQ ID NO:34的重链和具有序列SEQ ID NO:38的轻链。

[0015] 在一个实施方案中,抗体或抗原结合片段以约1.0nM至约10nM的Kd结合人FOLR1。在一个实施方案中,抗体或抗原结合片段以约0.5nM至约5nM的Kd结合人FOLR1。

[0016] 在一个实施方案中,固体载体包括质谱测定性免疫测定(MSIA)微柱。在一个实施方案中,固体载体包括磁性珠粒。

[0017] 在一个实施方案中,在从固体载体洗脱FOLR1之前,进行至少一个洗涤步骤。在一个实施方案中,在从固体载体洗脱FOLR1之前,进行两个或更多个洗涤步骤。在一个实施方案中,洗涤步骤包括使结合于固体载体的FOLR1与洗涤缓冲液、盐溶液和清洁剂接触。在一个实施方案中,用酸性溶液从固体载体洗脱FOLR1。

[0018] 在一个实施方案中,在消化FOLR1之前,使FOLR1还原和烷基化。在一个实施方案中,用胰蛋白酶/Lys-C消化FOLR1。在一个实施方案中,消化FOLR1会产生包含序列SEQ ID NO:42的肽。在一个实施方案中,消化FOLR1会产生包含序列SEQ ID NO:43的肽。在一个实施方案中,消化FOLR1会产生包含序列SEQ ID NO:44的肽。在一个实施方案中,消化FOLR1会产生包含序列SEQ ID NO:45的肽。

[0019] 在一个实施方案中,在LC/MS分析步骤时,选择和监测FOLR1的至少两种特征肽。在一个实施方案中,在LC/MS分析步骤时,选择和监测FOLR1的至少三种特征肽。在一个实施方案中,在LC/MS分析步骤时,选择和监测FOLR1的至少四种特征肽。

[0020] 在一个实施方案中,特征肽包括:(a)包含序列SEQ ID NO:42的肽;(b)包含序列SEQ ID NO:43的肽;(c)包含序列SEQ ID NO:44的肽;和(d)包含序列SEQ ID NO:45的肽。

[0021] 在一个实施方案中,样品包括体液。在一个实施方案中,体液是血浆。在一个实施方案中,体液是血清。在一个实施方案中,体液是腹水液。

[0022] 在一个实施方案中,样品包括外周血液样品。

[0023] 在一个实施方案中,样品从患有癌症的患者获得。在一个实施方案中,癌症选自由以下组成的组:卵巢癌、脑癌、乳腺癌、子宫癌、子宫内膜癌、胰腺癌、肾癌、肺癌和腹膜癌。在一个实施方案中,癌症是卵巢癌。在一个实施方案中,检测FOLR1不由存在于样品中的IMGN853抑制。在一个实施方案中,检测FOLR1不由存在于样品中的huMov19抑制。

[0024] 在一个实施方案中,检测FOLR1不由存在于样品中的抗体或抗原结合片段抑制,其中所述抗体或抗原结合片段包含:具有SEQ ID NO:59的可变轻链(VL)互补决定区(CDR)-1;具有SEQ ID NO:60的VL CDR-2;具有SEQ ID NO:61的VL CDR-3;具有SEQ ID NO:62的可变重链(VH)CDR-1;具有SEQ ID NO:64的VH CDR-2;和具有SEQ ID NO:65的VH CDR-3。在一个实施方案中,检测FOLR1不由存在于样品中的抗体或抗原结合片段抑制,其中所述抗体或抗原结合片段包含具有序列SEQ ID NO:56的可变重链(VH)和具有序列SEQ ID NO:57或SEQ ID NO:58的可变轻链(VL)。在一个实施方案中,检测FOLR1不由存在于样品中的抗体或抗原结合片段抑制,其中所述抗体或抗原结合片段包含(i)重链,所述重链包含与由以PTA-10772交托给美国典型培养物保藏中心(ATCC)的质粒编码的重链的氨基酸序列相同的氨基

酸序列,和(ii)轻链,所述轻链包含与由以PTA-10774交托给ATCC的质粒编码的轻链的氨基酸序列相同的氨基酸序列。

[0025] 在一个实施方案中,检测FOLR1不由存在于样品中的叶酸抑制。

[0026] 在一个实施方案中,方法能够检测样品中至少0.5ng/mL FOLR1。在一个实施方案中,方法能够检测样品中至少0.3ng/mLFOLR1。在一个实施方案中,方法能够检测样品中至少0.25ng/mL FOLR1。

[0027] 在一个实施方案中,信噪比是至少5。在一个实施方案中,信噪比是至少10。

[0028] 在一个实施方案中,FOLR1是脱落FOLR1。

[0029] 本发明也提供FOLR1的新型肽。在一个实施方案中,肽由序列SEQ ID NO:42组成。在一个实施方案中,肽由序列SEQ ID NO:43组成。在一个实施方案中,肽由序列SEQ ID NO:44组成。在一个实施方案中,肽由序列SEQ ID NO:45组成。

[0030] 本发明也提供用于检测样品中的FOLR1的试剂盒。在一个实施方案中,试剂盒包括:结合FOLR1的免疫捕集试剂、消化试剂、以及至少一种选自由以下组成的组的肽:a)包含序列SEQ ID NO:42的肽;b)包含序列SEQ ID NO:43的肽;c)包含序列SEQ ID NO:44的肽;和d)包含序列SEQ ID NO:45的肽。

[0031] 在一个实施方案中,免疫捕集试剂包括结合FOLR1的抗体或抗原结合片段。在一个实施方案中,抗体是muFR1-9。在一个实施方案中,抗体是muFR1-13。

[0032] 在一个实施方案中,抗体或抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:1的可变重链(VH)互补决定区(CDR)-1;具有SEQ ID NO:2的VH CDR-2;具有SEQ ID NO:3的VH CDR-3;具有SEQ ID NO:13的可变轻链(VL)互补决定区(CDR)-1;具有SEQ ID NO:14的VL CDR-2和具有SEQ ID NO:15的VL CDR-3。在一个实施方案中,抗体或抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:4的可变重链(VH)互补决定区(CDR)-1;具有SEQ ID NO:5的VH CDR-2;具有SEQ ID NO:6的VH CDR-3;具有SEQ ID NO:16的可变轻链(VL)互补决定区(CDR)-1;具有SEQ ID NO:17的VL CDR-2和具有SEQ ID NO:18的VL CDR-3。

[0033] 在一个实施方案中,抗体或抗原结合片段包含与序列SEQ ID NO:25具有至少90%同一性的可变重链(VH)和与序列SEQ ID NO:29具有至少90%同一性的可变轻链(VL)。在一个实施方案中,抗体或抗原结合片段包含与序列SEQ ID NO:25具有至少95%同一性的可变重链(VH)和与序列SEQ ID NO:29具有至少95%同一性的可变轻链(VL)。在一个实施方案中,抗体或抗原结合片段包含与序列SEQ ID NO:26具有至少90%同一性的可变重链(VH)和与序列SEQ ID NO:30具有至少90%同一性的可变轻链(VL)。在一个实施方案中,抗体或抗原结合片段包含与序列SEQ ID NO:26具有至少95%同一性的可变重链(VH)和与序列SEQ ID NO:30具有至少95%同一性的可变轻链(VL)。

[0034] 在一个实施方案中,抗体或抗原结合片段包含具有序列SEQ ID NO:25的可变重链(VH)和具有序列SEQ ID NO:29的可变轻链(VL)。在一个实施方案中,抗体或抗原结合片段包含具有序列SEQ ID NO:26的可变重链(VH)和具有序列SEQ ID NO:30的可变轻链(VL)。

[0035] 在一个实施方案中,抗体或抗原结合片段包含具有序列SEQ ID NO:33的重链和具有序列SEQ ID NO:37的轻链。在一个实施方案中,抗体或抗原结合片段包含具有序列SEQ ID NO:34的重链和具有序列SEQ ID NO:38的轻链。

[0036] 在一个实施方案中,抗体或抗原结合片段以约1.0nM至约10nM的Kd结合人FOLR1。

在一个实施方案中，抗体或抗原结合片段以约0.5nM至约5nM的Kd结合人FOLR1。

附图说明

[0037] 图1显示FOLR1免疫捕集-LC/MS测定的图示。

[0038] 图2显示来自在替代基质中含有在0.3ng/mL下的低水平的可溶性FOLR1的样品的提取离子色谱图。

[0039] 图3显示来自正常人血浆样品的提取离子色谱图。

[0040] 图4显示来自具有升高的可溶性FOLR1的患者给药前样品的提取离子色谱图。

具体实施方式

[0041] 本发明提供一种检测患者样品中的人叶酸受体1(FOLR1)的新型方法。对FOLR1进行初始免疫捕集步骤，随后将所捕集FOLR1消化成肽，以及通过液相色谱法-质谱测定法(LC/MS)来对肽进行定量分析。不竞争性抑制抗FOLR1活性剂(例如包含抗体huMov19的活性剂诸如IMGN853)与FOLR1的结合的抗体适用于本发明的免疫捕集步骤中。不竞争性抑制抗FOLR1活性剂的结合的抗体尤其适用于捕集来自已用所述抗FOLR1活性剂治疗的患者的样品中的FOLR1(例如脱落FOLR1)。也公开FOLR1的通过本发明方法来产生的肽。所述肽适用于通过LC/MS来检测患者样品中FOLR1的水平。也提供包括FOLR1结合剂和FOLR1肽的试剂盒。

[0042] I.定义

[0043] 为有助于理解本发明，以下定义许多术语和短语。

[0044] 除非另外指示，否则如本文所用的术语“人叶酸受体1”、“FOLR1”或“叶酸受体α(FR-α)”是指任何天然人FOLR1。因此，所有这些术语都可指如本文指示的蛋白质或核酸序列。术语“FOLR1”涵盖“全长”未加工FOLR1以及FOLR1的由细胞内的加工产生的任何形式。所述术语也涵盖FOLR1的天然存在的变体，例如剪接变体(除涵盖FOLR2、FOLR3或FOLR4的那些变体之外)、等位基因变体和亚型。本文所述的FOLR1多肽可从多种来源分离，诸如从人组织类型或从另一来源分离，或通过重组或合成方法制备。FOLR1序列的实例包括但不限于NCBI参考号P15328、NP_001092242.1、AAX29268.1、AAX37119.1、NP_057937.1和NP_057936.1。人FOLR1序列如下：

[0045] MAQRMTTQLLLLLVWVAVVGEAQTRIAWARTELLNVCMN
AKHHKEKPGPEDKLHEQCRPWRKNACCSTNTSQEAHKDVSYLY
RFNWNHCGEMAPACKRHFIQDTCLYECSPNLGPWIQQVDQSWR
KERVLNVPLCKEDCEQWWEDCRTSYTCKSNWHKGWNWTSGFN
KCAVGAACQPFHFYFPTPTVLCNEIWTHSYKVSNYSRGSGRCIQM
WFDPAQGNPNEEVARFYAAAMSGAGPWAAWPFLLSLALMLLW
LLS (SEQ ID NO:41)。

[0046] 术语“脱落抗原”和“脱落FOLR1”(“sFOLR1”或“sFRα”)在本文中可互换使用。这些术语是指是可溶性的，并且不与细胞缔合的FOLR1蛋白。在一些实施方案中，它包括细胞外结构域(ECD)和糖基磷脂酰肌醇(GPI)接头。在一个实施方案中，脱落FOLR1仅包括ECD。

FOLR1包括信号肽(氨基酸1-24)、FOLR1蛋白链(氨基酸25-233或234)和可被裂解的原肽(氨基酸235至257)。脱落FOLR可包括氨基酸1至257、1至233、1至234、25至233、25至234或它们的任何其他片段。在一些实施方案中,信号序列被裂解。在其他实施方案中,ECD和GPI部分可包埋在膜(例如可溶性脂质筏)中。在一个实施方案中,脱落FOLR1可包括氨基酸1-233或其片段。

[0047] 术语“抗体”意指通过免疫球蛋白分子的可变区内的至少一个抗原识别位点来识别和特异性结合靶标的免疫球蛋白分子,所述靶标诸如蛋白质、多肽、肽、碳水化合物、多核苷酸、脂质或前述各物的组合。如本文所用,术语“抗体”涵盖完整多克隆抗体、完整单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人抗体、包含抗体的融合蛋白以及任何其他经修饰免疫球蛋白分子,只要抗体展现所需生物活性即可。基于免疫球蛋白的分别被称为α、δ、ε、γ和μ的重链恒定结构域的身份,抗体可具有免疫球蛋白的五个主要类别:IgA、IgD、IgE、IgG和IgM或它们的子类(同种型)(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)中的任一者。不同类别的免疫球蛋白具有不同和熟知的亚单位结构以及三维构型。抗体可为裸露的,或缀合于其他分子诸如毒素、放射性同位素等。

[0048] 术语“抗体片段”是指完整抗体的一部分。“抗原结合片段”是指完整抗体的结合抗原的部分。抗原结合片段可含有完整抗体的抗原决定可变区。抗体片段的实例包括但不限于Fab、Fab'、F(ab')2和Fv片段、线性抗体和单链抗体。

[0049] 术语“抗FOLR1抗体”或“结合FOLR1的抗体”是指以下抗体:所述抗体能够以足够亲和力结合FOLR1,以致所述抗体适于作为诊断剂和/或治疗剂用于靶向FOLR1(例如huMov19(M9346A)抗体)。抗FOLR1抗体与无关非FOLR1蛋白结合的程度可为所述抗体与FOLR1的结合的小于约10%,如例如通过放射免疫测定(RIA)所测量。

[0050] 术语“IMGN853”(也称为米维妥昔单抗索拉文辛(mirvetuximab soravtansine))是指本文所述的含有huMov19(M9346A)抗体、磺基SPDB接头和DM4类美登素(maytansinoid)的免疫缀合物。具有SEQ ID NO:56-58的多肽分别包含huMov19(M9346A)的重链的可变结构域、huMov19的1.00版轻链可变结构域和1.60版轻链可变结构域。在某些实施方案中,huMov19(M9346A)抗体是包含可变重链序列SEQ ID NO:56和可变轻链序列SEQ ID NO:58(huMov19的1.60版)的抗FOLR1抗体。DM4是指N2'-脱乙酰基-N2'-(4-巯基-4-甲基-1-氧代戊基)美登素。“磺基SPDB”是指4-(2-吡啶基二硫基)-2-磺基丁酸N-丁二酰亚胺酯接头。在某些实施方案中,huMov19(M9346A)抗体由2010年4月7日根据布达佩斯条约(Budapest Treaty)的条款交托给位于10801University Boulevard,Manassas,VA20110的美国典型培养物保藏中心(ATCC),并且具有ATCC寄存号PTA-10772和PTA-10773或10774的质粒编码。以下序列信息提供huMov19的互补决定区(CDR)、可变重链和可变轻链、以及完全重链和完全轻链:

[0051] huMov19可变重链(SEQ ID NO:56)

QVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGYTFTGYFMNWVKQSP

[0052] GQSLEWIGRIHPYDGDTFYNQKFQGKATLTVDKSSNTAHMELLSL

TSEDFAVYYCTRYDGSRAMDYWGQGTTVTVSS

[0053] huMov19 1.00版可变轻链(SEQ ID NO:57)

DIVLTQSPLSLAVSLGQPAIISCKASQSVSFAGTSLMHWYHQK

[0054] PGQQPRLLIYRASNLEAGVPDRFSGSGSKTDFTLNISPVEAEDAAT

YYCQQSREYPYTFGGGTKLEIKR

[0055] huMov19 1.60版可变轻链(SEQ ID NO:58)

DIVLTQSPLSLAVSLGQPAIISCKASQSVSFAGTSLMHWYHQK

[0056] PGQQPRLLIYRASNLEAGVPDRFSGSGSKTDFTLTISPVEAEDAAT

YYCQQSREYPYTFGGGTKLEIKR

[0057] huMov19可变轻链CDR1(SEQ ID NO:59)

[0058] KASQSVSFAGTSLMH

[0059] huMov19可变轻链CDR2(SEQ ID NO:60)

[0060] RASNLEA

[0061] huMov19可变轻链CDR3(SEQ ID NO:61)

[0062] QQSREYPYT

[0063] huMov19可变重链CDR1(SEQ ID NO:62)

[0064] GYFMN

[0065] huMov19可变重链CDR2-Kabat定义(SEQ ID NO:63)

[0066] RIHPYDGDTFYNQKFQG

[0067] huMov19可变重链CDR2-Abm定义(SEQ ID NO:64)

[0068] RIHPYDGDTF

[0069] huMov19可变重链CDR3(SEQ ID NO:65)

[0070] YDGSRAMDY

[0071] huMov19重链氨基酸序列(SEQ ID NO:66)

QVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGYTFTGYFMNWVKQSP

GQSLEWIGRIHPYDGDTFYNQKFQGKATLTVDKSSNTAHMELLSL

TSEDFAVYYCTRYDGSRAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLA

PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL

QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC

[0072] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV

SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL

HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS

RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD

SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL

SPGK

[0073] huMov19 1.00版轻链氨基酸序列(SEQ ID NO:67)

DIVLTQSPLSLAVSLGQPAIISCKASQSVSFAGTSLMHWYHQK
PGQQPRLLIYRASNLEAGVPDRFSGSGSKTDFTLNISPVEAEDAAT
YYCQQSREYPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS
VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL
SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0075] huMov19 1.60版轻链氨基酸序列(SEQ ID NO:68)

DIVLTQSPLSLAVSLGQPAIISCKASQSVSFAGTSLMHWYHQK
PGQQPRLLIYRASNLEAGVPDRFSGSGSKTDFTLTISPVEAEDAAT
YYCQQSREYPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS
VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL
SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0077] 如本文所用的术语“免疫缀合物”或“缀合物”是指连接于细胞结合剂(即抗FOLR1抗体或其片段)的化合物或其衍生物,并且由通式:C-L-A定义,其中C=细胞毒素,L=接头,并且A=抗体或其抗原结合片段例如抗FOLR1抗体或抗体片段。免疫缀合物也可由呈反向顺序的通式:A-L-C定义。

[0078] “接头”是能够以稳定共价方式使化合物通常是药物(诸如类美登素)连接于细胞结合剂(诸如抗FOLR1抗体或其片段)的任何化学部分。接头可在化合物或抗体保持活性所处的状况下易经受例如二硫键裂解或实质上对例如二硫键裂解具有抗性。适合接头在本领域中是熟知的,并且包括例如二硫基团和硫醚基团。

[0079] “单克隆”抗体或其抗原结合片段是指涉及于对单一抗原决定簇或表位的高度特异性识别和结合的同质抗体或抗原结合片段群体。这不同于通常包括针对不同抗原决定簇的不同抗体的多克隆抗体。术语“单克隆”抗体或其抗原结合片段涵盖完整和全长单克隆抗体以及抗体片段(诸如Fab、Fab'、F(ab')2、Fv)、单链(scFv)突变体、包含抗体部分的融合蛋白和包含抗原识别位点的任何其他经修饰免疫球蛋白分子。此外,“单克隆”抗体或其抗原结合片段是指以许多方式制备的所述抗体及其抗原结合片段,所述方式包括但不限于通过杂交瘤、噬菌体选择、重组表达和转基因动物。

[0080] 术语“人源化”抗体或其抗原结合片段是指以下形式的非人(例如鼠)抗体或抗原结合片段,所述形式是含有最少非人(例如鼠)序列的特异性免疫球蛋白链、嵌合免疫球蛋白或它们的片段。通常,人源化抗体或其抗原结合片段是人免疫球蛋白,其中来自互补决定区(CDR)的残基由来自非人物种(例如小鼠、大鼠、兔、仓鼠)的CDR的具有所需特异性、亲和力和能力的残基替换(“CDR移植”)(Jones等,Nature 321:522-525(1986);Riechmann等,Nature 332:323-327(1988);Verhoeyen等,Science 239:1534-1536(1988))。在一些情况下,人免疫球蛋白的Fv框架区(FR)残基用来自非人物种的具有所需特异性、亲和力和能力的抗体或片段中的相应残基替换。人源化抗体或其抗原结合片段可通过取代Fv框架区中和/或所替换非人残基内的额外残基来进一步修饰以改进和优化抗体或其抗原结合片段特

异性、亲和力和/或能力。一般来说，人源化抗体或其抗原结合片段将包含大致上全部至少一个，并且通常两个或三个可变结构域，所述可变结构域含有全部或大致上全部的对应于非人免疫球蛋白的CDR区，而全部或大致上全部的FR区是具有人免疫球蛋白共有序列的那些。人源化抗体或其抗原结合片段也可包含至少一部分免疫球蛋白恒定区或结构域(Fc)，通常是人免疫球蛋白的至少一部分恒定区或结构域。用于产生人源化抗体的方法的实例描述于美国专利5,225,539;Roguska等,Proc.Natl.Acad.Sci.,USA,91(3):969-973(1994)以及Roguska等,Protein Eng.9(10):895-904(1996)中。在一些实施方案中，“人源化抗体”是表面重塑抗体。

[0081] 抗体的“可变区”是指单独或呈组合形式的抗体轻链可变区或抗体重链可变区。重链的可变区和轻链的可变区各自由通过三个也称为高变区的互补决定区(CDR)来连接的四个框架区(FR)组成。各链中的CDR通过FR紧密邻近固持在一起，并且与来自另一链的CDR一起促进形成抗体的抗原结合位点。存在至少两种用于确定CDR的技术：(1)基于跨物种序列可变性的方法(即Kabat等,Sequences of Proteins of Immunological Interest,(第5版,1991,National Institutes of Health,Bethesda Md.)，“Kabat”)；和(2)基于对抗原-抗体复合物的结晶学研究的方法(Al-lazikani等,J.Molec.Biol.273:927-948(1997))。此外，这两种方法的组合有时在本领域中用于确定CDR。

[0082] Kabat编号系统通常在涉及可变结构域中的残基(近似是轻链的残基1-107和重链的残基1-113)时使用(例如Kabat等,Sequences of Immunological Interest.(第5版,1991,National Institutes of Health,Bethesda,Md.)(“Kabat”))。

[0083] 如按照Kabat的氨基酸位置编号是指Kabat等(Sequences of Immunological Interest.(第5版,1991,National Institutes of Health,Bethesda,Md.)，“Kabat”)中汇编抗体时用于重链可变结构域或轻链可变结构域的编号系统。使用这个编号系统，实际线性氨基酸序列可含有对应于可变结构域的FR或CDR的缩短或向其中的插入的较少或额外氨基酸。举例来说，重链可变结构域可包括在H2的残基52之后的单一氨基酸插入(根据Kabat的残基52a)和在重链FR残基82之后的插入残基(例如根据Kabat的残基82a、82b和82c等)。对于给定抗体，可通过在具有同源性的区域处将抗体序列与“标准”Kabat编号序列进行比对来确定残基的Kabat编号。Chothia改为涉及结构环的位置(Chothia和Lesk,J.Mol.Biol.196:901-917(1987))。当使用Kabat编号惯例编号时，Chothia CDR-H1环的末端视环的长度而定在H32与H34之间变化(这是因为Kabat编号流程在H35A和H35B处放置插入；如果35A和35B均不存在，那么环在32处结束；如果仅35A存在，那么环在33处结束；如果35A与35B两者均存在，那么环在34处结束)。AbM高变区代表Kabat CDR与Chothia结构环之间的折中，并且由Oxford Molecular的AbM抗体建模软件使用。

[0084]

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

[0085] 术语“嵌合”抗体或其抗原结合片段是指其中氨基酸序列源于两个或更多个物种的抗体或其抗原结合片段。通常，轻链与重链两者的可变区均对应于源于一个哺乳动物物种(例如小鼠、大鼠、兔等)，具有所需特异性、亲和力和能力的抗体或其抗原结合片段的可变区，而恒定区与源于另一物种(通常是人)的抗体或其抗原结合片段中的序列同源以避免在那个物种中引发免疫应答。

[0086] 术语“表位”或“抗原决定簇”在本文中可互换使用，并且是指抗原的能够被特定抗体识别和特异性结合的那个部分。当抗原是多肽时，表位可由连续氨基酸与通过蛋白质的三级折叠而毗邻的非连续氨基酸两者形成。由连续氨基酸形成的表位在蛋白质变性后通常得以保留，而通过三级折叠形成的表位在蛋白质变性后通常丧失。表位通常包括至少3个、并且更通常至少5个或8-10个呈独特空间构象的氨基酸。

[0087] “结合亲和力”通常是指分子(例如抗体)的单一结合位点与它的结合配偶体(例如抗原)之间的非共价相互作用的总和的强度。除非另外指示，否则如本文所用，“结合亲和力”是指反映结合对的成员(例如抗体和抗原)之间的1:1相互作用的固有结合亲和力。分子X对它的配偶体Y的亲和力可通常由解离常数(Kd)表示。亲和力可通过本领域中已知的常用方法来测量，所述方法包括本文所述的那些方法。低亲和力抗体通常缓慢结合抗原并倾向于容易解离，而高亲和力抗体通常更快结合抗原并倾向于更久保持结合。多种测量结合亲和力的方法在本领域中是已知的，其中任一者都可出于本发明的目的加以使用。本文描述特定说明性实施方案。

[0088] “或更好”当在本文中用于涉及结合亲和力时是指分子与它的结合配偶体之间的结合更强烈。“或更好”当在本文中用于涉及更强烈结合时由Kd数值更小所代表。举例来说，在抗体对抗原具有“0.6nM或更好”的亲和力的情况下，所述抗体对所述抗原的亲和力是<0.6nM，即0.59nM、0.58nM、0.57nM等或小于0.6nM的任何值。在一个实施方案中，抗体的如通过Kd确定的亲和力将在约10^{-3}至约10^{-12}M之间，在约10^{-6}至约10^{-11}M之间，在约10^{-6}至约10^{-10}M之间，在约10^{-6}至约10^{-9}M之间，在约10^{-6}至约10^{-8}M之间，或在约10^{-6}至约10^{-7}M之间。

[0089] 抗体在以下情况下被称为“竞争性抑制”参照抗体与给定表位的结合：如果它优先结合那个表位以致它在某种程度上阻断所述参照抗体与所述表位的结合。竞争性抑制可通过本领域中已知的任何方法例如竞争ELISA测定来测定。抗体可被称为以竞争性方式使参

照抗体与给定表位的结合抑制至少90％、至少80％、至少70％、至少60％或至少50％。

[0090] 如本文所用的短语“大致上类似”或“大致上相同”表示在两个数值(通常，一个数值与本发明的抗体相关，并且另一数值与参照抗体/比较抗体相关)之间具有足够高度类似性以致本领域技术人员将把两个值之间的差异视为在通过所述值(例如Kd值)来度量的生物特征的情形内具有少许或不具有生物学显著性和/或统计显著性。所述两个值之间的差异小于约50％、小于约40％、小于约30％、小于约20％、或小于约10％，随参照抗体/比较抗体的值而变化。

[0091] “经分离”多肽、抗体、多核苷酸、载体、细胞或组合物是呈不见于自然界中的形式的多肽、抗体、多核苷酸、载体、细胞或组合物。经分离多肽、抗体、多核苷酸、载体、细胞或组合物包括已在一定程度上加以纯化以致它们不再呈它们见于自然界中所呈的形式的那些。在一些实施方案中，经分离抗体、多核苷酸、载体、细胞或组合物是大致上纯净的。

[0092] 如本文所用，“大致上纯净”是指物质是至少50％纯净的(即不含污染物)，至少90％纯净的，至少95％纯净的，至少98％纯净的，或至少99％纯净的。

[0093] 术语FOLR1的“表达增加”是指相较于参照样品、参照FOLR1水平或从同一受试者检测的先前FOLR1水平，样品含有升高水平的FOLR1表达。因此，举例来说，患者样品中“增加的FOLR1蛋白水平”可具有高于非癌性参照样品中的FOLR1蛋白水平的FOLR1蛋白水平。患者样品中“增加的FOLR1蛋白水平”也可例如具有等于癌性样品中的FOLR1蛋白水平的FOLR1蛋白水平。

[0094] “参照样品”可用于关联和比较在本发明方法中从测试样品获得的结果。参照样品可为细胞(例如细胞系、细胞集结块)、体液或组织。“参照样品”中的FOLR1水平可为FOLR1的绝对量或相对量、数量范围、最小量和/或最大量、平均量和/或中值量。“参照样品”也可充当测试样品与其进行比较的FOLR1表达基线。“参照样品”可包括来自同一患者的先前样品或基线样品、正常参照、或来自相关患者群体的参照。通常，将FOLR1水平表示为标准曲线中的值。标准曲线是一种将测定数据绘图以测定样品中FOLR1的浓度的定量方法。在一个实施方案中，参照样品是包含纯化FOLR1或FOLR1-Fc的抗原标准物。本文公开的检测方法可涉及测试样品中FOLR1的表达水平与“参照值”或“参照水平”之间的比较。在一些实施方案中，参照值是参照样品中FOLR1的表达水平。参照值可为预定值，并且也可从与测试样品并行测试的参照样品(例如对照生物样品)测定。参照值可为单一截断值诸如中值或平均值，或数值范围诸如置信区间。可确定用于各种个体子组的参照值，所述个体诸如易患癌症的个体、患有早期或晚期癌症的个体、男性和/或女性个体、或经受癌症疗法的个体。本文描述正常参照样品或参照值以及阳性参照样品或参照值的实例。

[0095] 本发明的“样品”或“生物样品”具有生物来源，在特定实施方案中，诸如来自真核生物体。在优选实施方案中，样品是人样品，但动物样品也可用于实施本发明。用于本发明中的样品的非限制性来源包括例如实体组织、活检抽吸物、腹水、流体提取物、血液、血浆、血清、脊髓液、淋巴液、皮肤的外部区段、呼吸道、肠道和泌尿生殖道、泪液、唾液、乳汁、肿瘤、器官、细胞培养物和/或细胞培养物成分。本发明特别适用于其中可用材料的量是较少的癌症样品，所述癌症样品通常包括体液诸如腹水。方法可用于考查FOLR1的表达方面或样品的状态，包括但不限于比较不同类型的细胞或组织，比较不同发育阶段，以及检测或确定疾病或异常的存在性和/或类型。

[0096] 如本文所用，术语“捕集试剂”是指能够结合和捕集样品中的靶标分子，以致在适合条件下，捕集试剂-靶标分子复合物可与所述样品的其余部分分离的试剂。术语“免疫捕集试剂”是指能够结合和捕集样品中的靶标分子，以致在适合条件下，捕集试剂-靶标分子复合物可与所述样品的其余部分分离的免疫试剂。在一个实施方案中，免疫捕集试剂是抗体或抗原结合片段。在一个实施方案中，将捕集试剂或免疫捕集试剂固定。在一个实施方案中，将捕集试剂或免疫捕集试剂固定在固体载体上。

[0097] 如本文所用，术语“可检测抗体”是指能够通过由检测手段加以放大的标记来直接检测，或通过例如经标记的另一抗体来间接检测的抗体。对于直接标记，通常使抗体缀合于可通过一些手段来检测的部分。在一个实施方案中，可检测抗体是生物素化抗体。

[0098] 当在本文中使用时，字词“标记”是指直接或间接缀合于抗体以便产生“经标记”抗体的可检测化合物或组合物。标记本身可为可检测的(例如放射性同位素标记或荧光标记)，或在酶标记的情况下，可催化底物化合物或组合物的可检测化学改变。

[0099] 就“关联(correlate/correlating)”来说，其意指以任何方式将第一分析的表现和/或结果与第二分析的表现和/或结果进行比较。举例来说，在进行第二分析时，可使用第一分析的结果，和/或可使用第一分析的结果来确定是否应进行第二分析，和/或可将第一分析的结果与第二分析的结果进行比较。

[0100] 术语“癌症”和“癌性”是指或描述哺乳动物的其中细胞群体的特征在于细胞生长不受调控的生理状况。癌症的实例包括但不限于癌瘤、淋巴瘤、母细胞瘤、肉瘤和白血病。所述癌症的更特定实例包括鳞状细胞癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌、肺鳞状癌、腹膜癌、肝细胞癌、胃肠癌、胰腺癌、胶质母细胞瘤、子宫颈癌、卵巢癌、肝癌(liver cancer)、膀胱癌、肝细胞瘤、乳腺癌、结肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌或子宫癌、唾液腺癌、肾癌、肝癌(liver cancer)、前列腺癌、阴门癌、甲状腺癌、肝癌(hepatic carcinoma)以及各种类型的头颈部癌。癌症可为表达FOLR1的癌症。

[0101] “肿瘤”和“赘瘤”是指由过度细胞生长或增殖产生的任何良性(非癌性)或恶性(癌性)组织团块，包括癌前病变。

[0102] 术语“癌细胞”、“肿瘤细胞”以及语法等效物是指源于肿瘤或癌前病变的总体细胞群体，包括构成肿瘤细胞群体的主体的非致肿瘤性细胞与致肿瘤性干细胞(癌干细胞)两者。如本文所用，当仅涉及缺乏更新和分化的能力的那些肿瘤细胞时，术语“肿瘤细胞”将由术语“非致肿瘤性”修饰，以将那些肿瘤细胞与癌干细胞进行区分。

[0103] 术语“受试者”是指将为特定治疗的接受者的任何动物(例如哺乳动物)，包括但不限于人、非人灵长类动物、啮齿动物等。通常，术语“受试者”和“患者”在本文中关于人受试者可互换使用。

[0104] 术语“药物制剂”是指以下制剂：所述制剂呈使得容许活性成分的生物活性有效的形式，并且所述制剂不含有对制剂所将施用的受试者具有不可接受的毒性的额外组分。所述制剂可为无菌的。

[0105] 如本文公开的抗体的“有效量”是足以实现明确陈述的目的的量。“有效量”可关于陈述的目的凭经验以及以常规方式确定。

[0106] 术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”在本文中可互换用于指代任何长度的氨基酸聚合物。聚合物可为线性的或分支的，它可包含经修饰氨基酸，并且它可间插有非氨基酸。所述

术语也涵盖已天然地或通过干预;例如形成二硫键、糖基化、脂质化、乙酰化、磷酸化或任何其他操作或修饰诸如与标记组分缀合,加以修饰的氨基酸聚合物。也包括在定义内的是例如含有一个或多个氨基酸类似物(包括例如非天然氨基酸等)以及本领域中已知的其他修饰的多肽。应了解,因为本发明的多肽基于抗体,所以在某些实施方案中,多肽可以单链或缔合链的形式存在。在一些实施方案中,多肽、肽或蛋白质是非天然存在的。在一些实施方案中,多肽、肽或蛋白质从其他天然存在的组分纯化。在一些实施方案中,多肽、肽或蛋白质是重组产生的。

[0107] 在两个或更多个核酸或多肽的情形下,术语"同一"或"同一性"百分比是指当加以比较和对准(必要时引入空位)以达成最大对应,不将任何保守性氨基酸取代考虑为序列同一性的一部分时,两个或更多个序列或子序列是相同的,或具有指定百分比的相同核苷酸或氨基酸残基。同一性百分比可使用序列比较软件或算法或通过目视检查来测量。可用于获得氨基酸或核苷酸序列的比对的各种算法和软件在本领域中是已知的。序列比对算法的一个所述非限制性实例是描述于Karlin等,1990,Proc.Natl.Acad.Sci.,87:2264-2268中,如在Karlin等,1993,Proc.Natl.Acad.Sci.,90:5873-5877中加以修改,并且并入NBLAST和XBLAST程序(Altschul等,1991,Nucleic Acids Res.,25:3389-3402)中的算法。在某些实施方案中,空位化BLAST可如Altschul等,1997,Nucleic Acids Res.25:3389-3402中所述加以使用。BLAST-2、WU-BLAST-2(Altschul等,1996,Methods in Enzymology,266:460-480)、ALIGN、ALIGN-2(Genentech,South San Francisco,California)或Megalign(DNASTAR)是可用于比对序列的额外可公开获得的软件程序。在某些实施方案中,两个核苷酸序列之间的同一性百分比使用GCG软件中的GAP程序(例如使用NWSgapdna.CMP矩阵以及空位权重40、50、60、70或90和长度权重1、2、3、4、5或6)来确定。在某些替代性实施方案中,GCG软件包中的并有Needleman和Wunsch(J.Mol.Biol.(48):444-453(1970))的算法的GAP程序可用于确定两个氨基酸序列之间的同一性百分比(例如使用Blossum 62矩阵或PAM250矩阵,以及空位权重16、14、12、10、8、6或4和长度权重1、2、3、4、5)。或者,在某些实施方案中,核苷酸或氨基酸序列之间的同一性百分比使用Myers和Miller(CABIOS,4:11-17(1989))的算法来确定。举例来说,同一性百分比可使用ALIGN程序(2.0版)以及使用PAM120权重残基表、空位长度罚分12和空位罚分4来确定。由特定比对软件使用的适于达成最大对准的参数可由本领域技术人员确定。在某些实施方案中,使用比对软件的缺省参数。在某些实施方案中,将第一氨基酸序列与第二序列氨基酸的同一性百分比"X"计算为100x(Y/Z),其中Y是在所述第一序列和所述第二序列的比对(如通过目视检查或特定序列比对程序所比对)中被评分为相同匹配的氨基酸残基的数目,并且Z是所述第二序列中残基的总数。如果第一序列的长度长于第二序列,那么所述第一序列与所述第二序列的同一性百分比将大于所述第二序列与所述第一序列的同一性百分比。

[0108] 作为一非限制性实例,任何特定多核苷酸是否与参照序列具有某一序列同一性百分比(例如至少80%同一,至少85%同一,至少90%同一,并且在一些实施方案中,至少95%、96%、97%、98%或99%同一)在某些实施方案中可使用Bestfit程序(用于Unix的第8版威斯康星序列分析包(Wisconsin Sequence Analysis Package),Genetics Computer Group,University Research Park,575Science Drive,Madison,WI 53711)来确定。Bestfit使用Smith和Waterman,Advances in Applied Mathematics 2:482 489(1981)的

局部同源性算法以得到两个序列之间具有同源性的最佳区段。当使用Bestfit或任何其他序列比对程序来确定特定序列是否与本发明的参照序列例如95％同一时，设置参数以使历经参照核苷酸序列的全长计算同一性百分比，并且允许同源性中的空位占参照序列中核苷酸的总数的多达5％。

[0109] 在一些实施方案中，本发明的两个核酸或多肽是大致上相同的，这意味着当加以比较和对准以达成最大对应时，它们具有至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％，并且在一些实施方案中，具有至少95％、96％、97％、98％、99％核苷酸或氨基酸残基同一性，如使用序列比较算法或通过目视检查所测量。在某些实施方案中，历经序列的在长度方面是至少约10、约20、约40-60个残基或介于之间的任何整数值的区域，或历经长于60-80个残基，至少约90-100个残基的区域存在同一性，或序列历经所比较的序列的全长是大致上相同的，所比较的所述序列诸如是例如核苷酸序列的编码区。

[0110] “保守性氨基酸取代”是其中一个氨基酸残基被具有类似侧链的另一氨基酸残基替换的氨基酸取代。已在本领域中定义具有类似侧链的氨基酸残基的家族，包括碱性侧链(例如赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、酸性侧链(例如天冬氨酸、谷氨酸)、不带电荷极性侧链(例如天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸)、非极性侧链(例如甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸)、β分支侧链(例如苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和芳族侧链(例如酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。举例来说，苯丙氨酸取代酪氨酸是保守性取代。在某些实施方案中，本发明的多肽和抗体的序列中的保守性取代不消除含有氨基酸序列的多肽或抗体与多肽或抗体所结合的抗原即FOLR1的结合。鉴定不消除抗原结合的核苷酸和氨基酸保守性取代的方法在本领域中是熟知的(参见例如Brummell等,Biochem.32:1180-1 187(1993);Kobayashi等Protein Eng.12(10):879-884(1999);以及Burks等Proc.Natl.Acad.Sci.USA 94:.412-417(1997))。

[0111] 除非上下文另外明确规定，否则如本公开和权利要求中所用，单数形式“一个(种)”和“这个(种)”包括复数形式。

[0112] 应了解每当在本文中以措辞“包含”描述实施方案时，也提供以“由……组成”和/或“基本上由……组成”描述的另外类似实施方案。

[0113] 如本文在诸如“A和/或B”的短语中所用的术语“和/或”意图包括“A和B”两者、“A或B”、“A”和“B”。同样，如诸如“A、B和/或C”的短语中所用的术语“和/或”意图涵盖以下实施方案中的每一者：A、B和C；A、B或C；A或C；A或B；B或C；A和C；A和B；B和C；A(单独)；B(单独)；和C(单独)。

[0114] II.FOLR1结合剂

[0115] 特异性结合人FOLR1的试剂适用于进行本发明方法。所述试剂在本文中被称为“FOLR1结合剂”。适用于进行本发明方法的FOLR1结合剂例如描述于以引用的方式整体并入本文的WO 2014/036495和WO 2015/031815中。

[0116] FOLR1结合剂包括包含muFR1-9、muFR1-13、muFR1-53、muFR1-62、muFR1-64和FOLR1-2.1(也被称为“IMGN 353.2-1”、“353.2-1”、“2.1”或“muFRIHC2-1”)的重链CDR和轻链CDR序列的试剂。muFR1-9、muFR1-13、muFR1-53、muFR1-62、FOLR1-2.1的CDR序列描述于以下表1和表2中。

[0117] 表1：可变重链CDR氨基酸序列

[0118]

抗体	VH-CDR1	VH-CDR2	VH-CDR3
muFR1-9	SFGMH (SEQ ID NO:1)	YISSGSSTFYYADTVKG (SEQ ID NO:2)	ELTGTFAY (SEQ ID NO:3)
muFR1-13	RYSVH (SEQ ID NO:4)	MIWSGGNTDYNSVFKS (SEQ ID NO:5)	FDGKVSWFAY (SEQ ID NO:6)
muFR1-53	DYDIS (SEQ ID NO:7)	EIYPGSGRTYYNERFKG (SEQ ID NO:8)	SYYYGTNSPFAY (SEQ ID NO:9)
muFR1-62	TYTMH (SEQ ID NO:10)	YINPTSGYNNYNQKFKE (SEQ ID NO:11)	GGAYGRRPVDY (SEQ ID NO:12)
muFRIHC2-1 (“2.1”)	NSYIH (SEQ ID NO:46)	WIYPESLNTQYNEKFKA (SEQ ID NO:47)	RGIYYYSPYALDH (SEQ ID NO:48)

[0119] 表2:可变轻链CDR氨基酸序列

[0120]

抗体	VL-CDR1	VL-CDR2	VL-CDR3
muFR1-9	RASQSINNNLH (SEQ ID NO:13)	YASQSIS (SEQ ID NO:14)	QQSNSWPQVT (SEQ ID NO:15)
muFR1-13	KASQSVSNDVL (SEQ ID NO:16)	YAYNRYS (SEQ ID NO:17)	QQDHSSPFT (SEQ ID NO:18)
muFR1-53	RASQDISNYLH (SEQ ID NO:19)	YTSRLQS (SEQ ID NO:20)	QQGNSLPPT (SEQ ID NO:21)
muFR1-62	KASQNVGTNVA (SEQ ID NO:22)	SASSRYS (SEQ ID NO:23)	HQYNSYPYT (SEQ ID NO:24)
muFRIHC2-1 (“2.1”)	KSSKSLLNSDGFTYLD (SEQ ID NO:49)	LVSNHFS (SEQ ID NO:50)	FQSNYLPLT (SEQ ID NO:51)

[0121] FOLR1结合分子可为特异性结合FOLR1的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段包含muFR1-9、muFR1-13、muFR1-53、muFR1-62、muFR1-64或FOLR1-2.1(也被称为“IMGN353.2-1”、“353.2-1”、“2.1”或“muFRIHC2-1”)的CDR,每个CDR具有多达四个(即0、1、2、3或4个)保守性氨基酸取代。

[0122] 多肽可包含本文所述的个别可变轻链或可变重链中的一者。抗体和多肽也可包含可变轻链与可变重链两者。鼠muFR1-9、muFR1-13、muFR1-53、muFR1-62和FOLR1-2.1(也被称

为“IMGN353.2-1”、“353.2-1”、“2.1”或“muFRIHC2-1”)抗体的可变轻链和可变重链序列提供于以下表3和表4中。

[0123] 表3:可变重链氨基酸序列

[0124]

抗体	VH 氨基酸序列(SEQ ID NO)
muFR1-9HCvar	QVQLVESGGGLVQPGGSRKLSCAASGFTFSSFGMHWVRQAPEKGLEWVAYISSGSSTFYYADTVKGRFTISRDNPKNTLFLQMTSLRSEDTAMYYCAKELTGTFAYWGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:25)
muFR1-13HCvar	QVQLKESGPDLVAPSQSLSITCTVSGFSLSRYSVHWIRQPPGKGLEWLGMIWSGGNTDYNSVFKSRLNITKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCATFDGKVSWFAYWGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:26)
muFR1-53HC	QVQLQQSGPELVRPGASVKMSCKASGYKFTDYDISWVLQRTGQGLEWIGEIYPGSGRTYYNERFKGKATLTADKSSNTVYMQLSSLTSEDSAVYFCASSYYYGTNSPFAYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:27)
muFR1-62HC	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTTYTMHWVKQRPGQGLEWIAYINPTSGYNNYNQKFKEKATLTADKSSSTAYMQLTSLTSEDSAVYYCASGGAYGRRPVDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO:28)
muFRIHC2-1(“2.1”)	QVQLQQSGPELVKPGASVRISCKASGYTFTNSYIHWVKKRPGQGLEWIGWIYPESLNTQYNEKFKAKATLTADKSSSTSYMQLSSLTSEDSAVYFCARRGIYYYSPYALDHWGQGASVTVSS (SEQ ID NO:52)

[0125] 表4:可变轻链氨基酸序列

[0126]

抗体	VL 氨基酸序列(SEQ ID NO)
muFR1-9Lcvar	DIVLTQSPATLSVTPGDSVSLSCRASQSINNNLHWYQQKSHESPRLLIKYASQSISGIPSRFSGSGSGTDFT

[0127]

	LSINSVETEDFGMYFCQQSNSWPQVTFGAGTKLEL KR (SEQ ID NO:29)
muFR1-13LCvar	SIVMTQTPKFLLVSTGDRFTITCKASQSVSNDVLW YQQKPGQSPKLLIYYAYNRYSGVPDRFTGSGYGT DFTFTITTVQSEDLAVYFCQQDHSSPFTFGSGTKLE IKR (SEQ ID NO:30)
muFR1-53LC	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLHW YQRKPDGTVKLLVYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGT DYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNSLPPTFGSGTKLE IKR (SEQ ID NO:31)
muFR1-62LC	DIVMTQSQKFMSISVGDRVSVTCKASQNVGTNVA WYQQKPGQSPKTLIYSASSRYSGVPDRFTGSGSGT DFTLTISNVQSEDLADYFCHQYNSYPYTFGGGTKL EIKR (SEQ ID NO:32)
muFRIHC2-1 (“2.1”)	SDVVLTQTPLSLPVNIGDQASISCKSSKSLLNSDGF TYLDWYLQKPGQSPQLLIYLVSNHFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQSNYLPLTFGG GTKLEIKR (SEQ ID NO:53)

[0128] 也提供包含：(a)与SEQ ID NO:25-28具有至少约90％序列同一性的多肽；和/或(b)与SEQ ID NO:29-32具有至少约90％序列同一性的多肽的多肽。在某些实施方案中，多肽包含与SEQ ID NO:25-32具有至少约95％、至少约96％、至少约97％、至少约98％或至少约99％序列同一性的多肽。因此，在某些实施方案中，多肽包含(a)与SEQ ID NO:25-28具有至少约95％序列同一性的多肽，和/或(b)与SEQ ID NO:29-32具有至少约95％序列同一性的多肽。在某些实施方案中，多肽包含(a)具有氨基酸序列SEQ ID NO:25-28的多肽；和/或(b)具有氨基酸序列SEQ ID NO:29-32的多肽。在某些实施方案中，多肽是特异性结合FOLR1的抗体和/或多肽。在某些实施方案中，多肽是特异性结合FOLR1的鼠抗体、嵌合抗体或人源化抗体。在某些实施方案中，与SEQ ID NO:25-32具有某一百分比的序列同一性的多肽与SEQ ID NO:25-32的不同之处仅在于保守性氨基酸取代。

[0129] 多肽可包含本文所述的个别轻链或重链中的一者。抗体和多肽也可包含轻链与重链两者。鼠muFR1-9、muFR1-13、muFR1-53、muFR1-62和FOLR1-2.1(也被称为“IMGN 353.2-1”、“353.2-1”、“2.1”或“muFRIHC2-1”)抗体的轻链和重链序列提供于以下表5和表6中。在某些实施方案中，抗FOLR1抗体是由2013年4月16日交托给ATCC，并且具有ATCC寄存号PTA-120197的杂交瘤产生的抗体(“FOLR1-2.1”，也被称为“IMGN 353.2-1”、“353.2-1”、“2.1”或“muFRIHC2-1”)。

[0130] 表5：全长重链氨基酸序列

[0131]

抗体	全长重链氨基酸序列(SEQ ID NO)
muFR1-9HC	QVQLVESGGGLVQPGGSRKLSCAASGFTFSSFGMH WVRQAPEKGLEWVAYISSGSSTFYYADTVKGRFTI SRDNPKNTLFLQMTSLRSEDTAMYYCAKELTGTFA YWGQGTLVTVSAAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSM VTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVL ESDLYTLSSSVTVPSSMRPSETVTCNVAHPASSTKV DKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTI TLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTA QTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCR VNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQM AKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYK NTQPIMNTNGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTFTCS VLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK (SEQ ID NO:33)
muFR1-13HC	QVQLKESGPDLVAPSQSLSITCTVSGFSLSRYSVHW IRQPPGKGLEWLGMIWSGGNTDYNSVFKSRLNITK DNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCATFDGKVSWF AYWGQGTLVTVSAAKTTPPSVYPLAPGCGDTTGSS VTLGCLVKGYFPESVTVTWNSGSLSSSVHTFPALL QSGLYTMSSSVTVPSSTWPSQTVTCSVAHPASSTT VDKKLEPSGPISTINPCPPCKECHKCPAPNLEGGPSV FIFPPNIKDVLMISLTPKVTCVVVDVSEDDPDVQIS WFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTIRVVSTLPIQHQ DWMSGKEFKCKVNNKDLPSPIERTISKIKGLVRAP QVYILPPPAEQLSRKDVSLTCLVVGFNPGDISVEWT SNGHTEENYKDTAPVLDSDGSYFIYSKLNMKTSK WEKTDSFSCNVRHEGLKNYYLKKTISRSPGK (SEQ ID NO:34)
muFR1-53HC	QVQLQQSGPELVRPGASVKMSCKASGYKFTDYDIS WVLQRTGQGLEWIGEIYPGSGRTYYNERFKGKAT LTADKSSNTVYMQLSSLTSEDSAVYFCASSYYYGT NSPFAYWGQGTTLTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQ

[0132]

	TNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTF PAVLESDLYTLSSSVTVPSSMRPSETVTCNVAHPAS STKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKD VLTITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEV HTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEF KCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKE QMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAEN YKNTQPIMNTNGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTFT CSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK (SEQ ID NO:35)
muFR1-62HC	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTTYTM HWVKQRPGQGLEWIAYINPTSGYNNYNQKFKEKA TLTADKSSSTAYMQLTSLTSEDSAVYYCASGGAYG RRPVDYWGQGTSVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQ TNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTF PAVLESDLYTLSSSVTVPSSMRPSETVTCNVAHPAS STKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKD VLTITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEV HTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEF KCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKE QMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAEN YKNTQPIMNTNGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTFT CSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK (SEQ ID NO:36)
muFRI HC2-1 (“2.1”)	QVQLQQSGPELVKPGASVRISCKASGYTFTNSYIH WVKKRPGQGLEWIGWIYPESLNTQYNEKFKAKAT LTADKSSSTSYMQLSSLTSEDSAVYFCARRGIYYYS PYALDHWGQGASVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAA QTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVH TFPAVLESDLYTLSSSVTVPSSMRPSETVTCNVAHP ASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKP KDVLTITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVDDV EVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGK EFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPP KEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPA ENYKNTQPIMNTNGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNT FTCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK (SEQ ID NO:54)

[0133] 表6:全长轻链氨基酸序列

[0134]

抗体	全长轻链氨基酸序列(SEQ ID NO)
muFR1-9 LC	DIVLTQSPATLSVTPGDSVSLSCRASQSINNNLHWY QQKSHESPRLLIKYASQSISGIPSRFSGSGSGTDFTLS

[0135]

	INSVETEDFGMYFCQQSNSWPQVTFGAGTKLELKR ADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDIN VKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTL TLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC (SEQ ID NO:37)
muFR1-13LC	SIVMTQTPKFLLVSTGDRFTITCKASQSVSNDVLWY QQKPGQSPKLLIYYAYNRYSGVPDRFTGSGYGTDF TFTITTVQSEDLAVYFCQQDHSSPFTFGSGTKLEIKR ADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFY PKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYS MSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFN RNEC (SEQ ID NO:38)
muFR1-53LC	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLHWY QRKPDGTVKLLVYYTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDY SLTISNLEQEDIATYFCQQGNSLPPTFGSGTKLEIKR ADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDIN VKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTL TLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC (SEQ ID NO:39)
muFR1-62LC	DIVMTQSQKFMSISVGDRVSVTCKASQNVGTNVA WYQQKPGQSPKTLIYSASSRYSGVPDRFTGSGSGT DFTLTISNVQSEDLADYFCHQYNSYPYTFGGGTKLE IKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFY PKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYS MSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFN RNEC (SEQ ID NO:40)
muFRIHC2-1 (“2.1”)	SDVVLTQTPLSLPVNIGDQASISCKSSKSLLNSDGFT YLDWYLQKPGQSPQLLIYLVSNHFSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQSNYLPLTFGGGTK LEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFY PKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYS MSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFN RNEC (SEQ ID NO:55)

[0136] 也提供包含：(a)与SEQ ID NO:33-36具有至少约90％序列同一性的多肽；和/或(b)与SEQ ID NO:37-40具有至少约90％序列同一性的多肽的多肽。在某些实施方案中，多肽包含与SEQ ID NO:33-40具有至少约95％、至少约96％、至少约97％、至少约98％或至少约99％序列同一性的多肽。因此，在某些实施方案中，多肽包含(a)与SEQ ID NO:33-36具有至少约95％序列同一性的多肽，和/或(b)与SEQ ID NO:37-40具有至少约95％序列同一性的多肽。在某些实施方案中，多肽包含(a)具有氨基酸序列SEQ ID NO:33-36的多肽；和/或(b)具有氨基酸序列SEQ ID NO:37-40的多肽。在某些实施方案中，多肽是特异性结合FOLR1的抗体和/或多肽。在某些实施方案中，多肽是特异性结合FOLR1的鼠抗体、嵌合抗体或人源

化抗体。在某些实施方案中，与SEQ ID NO:33-40具有某一百分比的序列同一性的多肽与SEQ ID NO:33-40的不同之处仅在于保守性氨基酸取代。

[0137] 在某些实施方案中，多肽不由huMov19与FOLR1的结合竞争性抑制。在某些实施方案中，多肽不由IMGN853与FOLR1的结合竞争性抑制。在某些实施方案中，多肽不由huMov19与FOLR1的结合竞争性抑制。在某些实施方案中，多肽不由抗体或抗原结合片段与FOLR1的结合竞争性抑制，其中所述抗体或抗原结合片段包含：具有SEQ ID NO:59的可变轻链(VL)互补决定区(CDR)-1；具有SEQ ID NO:60的VL CDR-2；具有SEQ ID NO:61的VL CDR-3；具有SEQ ID NO:62的可变重链(VH)CDR-1；具有SEQ ID NO:64的VH CDR-2；和具有SEQ ID NO:65的VH CDR-3。在某些实施方案中，多肽不由抗体或抗原结合片段与FOLR1的结合竞争性抑制，其中所述抗体或抗原结合片段包含具有序列SEQ ID NO:56的可变重链(VH)和具有序列SEQ ID NO:57或SEQ ID NO:58的可变轻链(VL)。在某些实施方案中，多肽不由抗体或抗原结合片段与FOLR1的结合竞争性抑制，其中所述抗体或抗原结合片段包含(i)重链，所述重链包含与由以PTA-10772交托给美国典型培养物保藏中心(ATCC)的质粒编码的重链的氨基酸序列相同的氨基酸序列，和(ii)轻链，所述轻链包含与由以PTA-10774交托给ATCC的质粒编码的轻链的氨基酸序列相同的氨基酸序列。在某些实施方案中，多肽不由叶酸与FOLR1的结合抑制。

[0138] 抗体对抗原的亲和力或亲合力可使用本领域中熟知的任何适合方法以实验方式测定，所述方法例如细胞计量术(包括流式细胞计量术)、酶联免疫吸附测定(ELISA)、或放射免疫测定(RIA)、或动力学方法(例如表面等离子体共振光谱法(BIACORE™)分析)。可易于采用直接结合测定以及竞争性结合测定形式。(参见例如Berzofsky等，"Antibody-Antigen Interactions，"Fundamental Immunology，Paul，W.E.编，Raven Press:New York，N.Y.(1984)；Kuby，Janis Immunology，W.H.Freeman and Company:New York，N.Y.(1992)；以及本文所述的方法。)如果在不同条件(例如盐浓度、pH、温度)下测量，那么特定抗体-抗原相互作用的测量亲和力可变化。因此，用抗体和抗原的标准化溶液和如本领域中已知以及诸如本文所述的缓冲液的标准化缓冲液进行亲和力和其他抗原结合参数(例如KD或Kd、$K_{缔合}$、$K_{解离}$)的测量。

[0139] 在一个方面，结合测定可使用细胞计量术(例如流式细胞计量术)来对在表面上表达FOLR1抗原的细胞进行。举例来说，使FOLR1阳性细胞诸如SKOV3与不同浓度的抗FOLR1抗体一起在100μL FACS缓冲液(补充以2％正常山羊血清的RPMI-1640培养基)中孵育，每个样品使用$1x10^5$个细胞。接着，使细胞集结，洗涤，并且与100μL FITC缀合的山羊抗小鼠或山羊抗人IgG抗体(诸如可从例如Jackson Laboratory获得，6μg/mL于FACS缓冲液中)一起孵育1小时。再次使细胞集结，用FACS缓冲液洗涤，并且再混悬于200μL含有1％甲醛的PBS中。例如使用具有HTS多孔进样器的FACSCalibur流式细胞仪来获取样品，并且使用CellQuest Pro(全都来自BD Biosciences，San Diego，US)来分析。对于各样品，输出FL1的平均荧光强度(MFI)，并且相对于抗体浓度以半对数图加以绘制以产生结合曲线。拟合S形剂量-响应曲线以获得结合曲线，并且使用程序诸如采用缺省参数的GraphPad Prism v4(GraphPad software，San Diego，CA)来计算EC50值。EC50值可用作各抗体的表观解离常数“Kd”或“KD”的量度。

[0140] 单克隆抗体可使用杂交瘤方法诸如由Kohler和Milstein(1975)Nature 256:495

所述的那些方法来制备。使用杂交瘤方法，如上所述使小鼠、仓鼠或其他适当宿主动物免疫以引发由淋巴细胞产生将特异性结合免疫抗原的抗体。淋巴细胞也可在体外加以免疫。在免疫之后，将淋巴细胞分离，并且使用例如聚乙二醇来与适合骨髓瘤细胞系融合以形成杂交瘤细胞，可接着对所述杂交瘤细胞进行选择以与未融合淋巴细胞和骨髓瘤细胞分开。如通过免疫沉淀、免疫印迹或通过体外结合测定(例如放射免疫测定(RIA)；酶联免疫吸附测定(ELISA))确定的产生特异性针对所选抗原的单克隆抗体的杂交瘤可接着使用标准方法(Goding,Monoclonal Antibodies:Principles and Practice,Academic Press,1986)在体外培养中加以增殖，或在体内以腹水肿瘤形式在动物中加以增殖。单克隆抗体可接着如对于多克隆抗体所述从培养基或腹水液纯化。

[0141] 或者，单克隆抗体也可使用如美国专利4,816,567中所述的重组DNA方法来制备。诸如通过使用特异性扩增编码抗体的重链和轻链的基因的寡核苷酸引物进行RT-PCR，从成熟B细胞或杂交瘤细胞分离编码单克隆抗体的多核苷酸，并且使用常规程序测定它们的序列。接着将编码重链和轻链的经分离多核苷酸克隆至适合表达载体中，所述表达载体在转染至不另外产生免疫球蛋白的宿主细胞诸如大肠杆菌(E.coli)细胞、猿猴COS细胞、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或骨髓瘤细胞中时，由宿主细胞产生单克隆抗体。此外，所需物种的重组单克隆抗体或其片段可如所描述(McCafferty等,1990,Nature,348:552-554;Clackson等,1991,Nature,352:624-628;以及Marks等,1991,J.Mol.Biol.,222:581-597)从表达所需物种的CDR的噬菌体展示文库分离。

[0142] 编码单克隆抗体的多核苷酸可进一步使用重组DNA技术以许多不同方式加以修饰以产生替代性抗体。在一些实施方案中，例如小鼠单克隆抗体的轻链和重链的恒定结构域可被替代成1)例如人抗体的那些区域以产生嵌合抗体，或可被替代成2)非免疫球蛋白多肽以产生融合抗体。在一些实施方案中，恒定区被截短或移除以产生单克隆抗体的所需抗体片段。对可变区的定点诱变或高密度诱变可用于使单克隆抗体的特异性、亲和力等最优化。

[0143] 在一些实施方案中，针对人FOLR1的单克隆抗体是人源化抗体。在某些实施方案中，所述抗体在治疗上用于在向人受试者施用时使抗原性和HAMA(人抗小鼠抗体)应答降低。

[0144] 用于对非人抗体或人抗体进行工程改造、人源化或表面重塑的方法也可加以使用，并且在本领域中是熟知的。人源化、表面重塑或以类似方式工程改造的抗体可具有一个或多个来自非人来源的氨基酸残基，所述非人来源例如但不限于小鼠、大鼠、兔、非人灵长类动物或其他哺乳动物。这些非人氨基酸残基由通常取自已知人序列的“输入”可变结构域、恒定结构域或其他结构域的经常被称为“输入”残基的残基替换。

[0145] 所述输入序列可用于降低免疫原性，或降低、增强或改进结合、亲和力、缔合速率、解离速率、亲合力、特异性、半衰期或如本领域中已知的任何其他适合特征。一般来说，CDR残基直接以及最实质上涉及影响FOLR1结合。因此，维持一部分或全部的非人CDR序列或人CDR序列，而可变区和恒定区的非人序列可用人氨基酸或其他氨基酸替换。

[0146] 抗体也可任选为在保留对抗原FOLR1的高亲和力和其他有利生物性质的情况下加以工程改造的人源化抗体、表面重塑抗体、工程改造抗体或人抗体。为实现这个目标，人源化(或人)或工程改造抗FOLR1抗体和表面重塑抗体可任选通过使用亲本序列、工程改造序列和人源化序列的三维模型来分析亲本序列以及各种概念性人源化产物和工程改造产物

的方法来制备。三维免疫球蛋白模型通常是可用的，并且为本领域技术人员所熟悉。说明和显示所选候选免疫球蛋白序列的可能三维构象结构的计算机程序是可用的。对这些显示物的检查容许分析残基在候选免疫球蛋白序列的功能性方面的可能作用，即分析影响候选免疫球蛋白结合它的抗原诸如FOLR1的能力的残基。以这个方式，可选择和组合来自共有序列和输入序列的框架(FR)残基以便实现所需抗体特征诸如对靶标抗原的亲和力增加。

[0147] 本文公开的抗体的人源化、表面重塑或工程改造可使用任何已知方法来进行，所述方法诸如但不限于以下文献和专利中所述的那些：Winter(Jones等，Nature 321:522(1986)；Riechmann等，Nature 332:323(1988)；Verhoeyen等，Science 239:1534(1988))；Sims等，J.Immunol.151:2296(1993)；Chothia和Lesk，J.Mol.Biol.196:901(1987)；Carter等，Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.89:4285(1992)；Presta等，J.Immunol.151:2623(1993)；Roguska等，Proc.Natl.Acad.Sci.，USA，91(3):969-973(1994)；Roguska等，Protein Eng.9(10):895-904(1996)；美国专利号5,639,641；5,723,323；5,976,862；5,824,514；5,817,483；5,814,476；5,763,192；5,723,323；5,766,886；5,714,352；6,204,023；6,180,370；5,693,762；5,530,101；5,585,089；5,225,539；4,816,567；PCT/:US98/16280；US96/18978；US91/09630；US91/05939；US94/01234；GB89/01334；GB91/01134；GB92/01755；WO90/14443；WO90/14424；WO90/14430；EP 229246；7,557,189；7,538,195；和7,342,110，所述文献和专利各自以引用的方式整体并入本文，包括在它们之中引用的参考文献。

[0148] 本文公开的特异性结合FOLR1的试剂也涵盖抗体片段。用于产生抗体片段的各种技术是已知的。在传统上，这些片段通过蛋白水解消化完整抗体来获得(例如Morimoto等，1993，Journal of Biochemical and Biophysical Methods 24:107-117；Brennan等，1985，Science，229:81)。在某些实施方案中，抗体片段是重组产生的。Fab、Fv和scFv抗体片段全都可在大肠杆菌或其他宿主细胞中表达并从所述大肠杆菌或其他宿主细胞分泌，由此允许产生大量这些片段。所述抗体片段也可从以上讨论的抗体噬菌体文库分离。抗体片段也可为如例如美国专利5,641,870中所述的线性抗体，并且可为单特异性的或双特异性的。用于产生抗体片段的其他技术将为熟练从业者显而易知。

[0149] 出于本发明的目的，应了解经修饰抗体可包含提供抗体与人FOLR1的多肽的缔合的任何类型的可变区。就此而言，可变区可包含来自可被诱导来发动体液应答，并且产生针对所需肿瘤相关抗原的免疫球蛋白的任何类型的哺乳动物的可变区，或源于所述任何类型的哺乳动物。因此，经修饰抗体的可变区可例如具有人、鼠、非人灵长类动物(例如食蟹猴、猕猴等)或狼来源。在一些实施方案中，经修饰免疫球蛋白的可变区与恒定区两者均是人源的。在其他实施方案中，可相容抗体的可变区(通常源于非人来源)可被工程改造或特定调适以改进结合性质或降低分子的免疫原性。在这个方面，适用于本发明中的可变区可被人源化或另外通过包括输入氨基酸序列来改变。

[0150] 在某些实施方案中，重链与轻链两者中的可变结构域均通过至少部分替换一个或多个CDR，以及必要时通过进行部分框架区替换和序列变化来改变。尽管CDR可源于类别或甚至子类与框架区所源于的抗体相同的抗体，但设想CDR将源于不同类别的抗体，并且在某些实施方案中，将源于来自不同物种的抗体。可不必要的是用来自供体可变区的完整CDR替换所有CDR以将一个可变结构域的抗原结合能力转移至另一可变结构域。更确切来说，可仅必要的是转移为维持抗原结合位点的活性所必需的那些残基。鉴于美国专利号5,585,089、

5,693,761和5,693,762中阐述的解释，将完全在本领域技术人员的能力内的是，通过进行常规实验或通过试错测试来获得免疫原性降低的功能性抗体。

[0151] 尽管存在对可变区的改变，但本领域技术人员将了解本文公开的经修饰抗体将包括其中至少一部分的一个或多个恒定区结构域已被缺失或另外改变以便提供所需生物化学特征的抗体(例如全长抗体或其免疫反应性片段)，所述所需生物化学特征诸如是当相较于包含天然或未改变恒定区的具有近似相同的免疫原性的抗体时，肿瘤定位增加或血清半衰期降低。在一些实施方案中，经修饰抗体的恒定区将包括人恒定区。可与本发明相容的对恒定区的修饰包括在一个或多个结构域中进行的一个或多个氨基酸的添加、缺失或取代。也就是说，本文公开的经修饰抗体可包含对三个重链恒定结构域(CH1、CH2或CH3)中的一者或多者和/或对轻链恒定结构域(CL)的改变或修饰。在一些实施方案中，涵盖的是经修饰恒定区，其中一个或多个结构域被部分地或整体地缺失。在一些实施方案中，经修饰抗体将包括结构域经缺失的构建体或变体，其中整个CH2结构域已被移除(ΔCH2构建体)。在一些实施方案中，省略的恒定区结构域将由提供一部分通常由缺少的恒定区赋予的分子柔性的短氨基酸间隔体(例如10个残基)替换。

[0152] 应注意，在某些实施方案中，经修饰抗体可被工程改造来使CH3结构域直接融合于相应经修饰抗体的铰链区。在其他构建体中，可合乎需要的是在铰链区与经修饰CH2和/或CH3结构域之间提供肽间隔体。举例来说，可表达可相容构建体，其中CH2结构域已被缺失，并且剩余CH3结构域(经修饰或未修饰)用含5-20个氨基酸的间隔体接合于铰链区。可添加这种间隔体例如以确保恒定结构域的调控元件保持自由和可及，或铰链区保持柔性。然而，应注意，在一些情况下，氨基酸间隔体可被证明具有免疫原性，并且引发针对构建体的非所要免疫应答。因此，在某些实施方案中，添加至构建体中的任何间隔体都将是相对非免疫原性的，或甚至被完全省略，以便维持经修饰抗体的所需生物化学品质。

[0153] 除缺失整个恒定区结构域之外，应了解本文公开的抗体可通过部分缺失或取代少许或甚至单一氨基酸来提供。举例来说，CH2结构域的所选区域中的单一氨基酸的突变可足以使Fc结合实质上降低以及由此使肿瘤定位增加。类似地，可合乎需要的是仅使一个或多个恒定区结构域的控制待调节的效应物功能(例如补体C1Q结合)的部分缺失。恒定区的所述部分缺失可使抗体的所选特征(血清半衰期)改进，同时使与主题恒定区结构域相关的其他合乎需要的功能保持完整。此外，如以上所提及，所公开抗体的恒定区可通过对一个或多个氨基酸进行的使所得构建体的概况增强的突变或取代来修饰。在这个方面，有可能破坏由保守结合位点提供的活性(例如Fc结合)，同时大致上维持经修饰抗体的构型和免疫原性概况。某些实施方案可包括向恒定区添加一个或多个氨基酸以使合乎需要的特征增强，诸如使效应物功能降低或增加，或提供更大程度的细胞毒素或碳水化合物连接。在所述实施方案中，可为合乎需要的是插入源于所选恒定区结构域的特定序列或使所述特定序列重复。

[0154] 本文公开的抗体也包括与本文阐述的嵌合抗体、人源化抗体和人抗体或它们的抗体片段大致上同源的变体和等效物。这些变体和等效物可含有例如保守性取代突变，即一个或多个氨基酸由类似氨基酸取代。举例来说，保守性取代是指某一氨基酸被在同一一般性类别内的另一氨基酸取代，例如像一个酸性氨基酸被另一酸性氨基酸取代，一个碱性氨基酸被另一碱性氨基酸取代，或一个中性氨基酸被另一中性氨基酸取代。保守性氨基酸取

代的意图在本领域中是熟知的。

[0155] 本文公开的FOLR1结合剂的多肽可为针对人FOLR1的重组多肽、天然多肽或合成多肽，包括抗体或其片段。在本领域中将认识到可改变本发明的一些氨基酸序列，而不对蛋白质的结构或功能产生显著影响。因此，本文公开的FOLR1结合剂也包括多肽的变化形式，所述变化形式显示针对人叶酸受体蛋白质的抗体或其片段的实质性活性，或包括针对人叶酸受体蛋白质的抗体或其片段的区域。所述突变体包括缺失、插入、倒位、重复和类型取代。

[0156] 多肽和类似物可被进一步修饰以含有通常不是蛋白质的一部分的额外化学部分。那些衍生部分可改进蛋白质的溶解性、生物半衰期或吸收。所述部分也可降低或消除蛋白质的任何不合需要的副作用等。对于那些部分的概述可见于REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES,第20版,Mack Publishing Co.,Easton,PA(2000)中。

[0157] III.检测方法

[0158] 本发明方法提供一种用以检测样品中的人FOLR1的多步方法。特定来说，进行初始免疫捕集步骤以使样品中的FOLR1富集，随后将FOLR1消化成肽，以及通过液相色谱法-质谱测定法(LC/MS)来分析。通过LC/MS对肽的分析进一步允许定量测定存在于样品中的FOLR1的水平，包括例如来自患有FOLR1表达性癌症的患者的样品中FOLR1的水平。在一些实施方案中，检测样品中的人叶酸受体1(FOLR1)的方法包括：(a)用结合于固体载体的免疫捕集试剂捕集所述叶酸受体1(FOLR1)；(b)从所述固体载体洗脱FOLR1；(c)消化所洗脱FOLR1；和(d)对经消化FOLR1进行液相色谱法-质谱测定法(LC/MS)分析，其中所述FOLR1通过监测至少一种特征FOLR1肽的色谱分离和质谱测定响应来检测。相较于用于检测FOLR1的其他已知方法，本发明方法提供灵敏性和选择性得以增强的优势。

[0159] 在一些实施方案中，含有FOLR1的样品包括体液。在其他实施方案中，体液可为血浆、血清或腹水液。在一特定实施方案中，样品是血浆。在一些实施方案中，样品包括外周血液样品。在一些实施方案中，样品从患有癌症的患者获得。在其他实施方案中，癌症选自由以下组成的组：卵巢癌、肺癌、结肠直肠癌、胰腺癌、肝癌、乳腺癌、脑癌、肾癌、前列腺癌、胃肠癌、黑素瘤、子宫颈癌、膀胱癌、胶质母细胞瘤、子宫内膜癌、腹膜癌和头颈部癌。在某些实施方案中，癌症是卵巢癌。在某些实施方案中，癌症是子宫内膜癌。在某些实施方案中，癌症是肺癌。在某些实施方案中，肺癌是非小细胞肺癌。在某些实施方案中，非小细胞肺癌是肺腺癌。

[0160] a.免疫捕集

[0161] 使用结合于固体载体的免疫捕集试剂来对样品进行初始免疫捕集步骤。免疫捕集试剂可为结合FOLR1的任何免疫试剂，包括例如结合FOLR1的抗体或其抗原结合片段。当抗体或抗原结合片段用作免疫捕集试剂时，所述抗体或抗原结合片段与FOLR1的结合可不由样品中基于抗体的活性剂诸如IMGN853与FOLR1的结合竞争性抑制。此外，当抗体或抗原结合片段用作免疫捕集试剂时，所述抗体或抗原结合片段与FOLR1的结合可不由存在于样品中的叶酸抑制。

[0162] 在一些实施方案中，免疫捕集试剂是抗体muFR1-9。在一些实施方案中，免疫捕集试剂是抗体muFR1-13。在其他实施方案中，免疫捕集试剂是muFR1-53。在其他实施方案中，免疫捕集试剂是抗体muFR1-62。

[0163] 在一些实施方案中，免疫捕集试剂是包含以下的抗体或抗原结合片段：具有SEQ

ID NO:1的可变重链(VH)互补决定区(CDR)-1;具有SEQ ID NO:2的VH CDR-2;具有SEQ ID NO:3的VH CDR-3;具有SEQ ID NO:13的可变轻链(VL)互补决定区(CDR)-1;具有SEQ ID NO:14的VL CDR-2;和具有SEQ ID NO:15的VL CDR-3。在一些实施方案中,免疫捕集试剂是包含以下的抗体或抗原结合片段:具有SEQ ID NO:4的VH CDR-1;具有SEQ ID NO:5的VH CDR-2;具有SEQ ID NO:6的VH CDR-3;具有SEQ ID NO:16的VL CDR-1;具有SEQ ID NO:17的VL CDR-2;和具有SEQ ID NO:18的VL CDR-3。在一些实施方案中,免疫捕集试剂是包含以下的抗体或抗原结合片段:具有SEQ ID NO:7的VH CDR-1;具有SEQ ID NO:8的VH CDR-2;具有SEQ ID NO:9的VH CDR-3;具有SEQ ID NO:19的VL CDR-1;具有SEQ ID NO:20的VL CDR-2;和具有SEQ ID NO:21的VL CDR-3。在一些实施方案中,免疫捕集试剂是包含以下的抗体或抗原结合片段:具有SEQ ID NO:10的VH CDR-1;具有SEQ ID NO:11的VH CDR-2;具有SEQ ID NO:12的VH CDR-3;具有SEQ ID NO:22的VL CDR-1;具有SEQ ID NO:23的VL CDR-2和具有SEQ ID NO:24的VL CDR-3。

[0164] 在一些实施方案中,免疫捕集试剂是包含具有SEQ ID NO:25的VH和具有SEQ ID NO:29的VL的抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中,免疫捕集试剂是包含具有SEQ ID NO:26的VH和具有SEQ ID NO:30的VL的抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中,免疫捕集试剂是包含具有SEQ ID NO:27的VH和具有SEQ ID NO:31的VL的抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中,免疫捕集试剂是包含具有SEQ ID NO:28的VH和具有SEQ ID NO:32的VL的抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中,免疫捕集试剂是包含以下的抗体或抗原结合片段:与序列SEQ ID NO:25具有至少90%同一性的VH和与序列SEQ ID NO:29具有至少90%同一性的VL。在一些实施方案中,免疫捕集试剂是包含以下的抗体或抗原结合片段:与序列SEQ ID NO:25具有至少95%同一性的可变重链(VH)和与序列SEQ ID NO:29具有至少95%同一性的可变轻链(VL)。在一些实施方案中,免疫捕集试剂是包含以下的抗体或抗原结合片段:与序列SEQ ID NO:26具有至少90%同一性的可变重链(VH)和与序列SEQ ID NO:30具有至少90%同一性的可变轻链(VL)。在一些实施方案中,免疫捕集试剂是包含以下的抗体或抗原结合片段:与序列SEQ ID NO:26具有至少95%同一性的可变重链(VH)和与序列SEQ ID NO:30具有至少95%同一性的可变轻链(VL)。在一些实施方案中,免疫捕集试剂是抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段包括包含以下的抗体或抗原结合片段:与序列SEQ ID NO:27具有至少90%同一性的可变重链(VH)和与序列SEQ ID NO:31具有至少90%同一性的可变轻链(VL)。在一些实施方案中,免疫捕集试剂是包含以下的抗体或抗原结合片段:与序列SEQ ID NO:27具有至少95%同一性的可变重链(VH)和与序列SEQ ID NO:31具有至少95%同一性的可变轻链(VL)。在一些实施方案中,免疫捕集试剂是包含以下的抗体或抗原结合片段:与序列SEQ ID NO:28具有至少90%同一性的可变重链(VH)和与序列SEQ ID NO:32具有至少90%同一性的可变轻链(VL)。在一些实施方案中,免疫捕集试剂是包含以下的抗体或抗原结合片段:与序列SEQ ID NO:28具有至少95%同一性的可变重链(VH)和与序列SEQ ID NO:32具有至少95%同一性的可变轻链(VL)。

[0165] 在一个实施方案中,免疫捕集试剂是包含以下的抗体或抗原结合片段:具有序列SEQ ID NO:33的重链和具有序列SEQ ID NO:37的轻链。在另一实施方案中,免疫捕集试剂是包含以下的抗体或抗原结合片段:具有序列SEQ ID NO:34的重链和具有序列SEQ ID NO:38的轻链。在另一实施方案中,免疫捕集试剂是包含以下的抗体或抗原结合片段:具有序列

SEQ ID NO:35的重链和具有序列SEQ ID NO:39的轻链。在另一实施方案中，免疫捕集试剂是包含具有SEQ ID NO:36的重链和具有SEQ ID NO:40的轻链的抗体或抗原结合片段。

[0166] 在一些实施方案中，免疫捕集试剂是以约1.0nM至约10nM的Kd结合人FOLR1的抗体或抗原结合片段。在其他实施方案中，免疫捕集试剂是以约0.5nM至约5nM的Kd结合人FOLR1的抗体或抗原结合片段。

[0167] 在一些实施方案中，免疫捕集试剂是生物素化的。在一些实施方案中，免疫捕集试剂通过生物素-链霉亲和素相互作用来结合于固体载体。在一些实施方案中，固体载体是质谱测定性免疫测定(MSIA)微柱。在其他实施方案中，免疫捕集试剂包括磁性珠粒。

[0168] 为进行初始免疫捕集步骤，使含有FOLR1的样品与结合于固体载体的免疫捕集试剂一起孵育。在免疫捕集步骤之后可进行洗涤步骤以进一步纯化所捕集FOLR1。在一些实施方案中，在使样品与免疫捕集试剂一起孵育之后以及在洗脱所捕集FOLR1之前，进行一个或多个洗涤步骤。在一些实施方案中，在洗脱所捕集FOLR1之前，进行两个或更多个洗涤步骤。在一些实施方案中，对所捕集FOLR1进行至少两个、至少三个、至少四个、至少五个、至少六个、至少七个、至少八个、至少九个或至少十个洗涤步骤。在一些实施方案中，洗涤步骤包括使所捕集FOLR1与洗涤缓冲液接触。在一些实施方案中，洗涤缓冲液是可商购获得的洗涤缓冲液。在一些实施方案中，洗涤步骤包括使所捕集FOLR1与盐溶液和清洁剂接触。在一些实施方案中，盐溶液是400mM NaCl，并且清洁剂是0.1％吐温20(Tween 20)。

[0169] 在免疫捕集之后，通过进行洗脱步骤来使FOLR1从固体载体释放。在一些实施方案中，通过使所捕集FOLR1与酸性溶液接触来进行洗脱步骤。在一些实施方案中，酸性溶液是可商购获得的溶液。在一些实施方案中，通过添加中和缓冲液来致使洗脱物达到中性pH。在一些实施方案中，中和缓冲液是在pH 8下的500mM碳酸氢铵。在一些实施方案中，中和缓冲液是可商购获得的缓冲液。

[0170] b.液相色谱法-质谱测定法

[0171] 在免疫捕集和洗脱之后，将所得FOLR1蛋白消化成肽，并且通过液相色谱法-质谱测定法(LC/MS)来分析。在一些实施方案中，在通过LC/MS来分析之前使含FOLR1溶液烷基化和还原。在一些实施方案中，用甲醇使FOLR1烷基化。在一些实施方案中，通过使FOLR1与含有三(2-羧乙基)膦(TCEP)的溶液接触来使FOLR1还原。在一些实施方案中，含有100mM TCEP的溶液用于使FOLR1还原。在一些实施方案中，在烷基化和还原之后，将半胱氨酸封阻试剂添加至含FOLR1溶液中。在一些实施方案中，半胱氨酸封阻试剂是碘乙酰胺(IAM)。在一些实施方案中，将含有100mM IAM的溶液添加至含FOLR1溶液中。

[0172] 在烷基化和还原之后，将FOLR1消化成肽。在一些实施方案中，用胰蛋白酶消化FOLR1。在一些实施方案中，用Lys-C消化FOLR1。在一些实施方案中，用胰蛋白酶和Lys-C的混合物消化FOLR1。在一些实施方案中，通过使FOLR1与含有30ng/μL胰蛋白酶/Lys-C的50mM碳酸氢铵溶液接触来消化FOLR1。

[0173] 用胰蛋白酶/Lys-C消化FOLR1会产生适用于通过LC/MS来对样品进行定量分析的肽。在一些实施方案中，本发明的经分离特征肽提供于FOLR1的消化产物中。通过消化FOLR1所产生的特征肽提供于下表7中。

[0174] 表7.FOLR1特征肽氨基酸序列

[0175]

sFRα 特征肽序列 1	TELLNVCMNAK (SEQ ID NO:42)
sFRα 特征肽序列 2	IAWAR (SEQ ID NO:43)
sFRα 特征肽序列 3	VLNVPLCK (SEQ ID NO:44)
sFRα 特征肽序列 4	CIQMWFDPAQGNPNEEVAR (SEQ ID NO: 45)

[0176] 在将FOLR1消化成肽之后，制备含肽溶液以进行LC/MS分析。在一些实施方案中，在LC/MS分析之前，将表面活性剂添加至含肽溶液中。在一些实施方案中，表面活性剂是被配制以进行质谱测定法分析的商业试剂。在一些实施方案中，与表面活性剂的反应通过添加10％甲酸来淬灭。

[0177] 在为了进行LC/MS分析而消化和制备样品之后，将样品注射至LC/MS仪器中并加以分析。在一些实施方案中，在LC/MS分析步骤时，选择和监测FOLR1的至少两种特征肽。在一些实施方案中，在LC/MS分析步骤时，选择和监测FOLR1的至少三种特征肽。在一些实施方案中，在LC/MS分析步骤时，选择和监测FOLR1的至少四种特征肽。在一些实施方案中，在LC/MS步骤时选择和监测的至少四种特征肽包括：具有氨基酸序列SEQ ID NO:42的肽；具有氨基酸序列SEQ ID NO:43的肽；具有氨基酸序列SEQ ID NO:44的肽；和具有氨基酸序列SEQ ID NO:45的肽。在一些实施方案中，对FOLR1水平的定量测量由LC/MS分析提供。在其他实施方案中，样品中FOLR1的水平通过将样品中FOLR1的水平与FOLR1的参照水平进行比较来定量。通过LC/MS分析进行的分析方法在本领域中是熟知的，并且描述于例如Yang等Scientific Reports.2015年11月17日；5:16733；doi10.1038/srep16733中。

[0178] 在一些实施方案中，对样品中的FOLR1的检测不由样品中存在IMGN853抑制。在一些实施方案中，对样品中的FOLR1的检测不由样品中存在huMov19抑制。在一些实施方案中，对样品中的FOLR1的检测不由存在于样品中的抗体或抗原结合片段的存在所抑制，其中所述抗体或抗原结合片段包含：具有SEQ ID NO:59的可变轻链(VL)互补决定区(CDR)-1；具有SEQ ID NO:60的VL CDR-2；具有SEQ ID NO:61的VL CDR-3；具有SEQ ID NO:62的可变重链(VH)CDR-1；具有SEQ ID NO:64的VH CDR-2；和具有SEQ ID NO:65的VH CDR-3。在一些实施方案中，对样品中的FOLR1的检测不由存在于样品中的抗体或抗原结合片段的存在所抑制，其中所述抗体或抗原结合片段包含具有序列SEQ ID NO:56的VH和具有序列SEQ ID NO:57或SEQ ID NO:58的VL。在一些实施方案中，对FOLR1的检测不由存在于样品中的抗体或抗原结合片段的存在所抑制，其中所述抗体或抗原结合片段包含(i)重链，所述重链包含与由以PTA-10772交托给美国典型培养物保藏中心(ATCC)的质粒编码的重链的氨基酸序列相同的氨基酸序列，和(ii)轻链，所述轻链包含与由以PTA-10774交托给ATCC的质粒编码的轻链的氨基酸序列相同的氨基酸序列。在一些实施方案中，对样品中的FOLR1的检测不由样品中存在叶酸抑制。

[0179] 在一些实施方案中，通过进行本发明方法，能够检测样品中至少0.5ng/mL FORL1。在一些实施方案中，通过进行本发明方法，能够检测样品中至少0.3ng/mL FOLR1。在一些实

施方案中，通过进行本发明方法，能够检测样品中至少0.25ng/mL FOLR1。在一些实施方案中，通过进行本发明方法，能够检测样品中至少0.2ng/mL FOLR1。在一些实施方案中，通过进行本发明方法，能够检测样品中至少0.15ng/mL FOLR1。在一些实施方案中，通过进行本发明方法，观察到至少5的信噪比。在一些实施方案中，通过进行本发明方法，观察到至少6的信噪比。在一些实施方案中，通过进行本发明方法，观察到至少7的信噪比。在一些实施方案中，通过进行本发明方法，观察到至少8的信噪比。在一些实施方案中，通过进行本发明方法，观察到至少9的信噪比。在一些实施方案中，通过进行本发明方法，观察到至少10的信噪比。

[0180] IV.试剂盒

[0181] 为方便起见，本发明的测定方法可以试剂盒的形式提供。这种试剂盒是包括以下基本要素的包装组合：(a)结合FOLR1的第一试剂，所述第一试剂可为免疫捕集试剂；和(b)可将所捕集FOLR1消化成肽的消化试剂。试剂盒可进一步包括至少一种源于FOLR1的肽。这些基本要素在上文中以及在以下实施例中加以阐释。

[0182] 在一些实施方案中，免疫捕集试剂是结合FOLR1的抗体或抗原结合片段。在另一实施方案中，免疫捕集试剂是包含以下的抗体或抗原结合片段：具有SEQ ID NO:1的可变重链(VH)互补决定区(CDR)-1；具有SEQ ID NO:2的VH CDR-2；具有SEQ ID NO:3的VH CDR-3；具有SEQ ID NO:13的可变轻链(VL)互补决定区(CDR)-1；具有SEQ ID NO:14的VL CDR-2和具有SEQ ID NO:15的VL CDR-3。在其他实施方案中，免疫捕集试剂是包含以下的抗体或抗原结合片段：具有SEQ ID NO:4的VH CDR-1；具有SEQ ID NO:5的VH CDR-2；具有SEQ ID NO:6的VH CDR-3；具有SEQ ID NO:16的VL CDR-1；具有SEQ ID NO:17的VL CDR-2和具有SEQ ID NO:18的VL CDR-3。在其他实施方案中，免疫捕集试剂是包含以下的抗体或抗原结合片段：具有SEQ ID NO:7的VH CDR-1；具有SEQ ID NO:8的VH CDR-2；具有SEQ ID NO:9的VH CDR-3；具有SEQ ID NO:19的VL CDR-1；具有SEQ ID NO:20的VL CDR-2和具有SEQ ID NO:21的VL CDR-3。在其他实施方案中，免疫捕集试剂是包含以下的抗体或抗原结合片段：具有SEQ ID NO:10的VH CDR-1；具有SEQ ID NO:11的VH CDR-2；具有SEQ ID NO:12的VH CDR-3；具有SEQ ID NO:22的VL CDR-1；具有SEQ ID NO:23的VL CDR-2和具有SEQ ID NO:24的VL CDR-3。

[0183] 在一些实施方案中，免疫捕集试剂是包含具有SEQ ID NO:25的VH和具有SEQ ID NO:29的VL的抗体或抗原结合片段。在其他实施方案中，免疫捕集试剂是包含具有SEQ ID NO:26的VH和具有SEQ ID NO:30的VL的抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中，免疫捕集试剂是包含具有SEQ ID NO:27的VH和具有SEQ ID NO:31的VL的抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中，免疫捕集试剂是包含具有SEQ ID NO:28的VH和具有SEQ ID NO:32的VL的抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中，免疫捕集试剂包括包含与SEQ ID NO:25-28中的任一者具有至少90％同一性的VH的抗体。在一些实施方案中，免疫捕集试剂包括包含与SEQ ID NO:25-28中的任一者具有至少95％同一性的VH的抗体。在一些实施方案中，免疫捕集试剂包括包含与SEQ ID NO:29-32中的任一者具有至少90％同一性的VL的抗体。在一些实施方案中，免疫捕集试剂包括包含与SEQ ID NO:29-32中的任一者具有至少95％同一性的VL的抗体。

[0184] 在一些实施方案中，免疫捕集试剂是包含以下的抗体或抗原结合片段：具有序列SEQ ID NO:33的重链和具有序列SEQ ID NO:37的轻链。在其他实施方案中，免疫捕集试剂

是包含以下的抗体或抗原结合片段:具有序列SEQ ID NO:34的重链和具有序列SEQ ID NO:38的轻链。在其他实施方案中,免疫捕集试剂是包含以下的抗体或抗原结合片段:具有序列SEQ ID NO:35的重链和具有序列SEQ ID NO:39的轻链。在其他实施方案中,免疫捕集试剂是包含具有SEQ ID NO:36的重链和具有SEQ ID NO:40的轻链的抗体或抗原结合片段。

[0185] 在一些实施方案中,免疫捕集试剂是muFR1-9。在其他实施方案中,免疫捕集试剂是muFR1-13。在一些实施方案中,免疫捕集试剂是以约1.0nM至约10nM的Kd结合人FOLR1的抗体或抗原结合片段。在其他实施方案中,免疫捕集试剂是以约0.5nM至约5nM的Kd结合人FOLR1的抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中,免疫捕集试剂是生物素化的。

[0186] 在一些实施方案中,试剂盒进一步包括用于捕集试剂的固体载体,所述固体载体可以单独要素形式提供,或以其上已固定有捕集试剂的形式提供。因此,试剂盒中的捕集抗体可被固定在固体载体上,或它们可被固定在随试剂盒一起加以包括,或与试剂盒分开加以提供的所述载体上。在一些实施方案中,固体载体包括质谱测定性免疫测定(MSIA)微柱。在其他实施方案中,固体载体包括磁性珠粒。在一些实施方案中,固体载体用链霉亲和素包被。在一些实施方案中,免疫捕集试剂通过生物素-链霉亲和素相互作用来连接于固体载体。

[0187] 在一些实施方案中,试剂盒进一步含有至少一种FOLR1肽,所述FOLR1肽可作为标准物用于液相色谱法-质谱测定法分析中。在一些实施方案中,试剂盒含有包含序列SEQ ID NO:42的肽。在一些实施方案中,试剂盒含有包含序列SEQ ID NO:43的肽。在一些实施方案中,试剂盒含有包含序列SEQ ID NO:44的肽。在一些实施方案中,试剂盒含有包含序列SEQ ID NO:45的肽。在一个实施方案中,试剂盒包括四种特征肽,所述特征肽可作为标准物用于液相色谱法-质谱测定法分析中。在一个实施方案中,四种特征肽由以下组成:1)包含序列SEQ ID NO:42的肽;2)包含序列SEQ ID NO:43的肽;3)包含序列SEQ ID NO:44的肽;和4)包含序列SEQ ID NO:45的肽。

[0188] 试剂盒也通常含有关于进行测定的说明书,和/或用以充当标准物的FOLR1蛋白或FOLR1肽,以及其他添加剂诸如稳定剂、洗涤缓冲液和孵育缓冲液等。试剂盒也可包括关于定量测量样品中的FOLR1水平的说明书。

[0189] 试剂盒的组分将以预定比率提供,其中适合地改变各种试剂的相对量以提供试剂在溶液中的使测定的灵敏性大致上最大化的浓度。特定来说,试剂可以通常是冻干的,包括赋形剂的干燥粉末形式提供,所述干燥粉末在溶解时将提供具有适当浓度的试剂溶液以与待测试的样品组合。

[0190] 本公开的实施方案可通过参照以下非限制性实施例来进一步阐释,所述非限制性实施例详细描述本公开的方法。将为本领域技术人员显而易知的是对材料与方法两者进行的许多修改可在不脱离本公开的范围的情况下加以实施。

[0191] 实施例

[0192] 应了解本文所述的实施例和实施方案仅出于说明目的,并且根据所述实施例和实施方案的各种修改或变化将为本领域技术人员所想起,并将包括在本申请的精神和界限内。

[0193] 实施例1

[0194] sFRα免疫捕集-LC/MS测定

[0195] 在WO 2014/036495中开发并描述了一种基于ELISA的测定/。使用包被有FOLR1-Fc(huFOLR1与鼠IgG2A铰链、CH2、CH3的融合肽)的ELISA板、作为捕集抗体的muFR1-9、和生物素化muFR1-13进行这个测定。通过系统化方法来使测定最优化,其中准则是具有高信噪比的信号可重现,在人血浆样品中的基质效应最小,可重复性和精确度较高,以及检测限最低。选择的最优ELISA条件导致在噪声可忽略/较低的情况下检测到低至25ng/mL的sFRα。尽管条件得以优化,但这个ELISA测定不提供足以区分正常受试者中的sFRα水平与卵巢癌患者中的sFRα水平分布范围以允许对sFRα水平和疾病状态进行关联分析的灵敏性。

[0196] Kurosaki等,Int.J.Cancer.2016年4月15日;138(8):1994-2002中报道的使用两种不同人FRα特异性小鼠单克隆抗体进行的一种更新近的基于ELISA的测定被开发来探究在临床上被怀疑患有恶性卵巢肿瘤的患者的血清中sFRα的水平,以及对sFRα作为卵巢癌的诊断标志物进行评估。这个ELISA测定具有250-8000pg/mL的动态范围,并且对于最低校正物(250pg/mL),具有3.4的信噪比。尽管这个ELISA测定提供更灵敏的动态sFRα检测范围,但ELISA读出数据通常以分光光度方式在450nm下测量,并且关于在620nm下的吸光度加以修正,因此,不具有同样选择性,并且可能产生更具假阳性的结果。

[0197] 开发了本发明的满足灵敏性与选择性两者的准则的测定。通过LC/MS步骤对特征肽的准确测量会提供不由典型ELISA方法提供的第二选择性水平。此外,由免疫捕集-LC/MS测定提供的检测sFRα的灵敏性和选择性也使得这个测定适用于对sFRα作为用于卵巢癌患者的预测和/或预后生物标志物进行探究。

[0198] 如图1中所示的测定包括以下步骤:使生物素化捕集抗体(例如本发明的抗体,诸如muFR1-9或muFR1-13抗体)溶液与经链霉亲和素包被的免疫捕集介质(MSIA微柱或磁性珠粒)一起孵育,使样品与免疫捕集介质一起孵育,以多次洗涤的方式用洗涤缓冲液、盐溶液和清洁剂洗涤免疫捕集介质,丢弃上清液,用酸性溶液使sFRα从免疫捕集介质释放,以及中和sFRα溶液,随后进行还原和烷基化。接着将样品用胰蛋白酶/Lys-C消化,并且注射至LC/MS中以进行分析。在LC/MS分析步骤时,选择和监测sFRα的四种不同特征肽。具体来说,具有SEQ ID NO:42的肽用于报告蛋白质浓度,并且具有SEQ ID NO:43-45的肽用于确认。

[0199] 在样品制备期间的用以改进测定性能的优化步骤包括修改条件以改进免疫捕集效率,采用洗涤程序以从血浆基质移除潜在干扰,以及修改条件以改进酶消化效率。在LC/MS期间的优化步骤包括鉴定提供良好色谱分离和质谱测定响应的特征肽序列。用MSIA微柱技术和磁性珠粒处理来评估免疫捕集的自动化选项。两个选项均可与使用96孔板来显著改进样品通量相容,并且对于两个自动化平台,均观察到类似灵敏性。也使用抗原经消减的血浆或替代基质来对测定进行评估。

[0200] 工作测定参数如下:样品处理包括8.5小时的免疫捕集和酶消化,每个样品10分钟的LC/MS分析,在5%BSA PBS(替代基质,0.65ng/mL至40.63ng/mL)中制备校正标准物,样品体积在0.3mL下,四种特征肽在LLOQ水平下的S/N>10,STD接受准则是除LLOQ(±25%)之外处于标称值的±20%,QC接受准则是处于标称值的±20%。

[0201] 实施例2

[0202] 在使用sFRα免疫捕集-LC/MS测定的情况下人血浆样品的数据分析

[0203] 使用以上参数设计实验以测量在替代基质中含有在0.3ng/mL下的低水平的sFRα的样品中sFRα的水平。如图2中所示,这些实验的结果证明可通过免疫捕集-LC/MS测定来测

量极低水平的sFRα。实验也被设计来测量正常人血浆样品中sFRα的水平。如图3中所示，以约0.5ng/mL得见的内源性sFRα水平可通过免疫捕集-LC/MS测定来测量。图4显示来自具有升高的sFRα的患者给药前样品的提取离子色谱图。这个实验的结果证明可明确区分具有升高水平的sFRα的患者血浆样品与具有内源性水平的正常人血浆样品。

[0204] 实验被设计来测试在血浆样品中存在靶向FRα的免疫缀合物IMGN853的情况下的测定可耐受性。在血浆中在低水平、中等水平和高水平下制备sFRαQC样品，在预计的Cmax浓度下外加以IMGN853，并且与在血浆中在无IMGN853下制备的sFRαQC样品进行比较。在任一QC样品组中都未观察到干扰，并且两组样品具有类似响应。

[0205] 这些实验的结果显示本发明的免疫捕集-LC/MS测定具有增加的灵敏性(0.3ng/mL，至少10的信噪比，即相比于本领域中的ELISA测定，灵敏性是2倍大)和增强的选择性以在存在以及不存在靶向FRα的免疫缀合物下测量人血浆样品中的sFRα。

[0206] 本文引用的所有出版物、专利、专利申请、因特网站点和登录号/数据库序列(包括多核苷酸序列与多肽序列两者)都据此出于所有目的以引用的方式整体并入本文，所述引用的程度就好像特定地和个别地指示将各个别出版物、专利、专利申请、因特网站点或登录号/数据库序列以引用的方式如此并入一样。

序列表

<110> 伊缪诺金公司

<120> 用于检测患者样品中的叶酸受体1的方法

<130> 2921.095PC01

<150> 62/554,532

<151> 2017-09-05

<160> 68

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> VH-CDR1 muFR1-9

<400> 1

Ser Phe Gly Met His
1 5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> VH-CDR2 muFR1-9

<400> 2

Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Ser Thr Phe Tyr Tyr Ala Asp Thr Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 3

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> VH-CDR3 muFR1-13

<400> 3

Glu Leu Thr Gly Thr Phe Ala Tyr
1 5

<210> 4

<211> 5

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VH-CDR1 muFR1-13
<400> 4
Arg Tyr Ser Val His
1 5
<210> 5
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VH-CDR2 muFR1-13
<400> 5
Met Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Ser Val Phe Lys Ser
1 5 10 15
<210> 6
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VH-CDR3 muFR1-13
<400> 6
Phe Asp Gly Lys Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10
<210> 7
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VH-CDR1 muFR1-53
<400> 7
Asp Tyr Asp Ile Ser
1 5
<210> 8
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> VH-CDR2 muFR1-53
<400> 8
Glu Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Asn Glu Arg Phe Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 9
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VH-CDR3 muFR1-53
<400> 9
Ser Tyr Tyr Tyr Gly Thr Asn Ser Pro Phe Ala Tyr
1 5 10
<210> 10
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VH-CDR1 muFR1-62
<400> 10
Thr Tyr Thr Met His
1 5
<210> 11
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VH-CDR2 muFR1-62
<400> 11
Tyr Ile Asn Pro Thr Ser Gly Tyr Asn Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15
Glu
<210> 12
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VH-CDR3 muFR1-62

<400> 12
Gly Gly Ala Tyr Gly Arg Arg Pro Val Asp Tyr
1 5 10
<210> 13
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VL-CDR1 muFR1-9
<400> 13
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Asn Leu His
1 5 10
<210> 14
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VL-CDR2 muFR1-9
<400> 14
Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser
1 5
<210> 15
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VL-CDR3 muFR1-9
<400> 15
Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Gln Val Thr
1 5 10
<210> 16
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VL-CDR1 muFR1-13
<400> 16
Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp Val Leu
1 5 10

<210> 17
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VL-CDR2 muFR1-13
<400> 17
Tyr Ala Tyr Asn Arg Tyr Ser
1 5
<210> 18
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VL-CDR3 muFR1-13
<400> 18
Gln Gln Asp His Ser Ser Pro Phe Thr
1 5
<210> 19
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VL-CDR1 muFR1-53
<400> 19
Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu His
1 5 10
<210> 20
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VL-CDR2 muFR1-53
<400> 20
Tyr Thr Ser Arg Leu Gln Ser
1 5
<210> 21
<211> 9
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VL-CDR3 muFR1-53
<400> 21
Gln Gln Gly Asn Ser Leu Pro Pro Thr
1 5
<210> 22
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VL-CDR1 muFR1-62
<400> 22
Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala
1 5 10
<210> 23
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VL-CDR2 muFR1-62
<400> 23
Ser Ala Ser Ser Arg Tyr Ser
1 5
<210> 24
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VL-CDR3 muFR1-62
<400> 24
His Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5
<210> 25
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> muFR1-9HCvar可变重链

<400> 25

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Arg Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Ser Thr Phe Tyr Tyr Ala Asp Thr Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Pro Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Glu Leu Thr Gly Thr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 26

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> muFR1-13HCvar可变重链

<400> 26

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Asp Leu Val Ala Pro Ser Gln
1 5 10 15
Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg Tyr
20 25 30
Ser Val His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45
Gly Met Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Ser Val Phe Lys
50 55 60
Ser Arg Leu Asn Ile Thr Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
65 70 75 80
Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Thr Phe Asp Gly Lys Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ala

115

<210> 27
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> muFR1-53HC可变重链
<400> 27

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Lys Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Asp Ile Ser Trp Val Leu Gln Arg Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Asn Glu Arg Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Ser Ser Tyr Tyr Tyr Gly Thr Asn Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 28
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> muFR1-62HC可变重链
<400> 28

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
20 25 30
Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Ala Tyr Ile Asn Pro Thr Ser Gly Tyr Asn Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Glu Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Thr Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ser Gly Gly Ala Tyr Gly Arg Arg Pro Val Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 29
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> muFR1-9Lcvar可变轻链
<400> 29

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Asp Ser Val Ser Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Asn
20 25 30
Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser His Glu Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Thr
65 70 75 80
Glu Asp Phe Gly Met Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Gln
85 90 95
Val Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
100 105

<210> 30
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> muFR1-13LCvar可变轻链
<400> 30

Ser Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Lys Phe Leu Leu Val Ser Thr Gly
1 5 10 15
Asp Arg Phe Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp

20 25 30
Val Leu Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Ala Tyr Asn Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Thr Thr Val Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Asp His Ser Ser Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 31
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> muFR1-53LC可变轻链
<400> 31
Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu His Trp Tyr Gln Arg Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Val
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Ser Leu Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 32
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> muFR1-62LC可变轻链
<400> 32

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Ile Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Thr Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Ser Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys His Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 33
<211> 441
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> muFR1-9HC全长重链氨基酸
<400> 33
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Arg Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Ser Thr Phe Tyr Tyr Ala Asp Thr Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Pro Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Glu Leu Thr Gly Thr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ala Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu
115 120 125
Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser
145 150 155 160
Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Glu Ser
165 170 175
Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Met Arg
180 185 190
Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr
195 200 205
Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro Cys
210 215 220
Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys
225 230 235 240
Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val
245 250 255
Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe
260 265 270
Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu
275 280 285
Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His
290 295 300
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala
305 310 315 320
Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg
325 330 335
Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met
340 345 350
Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe Pro
355 360 365
Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn
370 375 380
Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asn Thr Asn Gly Ser Tyr Phe Val
385 390 395 400
Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr
405 410 415
Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu
420 425 430
Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 34

<211> 454
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> muFR1-13HC全长重链
<400> 34

```
Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Asp Leu Val Ala Pro Ser Gln
1               5                  10                  15
Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg Tyr
            20                  25                  30
Ser Val His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
        35                  40                  45
Gly Met Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Ser Val Phe Lys
    50                  55                  60
Ser Arg Leu Asn Ile Thr Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
65                  70                  75                  80
Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95
Thr Phe Asp Gly Lys Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110
Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro
        115                 120                 125
Leu Ala Pro Gly Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly
    130                 135                 140
Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Ser Val Thr Val Thr Trp Asn
145                 150                 155                 160
Ser Gly Ser Leu Ser Ser Ser Val His Thr Phe Pro Ala Leu Leu Gln
                165                 170                 175
Ser Gly Leu Tyr Thr Met Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr
            180                 185                 190
Trp Pro Ser Gln Thr Val Thr Cys Ser Val Ala His Pro Ala Ser Ser
        195                 200                 205
Thr Thr Val Asp Lys Lys Leu Glu Pro Ser Gly Pro Ile Ser Thr Ile
    210                 215                 220
Asn Pro Cys Pro Pro Cys Lys Glu Cys His Lys Cys Pro Ala Pro Asn
225                 230                 235                 240
Leu Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Asn Ile Lys Asp
                245                 250                 255
Val Leu Met Ile Ser Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp
```

260 265 270
Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn
275 280 285
Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn
290 295 300
Ser Thr Ile Arg Val Val Ser Thr Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp
305 310 315 320
Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro
325 330 335
Ser Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Ile Lys Gly Leu Val Arg Ala
340 345 350
Pro Gln Val Tyr Ile Leu Pro Pro Pro Ala Glu Gln Leu Ser Arg Lys
355 360 365
Asp Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Val Gly Phe Asn Pro Gly Asp Ile
370 375 380
Ser Val Glu Trp Thr Ser Asn Gly His Thr Glu Glu Asn Tyr Lys Asp
385 390 395 400
Thr Ala Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Ile Tyr Ser Lys
405 410 415
Leu Asn Met Lys Thr Ser Lys Trp Glu Lys Thr Asp Ser Phe Ser Cys
420 425 430
Asn Val Arg His Glu Gly Leu Lys Asn Tyr Tyr Leu Lys Lys Thr Ile
435 440 445
Ser Arg Ser Pro Gly Lys
450

<210> 35
<211> 445
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> muFR1-53HC全长重链
<400> 35
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Lys Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Asp Ile Ser Trp Val Leu Gln Arg Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Asn Glu Arg Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Ser Ser Tyr Tyr Tyr Gly Thr Asn Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser
115 120 125
Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val
130 135 140
Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160
Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175
Val Leu Glu Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro
180 185 190
Ser Ser Met Arg Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro
195 200 205
Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly
210 215 220
Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile
225 230 235 240
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys
245 250 255
Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln
260 265 270
Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln
275 280 285
Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu
290 295 300
Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg
305 310 315 320
Val Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335
Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro
340 345 350
Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr
355 360 365

Asp Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln
370 375 380
Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asn Thr Asn Gly
385 390 395 400
Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu
405 410 415
Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn
420 425 430
His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 36
<211> 444
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> muFR1-62HC全长重链
<400> 36

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
20 25 30
Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Ala Tyr Ile Asn Pro Thr Ser Gly Tyr Asn Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Glu Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Thr Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ser Gly Gly Ala Tyr Gly Arg Arg Pro Val Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val
115 120 125
Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr
130 135 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr
145 150 155 160
Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Glu Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Met Arg Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala
195 200 205
Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys
210 215 220
Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe
225 230 235 240
Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val
245 250 255
Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe
260 265 270
Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro
275 280 285
Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro
290 295 300
Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val
305 310 315 320
Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr
325 330 335
Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys
340 345 350
Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp
355 360 365
Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro
370 375 380
Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asn Thr Asn Gly Ser
385 390 395 400
Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala
405 410 415
Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His
420 425 430
His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 37
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> muFR1-9LC全长轻链

<400> 37

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Asp Ser Val Ser Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Asn
20 25 30
Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser His Glu Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Thr
65 70 75 80
Glu Asp Phe Gly Met Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Gln
85 90 95
Val Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Ala Asp Ala
100 105 110
Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser
115 120 125
Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp
130 135 140
Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val
145 150 155 160
Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met
165 170 175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser
180 185 190
Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys
195 200 205
Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210 215

<210> 38

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> muFR1-13LC全长轻链

<400> 38

Ser Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Lys Phe Leu Leu Val Ser Thr Gly
1 5 10 15

Asp Arg Phe Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp
20 25 30
Val Leu Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Ala Tyr Asn Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Thr Thr Val Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Asp His Ser Ser Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala
100 105 110
Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
115 120 125
Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
130 135 140
Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145 150 155 160
Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
180 185 190
Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210

<210> 39
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> muFR1-53LC全长轻链
<400> 39
Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu His Trp Tyr Gln Arg Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Val
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Ser Leu Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala
100 105 110
Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
115 120 125
Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
130 135 140
Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145 150 155 160
Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
180 185 190
Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210

<210> 40
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> muFR1-62LC全长轻链
<400> 40
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Ile Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Thr Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Ser Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys His Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala
100 105 110
Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
115 120 125
Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
130 135 140
Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145 150 155 160
Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
180 185 190
Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210

<210> 41
<211> 257
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人FOLR1
<400> 41

Met Ala Gln Arg Met Thr Thr Gln Leu Leu Leu Leu Leu Val Trp Val
1 5 10 15
Ala Val Val Gly Glu Ala Gln Thr Arg Ile Ala Trp Ala Arg Thr Glu
20 25 30
Leu Leu Asn Val Cys Met Asn Ala Lys His His Lys Glu Lys Pro Gly
35 40 45
Pro Glu Asp Lys Leu His Glu Gln Cys Arg Pro Trp Arg Lys Asn Ala
50 55 60
Cys Cys Ser Thr Asn Thr Ser Gln Glu Ala His Lys Asp Val Ser Tyr
65 70 75 80
Leu Tyr Arg Phe Asn Trp Asn His Cys Gly Glu Met Ala Pro Ala Cys
85 90 95
Lys Arg His Phe Ile Gln Asp Thr Cys Leu Tyr Glu Cys Ser Pro Asn
100 105 110

Leu Gly Pro Trp Ile Gln Gln Val Asp Gln Ser Trp Arg Lys Glu Arg
115 120 125
Val Leu Asn Val Pro Leu Cys Lys Glu Asp Cys Glu Gln Trp Trp Glu
130 135 140
Asp Cys Arg Thr Ser Tyr Thr Cys Lys Ser Asn Trp His Lys Gly Trp
145 150 155 160
Asn Trp Thr Ser Gly Phe Asn Lys Cys Ala Val Gly Ala Ala Cys Gln
165 170 175
Pro Phe His Phe Tyr Phe Pro Thr Pro Thr Val Leu Cys Asn Glu Ile
180 185 190
Trp Thr His Ser Tyr Lys Val Ser Asn Tyr Ser Arg Gly Ser Gly Arg
195 200 205
Cys Ile Gln Met Trp Phe Asp Pro Ala Gln Gly Asn Pro Asn Glu Glu
210 215 220
Val Ala Arg Phe Tyr Ala Ala Ala Met Ser Gly Ala Gly Pro Trp Ala
225 230 235 240
Ala Trp Pro Phe Leu Leu Ser Leu Ala Leu Met Leu Leu Trp Leu Leu
245 250 255
Ser

<210> 42
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> FOLR1特征肽序列1
<400> 42
Thr Glu Leu Leu Asn Val Cys Met Asn Ala Lys
1 5 10

<210> 43
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> FOLR1特征肽序列2
<400> 43
Ile Ala Trp Ala Arg
1 5

<210> 44
<211> 8

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> FOLR1特征肽序列3
<400> 44
Val Leu Asn Val Pro Leu Cys Lys
1 5
<210> 45
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> FOLR1特征肽序列4
<400> 45
Cys Ile Gln Met Trp Phe Asp Pro Ala Gln Gly Asn Pro Asn Glu Glu
1 5 10 15
Val Ala Arg
<210> 46
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VH-CDR1 muFRIHC2-1
<400> 46
Asn Ser Tyr Ile His
1 5
<210> 47
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VH-CDR2 muFRIHC2-1
<400> 47
Trp Ile Tyr Pro Glu Ser Leu Asn Thr Gln Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Ala
<210> 48
<211> 13
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VH-CDR3 muFRIHC2-1
<400> 48
Arg Gly Ile Tyr Tyr Tyr Ser Pro Tyr Ala Leu Asp His
1 5 10
<210> 49
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VL-CDR1 muFRIHC2-1
<400> 49
Lys Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn Ser Asp Gly Phe Thr Tyr Leu Asp
1 5 10 15
<210> 50
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VL-CDR2 muFRIHC2-1
<400> 50
Leu Val Ser Asn His Phe Ser
1 5
<210> 51
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VL-CDR3 muFRIHC2-1
<400> 51
Phe Gln Ser Asn Tyr Leu Pro Leu Thr
1 5
<210> 52
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> muFRIHC2-1可变重链

<400> 52

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Arg Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Ser
20 25 30
Tyr Ile His Trp Val Lys Lys Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Trp Ile Tyr Pro Glu Ser Leu Asn Thr Gln Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Ala Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ser Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Gly Ile Tyr Tyr Tyr Ser Pro Tyr Ala Leu Asp His Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 53

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> muFRIHC2-1可变轻链

<400> 53

Ser Asp Val Val Leu Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Asn Ile
1 5 10 15
Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn
20 25 30
Ser Asp Gly Phe Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Asn His Phe Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys
65 70 75 80
Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln
85 90 95
Ser Asn Tyr Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110
Lys Arg

<210> 54
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> muFRIHC2-1全长重链
<400> 54

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Arg Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Ser
20 25 30
Tyr Ile His Trp Val Lys Lys Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Trp Ile Tyr Pro Glu Ser Leu Asn Thr Gln Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Ala Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ser Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Gly Ile Tyr Tyr Tyr Ser Pro Tyr Ala Leu Asp His Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro
115 120 125
Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met
130 135 140
Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160
Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175
Ala Val Leu Glu Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Met Arg Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His
195 200 205
Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys
210 215 220
Gly Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe
225 230 235 240
Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro
245 250 255

Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val
260 265 270
Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr
275 280 285
Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu
290 295 300
Leu Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys
305 310 315 320
Arg Val Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro
340 345 350
Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile
355 360 365
Thr Asp Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asn Thr Asn
385 390 395 400
Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp
405 410 415
Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His
420 425 430
Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 55
<211> 220
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> muFRIHC2-1全长轻链
<400> 55

Ser Asp Val Val Leu Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Asn Ile
1 5 10 15
Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Lys Ser Leu Leu Asn
20 25 30
Ser Asp Gly Phe Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Asn His Phe Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys
65 70 75 80
Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln
85 90 95
Ser Asn Tyr Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110
Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser
115 120 125
Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn
130 135 140
Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu
145 150 155 160
Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp
165 170 175
Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr
180 185 190
Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr
195 200 205
Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210 215 220

<210> 56
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> huMov19可变重链
<400> 56

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30
Phe Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Pro Gly Gln Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Arg Ile His Pro Tyr Asp Gly Asp Thr Phe Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala His
65 70 75 80
Met Glu Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Tyr Asp Gly Ser Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 57
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> huMov19 1.00版可变轻链
<400> 57

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Gln Pro Ala Ile Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Phe Ala
20 25 30
Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Gln Gln Pro
35 40 45
Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ala Gly Val Pro Asp
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Lys Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile Ser
65 70 75 80
Pro Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg
85 90 95
Glu Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 58
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> huMov19 1.60版可变轻链
<400> 58

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Gln Pro Ala Ile Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Phe Ala
20 25 30
Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Gln Gln Pro
35 40 45
Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ala Gly Val Pro Asp

50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Lys Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

Pro Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg
85 90 95

Glu Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 59
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> huMov19可变轻链CDR1
<400> 59

Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Phe Ala Gly Thr Ser Leu Met His
1 5 10 15

<210> 60
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> huMov19可变轻链CDR2
<400> 60

Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ala
1 5

<210> 61
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> huMov19可变轻链CDR3
<400> 61

Gln Gln Ser Arg Glu Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 62
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> huMov19可变重链CDR1
<400> 62
Gly Tyr Phe Met Asn
1 5
<210> 63
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> huMov19可变重链CDR2-Kabat定义
<400> 63
Arg Ile His Pro Tyr Asp Gly Asp Thr Phe Tyr Asn Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly
<210> 64
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> huMov19可变重链CDR2-Abm定义
<400> 64
Arg Ile His Pro Tyr Asp Gly Asp Thr Phe
1 5 10
<210> 65
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> huMov19可变重链CDR3
<400> 65
Tyr Asp Gly Ser Arg Ala Met Asp Tyr
1 5
<210> 66
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> huMov19重链氨基酸序列
<400> 66

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30
Phe Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Pro Gly Gln Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Arg Ile His Pro Tyr Asp Gly Asp Thr Phe Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala His
65 70 75 80
Met Glu Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Tyr Asp Gly Ser Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260 265 270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr

305 310 315 320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 67
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> huMov19 1.00版轻链
<400> 67

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Gln Pro Ala Ile Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Phe Ala
20 25 30
Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Gln Gln Pro
35 40 45
Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ala Gly Val Pro Asp
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Lys Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile Ser
65 70 75 80
Pro Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg
85 90 95
Glu Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln

115 120 125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 68
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> huMov19 1.60版轻链
<400> 68
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Gln Pro Ala Ile Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Phe Ala
20 25 30
Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Gln Gln Pro
35 40 45
Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ala Gly Val Pro Asp
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Lys Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80
Pro Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg
85 90 95
Glu Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser

145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr

165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys

180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro

195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

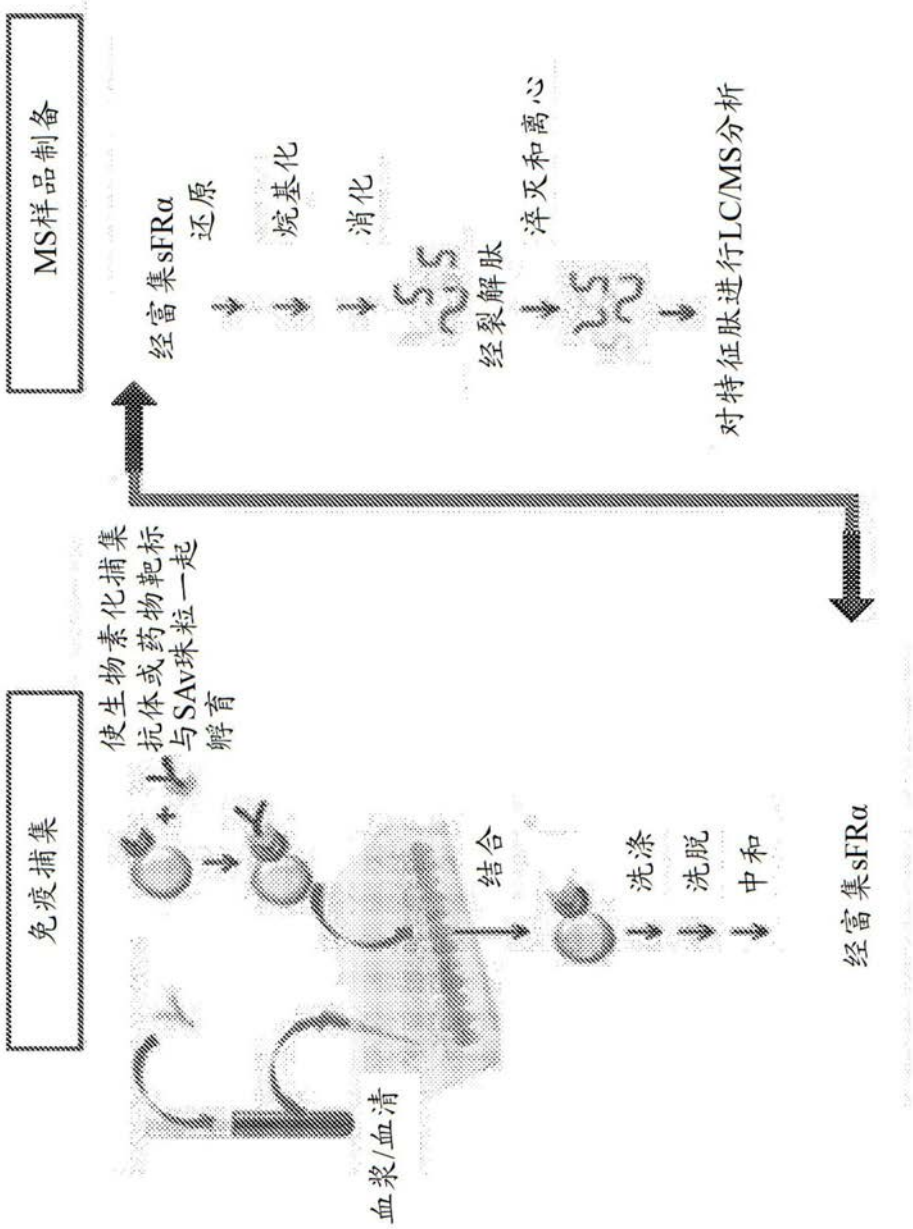
MS样品制备
免疫捕集
使生物素化捕集抗体或药物靶标与SAv珠粒一起孵育
血浆/血清
结合
洗涤
洗脱
中和
经富集sFRα
经富集sFRα
还原
烷基化
消化
经裂解肽
淬灭和离心
对特征肽进行LC/MS分析

图1

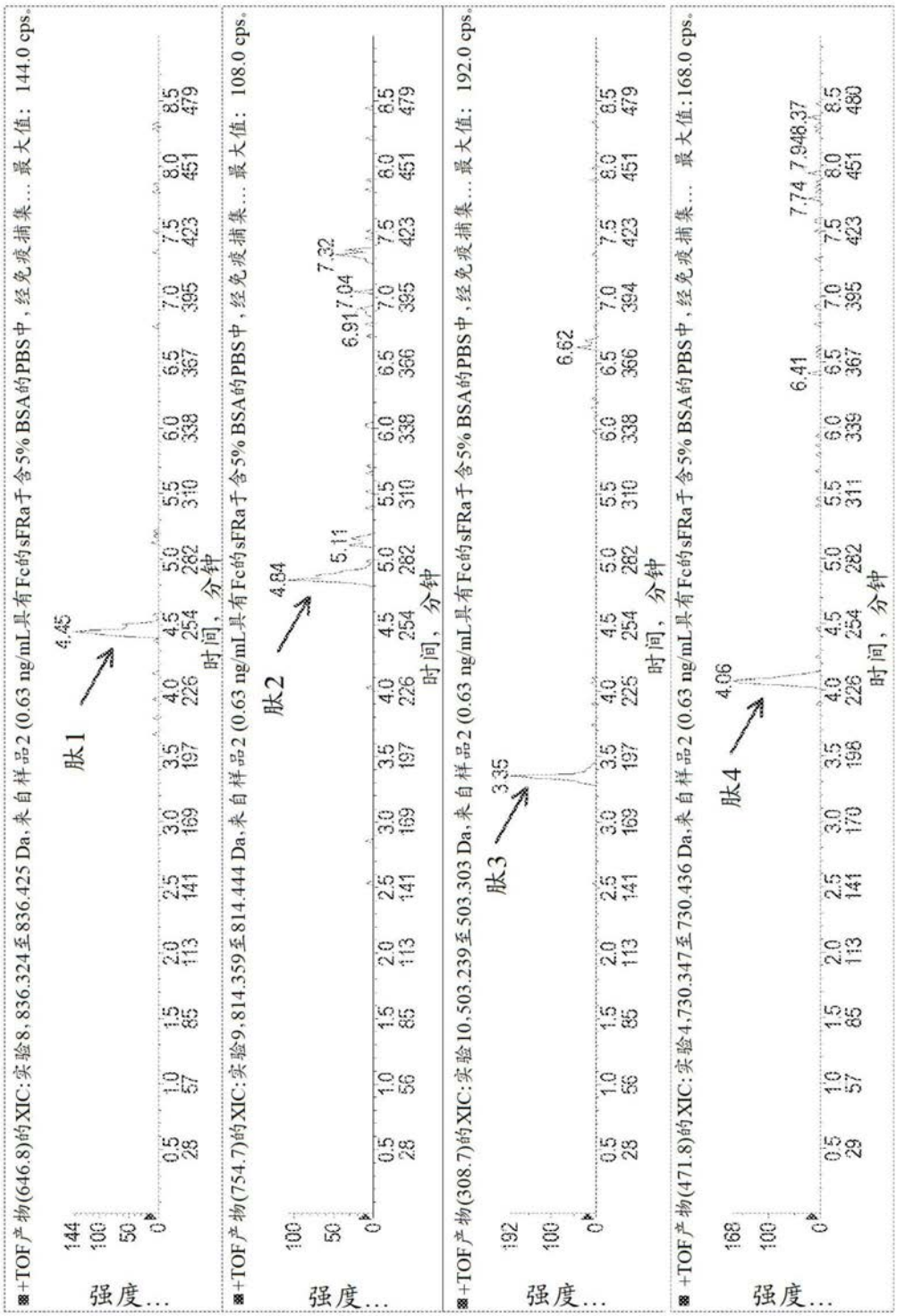
+TOF产物(646.8)的XIC:实验8,836.324至836.425 Da,来自样品2 (0.63 ng/mL具有Fc的sFRa于含5% BSA的PBS中,经免疫捕集... 最大值: 144.0 cps.
肽1
4.45
强度...
时间, 分钟
+TOF产物(754.7)的XIC:实验9,814.359至814.444 Da,来自样品2 (0.63 ng/mL具有Fc的sFRa于含5% BSA的PBS中,经免疫捕集... 最大值: 108.0 cps.
肽2
4.84
5.11
6.91
7.04
7.32
强度...
时间, 分钟
+TOF产物(308.7)的XIC:实验10,503.239至503.303 Da,来自样品2 (0.63 ng/mL具有Fc的sFRa于含5% BSA的PBS中,经免疫捕集... 最大值: 192.0 cps.
肽3
3.35
6.62
强度...
时间, 分钟
+TOF产物(471.8)的XIC:实验4,730.347至730.436 Da,来自样品2 (0.63 ng/mL具有Fc的sFRa于含5% BSA的PBS中,经免疫捕集... 最大值:168.0 cps.
肽4
4.06
6.41
7.74
7.94
8.37
强度...
时间, 分钟

图2

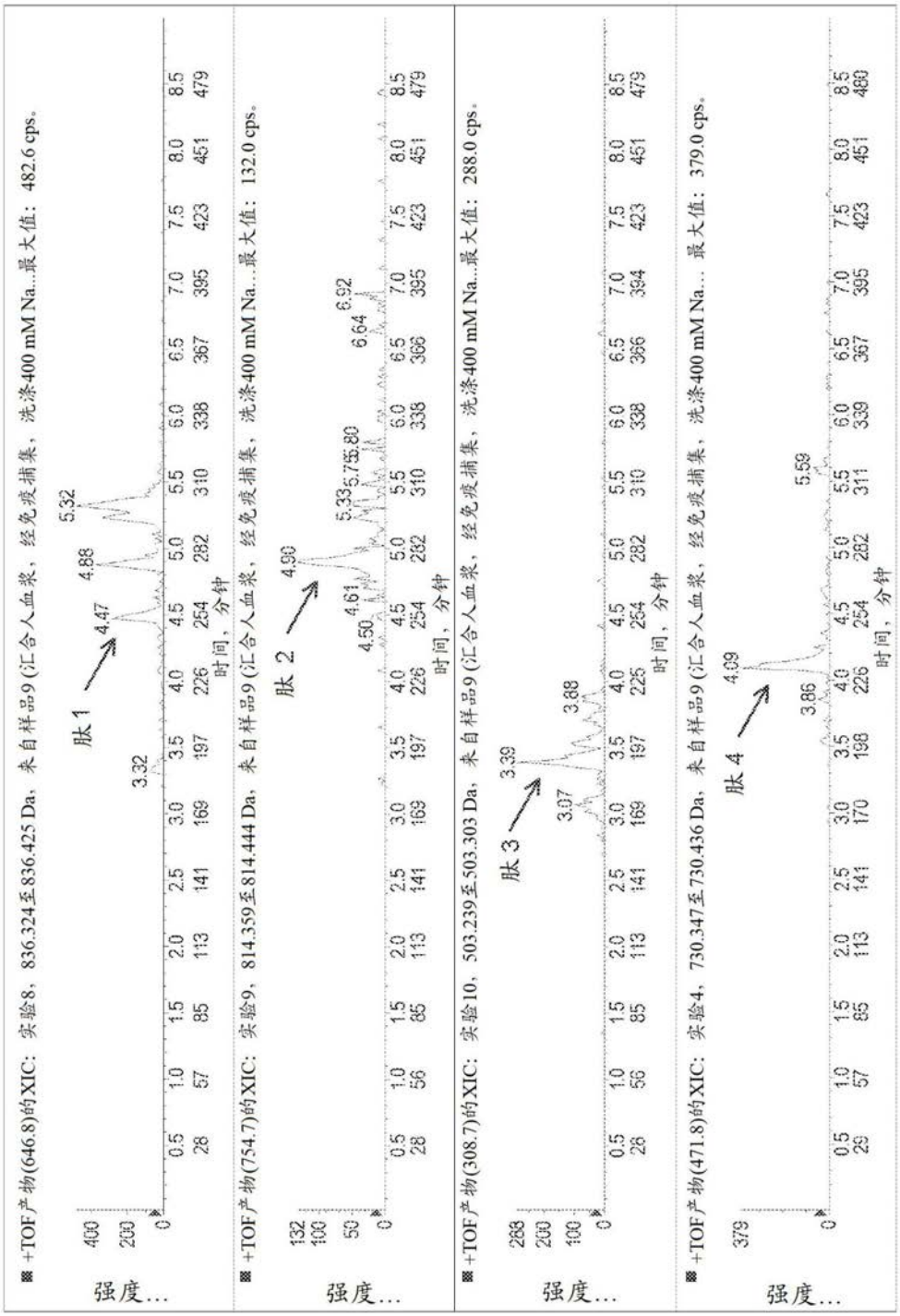
+TOF产物(646.8)的XIC: 实验8, 836.324至836.425 Da, 来自样品9(汇合人血浆, 经免疫捕集, 洗涤400 mM Na...最大值: 482.6 cps。
肽 1
3.32
4.47
4.88
5.32
强度...
时间, 分钟
+TOF产物(754.7)的XIC: 实验9, 814.359至814.444 Da, 来自样品9(汇合人血浆, 经免疫捕集, 洗涤400 mM Na...最大值: 132.0 cps。
肽 2
4.50
4.61
4.90
5.33
5.75
5.80
6.64
6.92
强度...
时间, 分钟
+TOF产物(308.7)的XIC: 实验10, 503.239至503.303 Da, 来自样品9(汇合人血浆, 经免疫捕集, 洗涤400 mM Na...最大值: 288.0 cps。
肽 3
3.07
3.39
3.88
强度...
时间, 分钟
+TOF产物(471.8)的XIC: 实验4, 730.347至730.436 Da, 来自样品9(汇合人血浆, 经免疫捕集, 洗涤400 mM Na... 最大值: 379.0 cps。
肽 4
3.86
4.09
5.59
强度...
时间, 分钟

图3

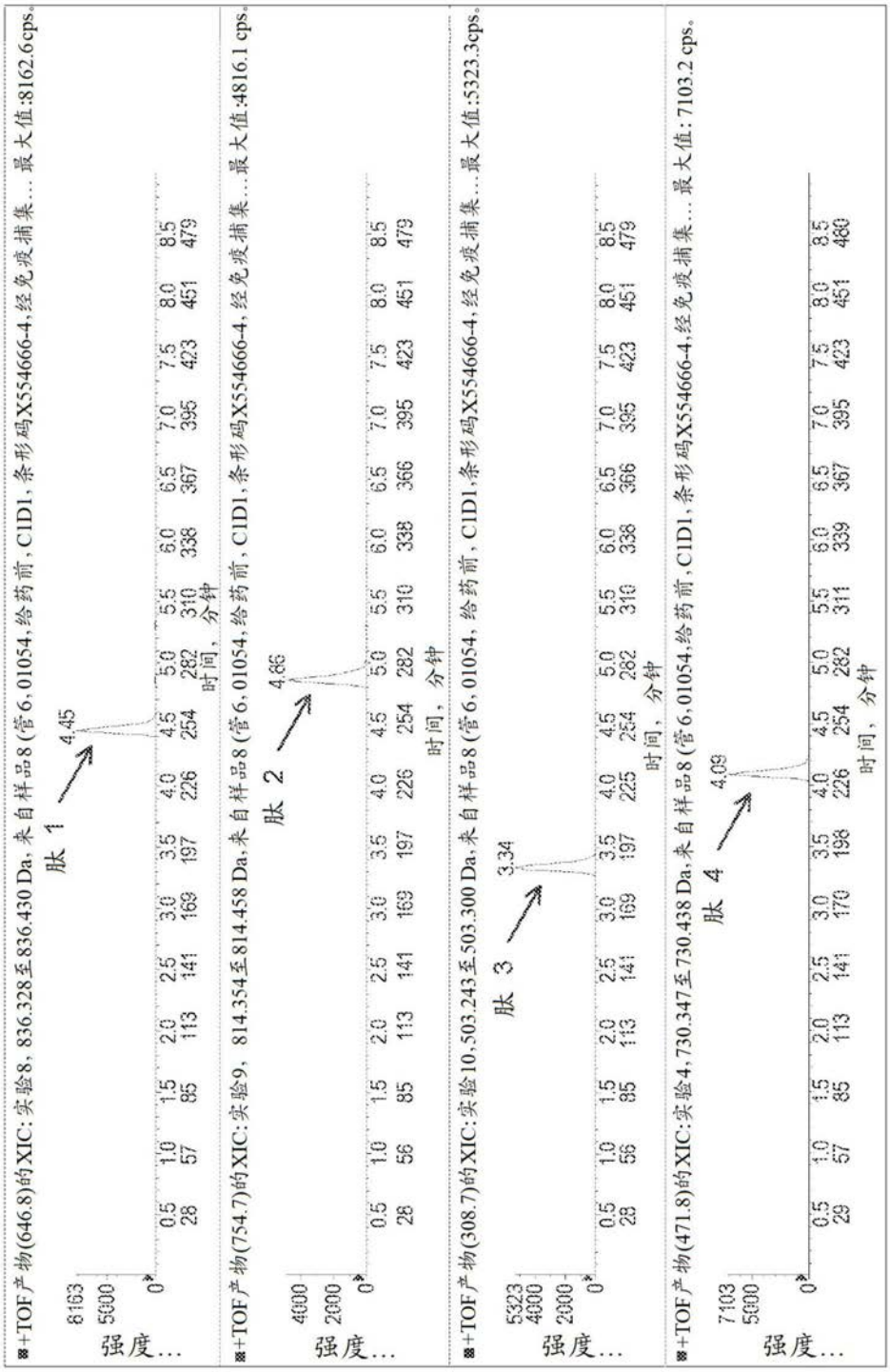
+TOF产物(646.8)的XIC:实验8，836.328至836.430 Da，来自样品8(管6,01054,给药前,C1D1,条形码X554666-4,经免疫捕集... 最大值:8162.6cps。
肽 1
4.45
8163
5000
0
强度...
时间，分钟
+TOF产物(754.7)的XIC:实验9，814.354至814.458 Da，来自样品8(管6,01054,给药前,C1D1,条形码X554666-4,经免疫捕集... 最大值:4816.1 cps。
肽 2
4.86
4000
2000
0
强度...
时间，分钟
+TOF产物(308.7)的XIC:实验10，503.243至503.300 Da，来自样品8(管6,01054,给药前,C1D1,条形码X554666-4,经免疫捕集... 最大值:5323.3cps。
肽 3
3.34
5323
4000
2000
0
强度...
时间，分钟
+TOF产物(471.8)的XIC:实验4，730.347至730.438 Da，来自样品8(管6,01054,给药前,C1D1,条形码X554666-4,经免疫捕集... 最大值: 7103.2 cps。
肽 4
4.09
7103
5000
0
强度...
时间，分钟

图4

专利名称(译)	用于检测患者样品中的叶酸受体1的方法		
公开(公告)号	CN111108385A	公开(公告)日	2020-05-05
申请号	CN201880057644.0	申请日	2018-09-05
[标]申请(专利权)人(译)	伊缪诺金公司		
申请(专利权)人(译)	伊缪诺金公司		
当前申请(专利权)人(译)	伊缪诺金公司		
发明人	雷蒙德·徐 凯瑞·库尔姆-默德克		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/566 G01N33/68		
CPC分类号	G01N33/543 G01N33/6848 G01N33/82		
代理人(译)	邱晓敏		
优先权	62/554532 2017-09-05 US		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明总体上涉及用于检测样品中的人叶酸受体1的方法和试剂盒。进一步提供了人叶酸受体1的肽。

MAQRMTTQLLLLLVWVAVVGEAQTRIAWARTELLNVCMN AKHHKEKPGPEDKLHEQCRPWRKNACCSTNTSQEAHKDVSYLY RFNWNHCGEMAPACKRHFIQDTCLYECSPNLGPWIQQVDQSWR KERVLNVPLCKEDCEQWWEDCRTSYTCKSNWHKGWNWTSGFN KCAVGAACQPFHFYFPTPTVLCNEIWTHSYKVSNYSRGSGRCIQM WFDPAQGNPNEEVARFYAAAMSGAGPWAAWPFLLSLALMLLW LLS (SEQ ID NO:41)。