

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-512751

(P2017-512751A)

(43) 公表日 平成29年5月25日(2017.5.25)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 37/02	Z N A 4 B 0 6 3
C 0 7 K 14/47 (2006.01)	C 0 7 K 14/47	4 B 0 6 4
C 0 7 K 7/00 (2006.01)	C 0 7 K 7/00	4 B 0 6 5
C 0 7 K 16/18 (2006.01)	C 0 7 K 16/18	4 C 0 7 6
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00	A 4 C 0 8 4
審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 141 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2016-551856 (P2016-551856)	(71) 出願人	509343507 アイピエリアン, インコーポレイティド アメリカ合衆国, カリフォルニア 94080, サウス サンフランシスコ, ゲートウェイ ブールバード 951
(86) (22) 出願日	平成26年2月14日 (2014.2.14)	(74) 代理人	100081422 弁理士 田中 光雄
(85) 翻訳文提出日	平成28年9月28日 (2016.9.28)	(74) 代理人	100084146 弁理士 山崎 宏
(86) 国際出願番号	PCT/US2014/016597	(74) 代理人	100122301 弁理士 富田 憲史
(87) 国際公開番号	W02015/122922	(72) 発明者	アイリーン・グリスウォルド・ブレナー アメリカ合衆国94080カリフォルニア州サウス・サンフランシスコ、ゲイトウェイ・ブルバード951番 最終頁に続く
(87) 国際公開日	平成27年8月20日 (2015.8.20)		

(54) 【発明の名称】 タウペプチド、抗タウ抗体、およびそれらの使用方法

(57) 【要約】

本発明は、単離されたタウペプチド、および該ペプチドを含む組成物を提供する。本発明は、単離されたタウペプチドに特異的な抗体をさらに提供する。タウペプチドに対する個体の免疫応答を刺激するために該単離されたタウペプチドを含む医薬組成物を使用することを含む、診断および処置における単離されたタウペプチドの使用法、ならびにタウオパチーを含む疾患の検出、診断および処置における該抗体の使用法もまた、さらに提供される。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

a) 単離されたタウペプチドであって、配列番号 1 ~ 3 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 175 アミノ酸長を有する、タウペプチド；および

b) 薬学的に許容される添加物を含む、医薬組成物。

【請求項 2】

a) 単離されたタウペプチドであって、配列番号 4 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 150 アミノ酸長を有する、タウペプチド；および

b) 薬学的に許容される添加物を含む、医薬組成物。

10

【請求項 3】

a) 単離されたタウペプチドであって、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 121 アミノ酸長を有する、タウペプチド；および

b) 薬学的に許容される添加物を含む、医薬組成物。

【請求項 4】

a) 単離されたタウペプチドであって、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 67 アミノ酸長を有する、タウペプチド；および

b) 薬学的に許容される添加物を含む、医薬組成物。

20

【請求項 5】

タウペプチドが、少なくとも 1 つのアセチル化アミノ酸を含む、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

少なくとも 1 つのアセチル化アミノ酸が、アセチル化 N 末端アミノ酸である、請求項 5 に記載の医薬組成物。

30

【請求項 7】

タウペプチドが、リン酸化セリン残基および/またはリン酸化スレオニン残基を含む、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

ペプチドが、非ペプチド等比体積結合および/または非天然アミノ酸を含む、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 9】

非天然アミノ酸が D - アミノ酸である、請求項 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 10】

ペプチドが、同じアミノ酸配列の細胞内タウペプチドと比較して低リン酸化型である、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

40

【請求項 11】

ペプチドが固体支持体に固定化されている、請求項 1 から 10 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 12】

固体支持体が、ビーズ、テストストリップ、またはマルチウェルプレートのウェルである、請求項 11 に記載の医薬組成物。

【請求項 13】

ペプチドが検出可能なラベルを含む、請求項 1 から 10 のいずれか一項に記載の医薬組

50

成物。

【請求項 14】

検出可能なラベルが、化学発光剤、微粒子標識、比色剤、エネルギー転移剤、酵素、蛍光剤、造影剤または放射性同位元素である、請求項 13 に記載の医薬組成物。

【請求項 15】

アジュバントをさらに含む、請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 16】

アジュバントがヒトにおける使用に好適である、請求項 15 に記載の医薬組成物。

【請求項 17】

組成物が滅菌されている、請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

10

【請求項 18】

組成物が内毒素を含まない、請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 19】

検出可能にラベルを付した単離されたタウペプチドであって、

a) 配列番号 1 ~ 3 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 175 アミノ酸長を有する、タウペプチド；

b) 配列番号 4 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 150 アミノ酸長を有する、タウペプチド；

c) 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 121 アミノ酸長を有する、タウペプチド；または

20

d) 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 67 アミノ酸長を有する、タウペプチド。

【請求項 20】

タウペプチドに特異的な抗体の作製方法であって、

a) 非ヒト哺乳動物に、

i) 配列番号 1 ~ 3 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 175 アミノ酸長を有する、タウペプチド；

30

ii) 配列番号 4 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 150 アミノ酸長を有する、タウペプチド；

iii) 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 121 アミノ酸長を有する、タウペプチド；または

iv) 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 67 アミノ酸長を有する、タウペプチド

を投与し、

ここで、該投与が、ペプチドに対する抗体の産生を誘導し；そして

b) 該哺乳動物から該抗体および/または該抗体を産生する細胞を単離することを含む、方法。

40

【請求項 21】

個体においてタウペプチドに対する免疫応答を刺激する方法であって、請求項 1 - 10 のいずれか一項に記載の医薬組成物を個体に投与することを含み、該投与により、個体におけるペプチドに対する免疫応答が刺激される、方法。

【請求項 22】

該免疫応答がタウに特異的な抗体の産生を含む、請求項 21 に記載の方法。

【請求項 23】

該免疫応答が、結果として以下の 1 またはそれ以上の変化をもたらす、請求項 21 に記載の方法：

50

- a) 脳組織における細胞外遊離タウの量；
- b) 間質液（I S F）における細胞外遊離タウの量；
- c) 脳脊髄液（C S F）における細胞外遊離タウの量；
- d) ニューロンから他のニューロンへのタウの拡散；
- e) ニューロン内のタウ凝集量；
- f) ミクログリアおよび／またはアストロサイト活性化の程度；
- g) リン酸化または高リン酸化タウの量；
- h) I S FまたはC S Fにおける、全タウまたは遊離タウの量；
- i) 細胞内のタウのN末端フラグメントの量；
- j) ニューロンの過剰活性化；
- k) C S F中のA₄₀および／またはA₄₂の量；
- l) A_βの増加；
- m) ニューロンからのA₄₀および／またはA₄₂の分泌；
- n) アミロイド前駆体タンパク質（A P P）プロモーター活性化；
- o) A P P m R N Aおよび／またはタンパク質レベル；
- p) γ -セクレターゼおよび／または γ -セクレターゼの活性化；
- q) A β 誘導性シグナル伝達経路の活性化状態；
- r) 細胞内全タウまたは遊離タウの量；
- s) I S FまたはC S Fにおける、抗タウ抗体-結合タウの量；および
- t) 細胞内抗タウ抗体-結合タウの量。

10

20

【請求項24】

タウペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む組換え発現ベクターであって、ここで、該タウペプチドが、

- a) 配列番号1～3のいずれか1つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約5アミノ酸長から約175アミノ酸長を有する；
 - b) 配列番号4に記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約5アミノ酸長から約150アミノ酸長を有する；
 - c) 配列番号5に記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約5アミノ酸長から約121アミノ酸長を有する；または
 - d) 配列番号5に記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約5アミノ酸長から約67アミノ酸長を有する、
- 組換え発現ベクター。

30

【請求項25】

該ヌクレオチド配列が、転写調節要素に操作可能に連結されている、請求項24に記載の組換えベクター。

【請求項26】

請求項24または25に記載の組換えベクターを含む、遺伝子組み換えされた宿主細胞。

【請求項27】

細胞外タウ（eタウ）ポリペプチド内のエピトープに特異的に結合する、単離されたモノクローナル抗体。

40

【請求項28】

- eタウポリペプチドが、
- a) 配列番号1～3のいずれか1つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約5アミノ酸長から約175アミノ酸長を有する；
 - b) 配列番号4に記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約5アミノ酸長から約150アミノ酸長を有する；
 - c) 配列番号5に記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約5アミノ酸長から約121アミノ酸長を有する；または
 - d) 配列番号5に記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約5アミノ酸長から約67アミノ酸長を有する、

50

ノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 6 7 アミノ酸長を有する、請求項 2 7 に記載の抗体。

【請求項 2 9】

エピトープが線形エピトープである、請求項 2 7 に記載の抗体。

【請求項 3 0】

エピトープが、該ペプチドの C 末端におけるネオエピトープである、請求項 2 7 に記載の抗体。

【請求項 3 1】

エピトープが、該ペプチドの C 末端領域内にある、請求項 2 7 に記載の抗体。

【請求項 3 2】

抗体が、エピトープ内のアミノ酸のリン酸化とは無関係に該エピトープに特異的に結合する、請求項 2 7 に記載の抗体。

【請求項 3 3】

エピトープがリン酸化アミノ酸を含まない、請求項 2 7 に記載の抗体。

【請求項 3 4】

エピトープが、リン酸化アミノ酸、ニトロ化アミノ酸、またはリン酸化アミノ酸およびニトロ化アミノ酸の両方を含む、請求項 2 7 に記載の抗体。

【請求項 3 5】

抗体がヒト化されている、請求項 2 7 から 3 4 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 3 6】

抗体が、ヒト化軽鎖フレームワーク領域を含む、請求項 3 5 に記載の抗体。

【請求項 3 7】

抗体が、ヒト化重鎖フレームワーク領域を含む、請求項 3 5 に記載の抗体。

【請求項 3 8】

抗体が、ヒト化軽鎖フレームワーク領域およびヒト化重鎖フレームワーク領域を含む、請求項 3 5 に記載の抗体。

【請求項 3 9】

抗体が、

a) 配列番号 9、配列番号 1 0 および配列番号 1 1 から選択される 1 つまたはそれ以上の相補性決定領域 (CDR) を含む、V L 領域 ; および / または

b) 配列番号 1 2、配列番号 1 3 および配列番号 1 4 から選択される 1 つまたはそれ以上の相補性決定領域 (CDR) を含む、V H 領域

を含む、請求項 2 7 から 3 8 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 4 0】

抗体が、

a) 配列番号 1 7、配列番号 1 8 および配列番号 1 9 から選択される 1 つまたはそれ以上の相補性決定領域 (CDR) を含む、V L 領域 ; および / または

b) 配列番号 2 0、配列番号 2 1 および配列番号 2 2 から選択される 1 つまたはそれ以上の相補性決定領域 (CDR) を含む、V H 領域

を含む、請求項 2 7 から 3 8 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 4 1】

抗体が、

a) 配列番号 6 5、配列番号 6 6 および配列番号 6 7 から選択される 1 つまたはそれ以上の相補性決定領域 (CDR) を含む、V L 領域 ; および / または

b) 配列番号 6 8、配列番号 6 9 および配列番号 7 0 から選択される 1 つまたはそれ以上の相補性決定領域 (CDR) を含む、V H 領域

を含む、請求項 2 7 から 3 8 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 4 2】

抗体が、

a) 配列番号 2 5、配列番号 2 6 および配列番号 2 7 から選択される 1 つまたはそれ以上

10

20

30

40

50

の相補性決定領域 (C D R) を含む、V L 領域 ; および / または
 b) 配列番号 2 8、配列番号 2 9 および配列番号 3 0 から選択される 1 つまたはそれ以上の相補性決定領域 (C D R) を含む、V H 領域
 を含む、請求項 2 7 から 3 8 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 4 3】

抗体が、

a) 配列番号 3 3、配列番号 3 4 および配列番号 3 5 から選択される 1 つまたはそれ以上の相補性決定領域 (C D R) を含む、V L 領域 ; および / または

b) 配列番号 3 6、配列番号 3 7 および配列番号 3 8 から選択される 1 つまたはそれ以上の相補性決定領域 (C D R) を含む、V H 領域

を含む、請求項 2 7 から 3 8 のいずれか一項に記載の抗体。

10

【請求項 4 4】

抗体が、

a) 配列番号 4 1、配列番号 4 2 および配列番号 4 3 から選択される 1 つまたはそれ以上の相補性決定領域 (C D R) を含む、V L 領域 ; および / または

b) 配列番号 4 4、配列番号 4 5 および配列番号 4 6 から選択される 1 つまたはそれ以上の相補性決定領域 (C D R) を含む、V H 領域

を含む、請求項 2 7 から 3 8 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 4 5】

抗体が、

a) 配列番号 4 9、配列番号 5 0 および配列番号 5 1 から選択される 1 つまたはそれ以上の相補性決定領域 (C D R) を含む、V L 領域 ; および / または

b) 配列番号 5 2、配列番号 5 3 および配列番号 5 4 から選択される 1 つまたはそれ以上の相補性決定領域 (C D R) を含む、V H 領域

を含む、請求項 2 7 から 3 8 のいずれか一項に記載の抗体。

20

【請求項 4 6】

抗体が、

a) 配列番号 5 7、配列番号 5 8 および配列番号 5 9 から選択される 1 つまたはそれ以上の相補性決定領域 (C D R) を含む、V L 領域 ; および / または

b) 配列番号 6 0、配列番号 6 1 および配列番号 6 2 から選択される 1 つまたはそれ以上の相補性決定領域 (C D R) を含む、V H 領域

を含む、請求項 2 7 から 3 8 のいずれか一項に記載の抗体。

30

【請求項 4 7】

軽鎖領域および重鎖領域が、別個のポリペプチド中に存在する、請求項 2 7 から 4 6 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 4 8】

軽鎖領域および重鎖領域が、単一のポリペプチド中に存在する、請求項 2 7 から 4 6 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 4 9】

抗体が重鎖定常領域を含み、該重鎖領域がアイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 のものである、請求項 2 7 から 4 6 のいずれか一項に記載の抗体。

40

【請求項 5 0】

抗体が、F v、s c F v、F a b、F (a b ') 2、または F a b ' である、請求項 2 7 から 4 6 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 5 1】

抗体が、共有結合した非ペプチド合成ポリマーを含む、請求項 2 7 から 4 6 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 5 2】

合成ポリマーがポリ (エチレングリコール) ポリマーである、請求項 5 1 に記載の抗体

50

【請求項 5 3】

少なくとも 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} M の解離定数 (K_D) で τ タウポリペプチドに結合する、請求項 2 7 から 4 6 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 5 4】

抗体が、不溶性支持体上に固定化されている、請求項 2 7 から 4 6 のいずれか一項に記載の単離された抗体。

【請求項 5 5】

抗体が検出可能なラベルを含む、請求項 2 7 から 4 6 のいずれか一項に記載の単離された抗体。

10

【請求項 5 6】

検出可能なラベルが、化学発光剤、微粒子標識、比色剤、エネルギー転移剤、酵素、蛍光剤、造影剤または放射性同位元素である、請求項 5 5 に記載の単離された抗体。

【請求項 5 7】

エピトープが、タウポリペプチドのアミノ酸 1 5 - 2 4 内、アミノ酸 5 - 2 0 内、アミノ酸 2 - 1 8 内、またはアミノ酸 1 9 - 4 6 内ではない、請求項 2 7 - 5 6 のいずれか一項に記載の単離された抗体。

【請求項 5 8】

a) 請求項 2 6 から 5 7 のいずれか一項に記載の抗体；および
b) 薬学的に許容される添加物
を含む、医薬製剤。

20

【請求項 5 9】

ヌクレオチド配列が、真核細胞において活性な転写調節要素に操作可能に連結されている、請求項 2 7 から 5 0 のいずれか一項に記載の抗体をコードするヌクレオチド配列を含む組換え発現ベクター。

【請求項 6 0】

請求項 5 9 に記載の組換え発現ベクターで遺伝子組み換えされたインビトロの宿主細胞。

【請求項 6 1】

個体の組織または体液中のタウの異常な濃度により特徴付けられるタウオパチーの処置法であって、該個体に請求項 2 7 から 5 3 のいずれか一項に記載の抗体、または請求項 5 8 に記載の医薬組成物を投与し、それによりタウオパチーを処置することを含む、処置法。

30

【請求項 6 2】

該投与が、結果として以下の 1 つまたはそれ以上の変化をもたらす、請求項 6 1 に記載の方法：

- a) 脳組織における細胞外遊離タウの量；
- b) 間質液 (ISF) における細胞外遊離タウの量；
- c) 脳脊髄液 (CSF) における細胞外遊離タウの量；
- d) ニューロンから他のニューロンへのタウの拡散；
- e) ニューロン内のタウ凝集量；
- f) ミクログリアおよび / またはアストロサイトの活性化の程度；
- g) リン酸化または高リン酸化タウの量；
- h) ISF または CSF における、完全タウまたは遊離タウの量；
- i) 細胞内のタウの N 末端フラグメントの量；
- j) ニューロンの過剰活性化；
- k) CSF 中の A β 40 および / または A β 42 の量；
- l) A β プラークの増加；
- m) ニューロンからの A β 40 および / または A β 42 の分泌；
- n) アミロイド前駆体タンパク質 (APP) プロモーター活性化；

40

50

- o) APP mRNA および / またはタンパク質レベル ;
- p) - セクレターゼ および / または - セクレターゼの活性化 ;
- q) A 仲介シグナル伝達経路の活性化状態 ;
- r) 細胞内全タウまたは遊離タウの量 ;
- s) ISF または CSF における、抗タウ抗体 - 結合タウの量、および
- t) 細胞内抗タウ抗体 - 結合タウの量。

【請求項 6 3】

該投与が、結果として以下の 1 つまたはそれ以上をもたらす、請求項 6 1 に記載の方法

- a) 個体における認知機能の改善 ; 10
- b) 個体における認知機能の低下速度の遅延 ;
- c) 個体における運動機能の改善 ; および
- d) 個体における運動機能の低下速度の遅延。

【請求項 6 4】

タウオパチーを処置する少なくとも 1 つの付加的薬物を投与することをさらに含む、請求項 6 1 に記載の方法。

【請求項 6 5】

該投与が静脈内、髄腔内、筋肉内または皮下に行われる、請求項 6 1 に記載の方法。

【請求項 6 6】

抗体が、血液脳関門の通過を促進する薬物と共に製剤されている、請求項 6 1 に記載の方法。 20

【請求項 6 7】

タウオパチーがアルツハイマー病である、請求項 6 1 に記載の方法。

【請求項 6 8】

個体から得られた生物学的サンプル中の細胞外タウ (e タウ) ポリペプチドを検出する方法であって、

- a) 該サンプルとタウペプチドに特異的な抗体を接触させ ; そして
- b) サンプル中に存在するタウペプチドへの抗体の結合を検出することを含む、方法。

【請求項 6 9】 30

e タウポリペプチドが、

- a) 配列番号 1 ~ 3 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約 9 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 1 7 5 アミノ酸長を有する ;
- b) 配列番号 4 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 9 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 1 5 0 アミノ酸長を有する ;
- c) 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 9 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 1 2 1 アミノ酸長を有する ; または
- d) 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 9 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 6 7 アミノ酸長を有する、

請求項 6 8 に記載の方法。 40

【請求項 7 0】

個体がタウオパチーを有すると予期される、タウオパチーを有すると診断される、またはタウオパチーを発症する遺伝的素因を有する、請求項 6 8 に記載の方法。

【請求項 7 1】

タウオパチーがアルツハイマー病である、請求項 6 8 に記載の方法。

【請求項 7 2】

生物学的サンプルが、血液、血清、血漿、尿、唾液、または脳脊髄液である、請求項 6 8 に記載の方法。

【請求項 7 3】

生体中、インビボで細胞外タウ (e タウ) ポリペプチドを検出する方法であって、該個 50

体に請求項 27 - 53 のいずれか一項に記載の抗体を投与し；そして、個体の脳組織におけるタウペプチドへの抗体の結合を画像検査法を用いて検出することを含む、方法。

【請求項 74】

請求項 27 から 56 のいずれか一項に記載の単離された抗体を含むキット。

【請求項 75】

陽性対照として使用するための試薬をさらに含む、請求項 74 に記載のキット。

【請求項 76】

該陽性対照が精製した e タウポリペプチドである、請求項 75 に記載のキット。

【請求項 77】

抗体が検出可能なラベルを含む、請求項 74 に記載のキット。

10

【請求項 78】

抗体が固体支持体上に固定化されている、請求項 74 に記載のキット。

【請求項 79】

固体支持体がテストストリップである、請求項 78 に記載のキット。

【請求項 80】

個体から得られた液体生物学的サンプルにおいて、細胞外タウ（e タウ）ポリペプチドを検出するために用いられるアッセイ装置であって、アキシアルフロー経路を定義するマトリックスを含み、該マトリックスが、液体サンプルを受容するフロー経路の上流末端にサンプル受容ゾーンを含む、装置。

【請求項 81】

20

e タウポリペプチドが、

a) 配列番号 1 ~ 3 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 175 アミノ酸長を有する；

b) 配列番号 4 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 150 アミノ酸長を有する；

c) 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 121 アミノ酸長を有する；または

d) 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 67 アミノ酸長を有する、

請求項 80 に記載のアッセイ装置。

30

【請求項 82】

該フロー経路内かつサンプル受容ゾーンの下流に位置する 1 またはそれ以上のテストゾーンをさらに含み、該 1 またはそれ以上のテストゾーンのそれぞれが、タウオパチーの診断に有用なタウペプチドに特異的な抗体を含み、該抗体が該テストゾーンのそれぞれに固定化されており、該固定化された抗体のそれぞれが、該液体サンプル内に存在する異なるタウペプチドを結合し、固定化された抗体/タウペプチド複合体を形成することができる、請求項 80 に記載のアッセイ装置。

【請求項 83】

フロー経路内かつサンプル受容ゾーンの下流に位置する 1 またはそれ以上のコントロールゾーンをさらに含む、請求項 80 に記載のアッセイ装置。

40

【請求項 84】

該装置がテストストリップである、請求項 80 に記載のアッセイ装置。

【請求項 85】

該装置がディップスティックアッセイ装置である、請求項 80 に記載のアッセイ装置。

【請求項 86】

液体サンプルが、血液、血清、血漿、尿、唾液、または脳脊髄液である、請求項 80 に記載のアッセイ装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

50

テキストファイルとして提供される配列表の引用による組み込み

配列表は、本明細書にて、2014年2月14日に作成したテキストファイル“IPRN - 759WO SeqList_ST25.txt”として提供され、50KBのサイズを有した。テキストファイルの内容は、引用によりその全体を本明細書中に包含させる。

【背景技術】

【0002】

序章

微小管結合タンパク質であるタウ(tau)は、中枢神経系に豊富に存在し、主にニューロンにより産生される。タウの主な機能は、微小管の安定化である。6種のタウアイソフォームが成人の脳に存在する。タウアイソフォームは、単一遺伝子の選択的スプライシング産物である。

10

【0003】

タウオパチーは、いわゆる脳内の神経原線維変化(NFT)におけるタウタンパク質の病的凝集の結果生じる神経変性疾患の1つである。タウオパチーのいくつかの例には、前頭側頭骨性認知症(FTD)、アルツハイマー病、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核変性症、および前頭側頭葉変性症が含まれる。

【0004】

当技術分野では、タウオパチーの検出および処置方法、ならびにかかる方法における使用に好適な反応剤が必要とされている。

【発明の概要】

20

【0005】

概要

本発明は、単離されたタウペプチド、および該ペプチドを含む組成物を提供する。本発明は、単離されたタウペプチドに特異的な抗体を提供する。診断法および処置法における該抗体の使用法も見いだされ、これらの方法もまた提供される。

【0006】

特徴

本発明は、a)単離されたタウペプチドであって、配列番号1~3のいずれか1つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約5アミノ酸長から約175アミノ酸長を有するタウペプチド、およびb)薬学的に許容される添加物、を含む医薬組成物を提供する。

30

【0007】

本発明は、a)単離されたタウペプチドであって、配列番号4に記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約5アミノ酸長から約150アミノ酸長を有するタウペプチド、およびb)薬学的に許容される添加物、を含む医薬組成物を提供する。

【0008】

本発明は、a)単離されたタウペプチドであって、配列番号5に記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約5アミノ酸長から約121アミノ酸長を有するタウペプチド、およびb)薬学的に許容される添加物、を含む医薬組成物を提供する。

40

【0009】

本発明は、a)単離されたタウペプチドであって、配列番号5に記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約5アミノ酸長から約67アミノ酸長を有するタウペプチド、およびb)薬学的に許容される添加物、を含む医薬組成物を提供する。

【0010】

上記または本明細書中に記載の医薬組成物のいずれかにおいて、タウペプチドは、少なくとも1つのアミノ酸がアセチル化されていてよい；例えば、ある場合に、少なくとも1つのアセチル化アミノ酸は、アセチル化N末端アミノ酸である。これらの医薬組成物のい

50

ずれかにおいて、タウペプチドは、リン酸化セリン残基および/またはリン酸化スレオニン残基を含んでいてよい。これらの医薬組成物のいずれかにおいて、タウペプチドは、非ペプチド等比体積 (isosteric) 結合および/または非天然アミノ酸を含んでいてよい；例えば、非天然アミノ酸は、D-アミノ酸であってよい。これらの医薬組成物のいずれかにおいて、タウペプチドは、同じアミノ酸配列の細胞内タウペプチドと比較して低リン酸化型であってよい。これらの医薬組成物のいずれかにおいて、タウペプチドは、固体支持体上に固定化されていてよい；例えば、固体支持体は、ビーズ、テストストリップ、またはマルチウェルプレートのウェルであり得る。これらの医薬組成物のいずれかにおいて、タウペプチドは、検出可能なラベルを含んでいてよい；例えば、検出可能なラベルは、化学発光剤、微粒子標識、比色剤、エネルギー転移剤、酵素、蛍光剤、造影剤または放射性同位元素であり得る。これらの医薬組成物のいずれかにおいて、組成物は、アジュバントをさらに含んでいてよい。アジュバントは、ヒトにおける使用に適するものであり得る。これらの医薬組成物のいずれかにおいて、組成物は滅菌されていてよい。これらの医薬組成物のいずれかにおいて、組成物は内毒素を含まないことが可能である。

10

20

30

40

50

【0011】

本発明は、検出可能なラベルを付した単離されたタウペプチドを提供し、ここで、該タウペプチドは、a) 配列番号1~3のいずれか1つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約5アミノ酸長から約175アミノ酸長を有する；b) 配列番号4に記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約5アミノ酸長から約150アミノ酸長を有する；c) 配列番号5に記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約5アミノ酸長から約121アミノ酸長を有する；または、d) 配列番号5に記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約5アミノ酸長から約67アミノ酸長を有する。

【0012】

本発明は、タウペプチドに特異的な抗体を作製する方法を提供し、該方法は、a) 非ヒト哺乳動物に、i) 配列番号1~3のいずれか1つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約5アミノ酸長から約175アミノ酸長を有する、タウペプチド；ii) 配列番号4に記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約5アミノ酸長から約150アミノ酸長を有する、タウペプチド；iii) 配列番号5に記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約5アミノ酸長から約121アミノ酸長を有する、タウペプチド；または、iv) 配列番号5に記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約5アミノ酸長から約67アミノ酸長を有する、タウペプチド、を投与し、ここで、該投与により、ペプチドに対する抗体の産生が誘導され；そして、b) 該哺乳動物から該抗体および/または該抗体を産生する細胞を単離すること、を含む。

【0013】

本発明は、個体においてタウペプチドに対する免疫応答を刺激する方法を提供し、該方法は、細胞外タウ (eタウ, eTau) ポリペプチドを含む医薬組成物 (例えば、上記または本明細書中に記載の医薬組成物) を個体対象に投与することを含み、ここで、該投与により、個体におけるペプチドに対する免疫応答が刺激される。ある場合において、免疫応答は、タウに特異的な抗体の製造を含む。ある場合において、免疫応答は、a) 脳組織における細胞外の遊離タウの量、b) 間質液 (ISF) における細胞外遊離タウの量、c) 脳脊髄液 (CSF) における細胞外の遊離タウの量、d) ニューロンから他のニューロンへのタウの拡散、e) ニューロン内のタウ凝集量、f) ミクログリアおよび/またはアストロサイトの活性化の低減、g) リン酸化または過剰リン酸化タウの量、h) ISFまたはCSFにおける、完全タウまたは遊離タウの量、i) 細胞内のタウのN末端フラグメントの量、j) ニューロンの過剰活性化 (neuronal hyperactivity)、k) CSFにおける、A₄₀および/またはA₄₂の量、l) A₄₂ブランク面積率、m) ニューロンか

らの A 40 および / または A 42 の分泌、 n) アミロイド前駆体タンパク質 (APP) プロモーター活性、 o) APP mRNA および / またはタンパク質レベル、 p) -セクレターゼおよび / または -セクレターゼの活性、 q) A 伸介シグナル伝達経路の活性化状態、 r) 細胞内完全タウまたは遊離タウの量、 s) ISF または CSF における、抗タウ抗体 - 結合タウの量、 および t) 細胞内抗タウ抗体 - 結合タウの量、 のうち 1 つまたはそれ以上の変化をもたらす。

【 0014 】

本発明は、タウペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む組換え発現ベクターを提供し、ここで、該タウペプチドは、 a) 配列番号 1 ~ 3 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 175 アミノ酸長を有する； b) 配列番号 4 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 150 アミノ酸長を有する； c) 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 121 アミノ酸長を有する；または、 d) 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 67 アミノ酸長を有する。ある場合において、ヌクレオチド配列は、転写調節要素に操作可能に連結されている。本発明は、上記の組換えベクターのいずれかを含む、遺伝子組み換えされた宿主細胞を提供する。

10

【 0015 】

本発明は、細胞外タウ (e T a u) ポリペプチド内のエピトープに特異的に結合する単離されたモノクローナル抗体を提供する。ある場合において、e タウポリペプチドは、 a) 配列番号 1 ~ 3 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 175 アミノ酸長を有する； b) 配列番号 4 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 150 アミノ酸長を有する； c) 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 121 アミノ酸長を有する；または、 d) 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 5 アミノ酸長から約 67 アミノ酸長を有する。ある場合において、エピトープは、線形エピトープである。ある場合において、エピトープは、ペプチドの C 末端におけるネオエピトープである。ある場合において、エピトープは、ペプチドの C 末端領域にある。ある場合において、抗体は、エピトープ内のアミノ酸のリン酸化とは独立してエピトープに特異的に結合する。ある場合において、エピトープは、リン酸化アミノ酸を含まない。ある場合において、エピトープは、リン酸化アミノ酸、ニトロ化アミノ酸、またはリン酸化アミノ酸およびニトロ化アミノ酸の両方を含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化された重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワークおよびヒト化された重鎖フレームワークを含む。

20

30

【 0016 】

上記または本明細書中に記載の抗体のいずれかにおいて、該抗体は、 a) 配列番号 9、配列番号 10 および配列番号 11 から選択される 1 つまたはそれ以上の相補性決定領域 (C D R) を含む、 V L 領域； および / または、 b) 配列番号 12、配列番号 13 および配列番号 14 から選択される 1 つまたはそれ以上の相補性決定領域 (C D R) を含む、 V H 領域、を含んでいてよい。上記または本明細書中に記載の抗体のいずれかにおいて、該抗体は、 a) 配列番号 17、配列番号 18 および配列番号 19 から選択される 1 つまたはそれ以上の相補性決定領域 (C D R) を含む、 V L 領域； および / または、 b) 配列番号 20、配列番号 21 および配列番号 22 から選択される 1 つまたはそれ以上の相補性決定領域 (C D R) を含む、 V H 領域、を含んでいてよい。上記または本明細書中に記載の抗体のいずれかにおいて、該抗体は、 a) 配列番号 65、配列番号 66 および配列番号 67 から選択される 1 つまたはそれ以上の相補性決定領域 (C D R) を含む、 V L 領域； および

40

50

/または、b) 配列番号68、配列番号69および配列番号70から選択される1つまたはそれ以上の相補性決定領域(CDR)を含む、VH領域、を含んでいてよい。上記または本明細書中に記載の抗体のいずれかにおいて、該抗体は、a) 配列番号25、配列番号26および配列番号27から選択される1つまたはそれ以上の相補性決定領域(CDR)を含む、VL領域；および/または、b) 配列番号28、配列番号29および配列番号30から選択される1つまたはそれ以上の相補性決定領域(CDR)を含む、VH領域、を含んでいてよい。上記または本明細書中に記載の抗体のいずれかにおいて、該抗体は、a) 配列番号33、配列番号34および配列番号35から選択される1つまたはそれ以上の相補性決定領域(CDR)を含む、VL領域；および/または、b) 配列番号36、配列番号37および配列番号38から選択される1つまたはそれ以上の相補性決定領域(CDR)を含む、VH領域、を含んでいてよい。上記または本明細書中に記載の抗体のいずれかにおいて、該抗体は、a) 配列番号41、配列番号42および配列番号43から選択される1つまたはそれ以上の相補性決定領域(CDR)を含む、VL領域；および/またはb) 配列番号44、配列番号45および配列番号46から選択される1つまたはそれ以上の相補性決定領域(CDR)を含む、VH領域、を含んでいてよい。上記または本明細書中に記載の抗体のいずれかにおいて、該抗体は、a) 配列番号49、配列番号50および配列番号51から選択される1つまたはそれ以上の相補性決定領域(CDR)を含む、VL領域；および/または、b) 配列番号52、配列番号53および配列番号54から選択される1つまたはそれ以上の相補性決定領域(CDR)を含む、VH領域、を含んでいてよい。上記または本明細書中に記載の抗体のいずれかにおいて、該抗体は、a) 配列番号57、配列番号58および配列番号59から選択される1つまたはそれ以上の相補性決定領域(CDR)を含む、VL領域；および/または、b) 配列番号60、配列番号61および配列番号62から選択される1つまたはそれ以上の相補性決定領域(CDR)を含む、VH領域、を含んでいてよい。

10

20

30

40

【0017】

本発明の抗タウ抗体の態様のいずれかにおいて、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在し得る。本発明の抗タウ抗体の態様のいずれかにおいて、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在し得る。本発明の抗タウ抗体の態様のいずれかにおいて、抗体は、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4の重鎖定常領域を含んでいてよい。本発明の抗タウ抗体の態様のいずれかにおいて、抗体は、Fv、scFv、Fab、F(ab')₂、またはFab'であってよい。本発明の抗タウ抗体の態様のいずれかにおいて、抗体は、共有結合した非ペプチド合成ポリマーを含んでいてよく、例えば、合成ポリマーは、ポリ(エチレングリコール)ポリマーである。本発明の抗タウ抗体の態様のいずれかにおいて、抗体は、少なくとも 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} Mの解離定数(K_D)でeタウポリペプチドに結合し得る。本発明の抗タウ抗体の態様のいずれかにおいて、抗体は、不溶性支持体上に固定化され得る。本発明の抗タウ抗体の態様のいずれかにおいて、抗体は、検出可能なラベルを含み得る。例えば、該検出可能なラベルは、化学発光剤、微粒子標識、比色剤、エネルギー転移剤、酵素、蛍光剤、造影剤または放射性同位元素であり得る。ある場合において、本発明の抗タウ抗体の態様のいずれかにおいて、エピトープは、タウポリペプチドのアミノ酸15-24内、アミノ酸5-20内、アミノ酸2-18内、またはアミノ酸19-46内ではない。

【0018】

本発明は、a) 上記または本明細書中に記載の抗体、およびb) 薬学的に許容される添加物、を含む医薬製剤を提供する。

【0019】

本発明は、上記または本明細書中に記載の態様のいずれか1つに記載の抗体をコードするヌクレオチド配列を含む組換え発現ベクターを提供し、ここで、該ヌクレオチド配列は、真核細胞において活性な転写調節要素に操作可能に連結されている。本発明は、該組換え発現ベクターで遺伝子組み換えされたインビトロの宿主細胞を提供する。

50

【0020】

本発明は、個体の組織または体液中のタウの異常なレベルにより特徴付けられるタウオパチーの処置法を提供し、該方法は、上記もしくは本明細書中に記載の態様のいずれか1つに記載の抗体、または上記もしくは本明細書中に記載の態様のいずれか1つに記載の医薬組成物を個体に投与することを含み、該投与によりタウオパチーを処置する。ある場合において、投与の結果、a)脳組織における細胞外遊離タウの量；b)間質液（ISF）における細胞外遊離タウの量；c)脳脊髄液（CSF）における細胞外遊離タウの量；d)ニューロンから他のニューロンへのタウの拡散；e)ニューロン内のタウ凝集量；f)ミクログリアおよび/またはアストロサイトの活性化の低減；g)リン酸化または過剰リン酸化タウの量；h)ISFまたはCSFにおける、完全タウまたは遊離タウの量；i)細胞内のタウのN末端フラグメントの量；j)ニューロンの過剰活性化；k)CSFにおける、A₄₀および/またはA₄₂の量；l)A_βブランク面積率；m)ニューロンからのA₄₀および/またはA₄₂の分泌；n)アミロイド前駆体タンパク質（APP）プロモーター活性；o)APP mRNAおよび/またはタンパク質レベル；p)

-セクレターゼおよび/または-セクレターゼの活性；q)A_β仲介シグナル伝達経路の活性化状態；r)細胞内完全タウまたは遊離タウの量；s)ISFまたはCSFにおける、抗タウ抗体-結合タウの量、およびt)細胞内抗タウ抗体-結合タウの量、の1つまたはそれ以上の変化がもたらされる。ある態様において、投与の結果、a)個体における認知機能の改善；b)個体における認知機能の低下の遅延；c)個体における運動機能の改善；および、d)個体における運動機能の低下速度の遅延、の1つまたはそれ以上の変化がもたらされる。ある場合において、該方法は、タウオパチーを処置する少なくとも1つの付加的薬物を投与することを含む。ある場合において、抗タウ抗体の投与は、静脈内投与、髄腔内投与、筋肉内投与、または皮下投与により行われる。ある場合において、抗タウ抗体は、血液脳関門の通過を促進する薬剤と共に製剤される。ある場合において、タウオパチーはアルツハイマー病である。

【0021】

本発明は、個体から得られた生物学的サンプル中の細胞外タウ（eTau）ポリペプチドを検出する方法を提供し、ここで、該方法は、a)該サンプルとタウペプチドに特異的な抗体を接触させ；そして、b)サンプル中に存在するタウペプチドへの抗体の結合を検出すること、を含む。ある場合において、eTauポリペプチドは、a)配列番号1～3のいずれか1つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約5アミノ酸長から約175アミノ酸長を有する；b)配列番号4に記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約5アミノ酸長から約150アミノ酸長を有する；c)配列番号5に記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約5アミノ酸長から約121アミノ酸長を有する；または、d)配列番号5に記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約5アミノ酸長から約67アミノ酸長を有する。ある場合において、個体は、タウオパチーを有すると予期される、タウオパチーを有すると診断される、またはタウオパチーを発症する遺伝的素因を有する。ある場合において、タウオパチーはアルツハイマー病である。ある場合において、生物学的サンプルは、血液、血清、血漿、尿、唾液、または脳脊髄液である。

【0022】

本発明は、生体中、インビボで細胞外タウ（eTau）ポリペプチドを検出する方法を提供し、ここで、該方法は、個体に上記または本明細書中に記載の態様のいずれか1つに記載の抗体を投与し；そして、該個体の脳組織におけるタウペプチドへの抗体の結合を画像検査法を用いて検出することを含む。

【0023】

本発明は、上記または本明細書中に記載の態様のいずれか1つに記載の単離された抗体を含むキットを提供する。ある場合において、キットは、陽性対照として使用するための試薬をさらに含む。例えば、陽性対照は、精製したeTauポリペプチドであり得る。ある

場合において、抗体は検出可能なラベルを含む。ある場合において、抗体は、固体支持体上に固定化されている。例えば、固体支持体は、テストスリットであり得る。

【0024】

本発明は、個体から得られた液体生物学的サンプルにおいて、細胞外タウ（eタウ）ポリペプチドを検出するために用いられるアッセイ装置を提供し、ここで、該装置は、アキシナルフロー経路を定義するマトリックスを含み、該マトリックスが、液体サンプルを受容するフロー経路の上流末端にサンプル受容ゾーンを含む。ある場合において、eタウポリペプチドは、a) 配列番号1~3のいずれか1つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約5アミノ酸長から約175アミノ酸長を有する；b) 配列番号4に記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約5アミノ酸長から約150アミノ酸長を有する；c) 配列番号5に記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約5アミノ酸長から約121アミノ酸長を有する；または、d) 配列番号5に記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約5アミノ酸長から約67アミノ酸長を有する。ある場合において、該アッセイ装置は、フロー経路内かつサンプル受容ゾーンの下流に位置する1またはそれ以上のテストゾーンをさらに含み、該1またはそれ以上のテストゾーンのそれぞれが、タウオパチーの診断に有用なタウペプチドに特異的な抗体を含み、該抗体が該テストゾーンのそれぞれに固定化されており、該固定化された抗体のそれぞれが、該液体サンプル内に存在する異なるタウペプチドを結合して、固定化された抗体/タウペプチド複合体を形成することができる。ある場合において、該アッセイ装置は、フロー経路内かつサンプル受容ゾーンの下流に位置する1またはそれ以上のコントロールゾーンをさらに含む。ある場合において、該アッセイ装置は、テストスリットである。ある場合において、該装置は、ディップスティックアッセイ装置である。ある場合において、液体サンプルは、血液、血清、血漿、尿、唾液、または脳脊髄液である。

10

20

【図面の簡単な説明】

【0025】

【図1】図1Aおよび1Bは、胎児のタウアミノ酸配列とアライメントした、eタウフラグメントのアミノ酸配列を示す。

【図2】図2は、全長タウのアミノ酸配列を示す。

30

【図3】図3は、種々の細胞株からの馴化培地における細胞外タウ（eTau）レベルを示すウェスタンブロットである。

【図4】図4は、アルツハイマー病（AD）患者由来の皮質ニューロンからの馴化培地におけるIPN002反応性のeタウを示すウェスタンブロットである。

【図5】図5A-Cは、誘導された多能性幹細胞に由来する皮質ニューロン（iPSC-CN）およびヒト皮質細胞（HCC）からの馴化培地中の、ならびにP301L タウマウスからの間質液（ISF）中、ならびに進行性核上性麻痺（PSP）およびアルツハイマー病（AD）患者からの脳脊髄液（CSF）中の、タウフラグメントの検出（図5A）；eタウ分泌の経時変化（図5B）；および、eタウ分泌に対するプレフェルジンAの効果（図5C）を示す。

40

【図6】図6は、慢性外傷性脳症（CTE）を有する可能性のあるナショナルフットボールリーグ（NFL）の選手から得られた脳脊髄液（CSF）中に存在するタウフラグメントの検出を示すタンパク質ブロット検出を示す。

【図7】図7は、健常個体（H）、ADの個体、および前頭側頭骨性認知症（FTD）の個体から得られたiPSC-CN馴化培地（CM）中のタウフラグメントの検出を示すタンパク質ブロットを示す。

【図8】図8A-Cは、細胞外タウ（eタウ）フラグメントによる、皮質ニューロンの過剰活性化の誘導を示す。

【図9】図9A-Eは、皮質ニューロンによる、eタウの取り込みを示す。

【図10】図10は、マウス皮質ニューロンによる、組み換えeタウポリペプチドの取り

50

込みを示す。

【図11】図11は、海馬にeタウを定位的に注入した効果を示す。

【図12】図12は、eタウ Prep19のウェスタンブロット分析を示す。

【図13】図13は、i)組み換え的に製造したeタウ2-172(“eタウ1ロット1”); ii)AD患者由来のiPSCから分化した皮質ニューロンの馴化培地中に存在するeタウ(“内生eタウ Prep19”および“内生eタウ Prep20”); ならびに、iii)組み換え的に製造したeタウ2-166(“eタウ1aロット1”); および、“eタウ1aロット15”)、のクマシー染色したゲルを示す。

【図14】図14A-Cは、AD患者由来のiPSCから分化した皮質ニューロンの馴化培地中に存在するeタウ種を示す。図14Aは、タウON3R(配列番号73)と比較した、eタウ2-166のアミノ酸配列(配列番号3)を示す。eタウ2-172およびeタウ2-176のC末端アミノ酸を矢印で示す。図14Bは、AD患者由来のiPSCから分化した皮質ニューロンの馴化培地中に存在するeタウ(“内生eタウ Prep19”)のマスクロマトグラフィーを示す。図14Cは、内生eタウ Prep19に存在するeタウ種の予期されるおよび観察される分子量を示す表を提供する。

【図15】図15は、組み換え全長タウ(rタウ383)またはeタウ4に対する7299-M2またはIPN002の結合を示す。

【図16】図16は、eタウフラグメントを定量するための抗eタウ抗体を用いる酵素結合免疫吸着法(ELISA)を示す。

【図17】図17は、抗タウモノクローナル抗体(mAbs)7295-M6および7295-M8の、VHおよびVL領域のアミノ酸配列、および相補性決定領域(CDR)のアミノ酸配列を提供する表6を提供する。

【図18】図18は、抗タウmAb7298-M1および7298-M2の、VHおよびVL領域のアミノ酸配列、およびCDRのアミノ酸配列を提供する表7を提供する。

【図19】図19は、抗タウmAb7299-M2、7299-M5、および7299-M9の、VHおよびVL領域のアミノ酸配列、およびCDRのアミノ酸配列を提供する表8を提供する。

【図20】図20は、抗タウmAb7297-2M1の、VHおよびVL領域のアミノ酸配列、およびCDRのアミノ酸配列を提供する表9を提供する。

【発明を実施するための形態】

【0026】

定義

本明細書中で互換的に用いられる用語“ポリペプチド”、“ペプチド”および“タンパク質”は、任意の長さのアミノ酸の多量体形態を意味し、遺伝子にコードされた、および遺伝子にコードされていないアミノ酸、化学的もしくは生化学的に改変された、または誘導されたアミノ酸、ならびに改変されたペプチド骨格を有するポリペプチドが含まれ得る。該用語は、異種アミノ酸配列を含む融合タンパク質; N末端メチオニン残基を有するか、または有さない、異種および同種リーダー配列を含む融合タンパク質; 免疫学的にタグ付けされたタンパク質などを含むが、これらに限定されない、融合タンパク質を含む。

【0027】

“単離された”は、天然物であるとき、それが天然に存在している環境とは異なる環境にある、目的のペプチドを意味する。“単離された”は、目的のペプチドを実質的に富化したサンプル内に存在するペプチドを含むこと、および/または目的のペプチドが部分的または実質的に精製されることを意味する。ペプチドが天然に存在しないとき、“単離された”は、ペプチドが、それが合成法または組換え法のいずれかにより作製された環境から分離されたことを示す。ある場合において、単離されたペプチドは、“実質的に純粋に”)精製される。

【0028】

“実質的に純粋”は、物質(例えば、タウペプチド)が、組成物中の総含有量(例えば、組成物中の全タンパク質)の約50%より多く、または総タンパク質含量の約80%よ

10

20

30

40

50

り多くを構成していることを示す。例えば、“実質的に純粋な”ペプチドとは、総組成物の少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%またはそれ以上（例えば、総タンパク質の95%、98%、99%、99%より多い）が、ペプチドである、組成物を意味する。ペプチドは、組成物中の総タンパク質の約90%より多く、または約95%より多くを構成し得る。

【0029】

用語“核酸”および“ポリヌクレオチド”は互換的に用いられ、任意の長さのヌクレオチドの多量体形態であって、デオキシリボヌクレオチドまたはリボヌクレオチドのいずれか、またはそれらの類縁体を意味する。ポリヌクレオチドの非限定的な例としては、直鎖状および環状核酸、メッセンジャーRNA（mRNA）、cDNA、組み換えポリヌクレオチド、ベクター、プローブ、およびプライマーが含まれる。

10

【0030】

“抗タウ抗体”は、タウペプチドに結合する抗体であって、タウポリペプチドに約 10^{-7} 未満、約 10^{-8} 未満、約 10^{-9} 未満、約 10^{-10} 未満、約 10^{-11} 未満、または約 10^{-12} 未満の K_D で特異的に結合する抗体を意味する。

【0031】

用語“抗体”および“免疫グロブリン”には、抗体または何れかのアイソタイプの免疫グロブリン、Fab、Fv、scFv、およびFdフラグメント、キメラ抗体、ヒト化抗体、一本鎖抗体、二重特異性抗体、および抗体の抗原結合部分と非抗体タンパク質を含む融合タンパク質を含むが、これらに限定されない、抗原への特異的結合性を有する抗体のフラグメントが含まれる。抗体は、例えば、放射性同位体で、検出可能な生産物、蛍光タンパク質などを生じる酵素などで検出可能に標識することができる。抗体は、特異的結合対のメンバー、例えば、ピオチン（ピオチン-アビジン特異的結合対のメンバー）などのような他の部分とさらに結合してよい。抗体はまた、ポリスチレンプレートまたはビーズなどを含むが、これらに限定されない、固体支持体に結合されていてよい。該用語はまた、Fab'、Fv、F(ab')₂、および/または抗原への特異的結合性を有する他の抗体フラグメント、およびモノクローナル抗体を包含する。抗体は、一価でも二価でもよい。

20

【0032】

本明細書に用いる用語“ヒト化免疫グロブリン”および“ヒト化抗体”は、異なる起源の免疫グロブリンの複数部分を含む免疫グロブリンであって、少なくとも1つの部分がヒト起源のアミノ酸配列を含む免疫グロブリンを意味する。例えば、ヒト化抗体は、例えばマウスのような、必要な特異性を有する非ヒト起源の免疫グロブリンに由来する部分とヒト起源の免疫グロブリン配列に由来する部分を含み（例えば、キメラ免疫グロブリン）、それらは、従来技術（例えば、合成）により化学的に結合されるか、または遺伝子操作技術を用いて（例えば、キメラ抗体のタンパク質部分をコード化するDNAが発現されて、連続するポリペプチド鎖を生じる）、連続するポリペプチドとして製造される。ヒト化免疫グロブリンの別の例は、非ヒト起源の抗体に由来するCDRおよびヒト起源の軽鎖および/または重鎖に由来するフレームワーク領域を含む、1つまたはそれ以上の免疫グロブリン鎖を含む免疫グロブリン（例えば、フレームワークに変化を有し、または有しないCDR移植抗体）である。キメラまたはCDR移植一本鎖抗体はまた、用語ヒト化免疫グロブリンに包含される。一本鎖抗体に関して、例えば、Cabillyらの、米国特許番号第4,816,567号；Cabillyらの、欧州特許番号第0,125,023 B1号；Bossらの、米国特許番号第4,816,397号；Bossらの、欧州特許番号第0,120,694 B1号；Neuberger, M. S.らの、WO 86/01533；Neuberger, M. S.らの、欧州特許番号第0,194,276 B1号；Winterの、米国特許番号第5,225,539号；Winterの、欧州特許番号第0,239,400 B1号；Padlan, E. A.らの、欧州特許出願番号第0,519,596 A1号を参照のこと。また、adnerらの、米国特許番号第4,946,778号；Hustonの米国特許番号第5,476,786号；およびBird, R. E. et al., Science, 242: 423 - 426 (1988)を参照のこと。

30

40

【0033】

50

例えば、ヒト化抗体は、合成および/または組み換え核酸を用いて製造され、所望のヒト化鎖をコード化する遺伝子(例えば、cDNA)を製造することができる。例えば、ヒト化可変領域をコードする核酸(例えば、DNA)配列は、PCR変異導入法を用いて構築され、改変前のヒト化可変領域をDNAテンプレートのようなヒトまたはヒト化鎖をコード化するDNA配列に改変することができる(例えば、Kamman, M., et al., Nucl. Acids Res., 17:5404 (1989)); Sato, K., et al., Cancer Research, 53:851-856 (1993); Daugherty, B. L. et al., Nucleic Acids Res., 19(9):2471-2476 (1991); および Lewis, A. P. and J. S. Crowe, Gene, 101:297-302 (1991)を参照のこと)。これらの、または他の好適な方法を用いて、変異体を容易に製造することも可能である。例えば、クローン化された可変領域に変異導入することができ、所望の特異性を有する変異体をコードする配列を選択することができる(例えば、ファージライブラリから; 例えば、Krebber et al., U.S. Pat. No. 5,514,548; Hoogenboom et al., WO 93/06213, published Apr. 1, 1993)を参照のこと)。

10

【0034】

“抗体フラグメント”は、インタクト抗体の一部、例えば、インタクト抗体の抗原結合領域または可変領域を含む。抗体フラグメントの例には、Fab、Fab'、(Fab')₂、およびFvフラグメント; 二重特異性抗体; 直鎖状抗体(Zapata et al., Protein Eng. 8(10):1057-1062 (1995)); 一本鎖抗体分子; ならびに、抗体フラグメントから形成される多重特異性抗体が含まれる。抗体のパイン消化により、“Fab”フラグメントと呼ばれる2つの同一の抗原結合フラグメント(それぞれが1つの抗原結合部位を有する)、および残りの“Fc”フラグメント(容易に結晶化する能力によりそのように呼ばれる)を生じる。ペプシン処理によって、2つの抗原結合部位を有し、かつ依然として抗原と交差結合することができる(Fab')₂フラグメントを生じる。

20

【0035】

“Fv”は、完全な抗原認識部位および抗原結合部位を含む最小限の抗体フラグメントである。この領域は、強力な非共有結合で連結した1つの重鎖可変ドメインと1つの軽鎖可変ドメインの二量体から構成される。それぞれの可変ドメインの3つのCDRが相互作用して、V_H-V_L二量体の表面に抗原結合部位を画定する構造をとる。すなわち、6つのCDRが抗体に抗原結合特異性を付与する。しかしながら、単一の可変ドメイン(または、抗原に特異性のある3つのCDRのみを含む半分のFv)でさえも、抗原を認識し結合する能力を有するが、結合部位全体よりも親和性は低い。

30

【0036】

“Fabフラグメント”もまた、軽鎖の定常ドメインと重鎖の第1定常ドメイン(CH₁)を含む。Fabフラグメントは、抗体ヒンジ領域由来の1つまたはそれ以上のシステインを含む重鎖CH₁ドメインのカルボキシ末端にいくつかの残基を付加することによって、Fab'フラグメントとは異なる。Fab'-SHは、定常ドメインのシステイン残基(複数)が1つの遊離チオール基を有するFab'の本明細書における名称である。(Fab')₂抗体フラグメントは、元々、Fab'フラグメント間にヒンジシステインを有する一对のFab'フラグメントとして産生された。抗体フラグメントの他の化学的結合も知られている。

40

【0037】

任意の脊椎動物種由来の抗体(免疫グロブリン)の“軽鎖”を、その定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ()およびラムダ()と呼ばれる、明確に区別される2つの型のうちの1つに割り当てることができる。免疫グロブリンは、それらの重鎖定常ドメインのアミノ酸配列によって種々のクラスに分類される。免疫グロブリンには5つの主なクラス、IgA、IgD、IgE、IgG、およびIgMがあり、これらのいくつかは、サブクラス(アイソタイプ)、例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、およびIgA2にさらに分類され得る。

【0038】

“一本鎖Fv”または“sFv”抗体フラグメントは、抗体のV_HおよびV_Lドメイン

50

を含み、これらのドメインは、単一のポリペプチド鎖に存在する。ある態様において、Fvポリペプチドは、 V_H と V_L ドメインの間にあるポリペプチドリンカーをさらに含み、これは、抗原結合のためにscFvが所望の構造に形成することを可能にする。scFvについての総説としては、Pluckthun in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer - Verlag, New York, pp. 269 - 315 (1994)がある。

【0039】

用語“二重特異性抗体”は、2つの抗原結合部位を有する小型抗体フラグメントであり、該フラグメントは、同じポリペプチド鎖において軽鎖可変ドメイン(V_L)に結合している重鎖可変ドメイン(V_H)($V_H - V_L$)を含む。同じ鎖内で2つのドメイン間の対合を可能にするには短すぎるリンカーを使用することにより、該ドメインは別の鎖の相補ドメインと対を形成して、2つの抗原結合部位を作り出す。二重特異性抗体は、例えば、EP404,097; WO93/11161; およびHollinger et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444 - 6448においてより詳細に記載されている。

10

【0040】

本明細書で用いる用語“親和性”は、2つの物質(例えば、抗体および抗原)の可逆的結合の平衡定数を意味し、解離定数(K_d)として示される。親和性は、関係のないアミノ酸配列に対する抗体の親和性より高く、少なくとも1倍以上、少なくとも2倍以上、少なくとも3倍以上、少なくとも4倍以上、少なくとも5倍以上、少なくとも6倍以上、少なくとも7倍以上、少なくとも8倍以上、少なくとも9倍以上、少なくとも10倍以上、少なくとも20倍以上、少なくとも30倍以上、少なくとも40倍以上、少なくとも50倍以上、少なくとも60倍以上、少なくとも70倍以上、少なくとも80倍以上、少なくとも90倍以上、少なくとも100倍以上、または少なくとも1000倍以上、またはそれ以上であり得る。標的タンパク質に対する抗体の親和性は、例えば、約100ナノモル(nM)ないし約0.1 nM 、約100 nM ないし約1ピコモル(pM)、または約100 nM ないし約1フェムトモル(fM)またはそれ以上であり得る。本明細書で用いる用語“親和力(avidity)”は、2種以上の物質の複合体の希釈後の解離に対する抵抗性を意味する。用語“免疫反応性”および“特異的結合(preferentially bind)”は、本明細書中、抗体および/または抗原結合フラグメントに対して互換的に用いられている。

20

【0041】

用語“結合”は、例えば、塩架橋および水架橋のような相互作用を含む、共有結合、静電的結合、疎水性結合、ならびにイオン結合および/または水素結合相互作用による、2つの分子間の直接結合を意味する。本発明の抗タウ抗体は、タウポリペプチド内のエピトープに特異的に結合する。非特異的結合は、約 $10^{-7} M$ 未満の親和性での結合、例えば、 $10^{-6} M$ 、 $10^{-5} M$ 、 $10^{-4} M$ などの親和性での結合を意味し得る。

30

【0042】

本明細書で用いる用語“CDR”または“相補性決定領域”は、重鎖および軽鎖ポリペプチドの両方の可変領域内に見出される不連続な抗原結合部位を意味することが意図される。CDRは、Kabat et al., *J. Biol. Chem.* 252:6609 - 6616 (1977); Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, “Sequences of proteins of immunological interest” (1991); Chothia et al., *J. Mol. Biol.* 196:901 - 917 (1987); および、MacCallum et al., *J. Mol. Biol.* 262:732 - 745 (1996)に記載されており、ここでは、定義は、互いを比較したとき、アミノ酸残基の重複または一部を含む。しかしながら、抗体もしくは移植抗体またはその変異体のCDRについての定義の適用は、本明細書で定義され、かつ使用される用語の範囲内であることが意図される。上記の文献の何れかに定義されるCDRを含むアミノ酸残基は、以下の表1に比較して記載される。

40

【0043】

【表 1】

表 1：CDR 定義

	Kabat ¹	Chothia ²	MacCallum ³
V _H CDR 1	31-35	26-32	30-35
V _H CDR 2	50-65	53-55	47-58
V _H CDR 3	95-102	96-101	93-101
V _L CDR 1	24-34	26-32	30-36
V _L CDR 2	50-56	50-52	46-55
V _L CDR 3	89-97	91-96	89-96

¹上記Kabatらの命名法による残基の番号付け

²上記Chothiaらの命名法による残基の番号付け

³上記MacCallumらの命名法による残基の番号付け

10

【0044】

本明細書で用いる用語“フレームワーク”は、抗体の可変領域に関して用いるとき、抗体の可変領域内のCDR領域の外側の全てのアミノ酸残基を意味することを意図する。可変領域フレームワークは、一般的に、約100-120個のアミノ酸長の不連続なアミノ酸配列であるが、CDRの外側のアミノ酸のみを意味することが意図される。本明細書で用いる用語“フレームワーク領域”は、CDRにより分断されるフレームワークの各ドメインを意味することが意図される。

20

【0045】

“単離された”抗体とは、天然環境の成分から同定、分離および/または回収されたものである。天然環境の混入成分は、抗体の診断用途または治療用途を妨げる物質であり、酵素、ホルモン、および他のタンパク質性もしくは非タンパク質性溶質を含み得る。ある態様において、抗体は、(1)ローリー法で決定したとき、抗体が90重量%以上、95重量%以上、または98重量%以上、例えば、99重量%を越えるまで精製され、(2)スピニングカップシーケネーター(spinning cup sequenator)の使用によってN末端もしくは内部のアミノ酸配列の少なくとも15残基を得るのに十分な程度まで精製され、または(3)クマシーブルーまたは銀染色を用いる還元または非還元条件下のドデシル硫酸ナトリウム-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)で均質になるまで精製される。単離された抗体には、抗体の天然環境の少なくとも1つの成分が存在しないので、組換え細胞内に存在する抗体がそのまま含まれる。ある例において、単離された抗体は、少なくとも1つの精製工程を経て調製され得る。

30

【0046】

“処置”とは、宿主が罹患する病状と関連する症状が少なくとも改善されることを意味し、ここで、改善とは、パラメータの大きさ、例えば、処置される病状と関連する症状の程度が少なくとも低減されることを意味する。このように、処置には、病状、または少なくともそれと関連する症状が低減または回避される状況が含まれる。従って、処置には、(i)予防、すなわち、原因となる臨床症状を発症しない、例えば、有害なまたはその他の望ましくない状態に疾患が進行するのを阻止することを含む、臨床症状の発症リスクの低減；(ii)阻害、すなわち、臨床症状の発症またはさらなる発症を阻止する、例えば、活動性疾患(active disease)を緩和または完全に阻止すること、が含まれる。

40

【0047】

用語“有効量”または“治療的有效量”は、処置されるべき疾患状態の処置のために提供する、または他に、望ましい効果(例えば、有効な免疫応答の誘導、タウオパチーの1またはそれ以上の病理学的特徴の軽減など)を提供するために十分な投与量を意味する。正確な投与量は、種々の要因、例えば、対象に依存する変数(例えば、体重、年齢など)、疾患、および有効である処置によって変化してよい。

50

【0048】

本明細書中で互換的に用いられる用語“個体”、“宿主”、“対象”および“患者”は、マウス（ラット、マウス）、ウサギ、非ヒト霊長類、ヒトなどを含むがこれらに限定されない哺乳動物を意味する。ある態様において、個体はヒトである。ある態様において、個体は、齧歯動物（例えば、マウス、ラットなど）またはウサギ目（例えば、ウサギ）である。

【0049】

本明細書で用いる用語“生物学的サンプル”は、対象（例えば、ヒト患者、またはヒト対照対象）から直接得られる物質を含む組成物を意味する。用語“生物学的サンプル”は、生物学的起源の液体サンプル、生検標本または組織培養物もしくはそれらに由来する細胞およびその子孫細胞のような固体組織サンプルを包含する。生物学的サンプルの例としては、脳脊髄液（CSF）、間質液（ISF）、全血、血清、血漿、痰、尿、胸膜液、涙液、気管支肺胞洗浄液、唾液、排泄物、髪の毛、および組織のサンプルが含まれるが、これに限定されない。定義にはまた、それらを手入れ後に何れかの方法、例えば、試薬での処理、可溶化、またはある成分の富化により、操作されたサンプルが包含される。用語“生物学的サンプル”は、臨床サンプルを包含し、また、培養物、細胞上清、細胞溶解物、血清、血漿、生物学的液体、および組織サンプルを包含する。ある場合において、生物学的サンプルは液体サンプルである。

10

【0050】

本明細書で用いる用語“人工多能性幹細胞”（iPSC）は、複数のリプログラミング因子の強制発現の任意の組み合わせ単独で、またはそれと1つもしくはそれ以上のリプログラミング物質とを組み合わせることによる、出生後の体細胞に由来する多能性幹細胞を意味する。

20

【0051】

本明細書で用いる用語“細胞リプログラミング”は、ある細胞型の細胞（例えば、線維芽細胞）を別の細胞型の細胞（例えば、ニューロン）に変換するための多数の公知の方法のいずれかを意味する。かかる方法には、出発細胞型を中間細胞型の工程なしに所望の細胞型に変換する“直接変換”法が含まれる。細胞リプログラミングはまた、出発細胞型（例えば、線維芽細胞または白血球細胞）の多能性幹細胞（“人工多能性幹細胞”；iPSCと称する）への変換、その後の、インビトロでの定方向分化により、目的の細胞型、例えば、皮質ニューロン、運動神経、またはアストロサイトにすることを含む。

30

【0052】

本発明をさらに記載する前に、本発明が記載される特定の態様に限定されることなく、もちろん変更されてもよいことが理解されるべきである。また、本発明の範囲は、添付の特許請求の範囲によってのみ限定され得るため、本明細書で用いる用語は、特定の態様のみを記載する目的であり、限定を意図しないことが理解されるべきである。

【0053】

値の範囲が記載されるとき、その範囲の上限および下限との間の全ての値、他に明確に特記されない限り、下限の単位の10分の1まで、何らかの他の記載または記載の範囲内の間の値は、本発明に包含されることが理解される。これらのより小さい範囲の上限および下限は、その小さい範囲に独立して包含され得て、また、本発明の範囲内に包含され、特に記載の範囲に限定されることを意図しない。記載される範囲が、限定の一方または両方を包含するとき、それが包含する限定のどちらかまたは両方を除く範囲もまた、本発明に包含される。

40

【0054】

他に特記されない限り、本明細書に用いる全ての技術および科学用語は、本発明の属する技術分野の当業者に通常理解されるのと同じ意味を有する。本明細書に記載の方法および物質と同様のまたは均等な方法および物質もまた、本発明の実施または試験に使用され得るが、好ましい方法および物質が本明細書中に記載される。本明細書に記載の全ての文献は、引用により、その文献が引用される事柄に関する方法および/または物質について

50

の開示および記載が本明細書中に包含される。

【0055】

本明細書中、他に明確に記載がない限り、本明細書中および添付の特許請求の範囲における単数形“a”、“an”および“the”は、複数の意味を含むことが特記されるべきである。従って、例えば、“タウペプチド”との記載は、そのような複数のペプチドを包含し、“組成物”との記載は、1種またはそれ以上の組成物および当業者に公知のそれらの同等物などが包含される。さらに、特許請求の範囲は、何らかの任意の要素を除くように記載され得ることが特記される。そのようなものとして、この記載は、“単に”、“のみ”などの排他的用語の使用および特許請求の範囲の要素の記載に関して同様の使用、または“ネガティブ”な限定の使用に対する先行記載となることが意図される。

10

【0056】

明確にするために、本明細書中、別個の態様で記載される本発明の一定の特徴はまた、単一の態様の組み合わせで提供され得ることが認められている。逆に言えば、簡単にするために、一態様で記載される本発明の種々の特徴はまた、別個に、または任意の好適な下位の組み合わせで提供され得る。全ての本発明に関する態様の組み合わせは、特に本発明に包含され、各々のおよび全ての組み合わせが、個々に、そして明確に記載されているように、本明細書に記載される。さらに、種々の態様およびその要素の全ての下位の組み合わせもまた、本発明に特に包含され、各々のおよび全てのかかる下位の組み合わせが、個々に、および明確に記載されているように、本明細書に記載される。

【0057】

本明細書に記載の文献は、本出願の出願日前にそれらの開示内容を単に提供するにすぎない。それらの何れも、本発明が、先行発明として、かかる文献に先行しないと認めるとの認識と解されるべきではない。さらに、提供される文献の出版日は、実際の出版日とは異なり得るので、個々に確認される必要がある。

20

【0058】

詳細な記載

本発明は、単離されたタウペプチドおよび該ペプチドを含む組成物を提供する。本発明は、単離されたタウペプチドに特異的な抗体、ならびに該抗体を含むキットおよびアッセイ装置を提供する。該抗体は、それらも提供される診断法および処置法において使用される。

30

【0059】

タウペプチド

本発明は、単離されたタウペプチド、および該ペプチドを含む組成物を提供する。ある場合において、本発明のタウペプチドは、細胞外タウ(“eタウ”)ポリペプチドである。本明細書で用いる“細胞外タウ”(“eタウ”)は、脳脊髄液(CSF)または間質液(ISF)中で検出され得る任意のタウポリペプチドを含む。

【0060】

(eタウ1)

本発明のタウペプチド(例えば、eタウポリペプチド;例えば、eタウ1ポリペプチド)は、図1Aおよび配列番号1に記載のタウペプチドアミノ酸配列の約5アミノ酸から175アミノ酸の一続きの(例えば、約5アミノ酸(aa)から約10aa、約10aaから約15aa、約15aaから約20aa、約20aaから約25aa、約25aaから約30aa、約30aaから約35aa、約35aaから約40aa、約40aaから約45aa、約45aaから約50aa、約50aaから約75aa、約75aaから約100aa、約100aaから約125aa、約125aaから約150aa、または約150aaから約175aaの一続きの)アミノ酸配列と、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または100%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み得る。ある場合において、N末端アラニンはアセチル化されている。

40

【0061】

50

ある場合において、例えば、目的のタウペプチドが175アミノ酸長を有するとき、タウペプチドのC末端アミノ酸はリシンであり、これは、“K176”と記載され、“176”は、ヒト胎児タウ（図1Aおよび1Bに記載の配列番号7）に基づく数字を意味する。

【0062】

目的のタウペプチドは、約5アミノ酸から約175アミノ酸長、例えば、約5アミノ酸（aa）から約10aa長、約10aaから約15aa長、約15aaから約20aa長、約20aaから約25aa長、約25aaから約30aa長、約30aaから約35aa長、約35aaから約40aa長、約40aaから約45aa長、約45aaから約50aa長、約50aaから約75aa長、約75aaから約100aa長、約100aaから約125aa長、約125aaから約150aa長、または約150aaから約175aa長を有し得る。

10

【0063】

本発明のタウペプチドは、図1Aおよび配列番号2に記載のタウペプチドアミノ酸配列の約5アミノ酸から171アミノ酸の一続きの（例えば、約5アミノ酸（aa）から約10aa、約10aaから約15aa、約15aaから約20aa、約20aaから約25aa、約25aaから約30aa、約30aaから約35aa、約35aaから約40aa、約40aaから約45aa、約45aaから約50aa、約50aaから約75aa、約75aaから約100aa、約100aaから約125aa、約125aaから約150aa、または約150aaから約171aaの一続きの）アミノ酸配列と、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または100%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み得る。ある場合において、N末端アラニンはアセチル化されている。

20

【0064】

ある場合において、例えば、目的のタウペプチドが171アミノ酸長を有するとき、タウペプチドのC末端アミノ酸はアルギニンであり、これは、“R172”と記載され、“172”は、ヒト胎児タウ（図1Aおよび1Bに記載の配列番号7）に基づく数字を意味する。

【0065】

目的のタウペプチドは、約5アミノ酸から約171アミノ酸長、例えば、約5アミノ酸（aa）から約10aa、約10aaから約15aa、約15aaから約20aa、約20aaから約25aa長、約25aaから約30aa長、約30aaから約35aa、約35aaから約40aa、約40aaから約45aa、約45aaから約50aa、約50aaから約75aa、約75aaから約100aa、約100aaから約125aa、約125aaから約150aa、または約150aaから約171aaの長さを有し得る。

30

【0066】

（eタウ2）

本発明のタウペプチド（例えば、eタウポリペプチド；例えば、eタウ2ポリペプチド）は、図1Aおよび配列番号4に記載のタウペプチドアミノ酸配列の約5アミノ酸から150アミノ酸の一続きの（例えば、約5アミノ酸（aa）から約10aa、約10aaから約15aa、約15aaから約20aa、約20aaから約25aa、約25aaから約30aa、約30aaから約35aa、約35aaから約40aa、約40aaから約45aa、約45aaから約50aa、約50aaから約75aa、約75aaから約100aa、約100aaから約125aa、または約125aaから約150aaの一続きの）アミノ酸配列と、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または100%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み得る。

40

【0067】

ある場合において、例えば、目的のタウペプチドが150アミノ酸長を有するとき、タ

50

ウペプチドのC末端アミノ酸はアルギニンであり、これは、“R151”と記載され、“151”は、ヒト胎児タウ(図1Aおよび1Bに記載の配列番号7)に基づく数字を意味する。

【0068】

目的のタウペプチドは、約5アミノ酸から約150アミノ酸長、例えば、約5アミノ酸(aa)から約10aa、約10aaから約15aa、約15aaから約20aa、約20aaから約25aa、約25aaから約30aa、約30aaから約35aa、約35aaから約40aa、約40aaから約45aa、約45aaから約50aa、約50aaから約75aa、約75aaから約100aa、約100aaから約125aa、または約125aaから約150aaの長さを有し得る。

10

【0069】

(eタウ3)

本発明のタウペプチド(例えば、eタウポリペプチド;例えば、eタウ3ポリペプチド)は、図1Aおよび配列番号5に記載のタウペプチドアミノ酸配列の約10アミノ酸から121アミノ酸の一続きの(例えば、約10アミノ酸(aa)から約15aa、約15aaから約20aa、約20aaから約25aa、約25aaから約30aa、約30aaから約35aa、約35aaから約40aa、約40aaから約45aa、約45aaから約50aa、約50aaから約75aa、約75aaから約100aa、または約100aaから約121aaの一続きの)アミノ酸配列と、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または100%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み得る。

20

【0070】

ある場合において、例えば、目的のタウペプチドが121アミノ酸長を有するとき、タウペプチドのC末端アミノ酸はリシンであり、これは、“K122”と記載され、“122”は、ヒト胎児タウ(図1Aおよび1Bに記載の配列番号7)に基づく数字を意味する。

【0071】

目的のタウペプチドは、約5アミノ酸から約121アミノ酸長、例えば、約5アミノ酸(aa)から約10aa、約10aaから約15aa、約15aaから約20aa、約20aaから約25aa、約25aaから約30aa、約30aaから約35aa、約35aaから約40aa、約40aaから約45aa、約45aaから約50aa、約50aaから約75aa、約75aaから約100aa、または約100aaから約121aaの長さを有し得る。

30

【0072】

(eタウ4)

本発明のタウペプチド(例えば、eタウポリペプチド;例えば、eタウ4ポリペプチド)は、図1Aおよび配列番号6に記載のタウペプチドアミノ酸配列の約10アミノ酸から67アミノ酸の一続きの(例えば、約10アミノ酸(aa)から約15aa、約15aaから約20aa、約20aaから約25aa、約25aaから約30aa、約30aaから約35aa、約35aaから約40aa、約40aaから約45aa、約45aaから約50aa、または約50aaから約67aaの一続きの)アミノ酸配列と、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または100%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み得る。

40

【0073】

ある場合において、例えば、目的のタウペプチドが67アミノ酸長を有するとき、タウペプチドのC末端アミノ酸はアルギニンであり、これは、“R68”と記載され、“68”は、ヒト胎児タウ(図1Aおよび1Bに記載の配列番号7)に基づく数字を意味する。

【0074】

目的のタウペプチドは、約5アミノ酸から約67アミノ酸長、例えば、約5アミノ酸(

50

aa) から約 10 aa、約 10 aa から約 15 aa、約 15 aa から約 20 aa、約 20 aa から約 25 aa、約 25 aa から約 30 aa、約 30 aa から約 35 aa、約 35 aa から約 40 aa、約 40 aa から約 45 aa、約 45 aa から約 50 aa、または約 50 aa から約 67 aa の長さを有し得る。

【0075】

ある場合において、本発明のタウペプチド（例えば、細胞外タウペプチド）は、1つまたはそれ以上のアセチル化アミノ酸を含む。ある例において、対象アセチル化タウペプチドのN末端アミノ酸残基のみがアセチル化されている。ある例において、対象アセチル化タウペプチドのN末端アミノ酸残基のみがアセチル化されており、そしてタウペプチドは、何らかの他のアミノ酸修飾を含まない（例えば、ペプチドはリン酸化されていない）。他の場合に、対象アセチル化タウペプチドのN末端アミノ酸残基がアセチル化されており、そしてタウペプチドは、1つまたはそれ以上のさらなるアセチル化アミノ酸残基を含む。さらに他の場合において、対象アセチル化タウペプチドのN末端アミノ酸残基のみがアセチル化されており、そして1つまたはそれ以上のアミノ酸残基（N末端アミノ酸残基以外）がリン酸化されている。

10

【0076】

例えば、ある場合において、対象アセチル化タウペプチドのN末端アミノ酸残基がアセチル化されており、そしてThr-122（胎児タウのThr-123に対応する）がリン酸化されている。ある例において、対象アセチル化タウペプチドのN末端アミノ酸残基がアセチル化されており、そしてSer-143（胎児タウのSer-144に対応する）がリン酸化されている。さらに他の場合において、対象アセチル化タウペプチドのN末端アミノ酸残基がアセチル化されており、そしてThr-122（胎児タウのThr-123に対応する）がリン酸化されており、そしてSer-143（胎児タウのSer-144に対応する）がリン酸化されている。

20

【0077】

本発明のタウペプチドは、細胞内タウと比較して低リン酸化型であってよい。例えば、タウペプチドは、同じアミノ酸配列を有する細胞内タウペプチドよりも少ないリン酸化アミノ酸を有し得る。例えば、細胞内タウペプチドが3つまたはそれ以上のリン酸化アミノ酸残基を有するとき、目的のタウペプチドは、3以下のリン酸化アミノ酸残基、例えば、2つのリン酸化アミノ酸残基、1つのリン酸化アミノ酸残基を有してよいが、またはリン酸化アミノ酸残基を有しない。

30

【0078】

ある例において、アミノ酸残基（例えば、翻訳後修飾のない残基）の配列に関して均一である本発明のタウペプチドの集団において、該集団の約2%から約100%は、リン酸化された側鎖を有するアミノ酸残基を含み得る。例えば、アミノ酸配列に関して均一である本発明のタウペプチドの集団内のタウペプチドの、約2%から約5%、約5%から約10%、約10%から約15%、約15%から約20%、約20%から約25%、約25%から約30%、約30%から約40%、約40%から約50%、約50%から約60%、約60%から約70%、約70%から約80%、約80%から約90%、または約90%から100%は、1つ、2つ、3つ、または4つ以上のリン酸化アミノ酸残基（例えば、リン酸化セリン；リン酸化スレオニン）を含み得る。

40

【0079】

非限定的な一例において、ある場合において、目的のタウペプチドは、アセチル化N末端アミノ酸（例えば、Ala^{A-C}）を含み、1つまたはそれ以上の付加的アミノ酸修飾、例えば、N末端Ala以外のアミノ酸の修飾を含んでも、含まなくてもよい。

【0080】

目的のタウペプチドは、図1Aの記載のとおり、配列番号1-6のいずれかに記載のアミノ酸配列と比較して、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10個のアミノ酸置換（例えば、保存的アミノ酸置換）を含み得る。

【0081】

50

“保存的アミノ酸置換”とは、一般的に、以下のグループ内のアミノ酸残基の置換を意味する：

- 1) L、I、M、V、F；
- 2) R、K；
- 3) F、Y、H、W、R；
- 4) G、A、T、S；
- 5) Q、N；および、
- 6) D、E。

【0082】

目的のタウペプチドの文脈において保存的アミノ酸置換は、該ペプチドの生物学的活性を保持するように選択される。そのような提示は、置換されるアミノ酸の側鎖に類似の酸性度、塩基性度、電荷、極性、または大きさの側鎖を有するアミノ酸で置換することにより保存され得る。置換、挿入、または欠失のためのガイダンスは、異なる種からの異なる変異タンパク質またはタンパク質のアミノ酸配列のアライメントに基づき得る。例えば、完全に保存されている特定の残基位置において、置換、欠失または挿入は許容されないかもしれないが、一方、1つまたはそれ以上の残基が保存されていない他の位置では、アミノ酸の変化は許容され得る。半保存された残基は、電荷、極性、および/または大きさを保持する変更が許容され得る。

10

【0083】

検出可能なラベル

本発明のタウペプチドは、検出可能なラベルを含み得る。好適な検出可能なラベルには、分光的、光化学的、生化学的、免疫化学的、電気的、光学的または化学的手段により検出可能な部分が含まれる。好適な検出可能なラベルとしては、磁気ビーズ（例えば、Dynabead[®]（商標））；蛍光タンパク質（例えば、緑色蛍光タンパク質、赤色蛍光タンパク質、黄色蛍光タンパク質など）；蛍光色素（例えば、フルオレセインイソチオシアネート、テキサスレッド、ローダミンまたはローダミン誘導体（例えば、ローダミンB；TAMRA）、7-アミノ-4-メチル-クマリン（AMC）、5-（（2-アミノエチル）アミノ）ナフタレン-1-スルホン酸（EDANS）、7-ニトロベンズ-2-オキサ-1,3-ジアゾール（NBD、など）；蛍光消光剤（例えば、ダブシル、ダンシル、2,4-ジニトロフェノールなど）；p-ニトロアニリン；放射性標識（例えば、³H、¹²⁵I、³⁵S、¹⁴C、¹⁴N、¹³C、¹⁵N、または³²P）；酵素類（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、ルシフェラーゼ、および一般に酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）において使用される他のもの）；金コロイドまたは着色ガラスもしくはプラスチックなどの比色標識（例えば、ポリスチレン、ポリプロピレン、ラテックスなど）ビーズ；などが挙げられる。

20

30

【0084】

固体支持体

本発明のタウペプチドは、固体支持体上に直接またはリンカーを介して固定化され得る。好適な支持体は当技術分野で周知であり、とりわけ、市販のカラム材料、ポリスチレンビーズ、ラテックスビーズ、磁気ビーズ、コロイド金属粒子、ガラスおよび/またはシリコンのチップならびにガラスおよび/またはシリコンの表面、ニトロセルロースストリップ、ナイロン膜、シート、反応トレーのウェル（例えば、マルチウェルプレート）、プラスチックチューブなどが含まれる。固体支持体は、例えば、ガラス、ポリスチレン、ポリ塩化ビニル、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリカーボネート、デキストラン、ナイロン、アミロース、天然セルロースおよび修飾セルロース、ポリアクリルアミド、アガロース、ならびに磁鉄鉱を含む種々の物質のいずれかを含み得る。固体支持体上に本発明のタウペプチドを固定化するための好適な方法は周知であり、イオン性、疎水性、および共有結合性の相互作用などを含むが、これらに限定されない。固体支持体は、例えば、水溶液に可溶性または不溶性であり得る。ある態様において、好適な固体支持体は、一般に、水溶液に不溶性である

40

50

【0085】

修飾

ある場合において、本発明のタウペプチドは、1つまたはそれ以上の修飾を含む。例えば、目的のタウペプチドは環状にされてよい。別の例としては、タウペプチドは、1つまたはそれ以上のアミノ酸修飾を有し得る。目的のタウペプチドは、1つまたはそれ以上のD-アミノ酸を含んでよい。

【0086】

一次配列を変化させない目的の修飾には、ポリペプチドの化学的誘導体、例えば、アセチル化またはカルボキシル化が含まれる。また、グリコシル化の修飾体、例えば、その合成およびプロセッシングまたはさらなる処理工程中にポリペプチドのグリコシル化パターンを改変することにより；例えば、該ポリペプチドを哺乳動物のグリコシル化または脱グリコシル化酵素などのグリコシル化に影響を与える酵素に暴露することにより、作製されるものが含まれる。また、リン酸化アミノ酸残基、例えばホスホチロシン、ホスホセリン、またはホスホスレオニンを有するペプチドも包含される。ある例において、対象ペプチドは、1つまたはそれ以上のリン酸化アミノ酸を含む。ある例において、本発明のタウペプチドは、ホスホスレオニン残基および/またはホスホセリン残基を含む。

10

【0087】

本発明はまた、タンパク質分解に対する耐性を向上させるために、または溶解特性を最適化するために、または治療剤としてそれらをより適するようにするために、通常分子生物学技術および合成化学を用いて修飾されたタウペプチドを提供する。かかるペプチドの類縁体には、天然に存在するL-アミノ酸以外の残基、例えば、D-アミノ酸または天然に存在しない合成アミノ酸を含むものが含まれる。

20

【0088】

以下は、目的のタウペプチドに対して行うことができるアミノ酸修飾の非限定的な例である：

【0089】

a) アルキル置換された疎水性アミノ酸の置換：分枝状、環状および直鎖状アルキル、アルケニルまたはアルキニル置換を含むC₁-C₁₀炭素由来の脂肪族側鎖で置換されている、アラニン、ロイシン、イソロイシン、バリン、ノルロイシン、(S)-2-アミノ酪酸、(S)-シクロヘキシルアラニンまたは他の単純なアルファ-アミノ酸を含む；

30

【0090】

b) 芳香族置換された疎水性アミノ酸の置換：アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アザ、ハロゲン化(フルオロ、クロロ、プロモ、またはヨード)またはアルコキシ(下記の芳香族アミノ酸の(C₁-C₄)-置換形態)を含む、フェニルアラニン、トリプトファン、チロシン、スルホチロシン、ビフェニルアラニン、1-ナフチルアラニン、2-ナフチルアラニン、2-ベンゾチエニルアラニン、3-ベンゾチエニルアラニン、ヒスチジンを含む。それらの例は、2-、3-または4-アミノフェニルアラニン、2-、3-または4-クロロフェニルアラニン、2-、3-または4-メチルフェニルアラニン、2-、3-または4-メトキシフェニルアラニン、5-アミノ-、5-クロロ-、5-メチル-または5-メトキシトリプトファン、2'-、3'-、または4'-アミノ-、2'-、3'-、または4'-クロロ-、2、3、または4-ビフェニルアラニン、2'-、3'-、または4'-メチル-、2-、3-または4-ビフェニルアラニン、および2-または3-ピリジルアラニンである；

40

【0091】

c) 塩基性側鎖を含むアミノ酸の置換：アルキル、アルケニル、またはアリール置換された(C₁-C₁₀の分枝状、直鎖状、または環状)以下のアミノ酸の誘導体を含む、アルギニン、リシン、ヒスチジン、オルニチン、2,3-ジアミノプロピオン酸、ホモアルギニンを含む。ここで、置換基は、例えばpro-R位においてヘテロ原子上(例えば、アルファ窒素、または遠位窒素(1個または複数)、またはアルファ炭素上)にある。具体例として挙げられる化合物には、N-イブシロン-イソプロピル-リシン、3-(4-

50

テトラヒドロピリジル) - グリシン、3 - (4 - テトラヒドロピリジル) - アラニン、N , N - 、 ' - ジエチル - ホモアルギニンが含まれる。アルファ - メチル - アルギニン、アルファ - メチル - 2 , 3 - ジアミノプロピオン酸、アルファ - メチル - ヒスチジン、アルファ - メチル - オルニチン (ここで、アルキル基がアルファ - 炭素の p r o - R 位を占める) などの化合物もまた包含される。アルキル、芳香族、ヘテロ芳香族 (ここで、ヘテロ芳香族基は、1 個またはそれ以上の窒素原子、酸素原子または硫黄原子を単独または組み合わせて有する) カルボン酸、または酸塩化物、活性エステル、活性アゾリドおよび関連する誘導体などの多くの周知の活性化誘導体のいずれか、ならびにリシン、オルニチン、または 2 , 3 - ジアミノプロピオン酸から形成されるアミドもまた包含される ;

【 0 0 9 2 】

d) 酸性アミノ酸の置換 : アスパラギン酸、グルタミン酸、ホモグルタミン酸、チロシン、2 , 4 - ジアミノプロピオン酸、オルニチンまたはリシンのアルキル、アリール、アリールアルキル、およびヘテロアリールスルホンアミド、ならびにテトラゾール置換されたアルキルアミノ酸を含む ;

【 0 0 9 3 】

e) 側鎖アミド残基の置換 : アスパラギン、グルタミン、およびアスパラギンもしくはグルタミンのアルキルもしくは芳香族置換された誘導体を含む ; ならびに、

【 0 0 9 4 】

f) アミノ酸を含むヒドロキシルの置換 : セリン、スレオニン、ホモセリン、2 , 3 - ジアミノプロピオン酸、およびセリンもしくはスレオニンのアルキルもしくは芳香族置換された誘導体を含む。

【 0 0 9 5 】

ある場合において、目的のタウペプチドは、1 つまたはそれ以上の天然に存在する非遺伝子的にコードされた L - アミノ酸、合成 L - アミノ酸またはアミノ酸の D - エナンチオマーを含む。例えば、本発明のタウペプチドは、D - アミノ酸のみを含んでよい。例えば、本発明のタウペプチドは、1 つまたはそれ以上の以下の残基を含んでよい : ヒドロキシプロリン、 - アラニン、o - アミノ安息香酸、m - アミノ安息香酸、p - アミノ安息香酸、m - アミノメチル安息香酸、2 , 3 - ジアミノプロピオン酸、 - アミノイソ酪酸、N - メチルグリシン (サルコシン)、オルニチン、シトルリン、t - ブチルアラニン、t - ブチルグリシン、N - メチルイソロイシン、フェニルグリシン、シクロヘキシルアラニン、ノルロイシン、ナフチルアラニン、ピリジルアラニン 3 - ベンゾチエニルアラニン、4 - クロロフェニルアラニン、2 - フルオロフェニルアラニン、3 - フルオロフェニルアラニン、4 - フルオロフェニルアラニン、ペニシラミン、1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロイソキノリン - 3 - カルボン酸、 - 2 - チエニルアラニン、メチオニンスルホキシド、ホモアルギニン、N - アセチルリシン、2 , 4 - ジアミノ酪酸、ロー - アミノフェニルアラニン、N - メチルバリン、ホモシステイン、ホモセリン、 - アミノヘキサ酸、 - アミノヘキサ酸、 - アミノヘプタン酸、 - アミノオクタン酸、 - アミノデカン酸、 - アミノテトラデカン酸、シクロヘキシルアラニン、 , - ジアミノ酪酸、 , - ジアミノプロピオン酸、 - アミノ吉草酸、および 2 , 3 - ジアミノ酪酸。

【 0 0 9 6 】

ある場合において、目的のタウペプチドは、ペプチド結合以外の 1 またはそれ以上の結合を含み、例えば、少なくとも 2 個の隣接するアミノ酸が、アミド結合以外の結合により結合されている。例えば、望ましくないタンパク質分解または他の分解経路を低減または排除するため、および / または血清安定性を増加させるため、および / またはコンホメーションの柔軟性を制限または増加させるために、本発明のタウペプチドの骨格内の 1 つまたはそれ以上のアミド結合を置き換えることができる。

【 0 0 9 7 】

例えば、目的のタウペプチド内の 1 つまたはそれ以上のアミド結合 (- C O - N H -) を、アイソスターである別の結合に置き換えることができる。例えば、 - C H ₂ N H - 、 C H ₂ S - 、 - C H ₂ C H ₂ - 、 - C H = C H - (シスおよびトランス)、 - C O C H ₂

10

20

30

40

50

-、-CH(OH)CH₂- および -CH₂SO-。この置き換えは、当業者に公知の方法である。

【0098】

別の例として、本発明のタウペプチド内の1つまたはそれ以上のアミド結合を、還元型イソスターのシュードペプチド結合で置き換えることができる。Couder et al. (1993) Int. J. Peptide Protein Res. 41:181 - 184。

【0099】

タウペプチドは、種々の目的のために多種多様な他のペプチドまたはタンパク質に結合されてよい。本発明のペプチドの発現を提供するために、種々の翻訳後修飾が成され得る。例えば、適当なコーディング配列を使用することにより、ファルネシル化またはプレニル化を提供することができる。このような状況では、ペプチドは、例えばリポソームなどの脂質膜に結合することができるように、末端の脂質基に結合され得る。

【0100】

システイン残基またはシステイン類縁体は、ジスルフィド結合を介して他のペプチドへの結合を提供するために、または目的のタウペプチドの環化を提供するために、目的のタウペプチドに導入することができる。システインまたはシステイン類縁体を導入する方法は、当該分野で公知である；例えば、米国特許第8,067,532号を参照のこと。

【0101】

本発明のタウペプチドは環化されていてよい。1つまたはそれ以上のシステインまたはシステイン類縁体は、目的のタウペプチドに導入されてよく、ここで、導入されたシステインまたはシステイン類縁体は、第二の導入されたシステインまたはシステイン類縁体と共にジスルフィド結合を形成することができる。環化の他の手段としては、オキシムリンカーまたはランチオニンリンカーの導入が挙げられる；例えば、米国特許第8,044,175号参照。環化結合を形成することができるアミノ酸（または非アミノ酸部分）の任意の組み合わせが、使用され、かつ/または導入され得る。環化結合は、架橋の導入を可能にする官能基を有するアミノ酸の任意の組み合わせ（または、アミノ酸および-(CH₂)_n-CO-または-(CH₂)_n-C₆H₄-CO-)を用いて生成することができる。いくつかの例は、ジスルフィド結合、ジスルフィド模倣結合、例えば-(CH₂)_n-カルバ橋(carba bridge)、チオアセタール、チオエーテル架橋(シスタチオニンまたはランチオニン)ならびにエステルおよびエーテルを含む架橋である。

【0102】

他の修飾としては、例えば、N-アルキル（または、アリール）置換([CONR])、または骨格架橋によるラクタムおよび他の環状構造の構築が挙げられる。本発明のモジュレーター化合物の他の誘導体には、C末端ヒドロキシメチル誘導体、O-修飾誘導体（例えば、C末端ヒドロキシメチルベンジルエーテル）、アルキルアミドおよびヒドラジドなどの置換アミドを含むN末端修飾誘導体が含まれる。

【0103】

ある場合において、本発明のタウペプチド内の1つまたはそれ以上のL-アミノ酸は、D-アミノ酸で置換される。

【0104】

ある場合において、目的のタウペプチドは、レトロインベルソ(retroinverso)類縁体である(Sela and Zisman (1997) FASEB J. 11:449)。レトロインベルソペプチド類縁体は、アミノ酸配列の方向が逆(レトロ型)であり、そしてその配列内の1つまたはそれ以上のアミノ酸のキラリティーD-またはL-が逆(インベルソ型)である、例えば、L-アミノ酸よりもD-アミノ酸を用いる、直鎖状ペプチドの異性体である。例えば、Jameson et al. (1994) Nature 368:744; および、Brady et al. (1994) Nature 368:692参照のこと。

【0105】

目的のタウペプチドのC末端アミノ酸のカルボキシル基COR₃は、遊離形(R₃=OH)で存在していてよいが、または生理的条件下に耐性のアルカリ金属塩またはアルカリ土

10

20

30

40

50

類金属塩、例えば、ナトリウム、カリウムまたはカルシウム塩の形態であってよい。カルボキシル基はまた、第一級、第二または第三級アルコール、例えば、メタノール、分枝状もしくは非分枝状 $C_1 - C_6$ - アルキルアルコール類、例えば、エチルアルコールもしくは *tert*-ブタノールでエステル化されていてよい。カルボキシル基はまた、第一級または第二級アミン類、例えばアンモニア、分枝状もしくは非分枝状 $C_1 - C_6$ - アルキルアミン類もしくは $C_1 - C_6$ ジ-アルキルアミン類、例えば、メチルアミンまたはジメチルアミンでアミド化されていてよい。

【0106】

本発明のタウペプチドのN末端でのアミノ酸 NR_1R_2 のアミノ基は、遊離形 ($R_1 = H$ であり、 $R_2 = H$ である) または生理的に許容される塩の形態、例えば、酢酸塩などで存在していてよい。アミノ基はまた、酸でアセチル化されていてよく、例えば $R_1 = H$ であり、 $R_2 =$ アセチル、トリフルオロアセチル、またはアダマンチルである。アミノ基は、例えば、Fmoc、Z、Boc、または Alloc などのペプチド化学の常套のアミノ保護基により保護された形態で存在し得る。アミノ基は、N-アルキル化されていてよく、ここで、 R_1 および/または $R_2 = C_1 - C_6$ アルキルまたは $C_2 - C_8$ アルケニルまたは $C_7 - C_9$ アラルキルである。

10

【0107】

アルキル残基は、直鎖、分枝鎖または要すれば環式アルキル残基であってよく、例えば、メチル、エチル、イソプロピルおよびシクロヘキシルである。

【0108】

目的のタウペプチドを修飾する1つの方法は、該ペプチドのNおよび/またはC末端での1つまたはそれ以上のさらなる要素、例えば別のタンパク質(例えば、目的のペプチドとは異種のアミノ酸配列を有するもの)および/または担体分子との複合体形成(たとえば、結合)である。従って、例示的タンパク質は、本発明のタウペプチドに由来するペプチド(複数可)を含む融合タンパク質である。

20

【0109】

目的のタウペプチド血清半減期を延長させ得る修飾は、関心の対象である。目的のタウペプチドは、1個またはそれ以上のポリ(エチレングリコール)(PEG)部分を含むように、“PEG化”されていてよい。タンパク質のPEG化に適する方法および反応剤は、当技術分野でよく知られており、米国特許第5,849,860号に見出すことができ、その開示内容は、引用により本明細書中に包含される。タンパク質に結合するのに適するPEGは、一般に、室温で水に可溶性であり、かつ一般式 $R(O-CH_2-CH_2)_nO-R$ (式中、Rは、水素または保護基、例えばアルキル基またはアルカノール基であり、nは、1から1000の整数である。Rが保護基のとき、それは、一般に、1~8個の炭素を有する。)を有する。

30

【0110】

目的のタウペプチドに結合したPEGは、直鎖状であってよい。目的のタウペプチドに結合したPEGはまた、分枝状であってよい。分枝状PEG誘導体、例えば米国特許第5,643,575号に記載のような“star-PEG”および例えばShearwater Polymers, Inc. catalog “Polyethylene Glycol Derivatives 1997-1998”に記載のようなマルチアームPEGである。Star-PEGは、本明細書に包含される、例えば、米国特許第6,046,305号に記載されている。

40

【0111】

本発明のタウペプチドは、N-ラウロイル、N-オレオイルなどのN-脂肪アシル基を含む、リポソーム、炭水化物、脂質部分中に組み込まれるとき、ドデシルアミン、オレオイルアミンなどの脂肪アミン類(例えば、米国特許第6,638,513号参照)はまた、目的のタウペプチドを修飾するために使用され得る。

【0112】

さらなる修飾

目的のタウペプチドは、1個またはそれ以上の共有結合部分を含むように修飾され得る

50

。好適な修飾には、例えば、ビオチン；脂質（例えば、ファルネシル、ホルミル、ミリス
トイル、パルミトイルおよびステアリル基）；ポリ（エチレングリコール）；（（H i s
）_n、例えば、6 H i s；エピトープタグ、例えば、グルタチオン - S - トランスフェラ
ーゼ（G S T）、ヘマグルチニン（H A；例えば、Y P Y D V P D Y A；配列番号74）
、F L A G（例えば、D Y K D D D D K；配列番号75）、c - m y c（例えば、E Q K
L I S E E D L；配列番号76））；担体（例えば、免疫化のため）；などが含まれる。

【0113】

担体

本発明のタウペプチドは、担体に結合されていてよい。本明細書で用いる用語“結合（
linked）”は、用語“カップリング（coupled）”と互換的に用いられ、近接した結合を
意味し、例えば、タウペプチドと担体が、空間的に近接していることを意味する。ある場
合において、結合は共有結合である。別の場合において、結合は、非共有結合である。タ
ウペプチドは、担体に直接結合させることができる。あるいは、タウペプチドは、例えば
、リンカー分子を介して、間接的に担体に結合することができる。

10

【0114】

好適な担体の例としては、大きな、ゆっくりと代謝される高分子、例えばタンパク質；
セファロース、アガロース、セルロース、セルロースビーズなどの多糖類；ポリグルタミ
ン酸、ポリリジンなどの重合アミノ酸；アミノ酸コポリマー；不活性化ウイルス粒子；ジ
フテリアからのトキソイド、破傷風、コレラ、ロイコトキシン分子などの不活性化細菌毒
素；リポソーム；不活性化された細菌；樹状細胞などが含まれる。担体は、以下にさらに
詳細に記載される。

20

【0115】

好適な担体は当技術分野で公知であり、例えば、サイログロブリン、ヒト血清アルブミ
ンなどのアルブミン類、破傷風トキソイド；ジフテリアトキソイド；ポリ（D - リシン；
D - グルタミン酸）などのポリアミノ酸類；ロタウイルスのV P 6ポリペプチド類；イン
フルエンザウイルス赤血球凝集素、インフルエンザウイルス核タンパク質；B型肝炎ウイル
スコアタンパク質、B型肝炎ウイルス表面抗原；結核菌由来のツベルクリンの精製タン
パク質誘導体（P P D）；不活性化された膿菌外毒素A（トキシンA）；キーホールリン
ベットヘモシアニン（K L H）；百日咳菌の線維状赤血球凝集素（F H A）；破傷風トキ
ソイド（T T）およびカルメット・ゲラン菌（B C G）細胞壁のTヘルパー細胞（T h）
エピトープ；らい菌または結核菌由来の組み換えの、10 k D a、19 k D aおよび30
- 32 k D aのタンパク質、あるいはこれらのタンパク質の組み合わせなどが含まれる。
例えば、担体の説明について、および担体にペプチドを結合させる方法について、米国特
許第6,447,778号を参照のこと。

30

【0116】

緑膿菌外毒素A（トキシンA）は、複合ワクチンの担体として有効に使用されてきた。
緑膿菌外毒素Aは、緑膿菌P A 103の発酵増殖させた培養物の上清から精製することが
できる。トキシンAは、動物における結果に基づいてスーパー抗原として分類されている
。トキシンAは、アジピン酸ジヒドラジド（A D H）のような4個の炭素のスペーサー分
子に共有結合することにより、完全かつ不可逆的に無毒化することができる。この工程は
、トキシン分子のA D P R - トランスフェラーゼ活性を破壊し、それ故に無害化処理する
ことができる。未反応のヒドラジド基は、トキシンAへポリペプチドを共有結合するた
めに使用することができる。トキシンAはまた、カルボジイミド試薬を用いてポリペプチ
ドへ結合することもできる。

40

【0117】

タウ - ペプチド複合体は、便宜的に、カップリング剤としてグルタルアルデヒドを用い
て調製される。例えば、Rubinstein et al. (1995) AIDS 9:243 - 51参照。

【0118】

目的のポリペプチドを担体と複合体形成させる方法には、C末端ペプチドシステイン結
合によるジスルフィド結合、2時間のグルタルアルデヒド溶液とのカップリング、チロシ

50

ンとのカップリング、または水溶性カルボジイミドとのカップリングが含まれる。

【0119】

いくつかの態様において、目的のタウペプチドは脂質化されている。パルミチン酸などの脂質残基は、ペプチドのアミノ末端に結合されている。脂質は、ペプチドに直接結合されるか、またはSer-Ser、Gly、Gly-Gly、Ser結合などの結合により間接的に結合されてよい。別の例として、大腸菌リポタンパク質、例えばトリパルミトイル-S-グリセリルシステニル-セリル-セリン(P₃ CSS)は、ペプチドに共有結合したとき、特異的CTLをプライムするのに使用され得る。Deres et al., Nature 342:561-564 (1989)参照。目的のタウペプチドは、酢酸からステアリン酸の範囲の異なる鎖長および不飽和度の非荷電脂肪酸残基と結合されてよく、ならびに適当なカルボン酸無水物を介して負に荷電したスクシニル残基と結合されてよい。例えば、米国特許第6,419,931号を参照のこと。

10

【0120】

目的のタウペプチドは、担体に直接的または例えば、リンカー分子を介して間接的に結合され得る。多種多様なリンカー分子が当技術分野で公知であり、複合体に使用され得る。担体へのペプチドの結合は、ペプチド反応性側鎖、またはペプチドのN末端もしくはC末端を介しても可能である。リンカーは、有機、無機、または半有機分子であってよく、有機分子のポリマー、無機分子のポリマー、または無機分子および有機分子の両方を含むコポリマーであってよい。

20

【0121】

存在するとき、リンカー分子は、タウペプチドおよび結合している担体に、該タウペプチドと担体の間の柔軟な動きを可能にするために、一般的に十分な長さである。リンカー分子は、一般的に、約6-50原子の長さである。リンカー分子はまた、例えば、アリアルアセチレン、2-10モノマー単位を含むエチレングリコールオリゴマー、ジアミン、二酸、アミノ酸、またはそれらの組み合わせであってよい。ポリペプチドに結合することができる他のリンカー分子は、本明細書の記載に照らして使用することができる。

【0122】

タウペプチドの作製方法

目的のタウペプチドは、従来を組み換え合成法に従って、単離および精製することができる。溶解物は、目的のタウペプチドを産生する発現宿主細胞から調製することができるか、または目的のタウペプチドを産生する発現宿主細胞からの培地を集めることができ、そして、タウペプチドは、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)、サイズ排除クロマトグラフィー、ゲル電気泳動、アフィニティークロマトグラフィー、または他の精製技術を用いて、溶解物または培地から精製され得る。ある場合において、目的のタウペプチドを含む組成物は、タウペプチド生成物の製造法およびその精製法に関する汚染物質(contaminant)に関連して、所望の生成物を少なくとも80重量%、少なくとも約85重量%、少なくとも約95重量%、または少なくとも約99.5重量%含み得る。パーセンテージは、全タンパク質に基づき得る。

30

【0123】

ある場合において、本発明のタウペプチドは、タウペプチドを産生する細胞の培地から精製され得る。例えば、宿主細胞は、遺伝子組み換えされた宿主細胞がタウペプチドを産生し、培地中にそれを分泌するように、目的のタウペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸を用いて遺伝子的に修飾されてよい。

40

【0124】

目的のタウペプチドはまた、当技術分野で公知の常套法を用いて、インビトロ化学合成により製造できる。種々の市販の合成装置、例えば、Applied Biosystems, Inc., Foster City, Calif., Beckmanなどによる自動合成機が利用可能である。合成機を使用することにより、天然に存在するアミノ酸は、非天然アミノ酸で置換され得る。特定の配列および調製の方法は、利便性、経済性、要される純度などにより決定され得る。例えば、固相ペプチド合成(SPPS)は、非天然アミノ酸および/またはペプチド/タンパク質骨格修

50

飾の組み込みを可能にする。FmocおよびBocなどのSPPSの種々の形態は、目的のペプチドを合成するために利用可能である。化学合成の詳細は、当技術分野で知られている（例えば、Ganesan A. 2006 Mini Rev. Med Chem. 6:3 - 10 および Camarero JA et al. 2005 Protein Pept Lett. 12:723 - 8）。

【0125】

必要であれば、種々の基を合成中または発現中にペプチドに導入することができる。例えば、タウペプチドは、合成中にアセチル化および/またはリン酸化され得る。上記のように、SPPSは、非天然アミノ酸および/またはペプチド/タンパク質骨格修飾の組み込みを可能にする。アミノ酸をアセチル化するための方法、アミノ酸をリン酸化するための（例えば、リン酸化アミノ酸を組み込む）方法は、当技術分野で公知である。例えば、

10

【0126】

あるいは、ある基を、タウペプチドに導入することができ、その基は、他の分子または表面への結合を提供することができる。従って、例えば、システインは、チオエーテル、金属イオン錯体への結合のためのヒスチジン、アミドまたはエステルを形成するためのカルボキシル基、アミドを形成するためのアミノ基などを形成するために使用できる。

【0127】

化学合成により生成されたペプチドは、酢酸塩形態の弱塩基樹脂上のイオン交換；非誘導体化ポリスチレン/ジビニルベンゼンコポリマー（例えば、Amberlite[®]（登録商標）XAD）上の疎水性吸着クロマトグラフィー；シリカゲル上での吸着クロマトグラフィー；例えば、カルボキシメチルセルロース上での、イオン交換クロマトグラフィー；例えば、Sephadex[®]（登録商標）G-25上での、分配クロマトグラフィー；向流分配クロマトグラフィー；または、高圧液体クロマトグラフィー（HPLC）、例えば、オクチルまたはオクタデシルシリルシリカ（ODS）相での逆相HPLCを含む、種々のクロマトグラフィー法により精製され得る。

20

【0128】

別の例として、タウペプチドは、人工多能性幹（iPS）細胞から誘導された神経細胞（例えば、皮質ニューロン；運動ニューロン）の培地から精製することができる。例えば、個体から得られた線維芽細胞または他の体細胞は、iPS細胞を作製するために使用することができる；そうして作製されたiPS細胞は、当技術分野で公知の方法を用いて、皮質ニューロンまたは運動ニューロンに分化するためのインビトロ細胞培養において誘導され得る。例えば、Dimos et al. (2008) Science 321:1218 - 1221; Chambers et al. (2009) Nat. Biotechnol. 27:275; Cooper et al. (2010) Mol. Cell. Neurosci. 45:258; および、Hu et al. (2010) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 107:4335を参照のこと。インビトロで分化した神経細胞により培地中に分泌されたタウペプチドは、培地から精製することができる。

30

【0129】

ある場合において、神経細胞は、タウオパチーを有する個体から得られた体細胞（例えば、線維芽細胞）から作製されたiPS細胞をインビトロで分化させることにより製造される。線維芽細胞などの体細胞からiPS細胞を作製する方法は、当技術分野で公知である。例えば、Takahashi and Yamanaka (2006) Cell 126:663676; Yamanaka et al. (2007) Nature 448:313 - 7; Wernig et al. (2007) Nature 448:318 - 24; Maherali (2007) Cell Stem Cell 1:5570; Maherali and Hochedlinger (2008) Cell Stem Cell 3:595 - 605; Park et al. (2008) Cell 134:1 - 10; Dimos et al. (2008) Science 321:1218 - 1221; Blelloch et al. (2007) Cell Stem Cell 1:245 - 247; Stadtfeld et al. (2008) Science 322:945 - 949; Stadtfeld et al. (2008) 2:230 - 240; Okita et al. (2008) Science 322:949 - 953; Yu et al. (2009) Science 324:797; Soldner et al. (2009) Cell 136:964; および、Kaji et al. (2009) Nature 458:771を参照のこと。

40

50

【0130】

iPS細胞は、以下を含むが、それらに限定されない、種々の細胞から作製可能である：線維芽細胞、皮膚線維芽細胞 (skin fibroblast)、皮膚線維芽細胞 (dermal fibroblast)、骨髄由来単核細胞、骨格筋細胞、脂肪細胞、末梢血単核細胞、マクロファージ、肝細胞、ケラチン生成細胞、経口ケラチン生成細胞、毛包真皮細胞、上皮細胞、胃上皮細胞、肺上皮細胞、滑膜細胞、腎細胞、皮膚上皮細胞、膵臓細胞、および骨芽細胞。iPS細胞を作製するために用いる細胞は、以下を含むが、それらに限定されない、組織の種々の種類を起源とすることができる：骨髄、皮膚 (例えば、真皮、表皮)、筋肉、脂肪組織、末梢血、包皮、骨格筋、および平滑筋。

【0131】

iPS細胞を作製するために使用される細胞は、タウオパチーを有するヒト (例えば、成人) から得られ得る。例えば、iPS細胞を作製するために使用される細胞は、アルツハイマー病を有するヒト (例えば、成人) から得られ得る。

【0132】

iPS細胞は、以下の細胞表面抗原：SSEA-3、SSEA-4、TRA-1-60、TRA-1-81、TRA-2-49/6E (アルカリホスファターゼ)、および Nanog のうち1個またはそれ以上を産生し、その細胞表面上に発現する。例えば、iPS細胞は、SSEA-3、SSEA-4、TRA1-60、TRA1-81、および Nanog をその細胞表面上に発現し得る。

【0133】

体細胞からのiPS細胞の作製は、細胞の増加した効力または細胞の脱分化を促進するために、体細胞における因子セットの発現を強制することを含み得る。強制発現させることは、外因性ポリペプチドをコードする発現ベクターを細胞内に導入することを含み、ここで、外因性ポリペプチドには、例えば、Oct3/4、Klf4、c-Myc、Sox2、Nanog、Lin28、Esrrb、SV40 Large T抗原、およびhTERTの1個、2個、3個、4個またはそれ以上が含まれる。例えば、iPS細胞は、成人体細胞にOct3/4、Klf4、c-Myc、Sox2、Nanog、およびLin28をコードするヌクレオチド配列を含む1個またはそれ以上の発現ベクターを導入することにより、該体細胞から作製できる。別の例として、iPS細胞は、成人体細胞にOct3/4、Klf4、c-Myc、およびSox2をコードするヌクレオチド配列を含む1

【0134】

iPS細胞は、ベクターまたは導入遺伝子配列を使用することなく体細胞から作製可能である。例えば、Yu et al. (2009) Science 324:797; Soldner et al. (2009) Cell 136:964; および、Kaji et al. (2009) Nature 458:771を参照のこと。

【0135】

iPSは、インビトロで神経細胞に分化するように誘導することができる。iPS細胞をインビトロで神経細胞に分化するように誘導する方法は、当技術分野で公知である。例えば、Dimos et al. (2008) Science 321:1218 - 1221; Chambers et al. (2009) Nat. Biotechnol. 27:275; Cooper et al. (2010) Mol. Cell. Neurosci. 45:258; および、Hu et al. (2010) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 107:4335を参照のこと。iPS細胞は、胚様体 (EB) を自発的に形成するように、培地中でインビトロで維持することができる。EBは、ソニックヘッジホッグ (SHH) シグナル伝達経路のアゴニストおよびレチノイン酸 (RA) を含む培地中でインビトロで維持することができ、その後、ラミニンコーティングされた表面上にプレーティングした。これらの条件下、EBは神経細胞に分化する；例えば、上記のDimos (2008)を参照のこと。

【0136】

ニューロンは、以下のような1個またはそれ以上の神経細胞マーカーの発現により同定され得る：Tuj1 (-III-チューブリン); MAP-2 (微小管関連タンパク質

10

20

30

40

50

2、他のMAP遺伝子、例えばMAP-1または-5も使用可能である)；抗軸索成長クローン；CHAT(コリンアセチルトランスフェラーゼ)；CgA(抗クモグラニンA)；DARRP(ドーパミンおよびcAMP-制御リン酸化タンパク質)；DAT(ドーパミントランスポーター)；GAD(グルタミン酸デカルボキシラーゼ)；GAP(成長関連タンパク質)；抗HuCタンパク質；抗HuDタンパク質；-インターネキシン；NeuN(ニューロン特異的核タンパク質)；NF(ニューロフィラメント)；NGF(神経成長因子)；-SE(ニューロン特異的エノラーゼ)；ペリフェリン；PH8；PGP(タンパク質遺伝子産物)；SERT(セロトニントランスポーター)；シナプシン；タウ(神経原線維変化のタンパク質)；抗Thy-1；TRK(チロシンキナーゼ受容体)；TRH(トリプトファンヒドロキシラーゼ)；抗TUCタンパク質；TH(チロシンヒドロキシラーゼ)；VRL(パニロイド受容体様タンパク質)；VGAT(小胞性GABAトランスポーター)；および、VGLUT(小胞性グルタミン酸トランスポーター)。

10

【0137】

核酸および宿主細胞

本発明は、単離された核酸を提供し、ここで、本発明の核酸は、目的のタウペプチドをコードするヌクレオチド配列を含んでいる。本発明のタウペプチドをコードするヌクレオチド配列は、プロモーターおよび/またはエンハンサーのような1個またはそれ以上の調節エレメントに作動可能に連結されていてよく、それは、意図される標的細胞(例えば、コードされたタウペプチドを合成するために遺伝子的に修飾される細胞)におけるヌクレオチド配列の発現を可能にする。ある態様において、目的の核酸は組換え発現ベクターである。

20

【0138】

好適なプロモーターおよびエンハンサーエレメントは当技術分野で公知である。細菌細胞における発現のために、好適なプロモーターには、lacI、lacZ、T3、T7、gpt、lambda Pおよびtrcが含まれるが、これに限定されない。真核細胞における発現のために、好適なプロモーターには、軽鎖および/または重鎖免疫グロブリン遺伝子プロモーターおよびエンハンサーエレメント；サイトメガロウイルス即時型初期プロモーター；単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼプロモーター；初期および後期SV40プロモーター；レトロウイルス由来の長い末端反復中に存在するプロモーター；マウスメタロチオネイン-Iプロモーターなどが含まれるが、これに限定されない。

30

【0139】

いくつかの態様において、例えば、酵母細胞での発現のために、好適なプロモーターは、ADH1プロモーター、PGK1プロモーター、ENOプロモーター、PYK1プロモーターなどのような構成的プロモーター；または、GAL1プロモーター、GAL10プロモーター、ADH2プロモーター、PHO5プロモーター、CUP1プロモーター、GAL7プロモーター、MET25プロモーター、MET3プロモーター、CYC1プロモーター、HIS3プロモーター、ADH1プロモーター、PGKプロモーター、GAPDHプロモーター、ADC1プロモーター、TRP1プロモーター、URA3プロモーター、LEU2プロモーター、ENOプロモーター、TP1プロモーター、およびAOX1(例えば、ピキアで使用するための)のような調節可能なプロモーターである。好適なベクターおよびプロモーターの選択は、十分に当業者のレベルの範囲内である。

40

【0140】

原核宿主細胞における使用のための好適なプロモーターには、バクテリオファージT7 RNAポリメラーゼプロモーター；trpプロモーター；lacオペロンプロモーター；ハイブリッドプロモーター、例えば、lac/tacハイブリッドプロモーター、tac/trcハイブリッドプロモーター、trp/lacプロモーター、T7/lacプロモーター；trcプロモーター；tacプロモーターなど；araBADプロモーター；インピボで調節されるプロモーター、例えばssaGプロモーターまたは関連プロモーター(例えば、米国特許公開第20040131637号参照)、pagCプロモーター(Pu

50

Ikkinen and Miller, J. Bacteriol., 1991: 173(1): 86 - 93; Alpuche - Aranda et al., PNAS, 1992; 89(21): 10079 - 83参照)、n i r Bプロモーター (Harborne et al. (1992) Mol. Micro. 6:2805 - 2813) など (例えば、Dunstan et al. (1999) Infect. Immun. 67:5133 - 5141; McKelvie et al. (2004) Vaccine 22:3243 - 3255; および、Chatfield et al. (1992) Biotechnol. 10:888 - 892参照) ; s i g m a 7 0プロモーター、例えば、コンセンサス s i g m a 7 0プロモーター (例えば、GenBank 受託番号 A X 7 9 8 9 8 0、A X 7 9 8 9 6 1 および A X 7 9 8 1 8 3 参照) ; 静止期プロモーター、例えば、d p sプロモーター、s p vプロモーターなど ; 病原性島 S P I - 2 に由来するプロモーター (例えば、W O 9 6 / 1 7 9 5 1 参照) ; a c t Aプロモーター (例えば、Shetron - Rama et al. (2002) Infect. Immun. 70:1087 - 1096参照) ; r p s Mプロモーター (例えば、Valdivia and Falkow (1996). Mol. Microbiol. 22:367参照) ; t e tプロモーター (例えば、Hillen,W. and Wissmann,A. (1989) In Saenger,W. and Heinemann,U. (eds), Topics in Molecular and Structural Biology, ProteinNucleic Acid Interaction . Macmillan, London, UK, Vol. 10, pp. 143162参照) ; S P 6プロモーター (例えば、Melton et al. (1984) Nucl. Acids Res. 12:7035参照) などが含まれるが、これらに限定されない。大腸菌などの原核生物において使用するのに好適な強力なプロモーターには、T r c、T a c、T 5、T 7、および P L a m b d a が含まれるが、これらに限定されない。細菌宿主細胞における使用のためのオペレーターの非限定例には、ラクトースプロモーターオペレーター (L a c Iリプレッサータンパク質は、ラクトースと接触したとき立体構造が変化し、それにより、L a c Iリプレッサータンパク質がオペレーターに結合するのを阻止する)、トリプトファンプロモーターオペレーター (トリプトファンと複合体を形成するとき、T r p Rリプレッサータンパク質はオペレーターに結合する立体構造を有する ; トリプトファンの不存在下では、T r p Rリプレッサータンパク質は、オペレーターに結合しない立体構造を有する)、および t a cプロモーターオペレーター (例えば、deBoer et al. (1983) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 80:21 - 25参照) が含まれる。

10

20

30

40

50

【 0 1 4 1 】

本発明のタウペプチドをコードするヌクレオチド配列は、発現ベクターおよび / またはクローニングベクター中に存在してよい。発現ベクターは、選択可能マーカー、複製起点、ならびにベクターの複製および / または維持を提供する他の特徴を含み得る。

【 0 1 4 2 】

多数の好適なベクターおよびプロモーターは、当業者に公知である。多くは、目的の組み換えコンストラクトを作製するために市販されている。以下のベクターが例示される。細菌 : p B s、ファージスクリプト、P s i X 1 7 4、p B l u e s c r i p t S K、p B s K S、p N H 8 a、p N H 1 6 a、p N H 1 8 a、p N H 4 6 a (Stratagene, La Jolla, Calif., USA) ; p T r c 9 9 A、p K K 2 2 3 - 3、p K K 2 3 3 - 3、p D R 5 4 0、および p R I T 5 (Pharmacia, Uppsala, Sweden)。真核 : p W L n e o、p S V 2 c a t、p O G 4 4、P X R 1、p S G (Stratagene)、p S V K 3、p B P V、p M S G および p S V L (Pharmacia)

【 0 1 4 3 】

本発明は、目的の核酸で遺伝子組み換えされている単離された遺伝子組み換えされた宿主細胞 (例えば、インビトロ細胞) を提供する。ある態様において、目的の単離された遺伝的組み換えされた宿主細胞は、本発明のタウペプチドを産生し得る。

【 0 1 4 4 】

好適な宿主細胞には、真核宿主細胞、例えば哺乳動物細胞、昆虫宿主細胞、酵母細胞 ; および、原核細胞、例えば細菌細胞が含まれる。宿主細胞への目的の核酸の導入は、例えば、リン酸カルシウム沈殿、D E A E デキストラン媒介トランスフェクション、リポソーム媒介トランスフェクション、エレクトロポレーション、または他の公知の方法により実行可能である。

【 0 1 4 5 】

好適な原核細胞としては、大腸菌、ラクトバチルス属、サルモネラ属、赤痢菌属などの種々の実験室株のいずれかが挙げられるが、これらに限定されない。例えば、Carrier et al. (1992) J. Immunol. 148:1176 - 1181; 米国特許第6,447,784号; および、Sizemore et al. (1995) Science 270:299 - 302参照。

【0146】

ある場合において、目的の遺伝子組み換えされた宿主細胞は哺乳動物細胞である。好適な哺乳動物細胞には、初代細胞および不死化細胞株が含まれる。好適な哺乳動物細胞株には、ヒト細胞株、非ヒト霊長動物細胞株、齧歯動物（例えば、マウス、ラット）細胞株などが含まれる。好適な哺乳動物細胞株には、HeLa細胞（例えば、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション（ATCC）受託番号CCL-2）、CHO細胞（例えば、ATCC受託番号CRL9618、CCL61、CRL9096）、293細胞（例えば、ATCC受託番号CRL-1573）、Vero細胞、NIH3T3細胞（例えば、ATCC受託番号CRL-1658）、Huh-7細胞、BHK細胞（例えば、ATCC受託番号CCL10）、PC12細胞（ATCC受託番号CRL1721）、COS細胞、COS-7細胞（ATCC受託番号CRL1651）、RAT1細胞、マウスL細胞（ATCC受託番号CCLI.3）、ヒト胎児由来腎臓（HEK）細胞（ATCC受託番号CRL1573）、HLHeP2細胞などが含まれるが、これらに限定されない。

【0147】

ある場合において、目的の遺伝子組み換えされた宿主細胞は、神経細胞または神経様細胞である。細胞は、ヒト、非ヒト霊長動物、マウス、もしくはラット起源のもの、またはヒト、非ヒト霊長動物、ラット、もしくはマウス以外の哺乳動物由来のものであってよい。好適な細胞株には、ヒト神経膠腫細胞株、例えば、SVGp12（ATCC CRL-8621）、CCF-STTG1（ATCC CRL-1718）、SW1088（ATCC HTB-12）、SW1783（ATCC HTB-13）、LLN-18（ATCC CRL-2610）、LNZTA3WT4（ATCC CRL-11543）、LNZTA3WT11（ATCC CRL-11544）、U-138MG（ATCC HTB-16）、U-87MG（ATCC HTB-14）、H4（ATCC HTB-148）、およびLN-229（ATCC CRL-2611）；ヒト髄芽腫由来細胞株、例えば、D342Med（ATCC HTB-187）、Daoy（ATCC HTB-186）、D283Med（ATCC HTB-185）；ヒト腫瘍由来神経様細胞、例えば、PFSK-1（ATCC CRL-2060）、SK-N-DZ（ATCC CRL-2149）、SK-N-AS（ATCC CRL-2137）、SK-N-FI（ATCC CRL-2142）、IMR-32（ATCC CCL-127）など；マウス神経細胞株、例えば、BC3H1（ATCC CRL-1443）、EOC1（ATCC CRL-2467）、C8-D30（ATCC CRL-2534）、C8-S（ATCC CRL-2535）、Neuro-2a（ATCC CCL-131）、NB41A3（ATCC CCL-147）、SW10（ATCC CRL-2766）、NG108-15（ATCC HB-12317）；ラット神経細胞株、例えば、PC-12（ATCC CRL-1721）、CTX-TNA2（ATCC CRL-2006）、C6（ATCC CCL-107）、F98（ATCC CRL-2397）、RG2（ATCC CRL-2433）、B35（ATCC CRL-2754）、R3（ATCC CRL-2764）、SCP（ATCC CRL-1700）、OA1（ATCC CRL-6538）が含まれるが、これらに限定されない。

【0148】

目的の遺伝子組み換えされた宿主細胞が神経細胞であるとき、目的のタウペプチドをコードするヌクレオチド配列は、ニューロン特異的調節配列（例えば、ニューロン特異的プロモーター）に作動可能に連結されていてよい。

【0149】

好適なニューロン特異的調節配列には、ニューロン特異的エノラーゼ（NSE）プロモーター（例えば、EMBL HSENO2、X51956参照）；芳香族アミノ酸デカル

10

20

30

40

50

ボキシラーゼ (A A D C) プロモーター ; ニューロフィラメントプロモーター (例 えば、 G e n B a n k H U M N F L、 L 0 4 1 4 7 参 照) ; シナプシンプロモーター (例 えば、 G e n B a n k H U M S Y N I B、 M 5 5 3 0 1 参 照) ; t h y - 1 プロモーター (例 えば、 C h e n e t a l . (1 9 8 7) C e l l 5 1 : 7 - 1 9 ; a n d L l e w e l l y n , e t a l . (2 0 1 0) N a t . M e d . 1 6 (1 0) : 1 1 6 1 - 1 1 6 6 参 照) ; セロトニン受容体プロモーター (例 えば、 G e n B a n k S 6 2 2 8 3 参 照) ; チロシンヒドロキシラーゼプロモーター (T H) (例 えば、 O h e t a l . (2 0 0 9) G e n e T h e r 1 6 : 4 3 7 ; S a s a o k a e t a l . (1 9 9 2) M o l . B r a i n R e s . 1 6 : 2 7 4 ; B o u n d y e t a l . (1 9 9 8) J . N e u r o s c i . 1 8 : 9 9 8 9 ; お よ び、 K a n e d a e t a l . (1 9 9 1) N e u r o n 6 : 5 8 3 - 5 9 4 参 照) ; G n R H プロモーター (例 えば、 R a d o v i c k e t a l . (1 9 9 1) P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 8 8 : 3 4 0 2 - 3 4 0 6 参 照) ; L 7 プロモーター (例 えば、 O b e r d i c k e t a l . (1 9 9 0) S c i e n c e 2 4 8 : 2 2 3 - 2 2 6 参 照) ; D N M T プロモーター (例 えば、 B a r t g e e t a l . (1 9 8 8) P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 8 5 : 3 6 4 8 - 3 6 5 2 参 照) ; エンケファリンプロモーター (例 えば、 C o m b e t a l . (1 9 8 8) E M B O J . 1 7 : 3 7 9 3 - 3 8 0 5 参 照) ; ミエリン塩基性タンパク質 (M B P) プロモーター ; C a ²⁺ - カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ I I - アルファ (C a m K I I) プロモーター (例 えば、 M a y f o r d e t a l . (1 9 9 6) P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 9 3 : 1 3 2 5 0 ; お よ び、 C a s a n o v a e t a l . (2 0 0 1) G e n e s i s 3 1 : 3 7 参 照) ; お よ び、 C M V エンハンサー / 血小板由来増殖因子 - プロモーター (例 えば、 L i u e t a l . (2 0 0 4) G e n e T h e r a p y 1 1 : 5 2 - 6 0 参 照) が 含 ま れ る が、 こ れ ら に 限 定 さ れ な い。

10

【 0 1 5 0 】

ある例において、目的のタウペプチドを産生する神経細胞は、個体の、例えば、タウオパチーを有する個体の体細胞から作製された人工多能性 (i P S) 細胞からインビトロで分化される。かかる神経細胞の作製法は、当技術分野で公知であり、以下に記載される。

20

【 0 1 5 1 】

タウペプチド組成物

本発明は、目的のタウペプチドを含む医薬組成物を含む、組成物 (“ タウペプチド組成物 ”) を提供する。ある場合において、目的のタウペプチド組成物は、免疫原性組成物である。

【 0 1 5 2 】

目的のタウペプチド組成物は、目的のタウペプチドに加えて、以下の1個またはそれ以上：塩、例えば、N a C l、M g C l ₂、K C l、M g S O ₄ など；緩衝剤、例えば、トリス緩衝液、N - (2 - ヒドロキシエチル) ピペラジン - N ' - (2 - エタンスルホン酸) (H E P E S)、2 - (N - モルホリノ) エタンスルホン酸 (M E S)、2 - (N - モルホリノ) エタンスルホン酸ナトリウム塩 (M E S)、3 - (N - モルホリノ) プロパンスルホン酸 (M O P S)、N - トリス [ヒドロキシメチル] メチル - 3 - アミノプロパンスルホン酸 (T A P S) など；可溶化剤；界面活性剤、例えば、T w e e n - 2 0 などの非イオン性界面活性剤など；プロテアーゼ阻害剤；グリセロールなどを含み得る。

30

【 0 1 5 3 】

ある例において、本発明のタウペプチド組成物中のタウペプチドは、アミノ酸配列 (例 えば、翻訳後修飾なしのアミノ酸残基の配列) に関して均一であり、かつリン酸化に関して均一である。他の場合において、本発明のタウペプチドの組成物中のタウペプチドは、アミノ酸配列に関して均一であり、かつリン酸化に関して不均一である。例えば、集団の約 2 % から約 1 0 0 % は、少なくとも1個のリン酸化アミノ酸残基を含み得る。例えば、アミノ酸配列に関して均一である本発明のタウペプチドの集団の約 2 % から約 5 %、約 5 % から約 1 0 %、約 1 0 % から約 1 5 %、約 1 5 % から約 2 0 %、約 2 0 % から約 2 5 %、約 2 5 % から約 3 0 %、約 3 0 % から約 4 0 %、約 4 0 % から約 5 0 %、約 5 0 % から約 6 0 %、約 6 0 % から約 7 0 %、約 7 0 % から約 8 0 %、約 8 0 % から約 9 0 %、または約 9 0 % から 1 0 0 % のタウペプチドは、1個、2個、3個、または4個以上の、リン酸化アミノ酸残基 (例 えば、リン酸化セリン；リン酸化スレオニン) を含み得る。

40

【 0 1 5 4 】

ある場合において、本発明のタウ組成物は、a) 本発明のタウペプチド；および、b)

50

薬学的に許容される添加物、を含む医薬組成物である。a) 本発明のタウペプチド；および、b) 薬学的に許容される添加物を含む本発明の医薬組成物は、滅菌組成物であり得る。a) 本発明のタウペプチド；および、b) 薬学的に許容される添加物を含む本発明の医薬組成物は、ヒトにおける使用に適する組成物である。a) 本発明のタウペプチド；および、b) 薬学的に許容される添加物を含む本発明の医薬組成物は、エンドトキシンを含まない。

【0155】

ある例において、本発明のタウペプチドを含むタウペプチド組成物は、薬学的に許容される添加物を含んでいてよく、種々の添加物が当技術分野で公知であり、本明細書に詳細に記載される必要はない。薬学的に許容される添加物は、例えば、A. Gennaro (2000) “Remington: The Science and Practice of Pharmacy”, 20th edition, Lippincott, Williams, & Wilkins; Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (1999) H. C. Ansel et al., eds 7th ed., Lippincott, Williams, & Wilkins; および、Handbook of Pharmaceutical Excipients (2000) A. H. Kibbe et al., eds., 3rd ed. American Pharmaceutical Assocを含む、種々の刊行物に十分に記載されている。

10

【0156】

ピークル、アジュバント、担体または希釈剤のような薬学的に許容される添加物は、一般に容易に入手可能である。さらに、pH調節剤および緩衝剤、張度調整剤、安定化剤、湿潤剤などのような薬学的に許容される助剤物質は、一般に容易に入手可能である。

【0157】

目的のタウペプチドとの使用に適する薬学的に許容される担体には、滅菌水溶液または非水溶液、懸濁液、およびエマルジョンが含まれる。非水溶媒の例は、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油のような植物油、およびオレイン酸エチルのような注射用有機エステル類である。水性担体には、生理食塩水および緩衝媒体を含む、水、アルコール溶液/水溶液、エマルジョンまたは懸濁液、および微粒子が含まれる。非経腸ピークルには、塩化ナトリウム溶液、リンゲルデキストロース、デキストロースおよび塩化ナトリウム、乳酸リンゲル液または固定油が含まれる。静脈内ピークルには、水分および栄養補充液、電解質補充液（リンゲルデキストロースに基づくもののような）などが含まれる。目的のタウペプチドを含む組成物はまた、その後の再構成およびおよび本発明による使用のために、当技術分野で周知の手段を用いて凍結乾燥することもできる。

20

30

【0158】

目的のタウペプチドは、適当な、薬学的に許容される担体または希釈剤と組み合わせて医薬組成物に製剤されてよく、錠剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤、軟膏、溶液、吸入剤、およびエアロゾルのような、固体、半固体、液体または気体形態の製剤に剤形化され得る。

【0159】

経口製剤について、目的のタウペプチドは、単独で、またはカプセル、錠剤、散剤、顆粒剤またはカプセル剤を製造するために適当な添加物、例えば、ラクトース、マンニトール、コーンスターチまたはジャガイモデンプンなどの常套の添加物；結晶セルロース、セルロース誘導体、アカシア、コーンスターチまたはゼラチンなどの結合剤；コーンスターチ、ジャガイモデンプンまたはカルボキシメチルセルロースナトリウムなど崩壊剤の；タルクまたはステアリン酸マグネシウムなどの滑剤；ならびに、必要であれば、希釈剤、緩衝剤、湿潤剤、防腐剤および香味剤と組み合わせて使用され得る。

40

【0160】

目的のタウペプチドは、植物油もしくは他の類似の油、合成脂肪酸グリセリド、高級脂肪酸のエステルまたはプロピレングリコールのような水性溶媒または非水性溶媒中に；および、必要であれば、可溶化剤、等張剤、懸濁化剤、乳化剤、安定化剤および防腐剤などの常套の添加物と共に、それらを溶解、懸濁または乳化することにより、注射用製剤に製剤することができる。

【0161】

50

目的のタウペプチドを含む医薬組成物は、所望の純度を有するタウペプチドを、任意の生理的に許容される担体、添加物、安定化剤、界面活性剤、緩衝剤および/または等張化剤と混合することにより製造される。許容される担体、添加物および/または安定化剤は、用いる投与量および濃度で受容者（レシピエント）に毒性ではなく、リン酸、クエン酸、および他の有機酸のような緩衝剤；アスコルビン酸、グルタチオン、システイン、メチオニンおよびクエン酸を含む、抗酸化剤；防腐剤（例えば、エタノール、ベンジルアルコール、フェノール、*m*-クレゾール、*p*-クロロ-*m*-クレゾール、メチルまたはプロピルパラベン、塩化ベンザルコニウム、またはそれらの組合せなど）；アミノ酸、例えば、アルギニン、グリシン、オルニチン、リシン、ヒスチジン、グルタミン酸、アスパラギン酸、イソロイシン、ロイシン、アラニン、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン、メチオニン、セリン、プロリンおよびそれらの組合せなど；単糖類、二糖類および他の炭水化物；低分子量（約10残基未満）ポリペプチド；タンパク質、例えば、ゼラチンまたは血清アルブミン；キレート剤、例えばEDTA；糖、例えばトレハロース、スクロース、ラクトース、グルコース、マンノース、マルトース、ガラクトース、フルクトース、ソルボース、ラフィノース、グルコサミン、*N*-メチルグルコサミン、ガラクトサミン、およびノイラミン酸など；ならびに/または、非イオン性界面活性剤、例えば、Tween、Brij、プルロニック類、トライトン-X、またはポリエチレングリコール（PEG）などが含まれる。

【0162】

目的のタウペプチド医薬組成物は、液体形態、凍結乾燥形態または凍結乾燥形態から再構成された液体形態であってよく、ここで、凍結乾燥製剤は、投与前に滅菌溶液で再構成される。凍結乾燥組成物を再構成するための標準的方法は、（典型的に、凍結乾燥中に除かれる容量と等量の）純水を戻す方法である。しかしながら、抗菌剤を含む溶液は、非経腸投与用医薬組成物の製造に用いられ得る；Chen (1992) Drug Dev Ind Pharm 18, 1311-54もまた参照のこと。

【0163】

医薬組成物における目的のタウペプチドの濃度は、約0.5 mg/mLから約1 mg/mL、約1 mg/mLから約200 mg/mL、約50 mg/mLから約200 mg/mL、または約150 mg/mLから約200 mg/mLの範囲であってよい。

【0164】

目的のタウペプチドの水性製剤は、pH緩衝溶液として、例えば、約4.0から約7.0、または約5.0から約6.0の範囲のpH、あるいは約5.5のpHで製造され得る。この範囲内のpHに好適な緩衝液の例には、ホスフェート-、ヒスチジン-、クエン酸-、コハク酸-、酢酸-緩衝液、および他の有機酸緩衝液が含まれる。緩衝液の濃度は、約1 mMから約100 mM、または約5 mMから約50 mMであってよく、例えば、緩衝液および製剤の所望の等張性によって変わる。

【0165】

等張化剤は、製剤の等張性を調節するためにタウペプチド製剤に包含され得る。等張化剤の例としては、塩化ナトリウム、塩化カリウム、グリセリンおよびアミノ酸群由来のいずれかの成分、糖類ならびにそれらの組合せが含まれる。ある態様において、高張性または低張性溶液が好適であり得るが、水性製剤は等張性である。用語“等張性”は、例えば、生理的な塩溶液または血清と比較される他の溶液と同程度の等張性を有する溶液を示す。等張化剤は、約5 mMから約350 mMの量、例えば、100 mMから350 mMの量で使用され得る。

【0166】

界面活性剤はまた、製剤されたペプチドの凝集を減らす、および/または製剤中の粒子の形成を最小化する、および/または吸収を減らすために、タウペプチド製剤に追加され得る。界面活性剤の例としては、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル（Tween）、ポリオキシエチレンアルキルエーテル（Brij）、アルキルフェニルポリオキシエチレンエーテル（トライトン-X）、ポリオキシエチレン-ポリオキシプロピレンコ

ポリマー（ポロキサマー、Pluronic）、およびドデシル硫酸ナトリウム（SDS）が含まれる。好適なポリオキシエチレンソルビタン - 脂肪酸エステルのは、ポリソルベート20（トウイン20（商標）の商品名で販売）およびポリソルベート80（トウイン80（商標）の商標名で販売）である。好適なポリエチレン - ポリプロピレンコポリマーの例は、商標名ブルニック（登録商標）F68またはポロキサマー188（商標）で販売されるものである。好適なポリオキシエチレンアルキルエーテルの例は、商標名Brigg（商標）で市販されるものである。界面活性剤の濃度の例は、約0.001%から約1% w/vの範囲であり得る。

【0167】

凍結乾燥保護剤(lyoprotectant)はまた、凍結乾燥法の間不安定化条件から変化しやすい活性成分（例えば、タンパク質）を保護するために添加され得る。例えば、知られている凍結乾燥保護剤としては、糖類（グルコースおよびスクロースを含む）；ポリオール（マンニトール、ソルビトールおよびグリセロールを含む）；および、アミノ酸（アラニン、グリシンおよびグルタミン酸を含む）が含まれる。凍結乾燥保護剤は、約10mMから500nMの量で含まれ得る。

10

【0168】

ある態様において、目的の製剤は、目的のタウペプチド、および1個またはそれ以上の上記の薬剤（例えば、界面活性剤、緩衝剤、安定化剤、等張化剤）を含み、1種またはそれ以上の防腐剤、例えばエタノール、ベンジルアルコール、フェノール、m-クレゾール、p-クロロ-m-クレゾール、メチルまたはプロピルパラベン、塩化ベンザルコニウム、およびそれらの組合せを基本的に含まない。他の態様において、防腐剤は、製剤、例えば、約0.001から約2%（w/v）の範囲の濃度で、製剤中に含まれる。

20

【0169】

目的のタウペプチドは、吸入により投与されるエアロゾル製剤に利用され得る。目的のタウペプチドは、ジクロロジフルオロメタン、プロパン、窒素などのような加圧された許容される噴射剤に製剤され得る。

【0170】

シロップ剤、エリクシル剤、および懸濁液のような経口または直腸投与用単位投与量形態は、各投与量単位、例えば、小さじ一杯、大さじ一杯、錠剤または坐薬が、所定の量の、1個またはそれ以上の阻害剤を含む組成物を含むように提供され得る。同様に、注射または静脈内投与用の単位投与量形態は、滅菌水、通常の生理食塩水または別の薬学的に許容される担体中の溶液として、組成物中に目的のタウペプチドを含み得る。

30

【0171】

本明細書で用いる用語“単位投与量形態”は、ヒト対象および非ヒト動物対象の単位投与量として適する、物理的に分離された単位を意味し、それぞれの単位は、薬学的に許容される希釈剤、担体またはビークルと共に、所望の効果を生じるために十分な量で計算された、事前に決定された量の目的のタウペプチドを含む。

【0172】

点鼻製剤は、通常、鼻粘膜に炎症を起こさせず、繊毛機能を顕著に低下させない、ビークルを含み得る。水、生理食塩水または他の既知の物質のような希釈剤が用いられ得る。鼻用製剤はまた、クロロブタノールおよび塩化ベンザルコニウムのような防腐剤を含み得るが、これらに限定されない。界面活性剤は、鼻粘膜によるタウペプチドの吸収を増強するために存在し得る。

40

【0173】

目的のタウペプチドは、注射可能製剤として投与され得る。典型的に、注射可能組成物は、液体溶液または懸濁液として製造され、注射前に液体ビークルに溶解または懸濁するのに適した固体形態としても製造することができる。該製剤を乳化すること、または該ペプチドをリポソームビークル中に封入されてもよい。

【0174】

ある場合において、目的のタウペプチドを、制御放出製剤に製剤化する。持続放出製剤

50

は、当技術分野で既知の方法を用いて製造され得る。持続放出製剤の好適な例としては、タウペプチドを含む固体の疎水性ポリマーの半透性マトリックスが含まれ、該マトリックスは、成形品の形態、例えばフィルムまたはマイクロカプセルである。持続放出マトリックスの例としては、ポリエステル、L-グルタミン酸およびエチル-L-グルタメートのコポリマー、非分解性エチレン-酢酸ビニル、ヒドロゲル、ポリラクチド、分解性の乳酸-グリコール酸コポリマー、ならびにポリ-D-()-3-ヒドロキシ酪酸が含まれる。

【0175】

リポソームは、送達ビークルとして使用することができる。脂質は、陽イオン性または双性イオン性脂質、例えばホスファチジルコリンを含む既知のリポソーム形成脂質の任意の有用な組み合わせであってもよい。残りの脂質は、通常、例えばコレステロール、ホスファチジルセリン、ホスファチジルグリセロールなどの中性または酸性脂質を含み得る。

10

【0176】

リポソームを調製するために、Kato et al (1991) J. Biol. Chem. 266:3361に記載されている方法を使用し得る。簡潔には、脂質および対象ペプチドを含有する組成物を、好適な水性媒体中で、都合よくは生理食塩水媒体中で結合され、ここで、全固形分は、約1~10重量%の範囲である。短時間、約5~60秒間激しく攪拌後、チューブを、約25-40の温水浴中に置き、このサイクルを、約5から10回繰り返した。その後、組成物を、一般的に約1~10秒間の適当な時間で超音波処理し、さらにボルテックスにより攪拌してよい。その後、水性媒体を添加することにより、容量を一般に約1から2倍増加させ、その後、振とうし、冷却する。この方法は、高分子量分子の内腔への取り込みを可能にする。

20

【0177】

免疫原性組成物

上記のとおり、ある場合において、目的のタウペプチド組成物は、免疫原性組成物である。目的の免疫原性組成物は、a)免疫学的に有効な量の目的のタウペプチド；および、b)薬学的に許容される添加物を含む。免疫原性組成物は、滅菌水溶液のような溶液、例えば、生理食塩溶液であり得る、薬学的に許容される添加物中に提供され得る。かかる添加物は、必要であれば、実質的に不活性であってもよい。好適な添加物には、上記に列記のものが含まれる。

30

【0178】

“免疫学的に有効な量”は、単回投与で、または同一かもしくは異なる免疫原性組成物の一連の投与の一部としての、個体へのその量の投与が、個体における目的のタウペプチドに対する免疫応答（例えば、特定の抗体応答）を誘発するために有効であることを意味する。

【0179】

ある場合において、目的の免疫原性組成物中のタウペプチドを、上記のように、担体に、共有結合または非共有結合的に結合させることができる。

【0180】

目的のタウペプチドを含む免疫原性組成物は、アジュバントを含み得る。好適なアジュバントは、ヒトにおける使用に好適なものを含む。ヒトにおける使用が可能な既知の好適なアジュバントの例としては、ミョウバン、リン酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、MF59(4.3%w/v スクアレン、0.5%w/v ポリソルベート80(トウイーン80)、0.5%w/v ソルビタントリオレート(Span 85))、CpG含有核酸(シトシンがメチル化されていない場合)、QS21(サポニンアジュバント)、MPL(モノホスホリル脂質A)、3DMPL(3-O-脱アシル化MPL)、Aquillinaの抽出物、ISCOMS(例えば、Sjoelander et al. (1998) J. Leukocyte Biol. 64:713参照)、LT/CT変異体、ポリ(D, L-ラクチド-コ-グリコリド)(PLG)微粒子、Quil A、インターロイキンなどが含まれるが、これらに限定される必要はない。

40

50

【0181】

動物実験を含むがそれに限定されない獣医学的適用のために、1つとして、フロイントの、N-アセチル-ムラミル-L-スレオニル-D-イソグルタミン(thr-MDP)、N-アセチル-ノル-ムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミン(CGP11637、nor-MDPと称される)、N-アセチルムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミル-L-アラニン-2-(1'-2'-ジパルミトイル-sn-グリセロ-3-ヒドロキシホスホリルオキシ)-エチルアミン(CGP19835A、MTP-PEと称される)、およびRIBI(これには、細菌から抽出された3つの成分:モノホスホリル脂質A、トレハロースジミコレートおよび細胞壁骨格(MPL+TDM+CWS)が2%のスクワレン/トウイーン80エマルジョンの中に含まれている)を使用することができる。

10

【0182】

組成物の有効性を高めるためのさらなる例示的なアジュバントには、(1)水中油型乳剤性製剤(ムラミルペプチド(以下参照)または細菌細胞壁成分のような他の特定の免疫刺激剤の有無にかかわらず)、例えば(a)5%スクアレン、0.5%トウイーン80(ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート)、および0.5%スパン85(ソルビタントリオレート)を含む(必要に応じてジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン(MTP-PE)に共有結合したムラミルトリペプチドを含む)、マイクロフルイダイザーを用いてサブミクロン粒子に製剤化された、MF59(商標)(WO90/14837; Chapter 10 in Vaccine design: the subunit and adjuvant approach, eds. Powell & Newman, Plenum Press 1995)、(b)10%スクワラン、0.4%トウイーン80、5%プルロニック-ブロックポリマーL121、およびthr-MDPを含み、サブミクロンエマルジョンにマイクロ流動化されるか、またはボルテックスして、より大きな粒子サイズのエマルジョンを作成する、SAF、ならびに(c)2%スクアレン、0.2%トウイーン80、および1個またはそれ以上の細菌細胞壁成分、例えば、モノホスホリル脂質A(MPL)、トレハロースジミコレート(TDM)、および細胞壁骨格(CWS)、例えば、MPL+CWS(DETOX商標)を含む、RIBI(商標)アジュバントシステム(RAS)(Ribi Immunochem, Hamilton, MT); (2)サポニンアジュバント、例えばQS21またはSTIMULON(商標)(Cambridge Bioscience, Worcester, MA)を用いてよいか、またはISCOM(免疫刺激複合体)のようなそれから生成する粒子(ここで、ISCOMは、さらなる界面活性剤を含んでいない可能性がある。例えば、WO00/07621); (3)完全フロイントアジュバント(CFA)および不完全フロイントアジュバント(IFA); (4)インターロイキンなどのサイトカイン(例えば、IL-1、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-12(WO99/44636)など)、インターフェロン(例えば、-インターフェロン)、マクロファージコロニー刺激因子(M-CSF)、腫瘍壊死因子(TNF)、他のTNFスーパーファミリー分子(例えば、CH40L、OX40Lなど)など; (5)モノホスホリル脂質A(MPL)または3-O-脱アシル化MPL(3dMPL)、例えばGB-2220221、EP-A-0689454、任意には、肺炎球菌の糖とともに用いられるときにはミョウバンの実質的に非存在下である、例えばWO00/56358; (6)3dMPLと、例えば、QS21および/または水中油型エマルジョンとの組み合わせ、例えばEP-A-0835318、EP-A-0735898、EP-A-0761231; (7)CpGモチーフを含むオリゴヌクレオチド(Krieg Vaccine 2000, 19, 618-622)、例えば、少なくとも1個のCGジヌクレオチドを含み、ここでシトシンがメチル化されていない; (8)ポリオキシエチレンエーテルまたはポリオキシエチレンエステル、例えばWO99/52549; (9)オクトキシノールと組み合わせたポリオキシエチレンソルビタンエステル界面活性剤(WO01/21207)、またはオクトキシノールなどの少なくとも1個のさらなる非イオン性界面活性剤と組み合わせたポリオキシエチレンアルキルエーテルもしくはエステル界面活性剤(WO01/21152); (10)サポニンおよび免疫刺激オリゴヌクレオチド(例えば、CpGオリゴヌクレオチド)(WO00/62800

20

30

40

50

); (11) 免疫刺激剤および金属塩の粒子、例えばW000/23105; (12) サポニンおよび水中油型エマルジョン、例えばW099/11241; (13) サポニン (例えば、QS21) + 3dMPL + IM2 (必要であれば、+ステロール)、例えばW098/57659; (14) 組成物の効力を増強するための免疫刺激剤として作用する他の物質。ムラミルペプチドには、N-アセチル-ムラミル-L-スレオニル-D-イソグルタミン(thr-MDP)、N-25 アセチル-ノルムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミン(nor-MDP)、N-アセチルムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミニル-L-アラニン-2-(1'-2'-ジパルミトイル-sn-グリセロ-3-ヒドロキシホスホリルオキシ)-エチルアミンMTP-PE)などが含まれる。ある例において、アジュバントは、ヒトにおける使用に好適なものである。

10

【0183】

本発明のタウペプチドを含む免疫原性組成物は、医薬グレードのマンニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、タルク、セルロース、グルコース、スクロース、マグネシウム、炭酸塩などのような他の成分を含んでよい。組成物は、pH調整剤および緩衝剤、毒性調整剤などのような生理的条件に近づけるために必要とされる薬学的に許容される助剤、例えば、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、乳酸ナトリウムなどを含んでよい。

【0184】

免疫応答を作成する方法

本発明は、目的のタウペプチドに対する個体における免疫応答を作成する方法を提供する。該方法は、一般的に、個体における該ペプチドに対する免疫応答を刺激するのに有効である目的のタウペプチドの量を該個体に投与することを含む。目的のタウペプチドに対する個体の免疫応答を生成することにより、結果として、以下の1つまたはそれ以上：脳組織における細胞外遊離タウペプチドの量の減少；タウペプチドの細胞から細胞への拡散 (例えば、ニューロンからニューロンへの拡散) の減少；タウ凝集量の減少 (例えば、細胞内 (例えば、ニューロン内) タウ凝集)；および、脳組織における神経原線維変化量の減少、がもたらされ得る。目的のタウペプチドに対する個体の免疫応答を生成することは、ある場合において、個体における認知機能を改善するか、または少なくとも個体における認知機能の低下速度を減少させ得る。

20

【0185】

ある場合において、目的のタウペプチドに対する個体の免疫応答を生成する方法は、細胞外遊離タウペプチドの量 (例えば、脳組織における細胞外遊離タウペプチドの量) を、目的のタウペプチドの投与前の個体における細胞外遊離タウペプチドの量と比較して、少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約50%、または50%以上減少する。

30

【0186】

ある場合において、目的のタウペプチドに対する個体の免疫応答を生成する方法は、タウペプチド (例えば、病理学的タウペプチド) の細胞から細胞 (例えば、ニューロンからニューロン) への拡散を、目的のタウペプチドの投与前の細胞から細胞への拡散と比較して、少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約50%、または50%以上減少する。

40

【0187】

ある場合において、目的のタウペプチドに対する個体の免疫応答を生成する方法は、タウ凝集 (例えば、細胞内 (例えば、ニューロン内) タウ凝集) の量を、目的のタウペプチドの投与前のタウ凝集量と比較して、少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約50%、または50%以上減少する。

【0188】

ある場合において、目的のタウペプチドに対する個体の免疫応答を生成する方法は、個体における神経毒性を減少させ、および/または個体における神経炎症を減少させ、および/またはアストロサイトおよびミクログリアの活性化を減少させ、および/または病理

50

学的電気生理的効果の誘導を減少させ、および/またはエキソソームにおけるタウの量を減少する。

【0189】

本発明のタウペプチドは、該ペプチドおよび薬学的に許容される添加物を含む製剤で個体に投与され得る。目的のタウペプチドを含む医薬製剤は上記に記載されており、免疫応答を生成する目的の方法での使用に適している。例えば、ある場合において、目的のタウペプチドを含む免疫原性組成物は、上記の通り、個体に投与される。

【0190】

タウペプチド含有免疫原性組成物は、一般的に、宿主において、免疫応答、例えば、体液性免疫応答、例えば、特定の抗体応答を誘発するのに有効な量で投与される。免疫化のための量は可変であり、体重70kgの患者当たり約1μgから100μgの範囲であり、例えば、5μg/70kgから50μg/70kgであり得る。実質的により高い投与量（例えば、10mgから100mgまたはそれ以上）が、経口投与、経鼻投与、または局所投与経路に好適であり得る。最初の投与には、同一または異なるタウ含有免疫原性組成物の1回またはそれ以上の追加免疫が後続してよい。ワクチン接種は、少なくとも1回の追加免疫、または2回もしくはそれ以上の追加免疫を含み得る。

10

【0191】

一般に、免疫化は、組成物の経口投与、経鼻投与、鼻咽頭投与、非経腸投与、腸投与、胃内投与、局所投与、経皮投与、皮下投与、筋肉内投与、局所投与または全身投与を含むいずれかの好適な経路による投与により達成され得て、ここで、免疫原性組成物は、錠剤、固形剤、散剤、液剤、エアロゾル形態であり、追加の添加物を含むかまたは含まない、かつアジュバントを含むかまたは含まない。経腸投与および非経腸投与可能な組成物を製造するための実際の方法は、当業者に公知であり、Remington's Pharmaceutical Science, 15th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa. (1980)のような刊行物に詳細に記載されている。

20

【0192】

抗タウ免疫応答（例えば、目的のタウペプチドに特異的な抗体応答）は、公知の方法により（例えば、最初の免疫化の前後に個体から血清を得て、個体の免疫状態の変化を示すこと、例えば免疫沈降アッセイ、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）、ウェスタンブロット、フローサイトメトリーアッセイなどにより）、評価することができる。

30

【0193】

目的のタウペプチドに対する免疫応答が望ましいとされ得る個体には、タウオパチーを有すると診断された個体；タウオパチーを発症するリスクが一般集団よりも高い個体（例えば、タウオパチーを発症する遺伝的素因を有する個体）などが含まれる。ある場合において、個体は成人である。ある場合において、成人は、40歳もしくはそれ以上、50歳もしくはそれ以上、60歳もしくはそれ以上、70歳もしくはそれ以上、または80歳もしくはそれ以上である。例えば、成人は、40歳から50歳、50歳から60歳、60歳から70歳、または70歳以上であり得る。

【0194】

抗体

40

本発明は、抗体、例えば、eタウポリペプチド、例えば、本発明のeタウポリペプチドに特異的な単離された抗体を提供する。本発明の抗体はまた、“抗タウ抗体”または“抗eタウ抗体”とも称される。目的の抗タウ抗体は、検出方法、診断方法、および治療法を含む種々の用途における使用が見いだされている。本発明の抗タウ抗体は、細胞外タウに結合する。本明細書で用いる“細胞外タウ”（“eタウ”）には、脳脊髄液（CSF）または間質液（ISF）において検出され得るタウポリペプチドが含まれる。

【0195】

ある場合において、本発明の抗タウ抗体は、可溶性タウポリペプチド（例えば、本発明の可溶性eタウポリペプチド）に結合する。ある場合において、本発明の抗タウ抗体は、可溶性タウポリペプチド（例えば、本発明の可溶性eタウポリペプチド）に結合し、凝集

50

したタウポリペプチドには実質的に結合しない。ある場合において、本発明の抗タウ抗体は、可溶性タウポリペプチド（例えば、本発明の可溶性eタウポリペプチド）上の直鎖状エピトープに結合する。ある場合において、本発明の抗タウ抗体は、ネオエピトープに結合する。例えば、ある場合において、目的の抗タウ抗体により認識され、結合されるエピトープは、全長タウに存在しないが、タウポリペプチドの切断により、細胞外タウポリペプチドを生じることにより生成される。ネオエピトープは、タウポリペプチドのC末端領域内、またはタウポリペプチドのN末端領域内であり得る。

【0196】

本発明は、本発明のeタウポリペプチド内のエピトープに特異的に結合する単離された抗体を提供する。本発明は、本発明のeタウポリペプチド内のエピトープに特異的に結合する単離されたモノクローナル抗体を提供する。本発明は、本発明のeタウポリペプチド内のエピトープに特異的に結合する単離されたヒト化モノクローナル抗体を提供する。

10

【0197】

本発明は、本発明のeタウ-1ポリペプチド内のエピトープに特異的に結合する単離された抗体を提供する。“eタウ-1ポリペプチド”には、例えば、図1Aに記載のeタウ2-166ポリペプチド；図1Aに記載のeタウ2-172ポリペプチド；および、図1Aに記載のeタウ2-176ポリペプチドが含まれる。本発明は、本発明のeタウ-1ポリペプチド内のエピトープに特異的に結合する単離されたモノクローナル抗体を提供する。本発明は、本発明のeタウ-1ポリペプチド内のエピトープに特異的に結合する単離されたヒト化モノクローナル抗体を提供する。ある場合において、本発明の単離された抗体は、eタウ-1ポリペプチドに結合し、そしてeタウ-2ポリペプチド、eタウ-3ポリペプチド、またはeタウ-4ポリペプチドに結合しない。ある場合において、本発明の単離された抗体は、eタウ-1ポリペプチド、eタウ-2ポリペプチド、eタウ-3ポリペプチド、およびeタウ-4ポリペプチドに結合する。

20

【0198】

本発明は、本発明のeタウ-2ポリペプチド内のエピトープに特異的に結合する単離された抗体を提供する。本発明は、本発明のeタウ-2ポリペプチド内のエピトープに特異的に結合する単離されたモノクローナル抗体を提供する。本発明は、本発明のeタウ-2ポリペプチド内のエピトープに特異的に結合する単離されたヒト化モノクローナル抗体を提供する。ある場合において、本発明の単離された抗体は、eタウ-2ポリペプチドに結合し、そしてeタウ-1ポリペプチド、eタウ-3ポリペプチド、またはeタウ-4ポリペプチドに結合しない。ある場合において、本発明の単離された抗体は、eタウ-1ポリペプチド、eタウ-2ポリペプチド、eタウ-3ポリペプチド、およびeタウ-4ポリペプチドに結合する。

30

【0199】

本発明は、本発明のeタウ-3ポリペプチド内のエピトープに特異的に結合する単離された抗体を提供する。本発明は、本発明のeタウ-3ポリペプチド内のエピトープに特異的に結合する単離されたモノクローナル抗体を提供する。本発明は、本発明のeタウ-3ポリペプチド内のエピトープに特異的に結合する単離されたヒト化モノクローナル抗体を提供する。ある場合において、本発明の単離された抗体は、eタウ-3ポリペプチドに結合し、そしてeタウ-1ポリペプチド、eタウ-2ポリペプチド、またはeタウ-4ポリペプチドに結合しない。ある場合において、本発明の単離された抗体は、eタウ-1ポリペプチド、eタウ-2ポリペプチド、eタウ-3ポリペプチド、およびeタウ-4ポリペプチドに結合する。

40

【0200】

本発明は、本発明のeタウ-4ポリペプチド内のエピトープに特異的に結合する単離された抗体を提供する。本発明は、本発明のeタウ-4ポリペプチド内のエピトープに特異的に結合する単離されたモノクローナル抗体を提供する。本発明は、本発明のeタウ-4ポリペプチド内のエピトープに特異的に結合する単離されたヒト化モノクローナル抗体を提供する。ある場合において、本発明の単離された抗体は、eタウ-4ポリペプチドに結

50

合し、そして e タウ - 1 ポリペプチド、e タウ - 2 ポリペプチド、または e タウ - 3 ポリペプチドに結合しない。ある場合において、本発明の単離された抗体は、e タウ - 1 ポリペプチド、e タウ - 2 ポリペプチド、e タウ - 3 ポリペプチド、および e タウ - 4 ポリペプチドに結合する。

【0201】

ある場合において、目的のタウペプチドに特異的な抗体は、タウペプチドのアセチル化形態に特異的に結合し、該ペプチドの非アセチル化形態には特異的に結合しない。他の場合において、目的のタウペプチドに特異的な抗体は、該ペプチドの非アセチル化形態に特異的に結合する。

【0202】

目的の抗タウ抗体は、本発明のタウペプチド中の直鎖状エピトープを認識することができるか、またはコンフォメーションエピトープ (conformational epitope) を認識することができる。ある場合において、目的の抗タウ抗体により認識されるエピトープは、直鎖状である。

【0203】

ある場合において、目的の抗タウ抗体は、モノクローナル抗体である。ある場合において、目的の抗タウ抗体は、抗体フラグメント、例えば、F a b、F a b'、F (a b')₂、F v フラグメント、二重特異性抗体、直鎖状抗体、一本鎖抗体、または目的のタウペプチドに結合し得る他のフラグメントである。

【0204】

ある場合において、アミノ酸 2 - 18 内のエピトープに結合する抗体は、特に除外される。ある態様において、アミノ酸 15 - 24 内のエピトープに結合する抗体は、特に除外される。ある態様において、アミノ酸 5 - 20 内のエピトープに結合する抗体は、特に除外される。ある態様において、アミノ酸 19 - 46 内のエピトープに結合する抗体は、特に除外される。アミノ酸番号は、図 1 A および 1 B に記載の胎児タウおよび e タウフラグメントの番号付けに基づく。

【0205】

ある場合において、タウ 12 抗体 (Ghoshal et al. (2002) Exp. Neurobiol. 177:475) は、特に除外される。ある場合において、タウ 13 抗体 (Garcia - Sierra et al. (2003) J. Alz. Dis. 5:65) は、特に除外される。ある場合において、T N T 1 抗体 (Kanaan et al. (2011) J. Neurosci. 31:9859) は、特に除外される。ある場合において、5 A 6 抗体 (Johnson et al. (1997). J. Neurochemistry 68(1):430 - 433) は、特に除外される。ある場合において、H J 9 . 4 抗体 (Yanamandra et al. (2013) Neuron 80:402) は、特に除外される。ある態様において、H T 7 抗体は、特に除外される。ある態様において、6 C 1 0 抗体 (U S 2 0 1 2 / 0 1 8 3 5 9 9) は、特に除外される。

【0206】

用語“結合について競合する”とは、抗原のエピトープへの第二の抗体の結合を阻害する第一の抗体の能力を意味する。第一の抗体が、エピトープへの結合について第二の抗体と競合しないとき、第一の抗体は、第二の抗体と同じエピトープに結合しないと考えられる。第一の抗体がエピトープへの結合について第二の抗体と競合するとき、第一の抗体は、第二の抗体と同じか、または重複するエピトープに結合すると考えられる。ある場合において、第一の抗体がエピトープへの結合について第二の抗体と競合するとき、第二の抗体は、第一の抗体の存在下で検出可能なレベルでエピトープに結合しない。

【0207】

競合結合についてのアッセイは当技術分野で公知である。例えば、競合阻害 E L I S A を用い得る。一例として、第一の抗体に認識されるエピトープを含む抗原を、マルチウェルプレートの複数のウェルに固定化する。第一の検出可能なラベルを含む第一の抗体を、固定化された抗原に結合させて、固定化された抗原 - 第一の抗体複合体を形成させる；そして、第二の検出可能なラベル (ここで、第二の検出可能なラベルは、第一の検出可能なラベルとは異なる) を含む第二の抗体を、固定化された抗原 - 第一の抗体複合体と接触さ

10

20

30

40

50

せる。第二の抗体が、第一の抗体により認識されるエピトープに対する第一の抗体の結合を競合的に阻害するかどうかを、固定化された抗原に対する第二の抗体の結合（第二の検出可能なラベルにより検出される）、および第一の抗体の結合の減少（第一の検出可能なラベルの減少により検出される）を検出することにより決定することができる。

【0208】

[7295 - M6]

本発明は、タウポリペプチド（例えば、本発明のeタウポリペプチド）中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号15のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖CDRおよび配列番号16のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖CDRを含む抗体と、エピトープへの結合に対して競合する。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体は、ヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域およびヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は、抗体フラグメント、例えば、Fabフラグメント、F(ab')₂フラグメント、scFv、またはFvである。ある例において、抗体はeタウ1ポリペプチドに結合し、そしてeタウ2、eタウ3、またはeタウ4ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列SLPTPPTREPK（配列番号77）内のエピトープに結合する。

10

20

【0209】

本発明は、タウポリペプチド（例えば、本発明のeタウポリペプチド）中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号15のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖CDRを含む軽鎖を含む。本発明は、タウポリペプチド（例えば、本発明のeタウポリペプチド）中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号16のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖CDRを含む重鎖を含む。本発明は、タウポリペプチド（例えば、本発明のeタウポリペプチド）中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号15のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖CDRおよび配列番号16のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖CDRを含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は抗体フラグメントであり、例えば、Fabフラグメント、F(ab')₂フラグメント、scFv、またはFvである。ある例において、抗体は、eタウ1ポリペプチドに結合し、そしてeタウ2、eタウ3、またはeタウ4ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列SLPTPPTREPK（配列番号77）内のエピトープに結合する。

30

40

【0210】

本発明は、タウポリペプチド（例えば、本発明のeタウポリペプチド）中のエピトープへの結合に対して、a)(i)配列番号9のアミノ酸配列を含むV_LCDR1、(ii)配列番号10のアミノ酸配列を含むV_LCDR2、および(iii)配列番号11のアミノ酸配列を含むV_LCDR3を含む軽鎖領域、ならびにb)(i)配列番号12のアミノ酸配列を含むV_HCDR1、(ii)配列番号13のアミノ酸配列を含むV_HCDR2、および(iii)配列番号14のアミノ酸配列を含むV_HCDR3を含む重鎖領域、を含む抗体と競合する、単離された抗体を提供する。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、

50

軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は S 2 4 1 P 置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、F v、s c F v、F a b、F (a b ') 2、または F a b ' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} M の解離定数 (K_D) で結合する。ある例において、抗体は、e タウ 1 ポリペプチドに結合し、そして e タウ 2、e タウ 3、または e タウ 4 ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列 S L P T P P T R E P K (配列番号 77) 内のエピトープに結合する。

10

20

30

40

50

【0211】

本発明は、タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)に特異的に結合する単離されたモノクローナル抗体を提供し、ここで、該単離された抗体は、1、2、3、4、5 または 6 個の以下の C D R : i) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 1 ; (i i) 配列番号 10 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 2 ; および (i i i) 配列番号 11 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 3 ; (i v) 配列番号 12 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 1 ; (v) 配列番号 13 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 2 ; および、(v i) 配列番号 14 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 3、を含む。ある場合において、抗体は、i) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 1 ; (i i) 配列番号 10 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 2 ; および (i i i) 配列番号 11 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 3 を含む。ある場合において、抗体は、(i v) 配列番号 12 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 1 ; (v) 配列番号 13 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 2 ; および (v i) 配列番号 14 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 3 を含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3 または I g G 4 のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S 2 4 1 P 置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、F v、s c F v、F a b、F (a b ') 2、または F a b ' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} M の解離定数 (K_D) で結合する。ある例において、抗体は、e タウ 1 ポリペプチドに結合し、そして e タウ 2、e タウ 3、または e タウ 4 ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列 S L P T P P T R E P K (配列番号 77) 内のエピトープに結合する。

【0212】

本発明は、ヒト化軽鎖フレームワーク領域およびヒト化重鎖フレームワーク領域を含む単離されたヒト化モノクローナル抗体を提供し、ここで、該単離された抗体は、タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)に特異的に結合し、ここで、該単離さ

れた抗体は、a) (i) 配列番号9のアミノ酸配列を含むV_L CDR1、(ii) 配列番号10のアミノ酸配列を含むV_L CDR2、および(iii) 配列番号11のアミノ酸配列を含むV_L CDR3を含む軽鎖領域、ならびにb) (i) 配列番号12のアミノ酸配列を含むV_H CDR1、(ii) 配列番号13のアミノ酸配列を含むV_H CDR2、および(iii) 配列番号14のアミノ酸配列を含むV_H CDR3を含む重鎖領域、を含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプIgG4のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S241P置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、Fv、scFv、Fab、F(ab')₂、またはFab'である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、10⁻⁷ M、10⁻⁸ M、10⁻⁹ M、10⁻¹⁰ M、または10⁻¹¹ Mの解離定数(K_D)で結合する。ある例において、抗体は、eタウ1ポリペプチドに結合し、そしてeタウ2、eタウ3、またはeタウ4ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列SLPTPPTREPK(配列番号77)内のエピトープに結合する。

【0213】

[7295 - M8]

本発明は、タウポリペプチド(例えば、本発明のeタウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号23のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖CDRおよび配列番号24のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖CDRを含む抗体と、エピトープへの結合に対して競合する。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体は、ヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域およびヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は、抗体フラグメント、例えば、Fabフラグメント、F(ab')₂フラグメント、scFv、またはFvである。ある例において、抗体はeタウ1ポリペプチドに結合し、そしてeタウ2、eタウ3、またはeタウ4ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列SLPTPPTREPK(配列番号77)内のエピトープに結合する。

【0214】

本発明は、タウポリペプチド(例えば、本発明のeタウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号23のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖CDRを含む軽鎖を含む。本発明は、タウポリペプチド(例えば、本発明のeタウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号24のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖CDRを含む重鎖を含む。本発明は、タウポリペプチド(例えば、本発明のeタウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号23のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖CDRおよび配列番号24のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖CDRを含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4の重鎖定常領域を含む

。ある場合において、抗体は抗体フラグメントであり、例えば、F a b フラグメント、F (a b ')₂ フラグメント、s c F v、またはF vである。ある例において、抗体は、e タウ1 ポリペプチドに結合し、そしてe タウ2、e タウ3、またはe タウ4 ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列S L P T P P T R E P K (配列番号77) 内のエピトープに結合する。

【0215】

本発明は、タウポリペプチド(例えば、本発明のe タウポリペプチド)中のエピトープへの結合に対して、a) (i) 配列番号17のアミノ酸配列を含むV_L C D R 1、(i i) 配列番号18のアミノ酸配列を含むV_L C D R 2、および(i i i) 配列番号19のアミノ酸配列を含むV_L C D R 3を含む軽鎖領域、ならびにb) (i) 配列番号20のアミノ酸配列を含むV_H C D R 1、(i i) 配列番号21のアミノ酸配列を含むV_H C D R 2、および(i i i) 配列番号22のアミノ酸配列を含むV_H C D R 3を含む重鎖領域、を含む抗体と競合する、単離された抗体を提供する。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプI g G 1、I g G 2、I g G 3、またはI g G 4のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプI g G 4のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域はS 2 4 1 P置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、F v、s c F v、F a b、F (a b ')₂、またはF a b ' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、10⁻⁷ M、10⁻⁸ M、10⁻⁹ M、10⁻¹⁰ M、または10⁻¹¹ Mの解離定数(K_D)で結合する。ある例において、抗体は、e タウ1 ポリペプチドに結合し、そしてe タウ2、e タウ3、またはe タウ4 ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列S L P T P P T R E P K (配列番号77) 内のエピトープに結合する。

【0216】

本発明は、タウポリペプチド(例えば、本発明のe タウポリペプチド)に特異的に結合する単離されたモノクローナル抗体を提供し、ここで、該単離された抗体は、1、2、3、4、5または6個の以下のC D R: i) 配列番号17のアミノ酸配列を含むV_L C D R 1; (i i) 配列番号18のアミノ酸配列を含むV_L C D R 2; および(i i i) 配列番号19のアミノ酸配列を含むV_L C D R 3; (i v) 配列番号20のアミノ酸配列を含むV_H C D R 1; (v) 配列番号21のアミノ酸配列を含むV_H C D R 2; および、(v i) 配列番号22のアミノ酸配列を含むV_H C D R 3、を含む。ある場合において、抗体は、i) 配列番号17のアミノ酸配列を含むV_L C D R 1; (i i) 配列番号18のアミノ酸配列を含むV_L C D R 2; および(i i i) 配列番号19のアミノ酸配列を含むV_L C D R 3を含む。ある場合において、抗体は、(i v) 配列番号20のアミノ酸配列を含むV_H C D R 1; (v) 配列番号21のアミノ酸配列を含むV_H C D R 2; および(v i) 配列番号22のアミノ酸配列を含むV_H C D R 3を含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプI g G 1、I g G 2、I g G 3またはI g G 4の

ものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S 2 4 1 P 置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、F v、s c F v、F a b、F (a b ')₂、または F a b ' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} M の解離定数 (K_D) で結合する。ある例において、抗体は、e タウ 1 ポリペプチドに結合し、そして e タウ 2、e タウ 3、または e タウ 4 ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列 S L P T P P T R E P K (配列番号 77) 内のエピトープに結合する。

10

【0217】

本発明は、ヒト化軽鎖フレームワーク領域およびヒト化重鎖フレームワーク領域を含む単離されたヒト化モノクローナル抗体を提供し、ここで、該単離された抗体は、タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)に特異的に結合し、ここで、該単離された抗体は、a) (i) 配列番号 17 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 1、(ii) 配列番号 18 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 2、および (iii) 配列番号 19 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 3 を含む軽鎖領域、ならびに b) (i) 配列番号 20 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 1、(ii) 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 2、および (iii) 配列番号 22 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 3 を含む重鎖領域、を含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3 または I g G 4 のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S 2 4 1 P 置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、F v、s c F v、F a b、F (a b ')₂、または F a b ' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} M の解離定数 (K_D) で結合する。ある例において、抗体は、e タウ 1 ポリペプチドに結合し、そして e タウ 2、e タウ 3、または e タウ 4 ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列 S L P T P P T R E P K (配列番号 77) 内のエピトープに結合する。

20

30

【0218】

[7298 - M1]

本発明は、タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号 31 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖 C D R および配列番号 32 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖 C D R を含む抗体と、エピトープへの結合に対して競合する。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体は、ヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域およびヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は、抗体フラグメント、例えば、F a b フラグメント、F (a b ')₂ フラグメント、s c F v、または F v である。ある例において、抗体は e タウ 1 ポリペプチド、e タウ 2 ポリペプチドおよび e タウ 3 ポリペプチドに結合し、そして e タウ 4 ポリペプチドに

40

50

結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列 R I P A K T P P A P K (配列番号 78) 内のエピトープに結合する。

【0219】

本発明は、タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号 31 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖 C D R を含む軽鎖を含む。本発明は、タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号 32 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖 C D R を含む重鎖を含む。本発明は、タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号 31 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖 C D R および配列番号 32 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖 C D R を含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は抗体フラグメントであり、例えば、F a b フラグメント、F (a b ')₂ フラグメント、s c F v、または F v である。ある例において、抗体は、e タウ 1 ポリペプチド、e タウ 2 ポリペプチド、および e タウ 3 ポリペプチドに結合し、そして e タウ 4 ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列 R I P A K T P P A P K (配列番号 78) 内のエピトープに結合する。

10

20

【0220】

本発明は、タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)中のエピトープへの結合に対して、a) (i) 配列番号 25 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 1、(i i) 配列番号 26 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 2、および (i i i) 配列番号 27 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 3 を含む軽鎖領域、ならびに b) (i) 配列番号 28 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 1、(i i) 配列番号 29 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 2、および (i i i) 配列番号 30 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 3 を含む重鎖領域、を含む抗体と競合する、単離された抗体を提供する。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は S 2 4 1 P 置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、F v、s c F v、F a b、F (a b ')₂、または F a b ' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、10⁻⁷ M、10⁻⁸ M、10⁻⁹ M、10⁻¹⁰ M、または 10⁻¹¹ M の解離定数 (K_D) で結合する。ある例において、抗体は、e タウ 1 ポリペプチド、e タウ 2 ポリペプチド、および e タウ 3 ポリペプチドに結合し、そして e タウ 4 ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列 R I P A K T P P A P K (配列番号 78) 内のエピトープに結合する。

30

40

【0221】

本発明は、タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)に特異的に結合する単離されたモノクローナル抗体を提供し、ここで、該単離された抗体は、1、2、3

50

、4、5または6個の以下のCDR：i)配列番号25のアミノ酸配列を含む V_L CDR1；(ii)配列番号26のアミノ酸配列を含む V_L CDR2；および(iii)配列番号27のアミノ酸配列を含む V_L CDR3；(iv)配列番号28のアミノ酸配列を含む V_H CDR1；(v)配列番号29のアミノ酸配列を含む V_H CDR2；および、(vi)配列番号30のアミノ酸配列を含む V_H CDR3、を含む。ある場合において、抗体は、i)配列番号25のアミノ酸配列を含む V_L CDR1；(ii)配列番号26のアミノ酸配列を含む V_L CDR2；および(iii)配列番号27のアミノ酸配列を含む V_L CDR3を含む。ある場合において、抗体は、(iv)配列番号28のアミノ酸配列を含む V_H CDR1；(v)配列番号29のアミノ酸配列を含む V_H CDR2；および(vi)配列番号30のアミノ酸配列を含む V_H CDR3を含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプIgG4のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S241P置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、Fv、scFv、Fab、F(ab')₂、またはFab'である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} Mの解離定数(K_D)で結合する。ある例において、抗体は、eタウ1ポリペプチド、eタウ2ポリペプチド、およびeタウ3ポリペプチドに結合し、そしてeタウ4ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列RIPAKTPPAK(配列番号78)内のエピトープに結合する。

【0222】

本発明は、ヒト化軽鎖フレームワーク領域およびヒト化重鎖フレームワーク領域を含む単離されたヒト化モノクローナル抗体を提供し、ここで、該単離された抗体は、タウポリペプチド(例えば、本発明のeタウポリペプチド)に特異的に結合し、ここで、該単離された抗体は、a)(i)配列番号25のアミノ酸配列を含む V_L CDR1、(ii)配列番号26のアミノ酸配列を含む V_L CDR2、および(iii)配列番号27のアミノ酸配列を含む V_L CDR3を含む軽鎖領域、ならびにb)(i)配列番号28のアミノ酸配列を含む V_H CDR1、(ii)配列番号29のアミノ酸配列を含む V_H CDR2、および(iii)配列番号30のアミノ酸配列を含む V_H CDR3を含む重鎖領域、を含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプIgG4のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S241P置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、Fv、scFv、Fab、F(ab')₂、またはFab'である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} Mの解離定数(K_D)で結合する。ある例において、抗体は、eタウ1ポリペプチド、eタウ2ポリペプチド、およびeタウ3ポリペプチドに結合し

、そしてe タウ4 ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列 R I P A K T P P A P K (配列番号78) 内のエピトープに結合する。

【0223】

[7 2 9 8 - M 2]

本発明は、タウポリペプチド(例えば、本発明のe タウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号39のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖CDRおよび配列番号40のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖CDRを含む抗体と、エピトープへの結合に対して競合する。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体は、ヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域およびヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプI g G 1、I g G 2、I g G 3、またはI g G 4の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は、抗体フラグメント、例えば、F a bフラグメント、F (a b ')₂フラグメント、s c F v、またはF vである。ある例において、抗体はe タウ1ポリペプチド、e タウ2ポリペプチドおよびe タウ3ポリペプチドに結合し、そしてe タウ4ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列R I P A K T P P A P K (配列番号78) 内のエピトープに結合する。

10

【0224】

本発明は、タウポリペプチド(例えば、本発明のe タウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号39のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖CDRを含む軽鎖を含む。本発明は、タウポリペプチド(例えば、本発明のe タウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号40のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖CDRを含む重鎖を含む。本発明は、タウポリペプチド(例えば、本発明のe タウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号39のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖CDRおよび配列番号40のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖CDRを含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプI g G 1、I g G 2、I g G 3、またはI g G 4の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は抗体フラグメントであり、例えば、F a bフラグメント、F (a b ')₂フラグメント、s c F v、またはF vである。ある例において、抗体は、e タウ1ポリペプチド、e タウ2ポリペプチド、およびe タウ3ポリペプチドに結合し、そしてe タウ4ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列R I P A K T P P A P K (配列番号78) 内のエピトープに結合する。

20

30

【0225】

本発明は、タウポリペプチド(例えば、本発明のe タウポリペプチド)中のエピトープへの結合に対して、a) (i) 配列番号33のアミノ酸配列を含むV_L C D R 1、(i i) 配列番号34のアミノ酸配列を含むV_L C D R 2、および(i i i) 配列番号35のアミノ酸配列を含むV_L C D R 3を含む軽鎖領域、ならびにb) (i) 配列番号36のアミノ酸配列を含むV_H C D R 1、(i i) 配列番号37のアミノ酸配列を含むV_H C D R 2、および(i i i) 配列番号38のアミノ酸配列を含むV_H C D R 3を含む重鎖領域、を含む抗体と競合する、単離された抗体を提供する。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領

40

50

域は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は S 2 4 1 P 置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、F v、s c F v、F a b、F (a b ') 2、または F a b ' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} M の解離定数 (K_D) で結合する。ある例において、抗体は、e タウ 1 ポリペプチド、e タウ 2 ポリペプチド、および e タウ 3 ポリペプチドに結合し、そして e タウ 4 ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列 R I P A K T P P A P K (配列番号 78) 内のエピトープに結合する。

10

【0226】

本発明は、タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)に特異的に結合する単離されたモノクローナル抗体を提供し、ここで、該単離された抗体は、1、2、3、4、5 または 6 個の以下の C D R : i) 配列番号 33 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 1 ; (i i) 配列番号 34 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 2 ; および (i i i) 配列番号 35 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 3 ; (i v) 配列番号 36 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 1 ; (v) 配列番号 37 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 2 ; および、(v i) 配列番号 38 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 3、を含む。ある場合において、抗体は、i) 配列番号 33 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 1 ; (i i) 配列番号 34 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 2 ; および (i i i) 配列番号 35 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 3 を含む。ある場合において、抗体は、(i v) 配列番号 36 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 1 ; (v) 配列番号 37 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 2 ; および (v i) 配列番号 38 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 3 を含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3 または I g G 4 のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S 2 4 1 P 置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、F v、s c F v、F a b、F (a b ') 2、または F a b ' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} M の解離定数 (K_D) で結合する。ある例において、抗体は、e タウ 1 ポリペプチド、e タウ 2 ポリペプチド、および e タウ 3 ポリペプチドに結合し、そして e タウ 4 ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列 R I P A K T P P A P K (配列番号 78) 内のエピトープに結合する。

20

30

40

【0227】

本発明は、ヒト化軽鎖フレームワーク領域およびヒト化重鎖フレームワーク領域を含む単離されたヒト化モノクローナル抗体を提供し、ここで、該単離された抗体は、タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)に特異的に結合し、ここで、該単離された抗体は、a) (i) 配列番号 33 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 1、(i i) 配列番号 34 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 2、および (i i i) 配列番号 35 のアミ

50

ノ酸配列を含む V_L CDR3 を含む軽鎖領域、ならびに b) (i) 配列番号 36 のアミノ酸配列を含む V_H CDR1、(ii) 配列番号 37 のアミノ酸配列を含む V_H CDR2、および (iii) 配列番号 38 のアミノ酸配列を含む V_H CDR3 を含む重鎖領域、を含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ IgG1、IgG2、IgG3 または IgG4 のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ IgG4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S241P 置換を含む。例えば、An gal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105 を参照のこと。ある場合において、抗体は、Fv、scFv、Fab、F(ab')₂、または Fab' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} M の解離定数 (K_D) で結合する。ある例において、抗体は、e タウ1 ポリペプチド、e タウ2 ポリペプチド、および e タウ3 ポリペプチドに結合し、そして e タウ4 ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列 R I P A K T P P A P K (配列番号 78) 内のエピトープに結合する。

10

【0228】

[7299-M2]

20

本発明は、タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号 47 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖 CDR および配列番号 48 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖 CDR を含む抗体と、エピトープへの結合に対して競合する。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体は、ヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域およびヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプ IgG1、IgG2、IgG3、または IgG4 の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は、抗体フラグメント、例えば、Fab フラグメント、F(ab')₂ フラグメント、scFv、または Fv である。ある場合において、抗体は e タウ4 ポリペプチドに結合し、そして e タウ1 ポリペプチド、e タウ2 ポリペプチド、または e タウ3 ポリペプチドに結合しない。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 E D E A A G H V T Q A R (配列番号 79) 内のエピトープに結合する。ある場合において、抗体は、e タウ4 ポリペプチド中のネオエピトープに結合する。

30

【0229】

本発明は、タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号 47 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖 CDR を含む軽鎖を含む。本発明は、タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号 48 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖 CDR を含む重鎖を含む。本発明は、タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号 47 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖 CDR および配列番号 48 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖 CDR を含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプ IgG1、IgG2、IgG3、または IgG4 の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は抗体フラグメントであり、例えば、Fab フラグメント、F

40

50

(a b ')₂ フラグメント、 s c F v、または F v である。ある場合において、抗体は、 e タウ 4 ポリペプチドに結合し、そして e タウ 1 ポリペプチド、 e タウ 2 ポリペプチド、または e タウ 3 ポリペプチドに結合しない。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 E D E A A G H V T Q A R (配列番号 79) 内のエピトープに結合する。ある場合において、抗体は、 e タウ 4 ポリペプチド中のネオエピトープに結合する。

【 0 2 3 0 】

本発明は、タウポリペプチド (例えば、本発明の e タウポリペプチド) 中のエピトープへの結合に対して、 a) (i) 配列番号 4 1 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 1、(i i) 配列番号 4 2 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 2、および (i i i) 配列番号 4 3 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 3 を含む軽鎖領域、ならびに b) (i) 配列番号 4 4 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 1、(i i) 配列番号 4 5 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 2、および (i i i) 配列番号 4 6 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 3 を含む重鎖領域、を含む抗体と競合する、単離された抗体を提供する。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は S 2 4 1 P 置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30 : 105 を参照のこと。ある場合において、抗体は、 F v、s c F v、F a b、F (a b ')₂、または F a b ' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ (エチレングリコール) ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} M の解離定数 (K_D) で結合する。ある場合において、抗体は、 e タウ 4 ポリペプチドに結合し、そして e タウ 1 ポリペプチド、 e タウ 2 ポリペプチド、または e タウ 3 ポリペプチドに結合しない。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 E D E A A G H V T Q A R (配列番号 79) 内のエピトープに結合する。ある場合において、抗体は、 e タウ 4 ポリペプチド中のネオエピトープに結合する。

【 0 2 3 1 】

本発明は、タウポリペプチド (例えば、本発明の e タウポリペプチド) に特異的に結合する単離されたモノクローナル抗体を提供し、ここで、該単離された抗体は、1、2、3、4、5 または 6 個の以下の C D R : i) 配列番号 4 1 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 1 ; (i i) 配列番号 4 2 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 2 ; および (i i i) 配列番号 4 3 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 3 ; (i v) 配列番号 4 4 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 1 ; (v) 配列番号 4 5 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 2 ; および、(v i) 配列番号 4 6 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 3、を含む。ある場合において、抗体は、 i) 配列番号 4 1 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 1 ; (i i) 配列番号 4 2 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 2 ; および (i i i) 配列番号 4 3 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 3 を含む。ある場合において、抗体は、(i v) 配列番号 4 4 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 1 ; (v) 配列番号 4 5 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 2 ; および (v i) 配列番号 4 6 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 3 を含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場

合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3 または I g G 4 のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S 2 4 1 P 置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、F v、s c F v、F a b、F (a b ') 2、または F a b ' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} M の解離定数 (K_D) で結合する。ある場合において、抗体は、e タウ 4 ポリペプチドに結合し、そして e タウ 1 ポリペプチド、e タウ 2 ポリペプチド、または e タウ 3 ポリペプチドに結合しない。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 E D E A A G H V T Q A R (配列番号 79) 内のエピトープに結合する。ある場合において、抗体は、e タウ 4 ポリペプチド中のネオエピトープに結合する。

10

【 0 2 3 2 】

本発明は、ヒト化軽鎖フレームワーク領域およびヒト化重鎖フレームワーク領域を含む単離されたヒト化モノクローナル抗体を提供し、ここで、該単離された抗体は、タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)に特異的に結合し、ここで、該単離された抗体は、a) (i) 配列番号 41 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 1、(i i) 配列番号 42 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 2、および (i i i) 配列番号 43 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 3 を含む軽鎖領域、ならびに b) (i) 配列番号 44 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 1、(i i) 配列番号 45 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 2、および (i i i) 配列番号 46 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 3 を含む重鎖領域、を含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3 または I g G 4 のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S 2 4 1 P 置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、F v、s c F v、F a b、F (a b ') 2、または F a b ' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} M の解離定数 (K_D) で結合する。ある場合において、抗体は、e タウ 4 ポリペプチドに結合し、そして e タウ 1 ポリペプチド、e タウ 2 ポリペプチド、または e タウ 3 ポリペプチドに結合しない。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 E D E A A G H V T Q A R (配列番号 79) 内のエピトープに結合する。ある場合において、抗体は、e タウ 4 ポリペプチド中のネオエピトープに結合する。

20

30

【 0 2 3 3 】

[7 2 9 9 - M 5]

本発明は、タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号 55 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖 C D R および配列番号 56 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖 C D R を含む抗体と、エピトープへの結合に対して競合する。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体は、ヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域およびヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 の重鎖定常領域を含む。ある場合において

40

50

、抗体は、抗体フラグメント、例えば、F a b フラグメント、F (a b ')₂ フラグメント、s c F v、またはF vである。ある場合において、抗体はe タウ1 ポリペプチド、e タウ2 ポリペプチド、e タウ3 ポリペプチドおよびe タウ4 ポリペプチドに結合する。ある例において、抗体は、アミノ酸配列E D E A A G H V T Q A R (配列番号79) 内のエピトープに結合する。

【0234】

本発明は、タウポリペプチド (例えば、本発明のe タウポリペプチド) 中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号55のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖C D Rを含む軽鎖を含む。本発明は、タウポリペプチド (例えば、本発明のe タウポリペプチド) 中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号56のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖C D Rを含む重鎖を含む。本発明は、タウポリペプチド (例えば、本発明のe タウポリペプチド) 中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号55のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖C D Rおよび配列番号56のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖C D Rを含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプI g G 1、I g G 2、I g G 3、またはI g G 4の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は抗体フラグメントであり、例えば、F a b フラグメント、F (a b ')₂ フラグメント、s c F v、またはF vである。ある場合において、抗体は、e タウ1 ポリペプチド、e タウ2 ポリペプチド、e タウ3 ポリペプチドおよびe タウ4 ポリペプチドに結合する。ある例において、抗体は、アミノ酸配列E D E A A G H V T Q A R (配列番号79) 内のエピトープに結合する。

【0235】

本発明は、タウポリペプチド (例えば、本発明のe タウポリペプチド) 中のエピトープへの結合に対して、a) (i) 配列番号49のアミノ酸配列を含むV_L C D R 1、(i i) 配列番号50のアミノ酸配列を含むV_L C D R 2、および(i i i) 配列番号51のアミノ酸配列を含むV_L C D R 3を含む軽鎖領域、ならびにb) (i) 配列番号52のアミノ酸配列を含むV_H C D R 1、(i i) 配列番号53のアミノ酸配列を含むV_H C D R 2、および(i i i) 配列番号54のアミノ酸配列を含むV_H C D R 3を含む重鎖領域、を含む抗体と競合する、単離された抗体を提供する。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプI g G 1、I g G 2、I g G 3、またはI g G 4のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプI g G 4のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域はS 2 4 1 P置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30 : 105を参照のこと。ある場合において、抗体は、F v、s c F v、F a b、F (a b ')₂、またはF a b ' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ (エチレングリコール) ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、10⁻⁷ M、10⁻⁸ M、10⁻⁹ M、10⁻¹⁰ M、または10⁻¹¹ Mの解離定数 (K_D) で結合する。ある場合において、抗体は、e タウ1 ポリペプチド、e タウ2 ポリペプチド、e タウ3 ポリペプチドおよびe タウ4 ポリペプチドに結合する。ある例において、抗体は、アミノ酸配列E D E A A G H V T Q A R (配列番号79) 内のエピトープに結合する。

10

20

30

40

50

【0236】

本発明は、タウポリペプチド（例えば、本発明のeタウポリペプチド）に特異的に結合する単離されたモノクローナル抗体を提供し、ここで、該単離された抗体は、1、2、3、4、5または6個の以下のCDR：i)配列番号49のアミノ酸配列を含むV_L CDR1；(ii)配列番号50のアミノ酸配列を含むV_L CDR2；および(iii)配列番号51のアミノ酸配列を含むV_L CDR3；(iv)配列番号52のアミノ酸配列を含むV_H CDR1；(v)配列番号53のアミノ酸配列を含むV_H CDR2；および、(vi)配列番号54のアミノ酸配列を含むV_H CDR3、を含む。ある場合において、抗体は、i)配列番号49のアミノ酸配列を含むV_L CDR1；(ii)配列番号50のアミノ酸配列を含むV_L CDR2；および(iii)配列番号51のアミノ酸配列を含むV_L CDR3を含む。ある場合において、抗体は、(iv)配列番号52のアミノ酸配列を含むV_H CDR1；(v)配列番号53のアミノ酸配列を含むV_H CDR2；および(vi)配列番号54のアミノ酸配列を含むV_H CDR3を含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプIgG4のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S241P置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、Fv、scFv、Fab、F(ab')₂、またはFab'である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、10⁻⁷M、10⁻⁸M、10⁻⁹M、10⁻¹⁰M、または10⁻¹¹Mの解離定数(K_D)で結合する。ある場合において、抗体は、eタウ1ポリペプチド、eタウ2ポリペプチド、eタウ3ポリペプチドおよびeタウ4ポリペプチドに結合する。ある例において、抗体は、アミノ酸配列EDEAAGHV TQAR (配列番号79)内のエピトープに結合する。

10

20

30

【0237】

本発明は、ヒト化軽鎖フレームワーク領域およびヒト化重鎖フレームワーク領域を含む単離されたヒト化モノクローナル抗体を提供し、ここで、該単離された抗体は、タウポリペプチド（例えば、本発明のeタウポリペプチド）に特異的に結合し、ここで、該単離された抗体は、a)(i)配列番号49のアミノ酸配列を含むV_L CDR1、(ii)配列番号50のアミノ酸配列を含むV_L CDR2、および(iii)配列番号51のアミノ酸配列を含むV_L CDR3を含む軽鎖領域、ならびにb)(i)配列番号52のアミノ酸配列を含むV_H CDR1、(ii)配列番号53のアミノ酸配列を含むV_H CDR2、および(iii)配列番号54のアミノ酸配列を含むV_H CDR3を含む重鎖領域、を含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプIgG4のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S241P置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、Fv、scFv、Fab、F(ab')₂、またはFab'である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において

40

50

、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} Mの解離定数 (K_D) で結合する。ある場合において、抗体は、e タウ1 ポリペプチド、e タウ2 ポリペプチド、e タウ3 ポリペプチドおよびe タウ4 ポリペプチドに結合する。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 E D E A A G H V T Q A R (配列番号79) 内のエピトープに結合する。

【0238】

[7299 - M9]

本発明は、タウポリペプチド (例えば、本発明の e タウポリペプチド) 中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号63のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖 C D R および配列番号64のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖 C D R を含む抗体と、エピトープへの結合に対して競合する。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体は、ヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域およびヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は、抗体フラグメント、例えば、F a b フラグメント、F (a b ')₂ フラグメント、s c F v、または F v である。ある場合において、抗体は、e タウ1 ポリペプチド、e タウ2 ポリペプチド、e タウ3 ポリペプチドおよびe タウ4 ポリペプチドに結合する。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 E D E A A G H V T Q A R (配列番号79) 内のエピトープに結合する。

10

20

【0239】

本発明は、タウポリペプチド (例えば、本発明の e タウポリペプチド) 中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号63のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖 C D R を含む軽鎖を含む。本発明は、タウポリペプチド (例えば、本発明の e タウポリペプチド) 中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号64のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖 C D R を含む重鎖を含む。本発明は、タウポリペプチド (例えば、本発明の e タウポリペプチド) 中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号63のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖 C D R および配列番号64のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖 C D R を含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は抗体フラグメントであり、例えば、F a b フラグメント、F (a b ')₂ フラグメント、s c F v、または F v である。ある場合において、抗体は、e タウ1 ポリペプチド、e タウ2 ポリペプチド、e タウ3 ポリペプチドおよびe タウ4 ポリペプチドに結合する。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 E D E A A G H V T Q A R (配列番号79) 内のエピトープに結合する。

30

40

【0240】

本発明は、タウポリペプチド (例えば、本発明の e タウポリペプチド) 中のエピトープへの結合に対して、a) (i) 配列番号57のアミノ酸配列を含む V_L C D R 1、(i i) 配列番号58のアミノ酸配列を含む V_L C D R 2、および (i i i) 配列番号59のアミノ酸配列を含む V_L C D R 3 を含む軽鎖領域、ならびに b) (i) 配列番号60のアミノ酸配列を含む V_H C D R 1、(i i) 配列番号61のアミノ酸配列を含む V_H C D R 2、および (i i i) 配列番号62のアミノ酸配列を含む V_H C D R 3 を含む重鎖領域、を含む抗体と競合する、単離された抗体を提供する。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は

50

、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は S 2 4 1 P 置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、F v、s c F v、F a b、F (a b ') 2、または F a b ' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} M の解離定数 (K_D) で結合する。ある場合において、抗体は、e タウ 1 ポリペプチド、e タウ 2 ポリペプチド、e タウ 3 ポリペプチドおよび e タウ 4 ポリペプチドに結合する。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 E D E A A G H V T Q A R (配列番号 79) 内のエピトープに結合する。

10

20

30

40

50

【0241】

本発明は、タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)に特異的に結合する単離されたモノクローナル抗体を提供し、ここで、該単離された抗体は、1、2、3、4、5 または 6 個の以下の C D R : i) 配列番号 57 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 1 ; (i i) 配列番号 58 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 2 ; および (i i i) 配列番号 59 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 3 ; (i v) 配列番号 60 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 1 ; (v) 配列番号 61 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 2 ; および、(v i) 配列番号 62 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 3、を含む。ある場合において、抗体は、i) 配列番号 57 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 1 ; (i i) 配列番号 58 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 2 ; および (i i i) 配列番号 59 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 3 を含む。ある場合において、抗体は、(i v) 配列番号 60 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 1 ; (v) 配列番号 61 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 2 ; および (v i) 配列番号 62 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 3 を含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3 または I g G 4 のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S 2 4 1 P 置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、F v、s c F v、F a b、F (a b ') 2、または F a b ' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} M の解離定数 (K_D) で結合する。ある場合において、抗体は、e タウ 1 ポリペプチド、e タウ 2 ポリペプチド、e タウ 3 ポリペプチドおよび e タウ 4 ポリペプチドに結合する。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 E D E A A G H V T Q A R (配列番号 79) 内のエピトープに結合する。

【0242】

本発明は、ヒト化軽鎖フレームワーク領域およびヒト化重鎖フレームワーク領域を含む単離されたヒト化モノクローナル抗体を提供し、ここで、該単離された抗体は、タウポリ

ペプチド（例えば、本発明の e タウポリペプチド）に特異的に結合し、ここで、該単離された抗体は、a）(i) 配列番号 57 のアミノ酸配列を含む V_L CDR1、(ii) 配列番号 58 のアミノ酸配列を含む V_L CDR2、および (iii) 配列番号 59 のアミノ酸配列を含む V_L CDR3 を含む軽鎖領域、ならびに b）(i) 配列番号 60 のアミノ酸配列を含む V_H CDR1、(ii) 配列番号 61 のアミノ酸配列を含む V_H CDR2、および (iii) 配列番号 62 のアミノ酸配列を含む V_H CDR3 を含む重鎖領域、を含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ IgG1、IgG2、IgG3 または IgG4 のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ IgG4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S241P 置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105 を参照のこと。ある場合において、抗体は、Fv、scFv、Fab、F(ab')₂、または Fab' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} M の解離定数 (K_D) で結合する。ある場合において、抗体は、e タウ1ポリペプチド、e タウ2ポリペプチド、e タウ3ポリペプチドおよび e タウ4ポリペプチドに結合する。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 EDEAAGHVTQAR (配列番号 79) 内のエピトープに結合する。

【0243】

[7297-2M1]

本発明は、タウポリペプチド（例えば、本発明の e タウポリペプチド）中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号 71 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖 CDR および配列番号 72 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖 CDR を含む抗体と、エピトープへの結合に対して競合する。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体は、ヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域およびヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプ IgG1、IgG2、IgG3、または IgG4 の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は、抗体フラグメント、例えば、Fab フラグメント、F(ab')₂ フラグメント、scFv、または Fv である。ある場合において、抗体は、e タウ1ポリペプチド、e タウ2ポリペプチド、e タウ3ポリペプチドおよび e タウ4ポリペプチドに結合する。ある場合において、抗体は、e タウ2ポリペプチドおよび e タウ1ポリペプチドに結合するが、e タウ3ポリペプチドまたは e タウ4ポリペプチドには結合しない。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 SSPGSPGTPGSR (配列番号 80) 内のエピトープに結合する。

【0244】

本発明は、タウポリペプチド（例えば、本発明の e タウポリペプチド）中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号 71 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖 CDR を含む軽鎖を含む。本発明は、タウポリペプチド（例えば、本発明の e タウポリペプチド）中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号 72 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖 CDR を含む重鎖を含む。本発明は、タウポリペプチド（例えば、本発明の e タウポリペプチド）中のエピトープに結合する単離された抗体を提供し、ここで、該抗体は、配列番号 71 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖 CDR および配列番号 72 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖 CDR を含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例に

において、抗体はヒト化重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は抗体フラグメントであり、例えば、F a b フラグメント、F (a b ')₂ フラグメント、s c F v、または F v である。ある場合において、抗体は、e タウ 1 ポリペプチド、e タウ 2 ポリペプチド、e タウ 3 ポリペプチドおよび e タウ 4 ポリペプチドに結合する。ある場合において、抗体は、e タウ 2 ポリペプチドおよび e タウ 1 ポリペプチドに結合するが、e タウ 3 ポリペプチドまたは e タウ 4 ポリペプチドには結合しない。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 S S P G S P G T P G S R (配列番号 8 0) 内のエピトープに結合する。

10

【 0 2 4 5 】

本発明は、タウポリペプチド (例えば、本発明の e タウポリペプチド) 中のエピトープへの結合に対して、a) (i) 配列番号 6 5 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 1、(i i) 配列番号 6 6 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 2、および (i i i) 配列番号 6 7 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 3 を含む軽鎖領域、ならびに b) (i) 配列番号 6 8 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 1、(i i) 配列番号 6 9 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 2、および (i i i) 配列番号 7 0 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 3 を含む重鎖領域、を含む抗体と競合する、単離された抗体を提供する。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は S 2 4 1 P 置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30 : 105 を参照のこと。ある場合において、抗体は、F v、s c F v、F a b、F (a b ')₂、または F a b ' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ (エチレングリコール) ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} M の解離定数 (K_D) で結合する。ある場合において、抗体は、e タウ 1 ポリペプチド、e タウ 2 ポリペプチド、e タウ 3 ポリペプチドおよび e タウ 4 ポリペプチドに結合する。ある場合において、抗体は、e タウ 2 ポリペプチドおよび e タウ 1 ポリペプチドに結合するが、e タウ 3 ポリペプチドまたは e タウ 4 ポリペプチドには結合しない。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 S S P G S P G T P G S R (配列番号 8 0) 内のエピトープに結合する。

20

30

【 0 2 4 6 】

本発明は、タウポリペプチド (例えば、本発明の e タウポリペプチド) に特異的に結合する単離されたモノクローナル抗体を提供し、ここで、該単離された抗体は、1、2、3、4、5 または 6 個の以下の C D R : i) 配列番号 6 5 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 1 ; (i i) 配列番号 6 6 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 2 ; および (i i i) 配列番号 6 7 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 3 ; (i v) 配列番号 6 8 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 1 ; (v) 配列番号 6 9 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 2 ; および、(v i) 配列番号 7 0 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 3、を含む。ある場合において、抗体は、i) 配列番号 6 5 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 1 ; (i i) 配列番号 6 6 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 2 ; および (i i i) 配列番号 6 7 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 3 を含む。ある場合において、抗体は、(i v) 配列番号 6 8 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 1 ; (v) 配列番号 6 9 のアミノ酸配列を含む V_H C D R

40

50

2 ; および (v i) 配列番号 70 のアミノ酸配列を含む V_H CDR 3 を含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3 または I g G 4 のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S 2 4 1 P 置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105 を参照のこと。ある場合において、抗体は、F v、s c F v、F a b、F (a b ') 2、または F a b ' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} M の解離定数 (K_D) で結合する。ある場合において、抗体は、e タウ 1 ポリペプチド、e タウ 2 ポリペプチド、e タウ 3 ポリペプチドおよび e タウ 4 ポリペプチドに結合する。ある場合において、抗体は、e タウ 2 ポリペプチドおよび e タウ 1 ポリペプチドに結合するが、e タウ 3 ポリペプチドまたは e タウ 4 ポリペプチドには結合しない。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 S S P G S P G T P G S R (配列番号 80) 内のエピトープに結合する。

【0247】

本発明は、ヒト化軽鎖フレームワーク領域およびヒト化重鎖フレームワーク領域を含む単離されたヒト化モノクローナル抗体を提供し、ここで、該単離された抗体は、タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)に特異的に結合し、ここで、該単離された抗体は、a) (i) 配列番号 65 のアミノ酸配列を含む V_L CDR 1、(i i) 配列番号 66 のアミノ酸配列を含む V_L CDR 2、および (i i i) 配列番号 67 のアミノ酸配列を含む V_L CDR 3 を含む軽鎖領域、ならびに b) (i) 配列番号 68 のアミノ酸配列を含む V_H CDR 1、(i i) 配列番号 69 のアミノ酸配列を含む V_H CDR 2、および (i i i) 配列番号 70 のアミノ酸配列を含む V_H CDR 3 を含む重鎖領域、を含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3 または I g G 4 のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S 2 4 1 P 置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105 を参照のこと。ある場合において、抗体は、F v、s c F v、F a b、F (a b ') 2、または F a b ' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} M の解離定数 (K_D) で結合する。ある場合において、抗体は、e タウ 1 ポリペプチド、e タウ 2 ポリペプチド、e タウ 3 ポリペプチドおよび e タウ 4 ポリペプチドに結合する。ある場合において、抗体は、e タウ 2 ポリペプチドおよび e タウ 1 ポリペプチドに結合するが、e タウ 3 ポリペプチドまたは e タウ 4 ポリペプチドには結合しない。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 S S P G S P G T P G S R (配列番号 80) 内のエピトープに結合する。

【0248】

組み換え抗体

目的の抗タウ抗体は、組み換えられていてよい。該抗体は、軽鎖および/または重鎖を

含み得る。組み換え抗体の作製方法は、当技術分野で公知である。例えば、該抗体、または重鎖ポリペプチドの少なくとも1個の相補性決定領域(CDR)または軽鎖ポリペプチドの少なくとも1個のCDRをコードする核酸を、宿主細胞に直接導入し、該細胞を、コードされた抗体の発現が誘導されるのに十分な条件下でインキュベートする。組み換え抗体は、宿主細胞において内因性グリコシラーゼによりグリコシル化されてよい。組み換え抗体は、グリコシル化されなくてもよい。あるいは、組み換え抗体は、変化したグリコシル化パターンを有してもよい。

【0249】

抗体が組み換え型であるとき、該抗体はキメラであり得る。キメラ抗体は、ヒトおよび非ヒト部分を含む免疫グロブリン分子である。より具体的には、ヒト化キメラ抗体の抗原結合領域(または、可変領域)は、非ヒト供給源(例えばマウス)に由来し、キメラ抗体の定常領域(免疫グロブリンに生物学的エフェクター機能を付与する)は、ヒト供給源に由来する。キメラ抗体は、非ヒト抗体分子の抗原結合特異性およびヒト抗体分子により付与されるエフェクター機能を有し得る。キメラ抗体を作製する多くの方法が当業者によく知られている。別の方法は、組み換えDNA技術によりヒト定常領域に非ヒト抗体のCDR領域を連結することによるヒト化抗体の作製である。

10

【0250】

目的のタウペプチドに特異的な組み換え融合抗体は、該抗体が異種タンパク質を含むように改変されることが意図される。例えば、重鎖ポリペプチドおよび/または軽鎖ポリペプチドは、レポータータンパク質または所望の治療効果を有するタンパク質に結合されていてよい。レポータータンパク質は蛍光タンパク質であり得る。抗体はまた、第二の抗体(または、少なくとも1個のその抗原結合部分)に結合されていてよい。核酸配列が提供されるとき、目的の融合タンパク質を作製する方法は、当該分野でよく知られている。

20

【0251】

ヒト化およびヒト抗体

フレームワーク領域(複数可)のヒト化は、ヒトにおけるヒト-抗マウス-抗体(HAMA)応答を誘発する抗体の危険性を低減する。免疫応答を決定する当業者に認められる方法は、特定の患者または臨床試験中の患者におけるHAMA応答をモニターすることで実行され得る。ヒト化抗体を投与される患者は、治療開始時および投与期間中に免疫原性評価をされ得る。HAMA応答は、例えば、表面プラズモン共鳴技術(BIACORE)および/または固相酵素免疫定量法(ELISA)分析を含む当業者に公知の方法を用いて、患者からの血清サンプル中、ヒト化治療用薬剤に対する抗体を検出することにより、測定される。多くの場合に、目的のヒト化抗タウ抗体は、ヒト対象におけるHAMA応答を実質的に誘発しない。ある場合において、目的のヒト化抗タウ抗体は、CD8⁺ 欠失末梢血単核細胞を用いて行われるEpiScreen(商標)アッセイにより決定されたとおり、免疫原性を低減させた。ある場合において、目的のヒト化抗タウ抗体は、2.0未満の刺激指数を示す。ヒト化抗体のリスクを誘発低減します

30

【0252】

ヒト可変領域フレームワーク残基由来の任意のアミノ酸は、それらのCDR立体構造への考えられる影響および/または抗原への結合性に基づいて置換のために選択される。ヒト可変フレームワーク領域を含むマウスCDR領域の天然では生じない並置は、天然では生じない立体構造制限を生じることがあり、この制限は所定のアミノ酸残基の置換により修正されない限り、結合親和性の損失をもたらす。

40

【0253】

置換されるアミノ酸残基の選択は、1つには、コンピューターモデリングを用いて決定され得る。免疫グロブリン分子の3次元画像を作成するためのコンピューターハードウェアおよびソフトウェアが、当技術分野で公知である。一般的に、分子モデルは、免疫グロブリン鎖またはそのドメインに関する解明された構造から出発して生成される。モデリングされる鎖は、該鎖のアミノ酸配列の、解明された3次元構造の鎖またはドメインとの類似性が比較され、最大の配列類似性を示す鎖またはドメインが、分子モデル構成の出発点

50

として選択される。少なくとも50%の配列同一性を共有する鎖またはドメインが、モデリングのために選択され、例えば、少なくとも60%、70%、80%、90%、または90%以上の配列を共有するものがモデリングのために選択される。解明された出発構造は、モデリングされている免疫グロブリン鎖またはドメイン内の実際のアミノ酸と、出発構造内のアミノ酸との差異を許容するよう修飾される。次いで、修飾構造は、複合体免疫グロブリンに組み立てられる。最終的に、モデルは、エネルギー最小化し、また全ての原子が互いから適切な距離内に存在し、結合の長さや角度が化学的に許容される限界内にあることを検証することにより精密化される。

【0254】

C D Rおよびフレームワーク領域は、Kabatの、Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1987 および 1991)により定義される。別の構造的定義が、Chothiaらの、J. Mol. Biol. 196:901 (1987); Nature 342:878 (1989); および、J. Mol. Biol. 186:651 (1989) (まとめて、“Chothia”という)により提案されている。上記のKabatに定義されるフレームワーク残基が、上記のChothiaに定義される構造的ループ残基を構成するとき、マウス抗体中に存在するアミノ酸は、ヒト化抗体への置換のために選択され得る。“C D R領域に隣接する”残基は、ヒト化免疫グロブリン鎖の一次配列中の1つまたはそれ以上のC D R、例えば、Kabatにより定義されるC D R、またはChothiaにより定義されるC D Rに直接隣接する位置のアミノ酸残基を含む(例えば、Chothia and Lesk JMB 196:901 (1987)を参照のこと)。これらのアミノ酸は、アクセプターから選択されたとき、特にC D R内のアミノ酸と相互作用し、ドナーC D Rを変形させ、親和性を低減させる。さらに、隣接アミノ酸は、抗原と直接的に相互作用することができ(Amit et al., Science, 233:747 (1986))、これらのアミノ酸をドナーから選択することは、元々の抗体に親和性を提供する全ての抗原接点を維持することが望ましいかもしれない。

【0255】

目的の抗タウ抗体は、ある態様において、ヒト化され得る。アミノ酸は、親非ヒト(例えば、マウスモノクローナル)抗体のフレームワーク領域において置換されて、抗体親非ヒト抗体よりもヒトにおいて低免疫原性である修飾抗体を作製することができる。抗体は、当技術分野で公知の種々の技術を用いてヒト化され得る。フレームワーク置換は、抗原結合に重要なフレームワーク残基を同定するためのC D Rとフレームワーク残基との相互作用のモデリングおよび特定の位置における異常なフレームワーク残基を同定するための配列比較により、同定される。

【0256】

抗体はまた、完全ヒト抗体であってよい。ヒト抗体は、主として特徴的ヒトポリペプチド配列から構成されている。目的のヒト抗体は、多種多様な方法によって製造することができる。例えば、ヒト抗体は、初めに、トリオーマ細胞(3つの細胞、2つはヒト細胞および1つはマウス細胞の子孫)において製造され得る。次いで、抗体をコードする遺伝子をクローン化し、他の細胞、特に非ヒト哺乳動物細胞で発現させる。トリオーマ技術によってヒト抗体を産生するための一般的なアプローチは、当技術分野において既報である。

【0257】

従って、本発明は、本発明のタウペプチドに結合する抗体をコードする核酸配列を含むDNA分子を企図する。本発明はさらに、本発明の抗体の重鎖ポリペプチドの少なくとも1個のC D Rおよび軽鎖ポリペプチドの少なくとも1個のC D Rをコードする外因性ポリヌクレオチドを含む組換え宿主細胞を企図する。

【0258】

s c F v

ある態様において、本発明の抗体は、抗タウ抗体重鎖C D Rおよび抗タウ抗体軽鎖C D Rの一本鎖ポリペプチドを含み、例えば、ある態様において、本発明の抗体はs c F vである。ある態様において、本発明の抗体は、N末端からC末端の順に、約5アミノ酸長から約25アミノ酸長の第一のアミノ酸配列; 抗タウ抗体の重鎖C D R 1; 約5アミノ酸長

10

20

30

40

50

から約25アミノ酸長の第二のアミノ酸配列；抗タウ抗体の重鎖CDR2；約5アミノ酸長から約25アミノ酸長の第三のアミノ酸配列；抗タウ抗体の重鎖CDR3；約5アミノ酸長から約25アミノ酸長の第四のアミノ酸配列；抗タウ抗体の軽鎖CDR1；約5アミノ酸長から約25アミノ酸長の第五のアミノ酸配列；抗タウ抗体の軽鎖CDR2；約5アミノ酸長から約25アミノ酸長の第六のアミノ酸配列；抗タウ抗体の軽鎖CDR3；および、約5アミノ酸長から約25アミノ酸長の第七のアミノ酸配列を含む。

【0259】

ある態様において、目的の抗タウ抗体は、s c F v多量体を含む。例えば、ある態様において、目的の抗タウ抗体は、s c F v二量体（例えば、2つのタンデムs c F v (s c F v₂)を含む）、s c F v三量体（例えば、3つのタンデムs c F v (s c F v₃)を含む）、s c F vテトラマー（例えば、4つのタンデムs c F v (s c F v₄)を含む）であり、または5つ以上のs c F vの多量体（例えば、タンデムで）である。s c F v単量体は、約2アミノ酸長から約10アミノ酸（aa）長、例えば、2aa、3aa、4aa、5aa、6aa、7aa、8aa、9aa、または10aa、のリンカーを介してタンデムに連結されていてよい。好適なリンカーには、例えば、(Gly)_x（式中、xは、2から10の整数である）が含まれる。他の好適なリンカーは、上記のものである。ある態様において、目的のs c F V多量体における各s c F v単量体は、上記の通り、ヒト化されている。

10

【0260】

抗体修飾

目的の抗タウ抗体は、1個またはそれ以上の修飾を含み得る。

20

【0261】

ある態様において、本発明の抗体は、カルボキシル末端に遊離チオール(-SH)基を含んでいてよく、ここで、該遊離チオール基は、第二のポリペプチド（例えば、本発明の抗体を含む別の抗体）、足場(scaffold)、担体などに該抗体を結合させるために用いることができる。

【0262】

ある態様において、本発明の抗体は、1つまたはそれ以上の天然に存在しないアミノ酸を含む。ある態様において、天然にコード化されないアミノ酸には、カルボニル基、アセチル基、アミノオキシ基、ヒドラジン基、ヒドラジド基、セミカルバジド基、アジド基、またはアルキレン基が含まれる。好適な天然に存在しないアミノ酸に関して、例えば、米国特許番号第7,632,924号を参照のこと。天然に存在しないアミノ酸を含むと、ポリマー、第二のポリペプチド、足場などへの結合が可能となる。例えば、水溶性ポリマーに結合した本発明の抗体は、カルボニル基を含む水溶性ポリマー（例えば、PEG）を抗体に反応させることにより作製可能であって、ここで、該抗体は、アミノオキシ、ヒドラジン、ヒドラジドまたはセミカルバジド基を含む天然にコード化されないアミノ酸を含む。別の例としては、水溶性ポリマーに結合した本発明の抗体は、アルキレン含有アミノ酸を含む本発明の抗体を、アジド基を含む水溶性ポリマー（例えば、PEG）と反応させて製造することができる。ある態様において、該アジドまたはアルキレン基は、アミド結合を介してPEG分子に結合している。“天然にコード化されないアミノ酸”は、20種の必須アミノ酸うちの1つまたはパイロリジン(pyrrolysine)またはセレノシステインでないアミノ酸を意味する。用語“天然にコード化されないアミノ酸”と同義に用いられ得る他の用語は、“天然ではないアミノ酸”、“非天然アミノ酸”、“天然に存在しないアミノ酸”ならびにそのハイフンをつないだ変形およびハイフンをつながない変形を含む。用語“天然にコード化されないアミノ酸”はまた、翻訳複合体によりポリペプチド鎖の伸張時に天然に挿入されないが、天然にコード化されるアミノ酸（20個の共通アミノ酸またはパイロリジン(pyrrolysine)およびセレノシステイン）の修飾（例えば、翻訳後修飾）により生じるアミノ酸を含むが、これらに限定されない。かかる天然に存在しないアミノ酸の例には、N-アセチルグルコサミニル-L-セリン、N-アセチルグルコサミニル-L-スレオニン、およびO-ホスホチロシンが含まれるが、これらに限定されない

30

40

50

。

【0263】

ある態様において、本発明の抗体は、ポリマー（例えば、ポリペプチド以外のポリマー）に結合（例えば、共有結合）している。好適なポリマーには、例えば、生体適合性ポリマー、および水溶性の生体適合性ポリマーが含まれる。好適なポリマーには、合成ポリマーおよび天然に存在するポリマーが含まれる。好適なポリマーには、例えば、置換または非置換の直鎖または分枝鎖ポリアルキレン、ポリアルケニレンまたはポリオキシアルキレンポリマー類または分枝状もしくは非分枝状ポリサッカライド類、例えばホモ-またはヘテロ-ポリサッカライドが含まれる。好適なポリマーには、例えば、エチレンビニルアルコールコポリマー（一般名EVOHまたは商品名EVALとして知られる）；ポリブチルメタクリレート；ポリ（ヒドロキシバレレート）；ポリ（L-乳酸）；ポリカプロラクトン；ポリ（ラクチド-コ-グリコリド）；ポリ（ヒドロキシブチレート）；ポリ（ヒドロキシブチレート-コ-バレレート）；ポリジオキサノン；ポリオルトエステル；ポリ酸無水物；ポリ（グリコール酸）；ポリ（D, L-乳酸）；ポリ（グリコール酸-コ-トリメチレンカーボネート）；ポリリン酸エステル；ポリリン酸エステルウレタン；ポリ（アミノ酸）；シアノアクリレート；ポリ（トリメチレンカーボネート）；ポリ（イミノカーボネート）；コポリ（エーテル-エステル）（例えば、ポリ（エチレンオキシド）-ポリ（乳酸）（PEO/PLA）のコポリマー）；ポリアルキレンオキサレート；ポリホスファゼン；フィブリン、フィブリノーゲン、セルロース、デンプン、コラーゲンおよびヒアルロン酸などの生体分子；ポリウレタン；シリコン；ポリエステル；ポリオレフィン；ポリイソブチレンおよびエチレン-オレフィンコポリマー；アクリルポリマーおよびアクリルコポリマー；ポリ塩化ビニルなどのハロゲン化ビニルポリマーおよびハロゲン化ビニルコポリマー；ポリビニルメチルエーテルなどのポリビニルエーテル類；ポリフッ化ビニリデンおよびポリ塩化ビニリデンなどのポリビニリデンハライド；ポリアクリロニトリル；ポリビニルケトン；ポリスチレンなどのポリビニル芳香族化合物；ポリビニルアセテートなどのポリビニルエステル類；エチレン-メチルメタクリレートコポリマー、アクリロニトリル-スチレンコポリマー、ABS樹脂、およびエチレン-ビニルアセテートコポリマーなどの互いを有するビニルモノマーとオレフィンのコポリマー；ナイロン66およびポリカプロラクタムなどのポリアミド；アルキド樹脂類；ポリカーボネート；ポリオキシメチレン；ポリイミド；ポリエーテル；エポキシ樹脂類；ポリウレタン；レーヨン；レーヨン-トリアセテート；セルロース；セルロースアセテート；セルロースブチレート；セルロースアセテートブチレート；セロファン；セルロースニトレート；セルロースプロピオネート；セルロースエーテル；アモルファステフロン；ポリ（エチレングリコール）；ならびに、カルボキシメチルセルロースが含まれる。

10

20

30

40

。

【0265】

好適なポリマーは、500Daから50000Da、例えば、5000Daから40000Da、または25000から40000Daの範囲の平均分子量を有し得る。例えば、ある態様において、本発明の抗体が、ポリ（エチレングリコール）（PEG）またはメトキシポリ（エチレングリコール）ポリマーを含むとき、PEGまたはメトキシポリ（エチレングリコール）ポリマーは、約0.5キロダルトン（kDa）から1kDa、約1kDaから5kDa、5kDaから10kDa、10kDaから25kDa、25kDaから40kDa、または40kDaから60kDaの範囲の分子量を有し得る。

50

【0266】

上記の通り、ある態様において、本発明の抗体は、PEGポリマーに共有結合している。ある態様において、目的のscFv多量体は、PEGポリマーに共有結合している。例えば、Albrecht et al. (2006) J. Immunol. Methods 310:100を参照のこと。タンパク質のPEG化に好適な方法および反応剤は、当技術分野で公知であり、例えば、米国特許番号第5,849,860号に見出され得る。タンパク質との結合に好適なPEGは、一般に、室温で水に可溶であり、一般式 $R(O-CH_2-CH_2)_nO-R$ (式中、Rは水素またはアルキルもしくはアルカノール基のような保護基であり、nは1から1000までの整数である) を有する。式中、Rが保護基であるとき、それは一般的に、1から8個の炭素を有する。

【0267】

PEGと複合体形成した本発明の抗体は直鎖状であってよい。PEGと複合体形成した目的のタンパク質はまた、分枝状であってよい。米国特許番号第5,643,575号に記載のような“star-PEG”、およびShearwater Polymers, Inc. catalog “Polyethylene Glycol Derivatives 1997-1998.”に記載のような多分枝PEGなどの分枝状PEG誘導体が存在し、スターPEGは、例えば、米国特許番号第6,046,305号を含む、当技術分野の文献に記載されている。

【0268】

本発明の抗体は、グリコシル化されていてよく、例えば、本発明の抗体は、共有結合した糖または多糖部分を含み得る。抗体のグリコシル化は、典型的に、N-結合型またはO-結合型のいずれかである。N-結合型は、アスパラギン残基の側鎖への糖部分の結合を意味する。アスパラギン-X-セリンおよびアスパラギン-X-スレオニン(ここで、Xは、プロリンを除く任意のアミノ酸である)のトリペプチド配列は、アスパラギン側鎖への糖鎖部分の酵素的結合のための認識配列である。従って、ポリペプチド中にこれらのトリペプチド配列の何れかが存在すると、潜在的なグリコシル化部位が存在することになる。O-結合型グリコシル化は、ヒドロキシアミノ酸、最も一般的にはセリンまたはスレオニンに、糖類N-アセチルガラクトサミン、ガラクトース、またはキシロースの一つが結合することを意味するが、5-ヒドロキシプロリンまたは5-ヒドロキシリジンが用いられることもある。

【0269】

抗体へのグリコシル化部位の付加は、アミノ酸配列を、上記のトリペプチド配列(N-結合グリコシル化部位の場合)の1つまたはそれ以上が含まれるように変化させることによって都合よく達成することができる。この変化は、基となる抗体の配列への1つまたはそれ以上のセリンまたはスレオニン残基の付加または置換によってもなされる(O-結合グリコシル化部位の場合)。同様に、グリコシル化部位の除去は、抗体の天然のグリコシル化部位内のアミノ酸を改変することによって達成され得る。

【0270】

本発明の抗体は、ある態様において、“放射線不透過性の”標識、例えば、X線を用いて容易に可視化できる標識を含む。放射線不透過性物質は、当業者に周知である。最も一般的な放射線不透過性物質としては、ヨウ化物、臭化物またはバリウム塩が含まれる。他の放射線不透過性物質もまた公知であり、有機ビスマス誘導体(例えば、米国特許番号第5,939,045号を参照のこと)、放射線不透過性マルチウレタン(米国特許番号第5,346,981号を参照のこと)、有機ビスマス複合材料(例えば、米国特許番号第5,256,334号を参照のこと)、放射線不透過性バリウム多量体(例えば、米国特許番号第4,866,132号を参照のこと)などが含まれるが、これらに限定されない。

【0271】

本発明の抗体は、例えば、グルタルアルデヒド、ホモ二官能性架橋剤、またはヘテロ二官能性架橋剤を用いて、第2の部分(例えば、脂質、本発明の抗体以外のポリペプチド、合成ポリマー、糖など)と共有結合することができる。グルタルアルデヒドは、それらのアミノ部分を介してポリペプチドと結合する。ホモ二官能性架橋剤(例えば、ホモ二官能

10

20

30

40

50

性イミドエステル、ホモ二官能性 N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) エステル、またはホモ二官能性スルフヒドリル反応性架橋剤) は、2つまたはそれ以上の同一の反応性部分を含み、この架橋剤が、結合するポリペプチドの混合物を含む溶液に添加される一段階反応手順で使用することができる。ホモ二官能性 N H S エステルおよびイミドエステルは、ポリペプチドを含むアミンを結合させる。穏やかなアルカリ性の pH では、イミドエステルは第一級アミンとのみ反応して、イミドアミドを形成し、クロスリンクされたポリペプチドの全体的な電荷は影響を受けない。ホモ二官能性スルフヒドリル反応性架橋剤には、ビスマレイミドヘキサソ(B M H)、1, 5 - ジフルオロ - 2, 4 - ジニトロベンゼン (D F D N B)、および 1, 4 - ジ - (3', 2' - ピリジルジチオ) プロピオアミドブタン) (D P D P B) が含まれる。

10

【 0 2 7 2 】

ヘテロ二官能性架橋剤は、2つまたはそれ以上の異なる反応性部分(例えば、アミン反応性部分およびスルフヒドリル反応性部分)を有し、アミン反応性部分またはスルフヒドリル反応性部分を介して、ポリペプチドの1つとクロスリンクされ、次いで、反応していない部分を介して他のポリペプチドと反応する。ピリジルジスルフィド架橋剤のように、複数のヘテロ二官能性ハロアセチル架橋剤が利用できる。カルボジイミドは、アミド結合をもたらす、アミンにカルボキシルをカップリングするためのヘテロ二官能性架橋剤の典型例である。

【 0 2 7 3 】

固定化法

本発明の抗体は、固体支持体上に固定化することができる。好適な支持体は当技術分野で周知であり、とりわけ、市販のカラム材料、ポリスチレンビーズ、ラテックスビーズ、磁気ビーズ、コロイド金属粒子、ガラスおよび/またはシリコンのチップならびにガラスおよび/またはシリコンの表面、ニトロセルロースストリップ、ナイロン膜、シート、反応トレーのウェル(例えば、マルチウェルプレート)、ならびにプラスチックチューブなどが含まれる。固体支持体は、例えば、ガラス、ポリスチレン、ポリ塩化ビニル、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリカーボネート、デキストラン、ナイロン、アミロース、天然セルロースおよび修飾セルロース、ポリアクリルアミド、アガロース、ならびに磁鉄鉱を含む種々の物質のいずれかを含み得る。固体支持体上に本発明の抗体を固定化するための好適な方法は周知であり、イオン性、疎水性、および共有結合性の相互作用などを含むが、これらに限定されない。固体支持体は、例えば、水溶液に可溶性または不溶性であり得る。ある態様において、好適な固体支持体は、一般に、水溶液に不溶性である。

20

30

【 0 2 7 4 】

検出可能なラベル

ある態様において、本発明の抗体は、検出可能なラベルを含む。好適な検出可能なラベルには、分光学的手段、光化学的手段、生化学的手段、免疫化学的手段、電気的手段、光学的手段または化学的手段により検出可能な任意の組成物が含まれる。好適な検出可能なラベルには、磁気ビーズ(例えば、Dyna bead[®](商標))、蛍光色素(例えば、フルオレセインイソチオシアネート、テキサスレッド、ローダミン、緑色蛍光タンパク質、赤色蛍光タンパク質、および黄色蛍光タンパク質など)、放射性標識(例えば、³H、¹²⁵I、³⁵S、¹⁴C、または³²P)、酵素(例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、ルシフェラーゼ、および酵素免疫測定法(ELISA)で一般的に用いられる他の酵素)、ならびにコロイド金もしくは着色ガラスまたはプラスチック(例えば、ポリスチレン、ポリプロピレン、およびラテックスなど)のビーズなどの比色ラベルが含まれるが、これらに限定されない。

40

【 0 2 7 5 】

ある態様において、本発明の抗体は、造影剤または放射性同位元素を含み、この造影剤または放射性同位元素は、造影、例えば、ヒトで行われる造影法で使用するのに適するものである。標識の非限定的な例としては、¹²³I(ヨウ素)、¹⁸F(フッ素)、⁹⁹Tc(テクネチウム)、¹¹¹In(インジウム)、および⁶⁷Ga(ガリウム)など

50

の放射性同位元素、ならびにガドリニウム (Gd)、ジスプロシウム、および鉄などの造影剤が含まれる。放射性 Gd アイソトープ (^{153}Gd) も利用可能であり、非ヒト哺乳動物における造影処理に適する。本発明の抗体は、標準的な技術を用いて標識することができる。例えば、本発明の抗体は、クロラミン T または 1, 3, 4, 6 - テトラクロロ - 3, 6 - ジフェニルグリコールウリルを用いてヨウ素化することができる。フッ素化では、フッ素は、フッ化物イオンの置換反応によって、合成時に本発明の抗体に添加される。かかる放射性同位元素を用いるタンパク質の合成の概説については、Muller - Gartner, H., TIB Tech., 16: 122 - 130 (1998) および Saji, H., Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst., 16(2): 209 - 244 (1999) を参照のこと。本発明の抗体は、標準的な技術を用いて造影剤でも標識することができる。例えば、本発明の抗体は、Gd ジエチレントリアミン五酢酸 (Gd DTPA) または Gd テトラアザシクロドデカンテトラ酢酸 (Gd DOTPA) などの低分子 Gd キレートを経抗体に結合させることによって Gd で標識することができる。Caravan et al., Chem. Rev. 99: 2293 - 2352 (1999) and Lauffer et al., J. Magn. Reson. Imaging, 3: 11 - 16 (1985) を参照のこと。本発明の抗体は、例えば、ポリリジン - Gd キレートを本抗体に結合させることによって Gd で標識することができる。例えば、Curtet et al., Invest. Radiol., 33(10): 752 - 761 (1998) を参照のこと。あるいは、本発明の抗体は、アビジンを有する Gd キレート脂質を含む常磁性の重合リポソームおよびビオチン化抗体をインキュベートすることによって Gd で標識することができる。例えば、Sipkins et al., Nature Med., 4: 623 - 626 (1998) を参照のこと。

10

20

【0276】

本発明の抗体に結合することができる好適な蛍光タンパク質には、例えば、米国特許第 6, 066, 476 号、同第 6, 020, 192 号、同第 5, 985, 577 号、同第 5, 976, 796 号、同第 5, 968, 750 号、同第 5, 968, 738 号、同第 5, 958, 713 号、同第 5, 919, 445 号、同第 5, 874, 304 号に記載のオワンクラゲ由来の緑色蛍光タンパク質またはその変異体もしくは誘導体；例えば、高感度 GFP、例えば、クロンテック社から市販されている多くのそのような GFP；赤色蛍光タンパク質；黄色蛍光タンパク質；ならびに、例えば、Matz et al. (1999) Nature Biotechnol. 17: 969 - 973 に記載の、花虫類種由来の種類の蛍光タンパク質および着色タンパク質のいずれかなどが含まれるが、これらに限定されない。

30

【0277】

融合パートナー

ある態様において、本発明の抗体は、融合パートナー、例えば、リガンド；エピトープタグ；ペプチド；抗体以外のタンパク質など、に結合（例えば、共有結合または非共有結合）されてよい。好適な融合パートナーには、インビボでの安定性の強化（例えば、血清半減期の増加）をもたらすペプチドおよびポリペプチド；精製の容易さをもたらすペプチドおよびポリペプチド、例えば、(His)_n、例えば、6His など；細胞から融合タンパク質を分泌させるペプチドおよびポリペプチド；エピトープタグを提供するペプチドおよびポリペプチド、例えば、グルタチオン - S - トランスフェラーゼ (GST)、ヘマグルチニン (HA；例えば、YPYDVPDYA；配列番号 74)、FLAG（例えば、DYKDDDDK；配列番号 75）、c - myc（例えば、EQKLISEEDL；配列番号 76）など；検出可能なシグナルを提供するペプチドおよびポリペプチド、例えば、検出可能な産物を生成する酵素（例えば、 α - ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ、西洋わさびペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼなど）、またはそれ自体が検出可能であるタンパク質、例えば、緑色蛍光タンパク質、赤色蛍光タンパク質、黄色蛍光タンパク質など；ならびに、多量体化をもたらすペプチドおよびポリペプチドが含まれる。

40

【0278】

融合には、例えば、同定または精製に有用な、固体支持体上に固定化されたものなどの結合パートナーと相互作用することができるペプチド配列を含む親和性ドメインも含まれる。ヒスチジンなどの連続した単一アミノ酸は、タンパク質と融合させると、ニッケルセファロースなどの樹脂カラムへの高親和性結合によって、この融合タンパク質の一段階

50

精製のために用いることができる。親和性ドメインの例としては、(His)₅(HHHHH)(配列番号81)、(His)₆(HHHHHH)(配列番号82)、C-myc(EQKLISEEDL)(配列番号76)、Flag(DYKDDDDK)(配列番号75)、Streptag(WSH PQFEK)(配列番号83)、赤血球凝集素、例えば、HAタグ(YPYDVPDYA;配列番号74)、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ(GST)、チオレドキシン、セルロース結合ドメイン、RYIRS(配列番号84)、Phe-His-His-Thr(配列番号85)、キチン結合ドメイン、S-ペプチド、T7ペプチド、SH2ドメイン、C末端RNAタグ、WEAAAREACCRCARA(配列番号86)、金属結合ドメイン、例えば、亜鉛結合ドメイン、またはカルシウム結合タンパク質、例えば、カルモジュリン、トロポニンC、カルシニューリンB、ミオシン軽鎖、リカパリン、S-モジュリン、ビジニン、VILIP、ニューロカルシン、ヒポカルシン、フリクエニン、カルトラクチン、カルバインの大サブユニット、S100タンパク質、パルプアルブミン、カルピンジンD9K、カルピンジンD28K、およびカルレチニン、インテイン、ピオチン、ストレプトアビジン、MyoD、ロイシンジッパー配列、およびマルトース結合タンパク質に由来するドメインなどのカルシウム結合ドメインが含まれる。

【0279】

さらなる修飾

ある態様において、本発明の抗体は、糖部分を含むように改変され、この糖部分は本抗体に共有結合することができる。ある態様において、本発明の抗体は脂質部分を含むように改変され、この脂質部分は本抗体に共有結合することができる。好適な脂質部分には、例えば、N-ラウロイル、N-オレオイルなどのN-脂肪酸アシル基；ドデシルアミン、オレオイルアミンなどの脂肪族アミン；およびC3~C16の長鎖脂肪族脂質などが含まれる。例えば、米国特許第6,638,513号を参照のこと。ある態様において、本発明の抗体はリポソームに組み込まれている。

【0280】

本発明の抗タウ抗体は、コンジュゲートしていない物質に対して細胞取り込みを改変する部分を含むように修飾され得る。修飾された抗体は、コンジュゲートしていない物質に対して増加した細胞取り込みを示し得る。別の態様において、修飾された抗体は、修飾されていない抗体に対して低下した細胞取り込みを示す。この面において、細胞取り込みの効率は、エンドサイトーシスを促進するペプチドまたはまたはタンパク質に結合させることにより増減することができる。例えば、所定の抗体は、標的受容体のリガンドまたは別の抗体などのエンドサイトーシスの機構によってより容易に取り込まれる大分子(large molecule)に連結され得る。その後、抗体または他のリガンドは、エンドサイトーシスにより内在化され得て、そしてエンドサイトーシス小胞がリソソームと融合するとき、酸加水分解または酵素活性によりペイロードが放出される。このように、コンジュゲートは、コンジュゲートしていない抗体に対してエンドサイトーシスを増加させるものであり得る。細胞取り込みを減少させるために、修飾された抗体は、細胞取り込みのためのコントロールとして有用であり得るか、または場合によっては、ある細胞型における取り込みを減少させる一方で他の細胞型における取り込みを増加させ得る、細胞表面上に抗体を保持するリガンドを含み得る。

【0281】

本発明の抗タウ抗体は、直接またはリンカー、例えばフレキシブルリンカーを仲介して、抗タウ抗体に結合(例えば、共有結合または非共有結合)されていてよい、1個またはそれ以上の部分を含み得る。例えば、本発明の抗タウ抗体が抗タウ抗体および異種融合パートナーポリペプチドを含む融合タンパク質であるとき、異種融合パートナーは、リンカーを仲介して抗タウ抗体に連結されていてよい。

【0282】

本発明の抗タウ抗体にある部分を連結するための使用に好適なリンカーは、“可動性リンカー”を含む。リンカー分子は、それが存在するとき、一般的に、抗タウ抗体と担体と

10

20

30

40

50

の間の柔軟な動きを可能にするのに、該抗タウ抗体と連結された部分間の十分な長さである。リンカー分子は一般的に、約 6 ~ 50 個の原子の長さである。これらのリンカー分子はまた、例えば、アリアルアセチレン、2 ~ 10 のモノマー単位を含むエチレングリコールオリゴマー、ジアミン、二酸、アミノ酸、またはそれらの組み合わせであることもできる。ポリペプチドに結合し得る他のリンカー分子は、本明細書に記載の長さで使用することができる。

【0283】

好適なリンカーは、容易に選択することができ、かつ 1 アミノ酸 (例えば、Gly) から 20 アミノ酸長、2 アミノ酸長から 15 アミノ酸長、3 アミノ酸長から 12 アミノ酸長、4 アミノ酸長から 10 アミノ酸長、5 アミノ酸長から 9 アミノ酸長、6 アミノ酸長から 8 アミノ酸長、または 7 アミノ酸長から 8 アミノ酸長のようないずれかの好適な異なる長さであってよく、1、2、3、4、5、6 または 7 アミノ酸長であり得る。

10

【0284】

可動性リンカーの例には、グリシンポリマー (G)_n、グリシン-セリンポリマー (ここで、n は少なくとも 1 の整数である)、グリシン-アラニンポリマー、アラニン-セリンポリマー、および当技術分野で公知の他の可動性リンカーが含まれる。グリシンおよびグリシン-セリンポリマーは、これらのアミノ酸が両方とも比較的構造化されておらず (unstructured)、そのため成分間のニュートラルなテザーとして機能することができるため興味深い。グリシンポリマーは、グリシンが、アラニンよりも有意に phi - psi 空間に到達し、より長い側鎖を有する残基よりも制限されないため、特に興味深い (Scheraga, Rev. Computational Chem. 11173 - 142 (1992) を参照のこと)。可動性リンカーの例には、G G S G (配列番号 87)、G G S G G (配列番号 88)、G S G S G (配列番号 89)、G S G G G (配列番号 90)、G G G S G (配列番号 91)、G S S S G (配列番号 92) などが含まれるが、これらに限定されない。当業者は、上記の何れかの成分に結合するペプチドの設計が、全体的または部分的に可動性のリンカーを含み得ることを認識し得る。例えば、該リンカーは、可動性リンカー、ならびにより柔軟性に劣る構造を与える 1 個またはそれ以上の部分を含み得る。

20

【0285】

抗タウ抗体の作製方法

本発明の抗体は、例えば、常套のタンパク質合成法；組み換え DNA 法などのいずれかの公知の方法により製造できる。

30

【0286】

本発明の抗体が一本鎖ポリペプチドであるとき、それは、標準的化学ペプチド合成法を用いて合成することができる。ポリペプチドが化学的に合成されるとき、合成は、液相または固相を用いて行われ得る。配列の C 末端アミノ酸が不溶性支持体に結合され、次いで配列中の残りのアミノ酸の連続的付加を行う、固相ポリペプチド合成法 (SPPS) は、本発明の抗体の化学合成のための好適な方法の一例である。Fmoc および Boc のような SPPS の種々の形態が、本発明の抗体を合成するために利用可能である。固相合成法は、Barany and Merrifield, Solid-Phase Peptide Synthesis; pp. 3 - 284 in The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology. Vol. 2: Special Methods in Peptide Synthesis, Part A., Merrifield, et al. J. Am. Chem. Soc., 85: 2149 - 2156 (1963); Stewart et al., Solid Phase Peptide Synthesis, 2nd ed. Pierce Chem. Co., Rockford, Ill. (1984); および、Ganesan A. 2006 Mini Rev. Med Chem. 6: 3 - 10 および、Camarero JA et al. 2005 Protein Pept Lett. 12: 723 - 8 に記載される。要約すれば、低分子の不溶性の多孔質ビーズを、ペプチド鎖が構築される機能的単位 (functional unit) で処理する。カップリング/脱保護の反復サイクル後、結合した固相の遊離 N 末端アミンを、単一の N - 保護されたアミノ酸単位にカップリングさせる。その後、この単位を脱保護し、さらなるアミノ酸を結合させ得る新しい N 末端アミンを出現させる。ペプチドを固相上に固定したままにし、切断前に濾過工程を行う。

40

【0287】

50

標準的組み換え法を、本発明の抗体の製造に使用できる。例えば、所望により定常領域に結合した軽鎖および重鎖可変領域をコード化する核酸を、発現ベクター中に挿入する。該軽鎖および重鎖を、同じか、または異なる発現ベクター中でクローニングし得る。免疫グロブリン鎖をコード化するDNA断片を、発現ベクター中の制御配列に操作可能に連結して、免疫グロブリンポリペプチドの発現を確実にする。発現制御配列には、プロモーター（例えば、天然に結合しているか、または異種のプロモーター）、シグナル配列、エンハンサーエレメント、および転写終結配列が含まれるが、これらに限定されない。発現制御配列は、真核宿主細胞（例えば、COSまたはCHO細胞）を形質転換またはトランスフェクトすることの可能なベクター中の真核プロモーターシステムであり得る。一旦、ベクターが適当な宿主に組み込まれると、宿主を、ヌクレオチド配列の高レベルな発現、ならびに抗体の収集および精製に好適な条件下で維持する。

10

【0288】

コードの縮重のため、種々の核酸配列が各々の免疫グロブリンアミノ酸配列をコードし得る。所望の核酸配列は *de novo* 固相DNA合成または所望のポリヌクレオチドの早期に調製された変異体のポリメラーゼ連鎖反応（PCR）突然変異誘発によって產生することができる。標的ポリペプチドDNAの置換、欠失および挿入変異体を調製するためには、オリゴヌクレオチドを仲介する突然変異誘発が好ましい方法の一例である。Adelman et al., DNA 2:183 (1983)を参照のこと。要約すれば、標的ポリペプチドDNAは、1本鎖DNA鋳型に対し所望の突然変異をコードするオリゴヌクレオチドをハイブリダイズすることによって、変性される。ハイブリダイゼーション後、オリゴヌクレオチドプライマーを組み込む鋳型の第2の相補鎖全体を合成するためにDNAポリメラーゼが使用され、これが標的ポリペプチドDNA内の選択された変性をコードする。

20

【0289】

好適な発現ベクターは、典型的に、エピソームとして、または宿主染色体DNAの一部として、宿主生体内で複製可能である。通常、発現ベクターは、所望のDNA配列で形質転換された細胞の検出を可能にするために、選択マーカー（例えば、アンピシリン耐性、ハイグロマイシン耐性、テトラサイクリン耐性、カナマイシン耐性またはネオマイシン耐性）を含む。

【0290】

大腸菌は、本発明の抗体をコード化するポリヌクレオチドをクローニングするのに使用され得る原核細胞宿主の一例である。使用に適したその他の微生物宿主には、バシラス・サチリスのようなかん菌、およびサルモネラ、セラチアなどのその他のエンテロバクター、および種々のシュドモナス種が含まれる。これらの原核生物宿主の中で、宿主細胞と相容性のある発現制御配列（例えば複製起点）を典型的に含むような発現ベクターも作ることができる。さらに、ラクトースプロモーター系、トリプトファン（trp）プロモーター系、ペーターラクタマーゼプロモーター系、またはファージラムダからのプロモーター系のような多数の周知のプロモーターが存在し得る。プロモーターは、典型的に、所望によりオペレーター配列と共に発現を制御し、転写および翻訳を開始し完成させるためリボソーム結合部位配列などを有する。

30

【0291】

酵母のような他の微生物も発現のために有用である。サッカロマイセス属（例えば、出芽酵母）およびピチア属が好ましい酵母宿主細胞の例であり、好適なベクターは、望まれる通りに、発現制御配列（例えば、プロモーター）、複製起点、終結配列などを有する。典型的なプロモーターは、3-ホスホグリセレートキナーゼおよびその他の解糖酵素を含む。酵母の誘導プロモーターは、特に、アルコールデヒドロゲナーゼ由来のプロモーター、イソシトクロムC、およびマルトースおよびガラクトース利用を担う酵素を含む。

40

【0292】

微生物に加えて、哺乳動物細胞（例えば、インビトロ細胞培養において増殖される哺乳動物細胞）も、本発明の抗タウ抗体（例えば、本発明の抗タウ抗体をコードするポリヌクレオチド）を発現し產生するのに使用することができる。Winnacker, From Genes to C

50

Iones, VCH Publishers, N.Y., N.Y. (1987)を参照のこと。好適な哺乳動物宿主細胞には、C H O細胞株、種々のC o s細胞株、H e L a細胞株、骨髓腫細胞株、および形質転換したB細胞またはハイブリドーマが含まれる。これらの細胞用の発現ベクターには、発現制御配列、例えば複製起点、プロモーター、およびエンハンサー (Queen et al., Immunol. Rev. 89: 49 (1986))、ならびにリボソーム結合部位、RNAスプライス部位、ポリアデニル化部位および転写終結配列といった必要なプロセシング情報部位が含まれていてよい。好適な発現制御配列の例は、免疫グロブリン遺伝子、SV40、アデノウイルス、ウシ乳頭腫ウイルス、サイトメガロウイルスなど由来のプロモーターである。Co et al., J. Immunol. 148: 1149 (1992)を参照のこと。

【0293】

一旦、合成されると(化学的に、または組み換え的にの何れか)、全抗体、その二量体、個々の軽鎖および重鎖、または本発明の抗体の他の形態(例えば、scFvなど)は、硫酸アンモニウム沈降、親和性カラム、カラムクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)精製、ゲル電気泳動などを含む、当技術分野で標準的な方法により精製することができる(一般に、Scopes, Protein Purification (Springer-Verlag, N.Y., (1982)を参照のこと)。本発明の抗体は、実質的に純粋であり得て、例えば、少なくとも約80%から85%純粋、少なくとも約85%から90%純粋、少なくとも約90%から95%純粋、または98%から99%、またはそれ以上純粋であり得て、例えば、細胞残屑、本発明の抗体以外の高分子などのような混入物質を含まない。

【0294】

抗タウ抗体をコードする核酸

本発明は、本発明の抗タウ抗体をコードするヌクレオチド配列を含む核酸を提供する。本発明は、本発明の抗タウ抗体をコードするヌクレオチド配列を含む組換え発現ベクターを提供し、ここで、該ヌクレオチド配列は、真核細胞において活性化転写調節要素に操作可能に連結されている。本発明は、本発明の組換え発現ベクターで遺伝子組み換えされたインピトロの宿主細胞(例えば、細菌細胞;真核細胞、例えば酵母細胞または哺乳動物細胞株)を提供する。

【0295】

本発明の抗体をコードするヌクレオチド配列は、意図する標的細胞(例えば、コードされた抗体を合成するために遺伝子的に修飾された細胞)中でのヌクレオチド配列の発現を可能にする、プロモーターおよびエンハンサーのような1つまたはそれ以上の制御エレメントに操作可能に結合されていてよい。

【0296】

好適なプロモーターおよびエンハンサーエレメントは、当技術分野で公知である。細菌細胞での発現に関して、好適なプロモーターには、lacI、lacZ、T3、T7、gp_t、lambda Pおよびtrcが含まれるが、これらに限定されない。真核細胞における発現に関して、好適なプロモーターには、軽鎖および/または重鎖免疫グロブリン遺伝子プロモーターおよびエンハンサーエレメント;サイトメガロウイルス前初期プロモーター;単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼプロモーター;前記および後期SV40プロモーター;レトロウイルス由来の長い末端反復に存在するプロモーター;マウスメタロチオネイン-Iプロモーター;および、多様な当技術分野で公知の組織特異的プロモーターが含まれるが、これらに限定されない。

【0297】

ある態様において、例えば、酵母細胞における発現に関して、好適なプロモーターは、ADH1プロモーター、PGK1プロモーター、ENOプロモーター、PYK1プロモーターなどの構成的プロモーター;または、GAL1プロモーター、GAL10プロモーター、ADH2プロモーター、PHO5プロモーター、CUP1プロモーター、GAL7プロモーター、MET25プロモーター、MET3プロモーター、CYC1プロモーター、HIS3プロモーター、ADH1プロモーター、PGKプロモーター、GAPDHプロモーター、ADC1プロモーター、TRP1プロモーター、URA3プロモーター、LEU

10

20

30

40

50

2プロモーター、ENOプロモーター、TP1プロモーター、およびAOX1（例えば、Pichiaでの使用用）などの調節可能プロモーターである。適当なベクターおよびプロモーターの選択は、十分に当業者のレベルの範囲内である。

【0298】

原核宿主細胞での使用に好適なプロモーターとしては、バクテリオファージT7 RNAPポリメラーゼプロモーター；trpプロモーター；lacオペロンプロモーター；ハイブリッドプロモーター、例えば、lac/tacハイブリッドプロモーター、tac/trcハイブリッドプロモーター、trp/lacプロモーター、T7/lacプロモーター；trcプロモーター；tacプロモーターなど；araBADプロモーター；インピボで調節されたプロモーター、例えば、ssaGプロモーターまたは関連するプロモーターなど（例えば、米国特許公開第20040131637号を参照のこと）、pagCプロモーター（Pulkkinen and Miller, J. Bacteriol., 1991:173(1):86-93；Alpuche-Aranda et al., PNAS, 1992;89(21):10079-83）、nirBプロモーター（Harborne et al. (1992) Mol. Micro. 6:2805-2813）など（例えば、Dunstan et al. (1999) Infect. Immun. 67:5133-5141；McKelvie et al. (2004) Vaccine 22:3243-3255；および、Chatfield et al. (1992) Biotechnol. 10:888-892を参照のこと）；sigma70プロモーター、例えば、コンセンサスsigma70プロモーター（例えば、GenBankアクセッション番号AX798980、AX798961およびAX798183を参照のこと）；静止期プロモーター、例えば、dpsプロモーター、spvプロモーターなど；病原性アイランドSPI-2由来プロモーター（例えば、W096/17951号を参照のこと）；actAプロモーター（例えば、Shetron-Rama et al. (2002) Infect. Immun. 70:1087-1096を参照のこと）；rpsMプロモーター（例えば、Valdivia and Falkow (1996). Mol. Microbiol. 22:367を参照のこと）；tetプロモーター（例えば、Hillen,W. and Wissmann,A. (1989) In Saenger,W. and Heinemann,U. (eds), Topics in Molecular and Structural Biology, Protein-Nucleic Acid Interaction. Macmillan, London, UK, Vol. 10, pp. 143-162を参照のこと）；SP6プロモーター（例えば、Melton et al. (1984) Nucl. Acids Res. 12:7035を参照のこと）などが含まれるが、これらに限定されない。大腸菌などの原核細胞で使用するのに好適な強力なプロモーターとしては、Trc、Tac、T5、T7およびPLambdaが含まれるが、これらに限定されない。細菌宿主細胞で使用するためのオペレーターの非限定的な例としては、ラクトースプロモーターオペレーター（LacIリプレッサータンパク質は、ラクトースと接触すると、立体構造を変化させて、それによりLacIリプレッサータンパク質がオペレーターと結合するのを防ぐ）、トリプトファンプロモーターオペレーター（トリプトファンと複合体を形成するとき、TrpRリプレッサータンパク質はオペレーターに結合する立体構造を有する；トリプトファンの非存在下では、TrpRリプレッサータンパク質は、オペレーターに結合しない立体構造を有する）、およびtacプロモーターオペレーター（例えば、deBoer et al. (1983) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 80:21-25を参照のこと）が含まれる。

【0299】

本発明の抗体をコードするヌクレオチド配列は、発現ベクターおよび/またはクローニングベクター中に存在することができる。本発明の抗体が2つの別個のポリペプチドを含むとき、該2つのポリペプチドをコードするヌクレオチド配列は、同じか、または別個のベクター中にクローニングされ得る。発現ベクターは、選択可能マーカー、複製起点、およびベクターの複製および/または維持を提供するその他の機能を含み得る。

【0300】

多数の好適なベクターおよびプロモーターが当業者には知られており、多くが目的の組み換え構築体の生成のために市販されている。以下のベクターは、例示として記載される。細菌：pBs、phagescript、PsiX174、pBluescript SK、pBsKs、pNH8a、pNH16a、pNH18a、pNH46a（Stratagene, La Jolla, Calif., USA）；pTrc99A、pKK223-3、pKK233-3

、 p D R 5 4 0 および p R I T 5 (Pharmacia, Uppsala, Sweden)。真核：p W L n e o、p S V 2 c a t、p O G 4 4、P X R 1、p S G (Stratagene)、p S V K 3、p B P V、p M S G および p S V L (Pharmacia)。

【0301】

発現ベクターは、一般に、異種タンパク質をコード化する核酸配列の挿入を可能にするようにプロモーター配列の近くに位置した好都合な制限部位を有する。発現宿主中で作動する選択可能マーカが存在してもよい。好適な発現ベクターとしては、ウイルスベクター（例えば、種痘ウイルス、ポリオウイルス、アデノウイルス（例えば、Li et al., Invest Ophthalmol Vis Sci 35: 2543 2549, 1994; Borrás et al., Gene Ther 6: 515 524, 1999; Li and Davidson, PNAS 92: 7700 7704, 1995; Sakamoto et al., H Gene Ther 5: 1088 1097, 1999; WO 9 4 / 1 2 6 4 9、WO 9 3 / 0 3 7 6 9; WO 9 3 / 1 9 1 9 1; WO 9 4 / 2 8 9 3 8; WO 9 5 / 1 1 9 8 4 および WO 9 5 / 0 0 6 5 5 を参照のこと）、アデノ随伴ウイルス（例えば、Ali et al., Hum Gene Ther 9: 81 86, 1998, Flannery et al., PNAS 94: 6916 6921, 1997; Bennett et al., Invest Ophthalmol Vis Sci 38: 2857 2863, 1997; Jomary et al., Gene Ther 4: 683 690, 1997, Rolling et al., Hum Gene Ther 10: 641 648, 1999; Ali et al., Hum Mol Genet 5: 591 594, 1996; Srivastava in WO 93/09239, Samulski et al., J. Vir. (1989) 63: 3822 3828; Mendelson et al., Virol. (1988) 166: 154 165; および、Flotte et al., PNAS (1993) 90: 10613 10617 を参照のこと）、S V 4 0; 単純ヘルペスウイルス; ヒト免疫不全ウイルス（例えば、Miyoshi et al., PNAS 94: 10319 23, 1997; Takahashi et al., J Virol 73: 7812 7816, 1999 を参照のこと）; レトロウイルスベクター（例えば、マウス白血病ウイルス、脾臓壊死ウイルス、ならびにラウス肉腫ウイルス、ハーベイ肉腫ウイルス、トリ白血病ウイルス、ヒト免疫不全ウイルス、骨髄増殖性肉腫ウイルス、および乳癌ウイルスなどのレトロウイルス由来のベクター）などが含まれるが、これらに限定されない。

【0302】

上記の通り、目的の核酸は、本発明の抗体をコードするヌクレオチド配列を含む。目的の核酸は、本発明の抗体の重鎖 C D R および / または軽鎖 C D R をコードするヌクレオチド配列を含み得る。ある態様において、目的の核酸は、本発明の抗体の重鎖 C D R および / または軽鎖 C D R をコードするヌクレオチド配列を含み、ここで、該 C D R をコードする配列は、F R をコードするヌクレオチド配列と共に組み込まれている。ある態様において、F R をコードするヌクレオチド配列は、ヒトの F R をコードするヌクレオチド配列である。

【0303】

宿主細胞

本発明は、本発明の核酸で遺伝子的に改変されている、単離された遺伝子組み換えされた宿主細胞（例えば、インビトロ細胞）を提供する。ある態様において、本発明の単離された遺伝子組み換えされた宿主細胞は、本発明の抗体を製造し得る。

【0304】

好適な宿主細胞には、真核宿主細胞、例えば哺乳動物細胞、昆虫宿主細胞、酵母細胞; および、原核細胞、例えば細菌細胞が含まれる。目的の核酸の宿主細胞への導入は、例えばリン酸カルシウム沈降、D E A E デキストランが仲介するトランスフェクション、リボソームが仲介するトランスフェクション、エレクトロポレーション、または他の既知の方法によって実施可能である。

【0305】

好適な哺乳動物細胞には、初代細胞および不死化細胞株が含まれる。好適な哺乳動物細胞株としては、ヒト細胞株、非ヒト霊長動物細胞株、齧歯動物（例えば、マウス、ラット）の細胞株などが含まれる。好適な哺乳動物細胞株には、H e L a 細胞（例えば、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション (A T C C) 番号 C C L - 2）、C H O 細胞（例えば、A T C C 番号 C R L 9 6 1 8、C C L 6 1、C R L 9 0 9 6）、2 9 3 細胞（例

例えば、ATCC 番号 CRL 1573)、ペロ細胞、NIH3T3細胞(例えば、ATCC 番号 CRL - 1658)、Huh - 7細胞、BHK細胞(例えば、ATCC 番号 CCL 10)、PC12細胞(ATCC 番号 CRL 1721)、COS細胞、COS - 7細胞(ATCC 番号 CRL 1651)、RAT1細胞、マウスL細胞(ATCC 番号 CCLI . 3)、ヒト胎児腎臓(HEK)細胞(ATCC 番号 CRL 1573)、HLHepG2細胞などが含まれるが、これらに限定されない。

【0306】

好適な酵母細胞としては、ピチア・パストリス(*Pichia pastoris*)、ピチア・フィンランドイカ(*Pichia finlandica*)、ピチア・トレハロフィラ(*Pichia trehalophila*)、ピチア・コクラメ(*Pichia koclamae*)、ピチア・メンブランエファシーエンス(*Pichia membranaefaciens*)、ピチア・オープンチエ(*Pichia opuntiae*)、ピチア・サーモトレランス(*Pichia thermotolerans*)、ピチア・サリクタリア(*Pichia salictaria*)、ピチア・グエルクウム(*Pichia guercuum*)、ピチア・ピエペリ(*Pichia pijperi*)、ピチア・スチピーチス(*Pichia stipitis*)、ピチア・メタノリカ(*Pichia methanolica*)、ピチア属(*Pichia sp.*)、サッカロミセス・セレビスエ(*Saccharomyces cerevisiae*)、サッカロミセス属(*Saccharomyces sp.*)、ハンゼヌラ・ポリモルファ(*Hansenula polymorpha*)、クルイベロミセス属(*Kluyveromyces sp.*)、クルイベロミセス・ラクチス(*Kluyveromyces lactis*)、カンジダ・アルビカンス(*Candida albicans*)、アスペルギルス・ニジューランス(*Aspergillus nidulans*)、アスペルギルス・ニガー(*Aspergillus niger*)、アスペルギルス・オリゼ(*Aspergillus oryzae*)、トリコデルマ・レーゼイ(*Trichoderma reesei*)、クリソスポリウム・ルクノウェンス(*Chrysosporium lucknowense*)、フザリウム属(*Fusarium sp.*)、フザリウム・グラミネウム(*Fusarium gramineum*)、フザリウム・ベネナツム(*Fusarium venenatum*)、ニューロスポラ・クラッサ(*Neurospora crassa*)、緑藻クラミドモナス(*Chlamydomonas reinhardtii*)などが含まれるが、これらに限定されない。

【0307】

好適な原核細胞としては、大腸菌、乳酸菌属、サルモネラ属、赤痢菌属などの任意の多様な実験室株が含まれるが、これらに限定されない。例えば、Carrier et al. (1992) J. Immunol. 148 : 1176 - 1181 ; 米国特許番号第6,447,784号 ; および、Sizemore et al. (1995) Science 270 : 299 - 302を参照のこと。典型的に、実験室株は、非病原性の株である。他の好適な細菌の限定されない例としては、枯草菌(*Bacillus subtilis*)などが含まれるが、これらに限定されない。ある態様において、宿主細胞は大腸菌である。

【0308】

医薬製剤

本発明は、本発明の抗体を含む医薬組成物を含む、組成物を提供する。一般に、製剤は、有効量の本発明の抗体を含む。“有効量”は、望まれる結果、例えば、タウオパチーと関係する有害な症状の軽減、タウオパチーの症状の改善、タウオパチーの進行遅延などを生じるのに十分な投与量を意味する。一般に、所望の結果は、対照と比較して、タウオパチーの症状が少なくとも軽減していることである。本発明の抗体は、以下により詳細に記載するとおり、血液脳関門を避けるような方法で送達され得る。本発明の抗体は、該抗体が血液脳関門を通過し得るように、製剤および/または修飾され得る。ある態様において、好適な薬学的に許容される添加物は、ヒトへの投与に好適である。例えば、好適な薬学的に許容される添加物は、エンドトキシンを含まないことが可能である。

【0309】

製剤

本発明の方法において、本発明の抗体は、所望の治療効果または診断効果をもたらし得るいずれかの便利な手段を用いて宿主に投与され得る。故に、薬物は、治療的投与のために種々の製剤に組み込まれ得る。より具体的には、本発明の抗体は、適当な薬学的に許容される担体または希釈剤と組み合わせて医薬組成物に剤形されてよく、錠剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤、軟膏、溶液、坐薬、注射、吸入剤およびエアロゾル剤のような固体、半固体、液体またはガス状の製剤に剤形され得る。

【0310】

医薬投与量形態において、本発明の抗体は、それらの薬学的に許容される塩の形態で投与され得るか、またはそれらは、単独でもしくは適当に、ならびに他の薬学的に活性な化合物と組み合わせて使用されてもよい。以下の方法および添加物は、単に例示として記載され、限定を意図するものではない。

10

【0311】

経口用製剤に関して、本発明の抗体は、単独で、または錠剤、散剤、顆粒剤またはカプセル剤を製造するための適当な添加物と組み合わせて、例えば、常套の添加物、例えばラクトース、マンニトール、コーンデンプンまたはジャガイモデンプンなど；結合剤、例えば結晶質セルロース、セルロース誘導体、アカシア、コーンデンプンまたはゼラチンなど；崩壊剤、例えば、トウモロコシデンプン、ジャガイモデンプンまたはカルボキシメチルセルロースナトリウムなど；滑剤、例えばタルクまたはステアリン酸マグネシウムなど；および、要すれば、希釈剤、緩衝剤、湿潤剤、防腐剤および着香剤と組み合わせて用いることができる。

20

【0312】

本発明の抗体は、水溶性溶媒または非水溶性溶媒、例えば、植物油もしくは他の類似の油、合成脂肪酸グリセリド、高級脂肪酸のエステルまたはプロピレングリコールなどに；および、要すれば、可溶化剤、等張剤、懸濁化剤、乳化剤、安定化剤および防腐剤などの常套の添加物と共に、それらを溶解、懸濁または乳化することにより、注射用製剤に製剤することができる。

【0313】

本発明の抗体を含む医薬組成物は、所望の純度を有する抗体を、任意の生理的に許容される担体、添加物、安定化剤、界面活性剤、緩衝剤および/または等張化剤と混合することにより製造される。許容される担体、添加物および/または安定化剤は、用いる投与量および濃度で受容者（レシピエント）に毒性ではなく、リン酸、クエン酸、および他の有機酸のような緩衝剤；アスコルビン酸、グルタチオン、システイン、メチオニンおよびクエン酸を含む、抗酸化剤；防腐剤（例えば、エタノール、ベンジルアルコール、フェノール、*m*-クレゾール、*p*-クロロ-*m*-クレゾール、メチルまたはプロピルパラベン、塩化ベンザルコニウム、またはそれらの組合せなど）；アミノ酸、例えば、アルギニン、グリシン、オルニチン、リシン、ヒスチジン、グルタミン酸、アスパラギン酸、イソロイシン、ロイシン、アラニン、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン、メチオニン、セリン、プロリンおよびそれらの組合せなど；単糖類、二糖類および他の炭水化物；低分子量（約10残基未満）ポリペプチド；タンパク質、例えば、ゼラチンまたは血清アルブミン；キレート剤、例えばEDTA；糖、例えばトレハロース、スクロース、ラクトース、グルコース、マンノース、マルトース、ガラクトース、フルクトース、ソルボース、ラフィノース、グルコサミン、*N*-メチルグルコサミン、ガラクトサミン、およびノイラミン酸など；ならびに/または、非イオン性界面活性剤、例えば、Tween、Brij、プルロニック類、トライトン-X、またはポリエチレングリコール（PEG）などが含まれる。

30

40

【0314】

医薬組成物は、液体形態、凍結乾燥形態または凍結乾燥形態から再構成された液体形態であってよく、ここで、凍結乾燥製剤は、投与前に滅菌溶液で再構成される。凍結乾燥組

50

成物を再構成するための標準的方法は、(典型的に、凍結乾燥中に除かれる容量と等量の)純水を戻す方法である。しかしながら、抗菌剤を含む溶液は、非経腸投与用医薬組成物の製造に用いられ得る;Chen (1992) Drug Dev Ind Pharm 18, 1311 - 54もまた参照のこと。

【0315】

目的の医薬組成物における抗体濃度の例は、約1mg/mLから約200mg/mLまたは約50mg/mLから約200mg/mL、または約150mg/mLから約200mg/mLの範囲であり得る。

【0316】

抗体の水性製剤は、pH緩衝溶液として、例えば、約4.0から約7.0、または約5.0から約6.0の範囲のpH、あるいは約5.5のpHで製造され得る。この範囲内のpHに好適な緩衝液の例には、ホスフェート-、ヒスチジン-、クエン酸-、コハク酸-、酢酸-緩衝液、および他の有機酸緩衝液が含まれる。緩衝液の濃度は、約1mMから約100mM、または約5mMから約50mMであり得て、例えば、緩衝液および製剤の所望の等張性によって変わる。

【0317】

等張化剤は、製剤の等張性を調節するために抗体製剤に包含され得る。等張化剤の例としては、塩化ナトリウム、塩化カリウム、グリセリンおよびアミノ酸群由来のいずれかの成分、糖類ならびにそれらの組合せが含まれる。ある態様において、高張性または低張性溶液が好適であり得るが、水性製剤は等張性である。用語“等張性”は、例えば、生理的な塩溶液または血清と比較される他の溶液と同程度の等張性を有する溶液を示す。等張化剤は、約5mMから約350mMの量、例えば、100mMから350mMの量で使用され得る。

【0318】

界面活性剤はまた、製剤された抗体の凝集を減らす、および/または製剤中の粒子の形成を最小化する、および/または吸収を減らすために、抗体製剤に追加され得る。界面活性剤の例としては、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル(Tween)、ポリオキシエチレンアルキルエーテル(Brij)、アルキルフェニルポリオキシエチレンエーテル(トライトン-X)、ポリオキシエチレン-ポリオキシプロピレンコポリマー(ポロキサマー、Pluronic)、およびドデシル硫酸ナトリウム(SDS)が含まれる。好適なポリオキシエチレンソルビタン-脂肪酸エステル(例は、ポリソルベート20、(Tween 20(商標)の商品名で販売)およびポリソルベート80(Tween 80TM(商標)の商標名で販売)である。好適なポリエチレン-ポリプロピレンコポリマーの例は、商標名プルロニック(登録商標)F68またはポロキサマー188(商標)で販売されるものである。好適なポリオキシエチレンアルキルエーテルの例は、商標名Brij(商標)で市販されるものである。界面活性剤の濃度の例は、約0.001%から約1%w/vの範囲であり得る。

【0319】

凍結乾燥保護剤(Iyoprotectant)はまた、凍結乾燥法の間不安定化条件から変化しやすい活性成分(例えば、タンパク質)を保護するために添加され得る。例えば、公知の凍結乾燥保護剤としては、糖類(グルコースおよびスクロースを含む);ポリオール(マンニトール、ソルビトールおよびグリセロールを含む);および、アミノ酸(アラニン、グリシンおよびグルタミン酸を含む)が含まれる。凍結乾燥保護剤は、約10mMから500nMの量で含まれ得る。

【0320】

ある態様において、本発明の製剤は、本発明の抗体、および1つまたはそれ以上の上記の薬物(例えば、界面活性剤、緩衝剤、安定化剤、等張化剤)を含み、1種またはそれ以上の防腐剤、例えばエタノール、ベンジルアルコール、フェノール、m-クレゾール、p-クロロ-m-クレゾール、メチルまたはプロピルパラベン、塩化ベンザルコニウム、およびそれらの組合せを基本的に含まない。他の態様において、防腐剤は、製剤、例えば、

約 0.001 から約 2% (w/v) の範囲の濃度で、製剤中に含まれる。

【0321】

例えば、本発明の製剤は、非経腸投与に好適な液体または凍結乾燥製剤であってよく、約 1 mg/mL から約 200 mg/mL の本発明の抗体；約 0.001% から約 1% の少なくとも 1 種の界面活性剤；約 1 mM から約 100 mM の緩衝剤；任意に、約 10 mM から約 500 mM の安定化剤；および、約 5 mM から約 305 mM の等張化剤を含んでいてよく、約 4.0 から約 7.0 の pH を有する。

【0322】

別の例として、本発明の非経腸製剤は、約 1 mg/mL から約 200 mg/mL の本発明の抗体；0.04% Tween 20 w/v；20 mM L-ヒスチジン；および、250 mM スクロースを含み、pH 5.5 である、液体または凍結乾燥製剤である。

10

【0323】

別の例として、本発明の非経腸製剤は、1) 15 mg/mL の本発明の抗体；0.04% Tween 20 w/v；20 mM L-ヒスチジン；および、250 mM スクロースを含み、pH 5.5 である凍結乾燥製剤、または 2) 75 mg/mL の本発明の抗体；0.04% Tween 20 w/v；20 mM L-ヒスチジン；および、250 mM スクロースを含み、pH 5.5 である凍結乾燥製剤、または 3) 75 mg/mL の本発明の抗体；0.02% Tween 20 w/v；20 mM L-ヒスチジン；および、250 mM スクロースを含み、pH 5.5 である凍結乾燥製剤、または 4) 75 mg/mL の本発明の抗体；0.04% Tween 20 w/v；20 mM L-ヒスチジン；および、250 mM トレハロースを含み、pH 5.5 である凍結乾燥製剤、または 6) 75 mg/mL の本発明の抗体；0.02% Tween 20 w/v；20 mM L-ヒスチジン；および、250 mM トレハロースを含み、pH 5.5 である凍結乾燥製剤、を含む。

20

【0324】

別の例として、本発明の非経腸製剤は、1) 7.5 mg/mL の本発明の抗体；0.022% Tween 20 w/v；120 mM L-ヒスチジン；および、250 mM スクロースを含み、pH 5.5 である液体製剤、または 2) 37.5 mg/mL の本発明の抗体；0.02% Tween 20 w/v；10 mM L-ヒスチジン；および、125 mM スクロースを含み、pH 5.5 である液体製剤、または 3) 37.5 mg/mL の本発明の抗体；0.01% Tween 20 w/v；10 mM L-ヒスチジン；および、125 mM スクロースを含み、pH 5.5 である液体製剤、または 4) 37.5 mg/mL の本発明の抗体；0.02% Tween 20 w/v；10 mM L-ヒスチジン；125 mM トレハロースを含み、pH 5.5 である液体製剤、または 5) 37.5 mg/mL の本発明の抗体；0.01% Tween 20 w/v；10 mM L-ヒスチジン；および、125 mM トレハロースを含み、pH 5.5 である液体製剤、または 6) 5 mg/mL の本発明の抗体；0.02% Tween 20 w/v；20 mM L-ヒスチジン；および、250 mM トレハロースを含み、pH 5.5 である液体製剤、または 7) 75 mg/mL の本発明の抗体；0.02% Tween 20 w/v；20 mM L-ヒスチジン；および、250 mM マンニトールを含み、pH 5.5 である液体製剤、または 8) 75 mg/mL の本発明の抗体；0.02% Tween 20 w/v；20 mM L-ヒスチジン；および、140 mM 塩化ナトリウムを含み、pH 5.5 である液体製剤、または 9) 150 mg/mL の本発明の抗体；0.02% Tween 20 w/v；20 mM L-ヒスチジン；および、250 mM トレハロースを含み、pH 5.5 である液体製剤、または 10) 150 mg/mL の本発明の抗体；0.02% Tween 20 w/v；20 mM L-ヒスチジン；および、250 mM マンニトールを含み、pH 5.5 である液体製剤、または 11) 150 mg/mL の本発明の抗体；0.02% Tween 20 w/v；20 mM L-ヒスチジン；および、140 mM 塩化ナトリウムを含み、pH 5.5 である液体製剤、または 12) 10 mg/mL の本発明の抗体；0.01% Tween 20

30

40

50

w / v ; 20 mM L - ヒスチジン ; および、40 mM 塩化ナトリウムを含み、pH 5.5 である液体製剤である。

【0325】

本発明の抗体は、吸入により投与されるエアロゾル製剤に利用され得る。本発明の抗体は、ジクロロジフルオロメタン、プロパン、窒素などのような加圧された許容される噴射剤に製剤され得る。

【0326】

さらに、本発明の抗体は、乳化基剤または水溶性基剤のような種々の基剤と混合されて坐薬に製剤され得る。本発明の抗体は、坐薬の形で直腸から投与され得る。坐薬は、カカオバター、カーボワックスおよびポリエチレングリコールのようなビークルであって、体温で融解するが、室温では固化するビークルを含み得る。

10

【0327】

シロップ剤、エリクシル剤、および懸濁液のような経口または直腸投与用単位投与量形態は、各投与量単位、例えば、小さじ一杯、大さじ一杯、錠剤または坐薬が、所定の量の、1つまたはそれ以上の阻害剤を含む組成物を含むように提供され得る。同様に、注射または静脈内投与用の単位投与量形態は、滅菌水、通常の生理食塩水または別の薬学的に許容される担体中の溶液として、組成物中に本発明の抗体を含み得る。

【0328】

本明細書で用いる用語“単位投与量形態”は、ヒトおよび動物対象の単位投与量として適する、物理的に分離された単位を意味し、それぞれの単位は、薬学的に許容される希釈剤、担体またはビークルと共に、所望の効果を生じるために十分な量で計算された、事前に決定された量の抗タウ抗体を含む。本発明の抗体の仕様は、用いる特定の抗体および達成する効果、ならびに宿主におけるそれぞれの抗体に関連する薬理学に左右され得る。

20

【0329】

他の投与方法はまた、本明細書に記載の方法との使用が見出され得る。例えば、本発明の抗体は、坐薬に製剤され得て、ある場合に、エアロゾルおよび点鼻組成物に製剤され得る。坐薬について、ビークル組成物は、従来の結合剤および例えばポリアルキレングリコール、またはトリグリセリドのような担体を含み得る。そのような坐薬は、約0.5%から約10% (w/w)、例えば、約1%から約2%の範囲で活性成分を含む混合物から形成され得る。

30

【0330】

点鼻製剤は、通常、鼻粘膜に炎症を起こさせず、繊毛機能を顕著に低下させない、ビークルを含み得る。水、生理食塩水または他の公知の物質のような希釈剤が用いられ得る。鼻用製剤はまた、クロロブタノールおよび塩化ベンザルコニウムのような防腐剤を含み得るが、これらに限定されない。界面活性剤は、鼻粘膜による本発明の抗体の吸収を増強するために存在し得る。

【0331】

本発明の抗体は、注射可能製剤として投与され得る。典型的に、注射可能組成物は、液体溶液または懸濁液として製造され、注射前に液体に溶解または懸濁するのに適した固体形態としても製造することができる。該製剤を乳化すること、または該抗体をリポソームビークル中に封入されてもよい。

40

【0332】

好適な添加物ビークルは、例えば、水、生理食塩水、デキストロース、グリセロール、エタノールなど、およびそれらの組合せである。加えて、要すれば、該ビークルは、少量の補助物質、例えば湿潤剤または乳化剤またはpH緩衝剤などを含み得る。そのような投与量形態を製造する実際の方法は公知であり、または当業者には明らかであり得る。例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 17th edition, 1985を参照のこと。いずれにしても、投与される組成物または製剤は、処置されるべき対象を所望の状態にするのに十分な量の本発明の抗体を含み得る。

【0333】

50

薬学的に許容される添加物、例えばビークル、アジュバント、担体または希釈剤は、容易に入手可能である。さらに、薬学的に許容される補助物質、例えばpH調整剤および緩衝剤、浸透圧調節剤、安定化剤、および湿潤剤などは、容易に入手可能である。

【0334】

ある態様において、本発明の抗体を、制御放出製剤に製剤化する。持続放出製剤は、当技術分野で公知の方法を用いて製造され得る。持続放出製剤の好適な例としては、抗体を含む固体の疎水性ポリマーの半透性マトリックスが含まれ、該マトリックスは、成形品の形態、例えばフィルムまたはマイクロカプセルである。持続放出マトリックスの例としては、ポリエステル、L-グルタミン酸およびエチル-L-グルタメートのコポリマー、非分解性エチレン-酢酸ビニル、ヒドロゲル、ポリラクチド、分解性の乳酸-グリコール酸コポリマー、ならびにポリ-D-()-3-ヒドロキシ酪酸が含まれる。持続放出製剤中に含まれる抗体の生物活性を消失させ、免疫原性を変化させる可能性は、適当な補助物質を用いること、水分含量を調節すること、および特定のポリマーマトリックス組成物を開発することにより、妨げられ得る。

10

【0335】

本発明の範囲内の制御放出は、多くの持続放出投与量形態のいずれか1つを意味すると解釈することができる。以下の用語は、本発明の目的のために、制御放出と実質的に同等とみなすことができる：連続的放出、制御放出、遅延放出 (delayed release)、デポー、徐放、長期放出、プログラム放出、持続放出、比例放出、遅延放出 (protracted release)、持続性の、遅らせた、遅い放出、間隔をあげた放出、持続放出 (sustained release)、タイムコート、持続放出 (timed release)、遅延作用、延長された作用、レイヤードタイム作用、長時間作用型、持続性作用、反復作用、遅行性、持続作用 (sustained action)、持続作用薬、および持続放出 (extended release)。これらの用語のさらなる詳細は、Lesczek Krowczynski, Extended - Release Dosage Forms, 1987 (CRC Press, Inc.)に見出され得る。

20

【0336】

種々の制御放出技術は、非常に広い範囲の薬物投与量形態を包含する。制御放出技術には、物理システムおよび化学システムが含まれるが、これらに限定されない。

【0337】

物理システムには、マイクロカプセル化、マクロカプセル化、および膜システムなどの速度制御膜を含む貯蔵システム；中空繊維、超微小孔性セルローストリアセート、および多孔質ポリマー基質および発泡体などの速度制御膜を含まない貯蔵システム；非多孔性のポリマーマトリクスまたはエラストマーマトリクス（例えば、浸食されない環境の、浸食され得る環境の、薬剤移入、および分解）に物理的に溶解されるそれらのシステム、および非多孔性のポリマーマトリクスまたはエラストマーマトリクス（例えば、浸食されない環境の、浸食され得る環境の、薬剤移入、および分解）に物理的に分散した物質を含む一体化したシステム；外側制御層に化学的に類似の、または非類似の貯蔵層を含む積層構造；ならびに、浸透圧ポンプ、またはイオン交換樹脂上の吸着などの他の物理的方法が含まれるが、これらに限定されない。

30

【0338】

化学システムには、ポリマーマトリックスの化学的浸食（例えば、不均一な浸食、もしくは均一な浸食）、またはポリマーマトリックスの生物学的浸食（例えば、不均一、もしくは均一）が含まれるが、これらに限定されない。制御放出システムのカテゴリーのさらなる詳細は、Agis F. Kydonieus, Controlled Release Technologies : Methods, Theory and Applications, 1980 (CRC Press, Inc.)に見出され得る。

40

【0339】

経口投与用に関与される多くの制御放出製剤がある。これらには、浸透圧制御型消化管送達システム；動水圧制御型消化管送達システム；微多孔膜透過制御型消化管送達デバイスを含む膜透過制御型消化管送達システム；胃液耐性腸標的化制御放出型消化管送達デバイス；ゲル拡散制御型消化管送達システム；および、イオン交換制御型消化管送達システ

50

ムが含まれるが、これらに限定されず、これらには、カチオン性薬物およびアニオン性薬物が含まれる。制御放出型薬物送達システムに関するさらなる情報は、Yie W. Chien, Novel Drug Delivery Systems, 1992 (Marcel Dekker, Inc.) 中に見出され得る。

【0340】

投与量

好適な投与量は、担当医または他の有資格医療従事者により、種々の臨床的因子に基づき決定され得る。医学分野の当業者には周知の通り、ある患者への投与量は、患者の体格、体表面積、年齢、投与されるべき特定の化合物、患者の性別、投与時間および投与経路、全身的健康状態、ならびに同時に投与される他の薬物を含む、多くの因子によって変わる。本発明の抗体は、1投与当たり、1 ng / kg 体重から 20 mg / kg 体重、例えば 0.1 mg / kg 体重から 10 mg / kg 体重、例えば 0.5 mg / kg 体重から 5 mg / kg 体重の量で投与され得る。しかしながら、例示範囲以下の用量または以上の用量が、とりわけ上記の因子を考慮して、考えられる。レジメンが持続点滴療法であるとき、それは、体重 1 kg 当たり、1分当たり、1 μg から 10 mg の範囲であり得る。

【0341】

当業者なら、用量レベルは、特定の抗体、対象の症状の重症度および副作用に対する感受性に応じて変えることができることを容易に理解するであろう。所定の化合物の好ましい投与量は、様々な手段によって、当業者が容易に決定することができる。

【0342】

処置法

本発明は、個体におけるタウオパチーの処置法を提供する。該方法は、一般的に、タウオパチーを有する個体に e タウポリペプチドに特異的に結合する有効量の抗体を投与することを含む。例えば、ある態様において、該方法は、一般的に、タウオパチーを有する個体に有効量の本発明の抗 e タウ抗体を投与することを含む。ある場合において、抗 e タウ抗体、例えば、本発明の抗 e タウ抗体の投与は、個体に組織における病理的タウペプチドの濃度を減少させ、タウオパチーを処置する。

【0343】

本発明の方法のある態様において、個体に投与される抗タウ抗体は、リボソームに封入されている。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する薬物と共に製剤されている。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、抗体は、Fv、scFv、Fab、F(ab')₂、または Fab' である。ある場合において、静脈内に投与される。ある場合において、髄腔内に投与される。ある場合において、皮下に投与される。

【0344】

本発明のタウオパチーの処置法は、それを必要とする個体に、抗タウ抗体を投与することを含み得る。ここで、好適な抗タウ抗体には、以下が含まれる：

【0345】

1) タウポリペプチド (例えば、本発明の e タウポリペプチド) 中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号 15 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖 CDR および配列番号 16 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖 CDR を含む抗体と、エピトープへの結合に対して競合する。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体は、ヒト化重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワーク領域およびヒト化重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプ IgG1、IgG2、IgG3、または IgG4 の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は、抗体フラグメント、例えば、Fab フラグメント、F(ab')₂ フラグメント、scFv、または Fv である。ある例において、抗体は e タウ 1 ポリペプチドに結合し、そして e タウ 2、e タウ 3、または e タウ 4 ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列 S

10

20

30

40

50

L P T P P T R E P K (配列番号 77) 内のエピトープに結合する。

【 0346 】

2) タウポリペプチド (例えば、本発明の e タウポリペプチド) 中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号 15 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖 C D R を含む軽鎖を含む。タウポリペプチド (例えば、本発明の e タウポリペプチド) 中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号 16 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖 C D R を含む重鎖を含む。または、タウポリペプチド (例えば、本発明の e タウポリペプチド) 中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号 15 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖 C D R および配列番号 16 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖 C D R を含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は抗体フラグメントであり、例えば、F a b フラグメント、F (a b ')₂ フラグメント、s c F v、または F v である。ある例において、抗体は、e タウ 1 ポリペプチドに結合し、そして e タウ 2、e タウ 3、または e タウ 4 ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列 S L P T P P T R E P K (配列番号 77) 内のエピトープに結合する。

10

20

【 0347 】

3) タウポリペプチド (例えば、本発明の e タウポリペプチド) 中のエピトープへの結合に対して、a) (i) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 1、(i i) 配列番号 10 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 2、および (i i i) 配列番号 11 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 3 を含む軽鎖領域、ならびに b) (i) 配列番号 12 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 1、(i i) 配列番号 13 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 2、および (i i i) 配列番号 14 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 3 を含む重鎖領域、を含む抗体と競合する、単離された抗体。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は S 2 4 1 P 置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30 : 105 を参照のこと。ある場合において、抗体は、F v、s c F v、F a b、F (a b ')₂、または F a b ' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ (エチレングリコール) ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} M の解離定数 (K_D) で結合する。ある例において、抗体は、e タウ 1 ポリペプチドに結合し、そして e タウ 2、e タウ 3、または e タウ 4 ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列 S L P T P P T R E P K (配列番号 77) 内のエピトープに結合する。

30

40

【 0348 】

4) タウポリペプチド (例えば、本発明の e タウポリペプチド) に特異的に結合する単離されたモノクローナル抗体であって、ここで、該単離された抗体は、1、2、3、4、5 または 6 個の以下の C D R : i) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 1 ; (i i) 配列番号 10 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 2 ; および (i i i) 配列番号 1

50

1のアミノ酸配列を含む V_L CDR3；(i v)配列番号12のアミノ酸配列を含む V_H CDR1；(v)配列番号13のアミノ酸配列を含む V_H CDR2；および、(v i)配列番号14のアミノ酸配列を含む V_H CDR3、を含む。ある場合において、抗体は、i)配列番号9のアミノ酸配列を含む V_L CDR1；(i i)配列番号10のアミノ酸配列を含む V_L CDR2；および(i i i)配列番号11のアミノ酸配列を含む V_L CDR3を含む。ある場合において、抗体は、(i v)配列番号12のアミノ酸配列を含む V_H CDR1；(v)配列番号13のアミノ酸配列を含む V_H CDR2；および(v i)配列番号14のアミノ酸配列を含む V_H CDR3を含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプI g G 1、I g G 2、I g G 3またはI g G 4のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプI g G 4のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S 2 4 1 P置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、F v、s c F v、F a b、F (a b ') 2、またはF a b 'である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} Mの解離定数(K_D)で結合する。ある例において、抗体は、e タウ1ポリペプチドに結合し、そしてe タウ2、e タウ3、またはe タウ4ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列S L P T P P T R E P K (配列番号77)内のエピトープに結合する。

10

20

30

40

50

【0349】

5)ヒト化軽鎖フレームワーク領域およびヒト化重鎖フレームワーク領域を含む単離されたヒト化モノクローナル抗体であって、ここで、該単離された抗体は、タウポリペプチド(例えば、本発明のe タウポリペプチド)に特異的に結合し、ここで、該単離された抗体は、a)(i)配列番号9のアミノ酸配列を含む V_L CDR1、(i i)配列番号10のアミノ酸配列を含む V_L CDR2、および(i i i)配列番号11のアミノ酸配列を含む V_L CDR3を含む軽鎖領域、ならびにb)(i)配列番号12のアミノ酸配列を含む V_H CDR1、(i i)配列番号13のアミノ酸配列を含む V_H CDR2、および(i i i)配列番号14のアミノ酸配列を含む V_H CDR3を含む重鎖領域、を含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプI g G 1、I g G 2、I g G 3またはI g G 4のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプI g G 4のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S 2 4 1 P置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、F v、s c F v、F a b、F (a b ') 2、またはF a b 'である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} Mの解離定数(K_D)で結合する。ある例において、抗体は、e タウ1ポリペプチドに結合し、そしてe タウ2、e タウ3、またはe タウ4ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列S L P T P P T R E P K (配列番号77)内のエピトープに結合する。

【0350】

6) タウポリペプチド(例えば、本発明のeタウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号23のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖CDRおよび配列番号24のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖CDRを含む抗体と、エピトープへの結合に対して競合する。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体は、ヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域およびヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は、抗体フラグメント、例えば、Fabフラグメント、F(ab')₂フラグメント、scFv、またはFvである。ある例において、抗体はeタウ1ポリペプチドに結合し、そしてeタウ2、eタウ3、またはeタウ4ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列SLPTPPTREPK(配列番号77)内のエピトープに結合する。

10

【0351】

7) タウポリペプチド(例えば、本発明のeタウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号23のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖CDRを含む軽鎖を含む。タウポリペプチド(例えば、本発明のeタウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号24のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖CDRを含む重鎖を含む。または、タウポリペプチド(例えば、本発明のeタウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号23のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖CDRおよび配列番号24のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖CDRを含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は抗体フラグメントであり、例えば、Fabフラグメント、F(ab')₂フラグメント、scFv、またはFvである。ある例において、抗体は、eタウ1ポリペプチドに結合し、そしてeタウ2、eタウ3、またはeタウ4ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列SLPTPPTREPK(配列番号77)内のエピトープに結合する。

20

30

【0352】

8) タウポリペプチド(例えば、本発明のeタウポリペプチド)中のエピトープへの結合に対して、a)(i)配列番号17のアミノ酸配列を含むV_LCDR1、(ii)配列番号18のアミノ酸配列を含むV_LCDR2、および(iii)配列番号19のアミノ酸配列を含むV_LCDR3を含む軽鎖領域、ならびにb)(i)配列番号20のアミノ酸配列を含むV_HCDR1、(ii)配列番号21のアミノ酸配列を含むV_HCDR2、および(iii)配列番号22のアミノ酸配列を含むV_HCDR3を含む重鎖領域、を含む抗体と競合する、単離された抗体。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプIgG4のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域はS241P置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105

40

50

を参照のこと。ある場合において、抗体は、Fv、scFv、Fab、F(ab')₂、またはFab'である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} Mの解離定数(K_D)で結合する。ある例において、抗体は、eタウ1ポリペプチドに結合し、そしてeタウ2、eタウ3、またはeタウ4ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列SLPTPPTREPK(配列番号77)内のエピトープに結合する。

10

【0353】

9) タウポリペプチド(例えば、本発明のeタウポリペプチド)に特異的に結合する単離されたモノクローナル抗体であって、ここで、該単離された抗体は、1、2、3、4、5または6個の以下のCDR:i)配列番号17のアミノ酸配列を含むV_L CDR1;(ii)配列番号18のアミノ酸配列を含むV_L CDR2;および(iii)配列番号19のアミノ酸配列を含むV_L CDR3;(iv)配列番号20のアミノ酸配列を含むV_H CDR1;(v)配列番号21のアミノ酸配列を含むV_H CDR2;および、(vi)配列番号22のアミノ酸配列を含むV_H CDR3、を含む。ある場合において、抗体は、i)配列番号17のアミノ酸配列を含むV_L CDR1;(ii)配列番号18のアミノ酸配列を含むV_L CDR2;および(iii)配列番号19のアミノ酸配列を含むV_L CDR3を含む。ある場合において、抗体は、(iv)配列番号20のアミノ酸配列を含むV_H CDR1;(v)配列番号21のアミノ酸配列を含むV_H CDR2;および(vi)配列番号22のアミノ酸配列を含むV_H CDR3を含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプIgG4のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S241P置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、Fv、scFv、Fab、F(ab')₂、またはFab'である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} Mの解離定数(K_D)で結合する。ある例において、抗体は、eタウ1ポリペプチドに結合し、そしてeタウ2、eタウ3、またはeタウ4ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列SLPTPPTREPK(配列番号77)内のエピトープに結合する。

20

30

40

【0354】

10) ヒト化軽鎖フレームワーク領域およびヒト化重鎖フレームワーク領域を含む単離されたヒト化モノクローナル抗体であって、ここで、該単離された抗体は、タウポリペプチド(例えば、本発明のeタウポリペプチド)に特異的に結合し、ここで、該単離された抗体は、a)(i)配列番号17のアミノ酸配列を含むV_L CDR1、(ii)配列番号18のアミノ酸配列を含むV_L CDR2、および(iii)配列番号19のアミノ酸配列を含むV_L CDR3を含む軽鎖領域、ならびにb)(i)配列番号20のアミノ酸配列を含むV_H CDR1、(ii)配列番号21のアミノ酸配列を含むV_H CDR2、および(iii)配列番号22のアミノ酸配列を含むV_H CDR3を含む重鎖領域、を

50

含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3 または I g G 4 のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S 2 4 1 P 置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、F v、s c F v、F a b、F (a b ') 2、または F a b ' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} M の解離定数 (K_D) で結合する。ある例において、抗体は、e タウ 1 ポリペプチドに結合し、そして e タウ 2、e タウ 3、または e タウ 4 ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列 S L P T P P T R E P K (配列番号 77) 内のエピトープに結合する。

10

【0355】

11) タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号 31 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖 C D R および配列番号 32 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖 C D R を含む抗体と、エピトープへの結合に対して競合する。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体は、ヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域およびヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は、抗体フラグメント、例えば、F a b フラグメント、F (a b ') 2 フラグメント、s c F v、または F v である。ある例において、抗体は e タウ 1 ポリペプチド、e タウ 2 ポリペプチドおよび e タウ 3 ポリペプチドに結合し、そして e タウ 4 ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列 R I P A K T P P A P K (配列番号 78) 内のエピトープに結合する。

20

30

【0356】

12) タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号 31 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖 C D R を含む軽鎖を含む。タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号 32 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖 C D R を含む重鎖を含む。または、タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号 31 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖 C D R および配列番号 32 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖 C D R を含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は抗体フラグメントであり、例えば、F a b フラグメント、F (a b ') 2 フラグメント、s c F v、または F v である。ある例において、抗体は、e タウ 1 ポリペプチド、e タウ 2 ポリペプチド、および e タウ 3 ポリペプチドに結合し、そして e タウ 4 ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列 R I P A K T P P A P K (配列番号 78) 内のエピトープに結合する。

40

【0357】

50

13) タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)中のエピトープへの結合に対して、a) (i) 配列番号 25 のアミノ酸配列を含む V_L CDR 1、(ii) 配列番号 26 のアミノ酸配列を含む V_L CDR 2、および (iii) 配列番号 27 のアミノ酸配列を含む V_L CDR 3 を含む軽鎖領域、ならびに b) (i) 配列番号 28 のアミノ酸配列を含む V_H CDR 1、(ii) 配列番号 29 のアミノ酸配列を含む V_H CDR 2、および (iii) 配列番号 30 のアミノ酸配列を含む V_H CDR 3 を含む重鎖領域、を含む抗体と競合する、単離された抗体。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ Ig G 1、Ig G 2、Ig G 3、または Ig G 4 のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ Ig G 4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は S 2 4 1 P 置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105 を参照のこと。ある場合において、抗体は、Fv、scFv、Fab、F(ab')₂、または Fab' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} M の解離定数 (K_D) で結合する。ある例において、抗体は、e タウ 1 ポリペプチド、e タウ 2 ポリペプチド、および e タウ 3 ポリペプチドに結合し、そして e タウ 4 ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列 R I P A K T P P A P K (配列番号 78) 内のエピトープに結合する。

【0358】

14) タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)に特異的に結合する単離されたモノクローナル抗体であって、ここで、該単離された抗体は、1、2、3、4、5 または 6 個の以下の CDR: i) 配列番号 25 のアミノ酸配列を含む V_L CDR 1; (ii) 配列番号 26 のアミノ酸配列を含む V_L CDR 2; および (iii) 配列番号 27 のアミノ酸配列を含む V_L CDR 3; (iv) 配列番号 28 のアミノ酸配列を含む V_H CDR 1; (v) 配列番号 29 のアミノ酸配列を含む V_H CDR 2; および、(vi) 配列番号 30 のアミノ酸配列を含む V_H CDR 3、を含む。ある場合において、抗体は、i) 配列番号 25 のアミノ酸配列を含む V_L CDR 1; (ii) 配列番号 26 のアミノ酸配列を含む V_L CDR 2; および (iii) 配列番号 27 のアミノ酸配列を含む V_L CDR 3 を含む。ある場合において、抗体は、(iv) 配列番号 28 のアミノ酸配列を含む V_H CDR 1; (v) 配列番号 29 のアミノ酸配列を含む V_H CDR 2; および (vi) 配列番号 30 のアミノ酸配列を含む V_H CDR 3 を含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ Ig G 1、Ig G 2、Ig G 3 または Ig G 4 のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ Ig G 4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S 2 4 1 P 置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105 を参照のこと。ある場合において、抗体は、Fv、scFv、Fab、F(ab')₂、または Fab' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたは

10

20

30

40

50

タンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} Mの解離定数 (K_D) で結合する。ある例において、抗体は、e タウ1ポリペプチド、e タウ2ポリペプチド、およびe タウ3ポリペプチドに結合し、そしてe タウ4ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列 R I P A K T P P A P K (配列番号78) 内のエピトープに結合する。

【0359】

15) ヒト化軽鎖フレームワーク領域およびヒト化重鎖フレームワーク領域を含む単離されたヒト化モノクローナル抗体であって、ここで、該単離された抗体は、タウポリペプチド (例えば、本発明のe タウポリペプチド) に特異的に結合し、ここで、該単離された抗体は、a) (i) 配列番号25のアミノ酸配列を含む V_L CDR1、(ii) 配列番号26のアミノ酸配列を含む V_L CDR2、および(iii) 配列番号27のアミノ酸配列を含む V_L CDR3を含む軽鎖領域、ならびにb) (i) 配列番号28のアミノ酸配列を含む V_H CDR1、(ii) 配列番号29のアミノ酸配列を含む V_H CDR2、および(iii) 配列番号30のアミノ酸配列を含む V_H CDR3を含む重鎖領域、を含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3またはI g G 4のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 4のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S 2 4 1P置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、F v、s c F v、F a b、F (a b ') 2、またはF a b ' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} Mの解離定数 (K_D) で結合する。ある例において、抗体は、e タウ1ポリペプチド、e タウ2ポリペプチド、およびe タウ3ポリペプチドに結合し、そしてe タウ4ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列 R I P A K T P P A P K (配列番号78) 内のエピトープに結合する。

10

20

30

【0360】

16) タウポリペプチド (例えば、本発明のe タウポリペプチド) 中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号39のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖CDRおよび配列番号40のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖CDRを含む抗体と、エピトープへの結合に対して競合する。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体は、ヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域およびヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3、またはI g G 4の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は、抗体フラグメント、例えば、F a bフラグメント、F (a b ') 2フラグメント、s c F v、またはF vである。ある例において、抗体はe タウ1ポリペプチド、e タウ2ポリペプチドおよびe タウ3ポリペプチドに結合し、そしてe タウ4ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列 R I P A K T P P A P K (配列番号78) 内のエピトープに結合する。

40

【0361】

17) タウポリペプチド (例えば、本発明のe タウポリペプチド) 中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号39のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖CDRを含む軽鎖を含む。タウポリペプチド (例えば、本発明のe タウポリペプチド) 中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗

50

体は、配列番号40のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖CDRを含む重鎖を含む。または、タウポリペプチド(例えば、本発明のeタウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号39のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖CDRおよび配列番号40のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖CDRを含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は抗体フラグメントであり、例えば、Fabフラグメント、F(ab')₂フラグメント、scFv、またはFvである。ある例において、抗体は、eタウ1ポリペプチド、eタウ2ポリペプチド、およびeタウ3ポリペプチドに結合し、そしてeタウ4ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列RIPAKTTPPAK(配列番号78)内のエピトープに結合する。

10

【0362】

18) タウポリペプチド(例えば、本発明のeタウポリペプチド)中のエピトープへの結合に対して、a)(i)配列番号33のアミノ酸配列を含むV_LCDR1、(ii)配列番号34のアミノ酸配列を含むV_LCDR2、および(iii)配列番号35のアミノ酸配列を含むV_LCDR3を含む軽鎖領域、ならびにb)(i)配列番号36のアミノ酸配列を含むV_HCDR1、(ii)配列番号37のアミノ酸配列を含むV_HCDR2、および(iii)配列番号38のアミノ酸配列を含むV_HCDR3を含む重鎖領域、を含む抗体と競合する、単離された抗体。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプIgG4のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域はS241P置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、Fv、scFv、Fab、F(ab')₂、またはFab'である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、10⁻⁷M、10⁻⁸M、10⁻⁹M、10⁻¹⁰M、または10⁻¹¹Mの解離定数(K_D)で結合する。ある例において、抗体は、eタウ1ポリペプチド、eタウ2ポリペプチド、およびeタウ3ポリペプチドに結合し、そしてeタウ4ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列RIPAKTTPPAK(配列番号78)内のエピトープに結合する。

20

30

40

【0363】

19) タウポリペプチド(例えば、本発明のeタウポリペプチド)に特異的に結合する単離されたモノクローナル抗体であって、ここで、該単離された抗体は、1、2、3、4、5または6個の以下のCDR:i)配列番号33のアミノ酸配列を含むV_LCDR1;(ii)配列番号34のアミノ酸配列を含むV_LCDR2;および(iii)配列番号35のアミノ酸配列を含むV_LCDR3;(iv)配列番号36のアミノ酸配列を含むV_HCDR1;(v)配列番号37のアミノ酸配列を含むV_HCDR2;および、(vi)配列番号38のアミノ酸配列を含むV_HCDR3、を含む。ある場合において、抗体は、i)配列番号33のアミノ酸配列を含むV_LCDR1;(ii)配列番号34のアミノ酸配列を含むV_LCDR2;および(iii)配列番号35のアミノ酸配列を

50

含む V_L CDR3 を含む。ある場合において、抗体は、(i v) 配列番号 36 のアミノ酸配列を含む V_H CDR1 ; (v) 配列番号 37 のアミノ酸配列を含む V_H CDR2 ; および (v i) 配列番号 38 のアミノ酸配列を含む V_H CDR3 を含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ Ig G 1、Ig G 2、Ig G 3 または Ig G 4 のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ Ig G 4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S 2 4 1 P 置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105 を参照のこと。ある場合において、抗体は、F v、s c F v、F a b、F (a b')₂、または F a b' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} M の解離定数 (K_D) で結合する。ある例において、抗体は、e タウ 1 ポリペプチド、e タウ 2 ポリペプチド、および e タウ 3 ポリペプチドに結合し、そして e タウ 4 ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列 R I P A K T P P A P K (配列番号 78) 内のエピトープに結合する。

10

20

【0364】

20) ヒト化軽鎖フレームワーク領域およびヒト化重鎖フレームワーク領域を含む単離されたヒト化モノクローナル抗体であって、ここで、該単離された抗体は、タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)に特異的に結合し、ここで、該単離された抗体は、a) (i) 配列番号 33 のアミノ酸配列を含む V_L CDR1、(i i) 配列番号 34 のアミノ酸配列を含む V_L CDR2、および (i i i) 配列番号 35 のアミノ酸配列を含む V_L CDR3 を含む軽鎖領域、ならびに b) (i) 配列番号 36 のアミノ酸配列を含む V_H CDR1、(i i) 配列番号 37 のアミノ酸配列を含む V_H CDR2、および (i i i) 配列番号 38 のアミノ酸配列を含む V_H CDR3 を含む重鎖領域、を含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ Ig G 1、Ig G 2、Ig G 3 または Ig G 4 のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ Ig G 4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S 2 4 1 P 置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105 を参照のこと。ある場合において、抗体は、F v、s c F v、F a b、F (a b')₂、または F a b' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} M の解離定数 (K_D) で結合する。ある例において、抗体は、e タウ 1 ポリペプチド、e タウ 2 ポリペプチド、および e タウ 3 ポリペプチドに結合し、そして e タウ 4 ポリペプチドに結合しない。ある場合において、抗体は、アミノ酸配列 R I P A K T P P A P K (配列番号 78) 内のエピトープに結合する。

30

40

【0365】

21) タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号 47 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖 CDR および配列番号 48 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖 CDR を含む抗体と、エピトープへの結合に対して競合する。ある場合において

50

、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体は、ヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域およびヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は、抗体フラグメント、例えば、F a b フラグメント、F (a b ')₂ フラグメント、s c F v、または F v である。ある場合において、抗体は e タウ 4 ポリペプチドに結合し、そして e タウ 1 ポリペプチド、e タウ 2 ポリペプチド、または e タウ 3 ポリペプチドに結合しない。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 E D E A A G H V T Q A R (配列番号 7 9) 内のエピトープに結合する。ある場合において、抗体は、e タウ 4 ポリペプチド中のネオエピトープに結合する。

【 0 3 6 6 】

2 2) タウポリペプチド (例えば、本発明の e タウポリペプチド) 中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号 4 7 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖 C D R を含む軽鎖を含む。タウポリペプチド (例えば、本発明の e タウポリペプチド) 中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号 4 8 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖 C D R を含む重鎖を含む。または、タウポリペプチド (例えば、本発明の e タウポリペプチド) 中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号 4 7 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖 C D R および配列番号 4 8 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖 C D R を含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は抗体フラグメントであり、例えば、F a b フラグメント、F (a b ')₂ フラグメント、s c F v、または F v である。ある場合において、抗体は、e タウ 4 ポリペプチドに結合し、そして e タウ 1 ポリペプチド、e タウ 2 ポリペプチド、または e タウ 3 ポリペプチドに結合しない。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 E D E A A G H V T Q A R (配列番号 7 9) 内のエピトープに結合する。ある場合において、抗体は、e タウ 4 ポリペプチド中のネオエピトープに結合する。

【 0 3 6 7 】

2 3) タウポリペプチド (例えば、本発明の e タウポリペプチド) 中のエピトープへの結合に対して、a) (i) 配列番号 4 1 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 1、(i i) 配列番号 4 2 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 2、および (i i i) 配列番号 4 3 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 3 を含む軽鎖領域、ならびに b) (i) 配列番号 4 4 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 1、(i i) 配列番号 4 5 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 2、および (i i i) 配列番号 4 6 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 3 を含む重鎖領域、を含む抗体と競合する、単離された抗体。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は S 2 4 1 P 置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30 : 10 5 を参照のこと。ある場合において、抗体は、F v、s c F v、F a b、F (a b ')₂、または F a b ' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ (エチレングリコール) ポリマーを含む。ある場合において、抗体

は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} Mの解離定数 (K_D) で結合する。ある場合において、抗体は、e タウ4 ポリペプチドに結合し、そしてe タウ1 ポリペプチド、e タウ2 ポリペプチド、またはe タウ3 ポリペプチドに結合しない。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 E D E A A G H V T Q A R (配列番号79) 内のエピトープに結合する。ある場合において、抗体は、e タウ4 ポリペプチド中のネオエピトープに結合する。

【0368】

24) タウポリペプチド (例えば、本発明の e タウポリペプチド) に特異的に結合する単離されたモノクローナル抗体であって、ここで、該単離された抗体は、1、2、3、4、5または6個の以下のCDR: i) 配列番号41のアミノ酸配列を含む V_L CDR1; (ii) 配列番号42のアミノ酸配列を含む V_L CDR2; および(iii) 配列番号43のアミノ酸配列を含む V_L CDR3; (iv) 配列番号44のアミノ酸配列を含む V_H CDR1; (v) 配列番号45のアミノ酸配列を含む V_H CDR2; および、(vi) 配列番号46のアミノ酸配列を含む V_H CDR3、を含む。ある場合において、抗体は、i) 配列番号41のアミノ酸配列を含む V_L CDR1; (ii) 配列番号42のアミノ酸配列を含む V_L CDR2; および(iii) 配列番号43のアミノ酸配列を含む V_L CDR3を含む。ある場合において、抗体は、(iv) 配列番号44のアミノ酸配列を含む V_H CDR1; (v) 配列番号45のアミノ酸配列を含む V_H CDR2; および(vi) 配列番号46のアミノ酸配列を含む V_H CDR3を含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプIgG4のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S241P置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、Fv、scFv、Fab、F(ab')₂、またはFab'である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} Mの解離定数 (K_D) で結合する。ある場合において、抗体は、e タウ4 ポリペプチドに結合し、そしてe タウ1 ポリペプチド、e タウ2 ポリペプチド、またはe タウ3 ポリペプチドに結合しない。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 E D E A A G H V T Q A R (配列番号79) 内のエピトープに結合する。ある場合において、抗体は、e タウ4 ポリペプチド中のネオエピトープに結合する。

【0369】

25) ヒト化軽鎖フレームワーク領域およびヒト化重鎖フレームワーク領域を含む単離されたヒト化モノクローナル抗体であって、ここで、該単離された抗体は、タウポリペプチド (例えば、本発明の e タウポリペプチド) に特異的に結合し、ここで、該単離された抗体は、a) (i) 配列番号41のアミノ酸配列を含む V_L CDR1、(ii) 配列番号42のアミノ酸配列を含む V_L CDR2、および(iii) 配列番号43のアミノ酸配列を含む V_L CDR3を含む軽鎖領域、ならびにb) (i) 配列番号44のアミノ酸配列を含む V_H CDR1、(ii) 配列番号45のアミノ酸配列を含む V_H CDR2、および(iii) 配列番号46のアミノ酸配列を含む V_H CDR3を含む重鎖領域、を含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は別個のポリペプチド中に存在する。

ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3 または I g G 4 のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S 2 4 1 P 置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、F v、s c F v、F a b、F (a b ')₂、または F a b ' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} M の解離定数 (K_D) で結合する。ある場合において、抗体は、e タウ 4 ポリペプチドに結合し、そして e タウ 1 ポリペプチド、e タウ 2 ポリペプチド、または e タウ 3 ポリペプチドに結合しない。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 E D E A A G H V T Q A R (配列番号 79) 内のエピトープに結合する。ある場合において、抗体は、e タウ 4 ポリペプチド中のネオエピトープに結合する。

10

【0370】

26) タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号 55 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖 C D R および配列番号 56 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖 C D R を含む抗体と、エピトープへの結合に対して競合する。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体は、ヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域およびヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は、抗体フラグメント、例えば、F a b フラグメント、F (a b ')₂ フラグメント、s c F v、または F v である。ある場合において、抗体は e タウ 1 ポリペプチド、e タウ 2 ポリペプチド、e タウ 3 ポリペプチドおよび e タウ 4 ポリペプチドに結合する。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 E D E A A G H V T Q A R (配列番号 79) 内のエピトープに結合する。

20

30

【0371】

27) タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号 55 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖 C D R を含む軽鎖を含む。タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号 56 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖 C D R を含む重鎖を含む。または、タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号 55 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖 C D R および配列番号 56 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖 C D R を含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は抗体フラグメントであり、例えば、F a b フラグメント、F (a b ')₂ フラグメント、s c F v、または F v である。ある場合において、抗体は、e タウ 1 ポリペプチド、e タウ 2 ポリペプチド、e タウ 3 ポリペプチドおよび e タウ 4 ポリペプチドに結合する。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 E D E A A G H V T Q A R (配列番号 79) 内のエピトープに結合する。

40

【0372】

50

28) タウポリペプチド(例えば、本発明のeタウポリペプチド)中のエピトープへの結合に対して、a)(i)配列番号49のアミノ酸配列を含むV_LCDR1、(ii)配列番号50のアミノ酸配列を含むV_LCDR2、および(iii)配列番号51のアミノ酸配列を含むV_LCDR3を含む軽鎖領域、ならびにb)(i)配列番号52のアミノ酸配列を含むV_HCDR1、(ii)配列番号53のアミノ酸配列を含むV_HCDR2、および(iii)配列番号54のアミノ酸配列を含むV_HCDR3を含む重鎖領域、を含む抗体と競合する、単離された抗体。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプIgG4のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域はS241P置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、Fv、scFv、Fab、F(ab')₂、またはFab'である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、10⁻⁷M、10⁻⁸M、10⁻⁹M、10⁻¹⁰M、または10⁻¹¹Mの解離定数(K_D)で結合する。ある場合において、抗体は、eタウ1ポリペプチド、eタウ2ポリペプチド、eタウ3ポリペプチドおよびeタウ4ポリペプチドに結合する。ある例において、抗体は、アミノ酸配列EDEAAGHVTQAR(配列番号79)内のエピトープに結合する。

【0373】

29) タウポリペプチド(例えば、本発明のeタウポリペプチド)に特異的に結合する単離されたモノクローナル抗体であって、ここで、該単離された抗体は、1、2、3、4、5または6個の以下のCDR:i)配列番号49のアミノ酸配列を含むV_LCDR1; (ii)配列番号50のアミノ酸配列を含むV_LCDR2; および(iii)配列番号51のアミノ酸配列を含むV_LCDR3; (iv)配列番号52のアミノ酸配列を含むV_HCDR1; (v)配列番号53のアミノ酸配列を含むV_HCDR2; および、(vi)配列番号54のアミノ酸配列を含むV_HCDR3、を含む。ある場合において、抗体は、i)配列番号49のアミノ酸配列を含むV_LCDR1; (ii)配列番号50のアミノ酸配列を含むV_LCDR2; および(iii)配列番号51のアミノ酸配列を含むV_LCDR3を含む。ある場合において、抗体は、(iv)配列番号52のアミノ酸配列を含むV_HCDR1; (v)配列番号53のアミノ酸配列を含むV_HCDR2; および(vi)配列番号54のアミノ酸配列を含むV_HCDR3を含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプIgG4のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S241P置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、Fv、scFv、Fab、F(ab')₂、またはFab'である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたは

10

20

30

40

50

タンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} Mの解離定数 (K_D) で結合する。ある場合において、抗体は、e タウ1ポリペプチド、e タウ2ポリペプチド、e タウ3ポリペプチドおよびe タウ4ポリペプチドに結合する。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 E D E A A G H V T Q A R (配列番号79) 内のエピトープに結合する。

【0374】

30) ヒト化軽鎖フレームワーク領域およびヒト化重鎖フレームワーク領域を含む単離されたヒト化モノクローナル抗体であって、ここで、該単離された抗体は、タウポリペプチド (例えば、本発明のe タウポリペプチド) に特異的に結合し、ここで、該単離された抗体は、a) (i) 配列番号49のアミノ酸配列を含む V_L CDR1、(ii) 配列番号50のアミノ酸配列を含む V_L CDR2、および(iii) 配列番号51のアミノ酸配列を含む V_L CDR3を含む軽鎖領域、ならびにb) (i) 配列番号52のアミノ酸配列を含む V_H CDR1、(ii) 配列番号53のアミノ酸配列を含む V_H CDR2、および(iii) 配列番号54のアミノ酸配列を含む V_H CDR3を含む重鎖領域、を含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3またはI g G 4のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 4のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S 2 4 1P置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、F v、s c F v、F a b、F (a b')₂、またはF a b'である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} Mの解離定数 (K_D) で結合する。ある場合において、抗体は、e タウ1ポリペプチド、e タウ2ポリペプチド、e タウ3ポリペプチドおよびe タウ4ポリペプチドに結合する。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 E D E A A G H V T Q A R (配列番号79) 内のエピトープに結合する。

【0375】

31) タウポリペプチド (例えば、本発明のe タウポリペプチド) 中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号63のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖CDRおよび配列番号64のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖CDRを含む抗体と、エピトープへの結合に対して競合する。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体は、ヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域およびヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3、またはI g G 4の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は、抗体フラグメント、例えば、F a bフラグメント、F (a b')₂フラグメント、s c F v、またはF vである。ある場合において、抗体は、e タウ1ポリペプチド、e タウ2ポリペプチド、e タウ3ポリペプチドおよびe タウ4ポリペプチドに結合する。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 E D E A A G H V T Q A R (配列番号79) 内のエピトープに結合する。

【0376】

32) タウポリペプチド (例えば、本発明のe タウポリペプチド) 中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号63のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖CDRを含む軽鎖を含む。タウポリペプチド (例えば、本発明のe タウポリペプチド) 中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗

体は、配列番号64のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖CDRを含む重鎖を含む。または、タウポリペプチド（例えば、本発明のeタウポリペプチド）中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号63のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖CDRおよび配列番号64のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖CDRを含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は抗体フラグメントであり、例えば、Fabフラグメント、F(ab')₂フラグメント、scFv、またはFvである。ある場合において、抗体は、eタウ1ポリペプチド、eタウ2ポリペプチド、eタウ3ポリペプチドおよびeタウ4ポリペプチドに結合する。ある例において、抗体は、アミノ酸配列EDEAAGHVTQAR（配列番号79）内のエピトープに結合する。

【0377】

33) タウポリペプチド（例えば、本発明のeタウポリペプチド）中のエピトープへの結合に対して、a) (i) 配列番号57のアミノ酸配列を含むV_L CDR1、(ii) 配列番号58のアミノ酸配列を含むV_L CDR2、および(iii) 配列番号59のアミノ酸配列を含むV_L CDR3を含む軽鎖領域、ならびにb) (i) 配列番号60のアミノ酸配列を含むV_H CDR1、(ii) 配列番号61のアミノ酸配列を含むV_H CDR2、および(iii) 配列番号62のアミノ酸配列を含むV_H CDR3を含む重鎖領域、を含む抗体と競合する、単離された抗体。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプIgG4のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域はS241P置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、Fv、scFv、Fab、F(ab')₂、またはFab'である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、10⁻⁷ M、10⁻⁸ M、10⁻⁹ M、10⁻¹⁰ M、または10⁻¹¹ Mの解離定数(K_D)で結合する。ある場合において、抗体は、eタウ1ポリペプチド、eタウ2ポリペプチド、eタウ3ポリペプチドおよびeタウ4ポリペプチドに結合する。ある例において、抗体は、アミノ酸配列EDEAAGHVTQAR（配列番号79）内のエピトープに結合する。

【0378】

34) タウポリペプチド（例えば、本発明のeタウポリペプチド）に特異的に結合する単離されたモノクローナル抗体であって、ここで、該単離された抗体は、1、2、3、4、5または6個の以下のCDR: i) 配列番号57のアミノ酸配列を含むV_L CDR1; (ii) 配列番号58のアミノ酸配列を含むV_L CDR2; および(iii) 配列番号59のアミノ酸配列を含むV_L CDR3; (iv) 配列番号60のアミノ酸配列を含むV_H CDR1; (v) 配列番号61のアミノ酸配列を含むV_H CDR2; および、(vi) 配列番号62のアミノ酸配列を含むV_H CDR3、を含む。ある場合において、抗体は、i) 配列番号57のアミノ酸配列を含むV_L CDR1; (ii) 配列番号58のアミノ酸配列を含むV_L CDR2; および(iii) 配列番号59のアミノ酸配列を

10

20

30

40

50

含む V_L CDR3 を含む。ある場合において、抗体は、(i v) 配列番号 60 のアミノ酸配列を含む V_H CDR1 ; (v) 配列番号 61 のアミノ酸配列を含む V_H CDR2 ; および (v i) 配列番号 62 のアミノ酸配列を含む V_H CDR3 を含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ IgG1、IgG2、IgG3 または IgG4 のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ IgG4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S241P 置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105 を参照のこと。ある場合において、抗体は、Fv、scFv、Fab、F(ab')₂、または Fab' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} M の解離定数 (K_D) で結合する。ある場合において、抗体は、e タウ1 ポリペプチド、e タウ2 ポリペプチド、e タウ3 ポリペプチドおよび e タウ4 ポリペプチドに結合する。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 EDEAAGHVTQAR (配列番号 79) 内のエピトープに結合する。

10

20

【0379】

35) ヒト化軽鎖フレームワーク領域およびヒト化重鎖フレームワーク領域を含む単離されたヒト化モノクローナル抗体であって、ここで、該単離された抗体は、タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)に特異的に結合し、ここで、該単離された抗体は、a) (i) 配列番号 57 のアミノ酸配列を含む V_L CDR1、(i i) 配列番号 58 のアミノ酸配列を含む V_L CDR2、および (i i i) 配列番号 59 のアミノ酸配列を含む V_L CDR3 を含む軽鎖領域、ならびに b) (i) 配列番号 60 のアミノ酸配列を含む V_H CDR1、(i i) 配列番号 61 のアミノ酸配列を含む V_H CDR2、および (i i i) 配列番号 62 のアミノ酸配列を含む V_H CDR3 を含む重鎖領域、を含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ IgG1、IgG2、IgG3 または IgG4 のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ IgG4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S241P 置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105 を参照のこと。ある場合において、抗体は、Fv、scFv、Fab、F(ab')₂、または Fab' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} M の解離定数 (K_D) で結合する。ある場合において、抗体は、e タウ1 ポリペプチド、e タウ2 ポリペプチド、e タウ3 ポリペプチドおよび e タウ4 ポリペプチドに結合する。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 EDEAAGHVTQAR (配列番号 79) 内のエピトープに結合する。

30

40

【0380】

36) タウポリペプチド(例えば、本発明の e タウポリペプチド)中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号 71 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖 CDR および配列番号 72 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖 CDR を含む抗体と、エピトープへの結合に対して競合する。ある場合において

50

、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体は、ヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化された軽鎖フレームワーク領域およびヒト化された重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は、抗体フラグメント、例えば、F a b フラグメント、F (a b ')₂ フラグメント、s c F v、または F v である。ある場合において、抗体は、e タウ 1 ポリペプチド、e タウ 2 ポリペプチド、e タウ 3 ポリペプチドおよび e タウ 4 ポリペプチドに結合する。ある場合において、抗体は、e タウ 2 ポリペプチドおよび e タウ 1 ポリペプチドに結合するが、e タウ 3 ポリペプチドまたは e タウ 4 ポリペプチドには結合しない。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 S S P G S P G T P G S R (配列番号 8 0) 内のエピトープに結合する。

10

【 0 3 8 1 】

3 7) タウポリペプチド (例えば、本発明の e タウポリペプチド) 中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号 7 1 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖 C D R を含む軽鎖を含む。タウポリペプチド (例えば、本発明の e タウポリペプチド) 中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号 7 2 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖 C D R を含む重鎖を含む。または、タウポリペプチド (例えば、本発明の e タウポリペプチド) 中のエピトープに結合する単離された抗体であって、ここで、該抗体は、配列番号 7 1 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域の軽鎖 C D R および配列番号 7 2 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域の重鎖 C D R を含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワーク領域を含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワーク領域を含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 の重鎖定常領域を含む。ある場合において、抗体は抗体フラグメントであり、例えば、F a b フラグメント、F (a b ')₂ フラグメント、s c F v、または F v である。ある場合において、抗体は、e タウ 1 ポリペプチド、e タウ 2 ポリペプチド、e タウ 3 ポリペプチドおよび e タウ 4 ポリペプチドに結合する。ある場合において、抗体は、e タウ 2 ポリペプチドおよび e タウ 1 ポリペプチドに結合するが、e タウ 3 ポリペプチドまたは e タウ 4 ポリペプチドには結合しない。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 S S P G S P G T P G S R (配列番号 8 0) 内のエピトープに結合する。

20

30

【 0 3 8 2 】

3 8) タウポリペプチド (例えば、本発明の e タウポリペプチド) 中のエピトープへの結合に対して、a) (i) 配列番号 6 5 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 1、(i i) 配列番号 6 6 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 2、および (i i i) 配列番号 6 7 のアミノ酸配列を含む V_L C D R 3 を含む軽鎖領域、ならびに b) (i) 配列番号 6 8 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 1、(i i) 配列番号 6 9 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 2、および (i i i) 配列番号 7 0 のアミノ酸配列を含む V_H C D R 3 を含む重鎖領域、を含む抗体と競合する、単離された抗体。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体はヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は S 2 4 1 P 置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30 : 10 5 を参照のこと。ある場合において、抗体は、F v、s c F v、F a b、F (a b ')₂

40

50

、またはF a b'である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} Mの解離定数(K_D)で結合する。ある場合において、抗体は、eタウ1ポリペプチド、eタウ2ポリペプチド、eタウ3ポリペプチドおよびeタウ4ポリペプチドに結合する。ある場合において、抗体は、eタウ2ポリペプチドおよびeタウ1ポリペプチドに結合するが、eタウ3ポリペプチドまたはeタウ4ポリペプチドには結合しない。ある例において、抗体は、アミノ酸配列SSPGSPGTPGSR(配列番号80)内のエピトープに結合する。

【0383】

39) タウポリペプチド(例えば、本発明のeタウポリペプチド)に特異的に結合する単離されたモノクローナル抗体であって、ここで、該単離された抗体は、1、2、3、4、5または6個の以下のCDR:i)配列番号65のアミノ酸配列を含む V_L CDR1;(ii)配列番号66のアミノ酸配列を含む V_L CDR2;および(iii)配列番号67のアミノ酸配列を含む V_L CDR3;(iv)配列番号68のアミノ酸配列を含む V_H CDR1;(v)配列番号69のアミノ酸配列を含む V_H CDR2;および、(vi)配列番号70のアミノ酸配列を含む V_H CDR3、を含む。ある場合において、抗体は、i)配列番号65のアミノ酸配列を含む V_L CDR1;(ii)配列番号66のアミノ酸配列を含む V_L CDR2;および(iii)配列番号67のアミノ酸配列を含む V_L CDR3を含む。ある場合において、抗体は、(iv)配列番号68のアミノ酸配列を含む V_H CDR1;(v)配列番号69のアミノ酸配列を含む V_H CDR2;および(vi)配列番号70のアミノ酸配列を含む V_H CDR3を含む。ある場合において、抗体はヒト化されている。例えば、ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークを含む。ある例において、抗体はヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、抗体は、ヒト化軽鎖フレームワークおよびヒト化重鎖フレームワークを含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプIgG4のものである。これらの

態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S241P置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105を参照のこと。ある場合において、抗体は、Fv、scFv、Fab、F(ab')₂、またはFab'である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} Mの解離定数(K_D)で結合する。ある場合において、抗体は、eタウ1ポリペプチド、eタウ2ポリペプチド、eタウ3ポリペプチドおよびeタウ4ポリペプチドに結合する。ある場合において、抗体は、eタウ2ポリペプチドおよびeタウ1ポリペプチドに結合するが、eタウ3ポリペプチドまたはeタウ4ポリペプチドには結合しない。ある例において、抗体は、アミノ酸配列SSPGSPGTPGSR(配列番号80)内のエピトープに結合する。

【0384】

40) ヒト化軽鎖フレームワーク領域およびヒト化重鎖フレームワーク領域を含む単離されたヒト化モノクローナル抗体であって、ここで、該単離された抗体は、タウポリペプチド(例えば、本発明のeタウポリペプチド)に特異的に結合し、ここで、該単離された抗体は、a)(i)配列番号65のアミノ酸配列を含む V_L CDR1、(ii)配列番号66のアミノ酸配列を含む V_L CDR2、および(iii)配列番号67のアミノ酸配列を含む V_L CDR3を含む軽鎖領域、ならびにb)(i)配列番号68のアミノ酸

配列を含む V_H CDR 1、(i i) 配列番号 69 のアミノ酸配列を含む V_H CDR 2、および (i i i) 配列番号 70 のアミノ酸配列を含む V_H CDR 3 を含む重鎖領域、を含む。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は別個のポリペプチド中に存在する。ある場合において、軽鎖領域および重鎖領域は、単一のポリペプチド中に存在する。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3 または I g G 4 のものである。ある場合において、重鎖領域は、アイソタイプ I g G 4 のものである。これらの態様のいくつかにおいて、ヒンジ領域は、S 2 4 1 P 置換を含む。例えば、Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105 を参照のこと。ある場合において、抗体は、F v、s c F v、F a b、F (a b ') 2、または F a b ' である。ある場合において、抗体は、共有結合した非ペプチド性合成ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)ポリマーを含む。ある場合において、抗体は、血液脳関門の通過を促進する担体分子、ペプチドまたはタンパク質に直接またはリンカーを介して結合されている。ある場合において、単離された抗体は、タウポリペプチドに、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、または 10^{-11} M の解離定数 (K_D) で結合する。ある場合において、抗体は、e タウ 1 ポリペプチド、e タウ 2 ポリペプチド、e タウ 3 ポリペプチドおよび e タウ 4 ポリペプチドに結合する。ある場合において、抗体は、e タウ 2 ポリペプチドおよび e タウ 1 ポリペプチドに結合するが、e タウ 3 ポリペプチドまたは e タウ 4 ポリペプチドには結合しない。ある例において、抗体は、アミノ酸配列 S S P G S P G T P G S R (配列番号 80) 内のエピトープに結合する。

10

【0385】

20

タウオパチーは、個体の組織または体液中のタウの異常な濃度により特徴付けられる障害である。ある場合において、タウオパチーは、高濃度(正常より高い濃度)のタウまたはタウポリペプチドおよび/またはタウの病理的形態が、組織または体液中に存在することにより特徴付けられる。例えば、ある場合において、タウオパチーは、高濃度のタウまたはタウポリペプチドおよび/またはタウの病理的形態が、脳組織および/または脳脊髄液中に存在することにより特徴付けられる。組織または体液中の“正常より高い”濃度のタウは、組織または体液中のタウ濃度が、正常濃度、対照濃度より高濃度であること、例えば、同年齢群の個体または集団の正常濃度、対照濃度よりも高濃度であることを意味する。例えば、Blomberg et al. (2001) “Cerebrospinal fluid tau levels increase with age in healthy individuals” Dement. Geriatr. Cogn. Disord. 12:127 を参照のこと。ある場合において、タウオパチーを有する個体は、タウオパチーの 1 つまたはそれ以上の付加的症状(例えば、認知低下)を示す。

30

【0386】

他の場合において、タウオパチーは、正常濃度よりも低い濃度のタウが、組織または体液中に存在することにより特徴付けられる。組織または体液中の“正常より低い”濃度のタウは、組織または体液中のタウレベルが、正常濃度、対照濃度より低い濃度であること、例えば、同年齢群の個体または集団の正常濃度、対照濃度よりも低い濃度であることを意味する。

【0387】

アルツハイマー病および前頭側頭骨性認知症の任意の病態(ピック病、散発性前頭側頭骨性認知症および染色体 17 に連鎖するパーキンソニズムを伴う前頭側頭骨性認知症)は、タウオパチーの最も一般的な病態である。従って、本発明は、上記の何れかの方法に関係し、ここで、タウオパチーは、アルツハイマー病、ピック病、散発性前頭側頭骨性認知症および染色体 17 に連鎖するパーキンソニズムを伴う前頭側頭骨性認知症である。他のタウオパチーには、進行性核上性麻痺(PSP)、大脳皮質基底核変性症(CBD)および亜急性硬化性全脳炎が含まれるが、これらに限定されない。

40

【0388】

神経変性タウオパチーは、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症/パーキンソニズムを伴う認知症複合体、嗜銀顆粒性認知症、家族性脳アミロイド血管症(英国型)、脳アミロイド血管症、大脳皮質基底核変性症、クロイツフェルトヤコブ症、ボクシング認知症(De

50

mentia pugilistica)、石灰沈着を伴うびまん性神経原線維変化病、ダウン症候群、前頭側頭骨性認知症(FTD)、染色体17に連鎖するパーキンソニズムを伴う前頭側頭骨性認知症、前頭側頭葉変性症、ゲルストマン・ストロイスラー・シャインカー病、ハラフオルデン・シュパッツ病、封入体筋炎、多系統萎縮症、筋強直性ジストロフィー、ニーマン・ピック病C型、神経原線維変化を伴う非グアム型運動ニューロン疾患、ピック病、脳炎後パーキンソニズム、プリオンタンパク質大脳アミロイド血管症、進行性皮質下グリオシス、進行性核上性麻痺、亜急性硬化性全脳炎、神経原線維型老年認知症(tangle only dementia)、多発脳梗塞性認知症、虚血性脳卒中、慢性外傷性脳症(CTE)、外傷性脳損傷(TBI)、および脳卒中を含む。

【0389】

本発明はまた、シヌクレイノパチー、例えば、パーキンソン病(PD); レビー小体型認知症(DLB); 多系統萎縮症(MSA)などの処置方法を提供し、例えば、認知症を伴うPD(PDD)は、本発明の方法で処置され得る。

【0390】

1つの態様において、本発明の抗タウ抗体は、対象における神経変性疾患であるタウオパチーの少なくとも1つの症状の発症を予防または遅延する。1つの態様において、本発明の抗タウ抗体は、対象における神経変性疾患であるタウオパチーの少なくとも1つの症状を低減または排除する。該症状は、対象の脳または脊髄における、病理的タウ蓄積; 細胞外可溶性タウおよび/またはタウフラグメント; 過剰リン酸化タウ蓄積; 不溶性タウ蓄積; 神経原線維変化; 神経原線維変性線維症(neurofibrillary fiber); プレタングルホスホ-タウ凝集; 神経細胞内の神経原線維変化; ニューロンの過剰活性化; および、神経細胞外の神経原線維変化の1つまたはそれ以上の形成であり得る。該症状は、神経学的症状、例えば、認知機能の障害、記憶障害、運動機能の低下などであり得る。ある場合において、本発明の抗タウ抗体は、認知機能を改善することができる。ある場合において、本発明の抗タウ抗体は、認知機能の低下速度を遅くし得る。ある場合において、本発明の抗タウ抗体は、運動機能を改善し得る。ある場合において、本発明の抗タウ抗体は、運動機能の低下速度を遅くし得る。

【0391】

該症状はまた、個体のCSFにおける目的のタウペプチドの濃度でもあり得る。例えば、ある態様において、本発明の抗タウ抗体は、タウオパチーを有する個体に単剤療法として、または併用療法として、単一用量または複数用量で投与されるとき、個体のCSFにおける本発明のタウペプチドの濃度を、抗タウ抗体での処置前の個体のCSFにおけるタウペプチドの濃度と比較して、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、または50%以上低減する。

【0392】

個体への本発明の抗タウ抗体の投与は、脳組織における細胞外遊離タウの量の減少; タウ(例えば、タウフラグメント)の細胞から他の細胞への拡散(例えば、ニューロンから他のニューロンへの拡散)の減少; タウ凝集(例えば、細胞内(例えば、ニューロン内)タウ凝集)の量の減少; 脳組織における神経原線維変化量の減少; ミクログリアの活性化および/またはアストロサイトの活性化のレベルの低下; リン酸化タウの量の減少; 過剰リン酸化タウの量の減少; 全量タウ(例えば、全細胞内タウ; および/または全細胞外タウ)の減少; 遊離タウ(例えば、本発明の抗タウ抗体に結合していないタウ)の減少; ニューロンの過剰活性化の低下; および、N末端タウフラグメントの量の減少、の1つまたはそれ以上をもたらし得る。“全量タウ”は、何れかのイソ型の完全長タウ; および、存在し、かつ本発明の抗タウ抗体に認識されるエピトープを提示するN末端タウフラグメント、の合計を含み得る。リン酸化タウの還元は、何れかの公知の方法を用いて、例えば、抗ホスホ-タウ抗体を用いる免疫学的方法により決定され得る。

【0393】

ある場合において、本発明の抗タウ抗体の個体への投与は、a)脳組織における細胞外

10

20

30

40

50

遊離タウの量； b) 間質液 (I S F) における細胞外遊離タウの量； c) 脳脊髄液 (C S F) における細胞外遊離タウの量； d) ニューロンから他のニューロンへのタウの拡散； e) ニューロン内のタウ凝集量； f) ミクログリアおよび / またはアストロサイトの活性化の低減； g) リン酸化または過剰リン酸化タウの量； h) I S F または C S F における、全量タウまたは遊離タウの量； i) 細胞内の N 末端タウフラグメントの量； j) ニューロンの過剰活性化； k) C S F における、 A_{40} および / または A_{42} の量； l) A_{42} プラーク面積率； m) ニューロンからの A_{40} および / または A_{42} の分泌； n) アミロイド前駆体タンパク質 (A P P) プロモーター活性； o) A P P m R N A および / またはタンパク質レベル； p) β -セクレターゼおよび / または β -セクレターゼの活性； q) A β 伸介シグナル伝達経路の活性化状態； r) 細胞内完全タウまたは遊離タウの量； s) I S F または C S F における、抗タウ抗体 - 結合タウの量、および t) 細胞内抗タウ抗体 - 結合タウの量、の 1 つまたはそれ以上の変化をもたらし得る。

10

【 0 3 9 4 】

本発明の抗タウ抗体の個体への投与は、脳組織における細胞外遊離タウペプチドの量の減少；タウペプチドの細胞から他の細胞への拡散（例えば、ニューロンから他のニューロンへの拡散）の減少；タウ凝集（例えば、細胞内（例えば、ニューロン内）タウ凝集）の量の減少；および、脳組織における神経原線維変化量の減少、の 1 つまたはそれ以上をもたらし得る。ある場合において、本発明の抗タウ抗体の個体への投与は、個体における認知機能を改善する、または少なくとも、個体における認知機能の低下を遅くする。

【 0 3 9 5 】

ある場合において、本発明の抗タウ抗体の個体への投与は、細胞外遊離タウペプチドの量（例えば、脳組織における細胞外遊離タウペプチドの量）を、抗タウ抗体での処置前の個体における細胞外遊離タウペプチドの量と比較して、少なくとも約 10 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 25 %、少なくとも約 50 %、または 50 % 以上低減する。

20

【 0 3 9 6 】

ある場合において、本発明の抗タウ抗体の個体への投与は、タウポリペプチド（例えば、病的タウポリペプチド）の細胞から他の細胞（例えば、ニューロンから他のニューロン）への拡散を、本発明の抗タウ抗体での処置前の細胞から他の細胞への拡散と比較して、少なくとも約 10 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 25 %、少なくとも約 50 %、または 50 % 低減する。

30

【 0 3 9 7 】

ある場合において、本発明の抗タウ抗体の個体への投与は、タウ凝集（例えば、細胞内（例えば、ニューロン内）タウ凝集）の量を、抗タウ抗体での処置前のタウ凝集の量と比較して、少なくとも約 10 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 25 %、少なくとも約 50 %、または 50 % 以上減少する。

【 0 3 9 8 】

ある場合において、本発明の抗タウ抗体の個体への投与は、個体における神経毒性を減少し、および / または個体における神経炎症を減少し、および / またはアストロサイトおよびミクログリアの活性化を低下し、および / または病理学的電気生理的作用の誘導を減少し、および / またはエキソソーム中のタウの量を減少させる。

40

【 0 3 9 9 】

ある場合において、本明細書に記載の方法における使用のための抗体は、タウ 1 2 抗体、タウ 1 3 抗体、T N T 1 抗体、5 A 6 抗体、H J 9 . 4 抗体、H T 7 抗体、または 6 C 1 0 抗体以外である。

【 0 4 0 0 】

本発明の抗タウ抗体は、医薬組成物中に存在し得る。故に、本発明は、a) 本発明の抗タウ抗体；および、b) 薬学的に許容される担体、を含む医薬組成物を提供する。本発明の抗タウ抗体は、当技術分野で周知の方法に従って製剤され得る。例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy (2000) by the University of Sciences in Philadelphia、ISBN 0 - 683 - 306472を参照のこと。好適な医薬担体の例は当技術分野で周知

50

であり、リン酸緩衝生理食塩水溶液、水、エマルジョン、例えば油/水エマルジョン、種々の湿潤剤、滅菌溶液などが含まれる。かかる担体を含む組成物は、周知の常套法により製剤され得る。これらの医薬組成物は、好適な用量で対象に投与され得る。

【0401】

好適な組成物の投与は、種々の方法、例えば、静脈内投与、髄腔内投与、腹腔内投与、皮下投与、頭蓋内投与、動脈内投与（例えば、頸動脈を介して）、筋肉内投与、鼻腔内投与、局所投与または皮内投与または脊髄へもしくは脳への送達により達成され得る。鼻腔用スプレー製剤のようなエアロゾル製剤には、活性剤と共に防腐剤および等張剤を含む精製した水溶液または他の溶液が含まれる。かかる製剤は、鼻粘膜に適合するpHおよび等張性に合わせられる。

10

【0402】

ある場合において、本発明の抗タウ抗体は、抗体に血液脳関門を通過する能力を提供するような方法で修飾または製剤される。そのような抗体または抗体組成物は、経口投与、静脈内投与などを含む、種々の経腸投与および非経腸投与により、タウオパチーを有する個体に投与され得る。

【0403】

非経腸投与用製剤には、滅菌水溶液または非水溶液、懸濁液、およびエマルジョンが含まれる。非水性溶媒の例は、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油のような植物油、およびオレイン酸エチルのような注射用有機エステルである。水性担体には、生理食塩水および緩衝媒体を含めて、水、アルコール/水溶液、エマルジョンまたは懸濁液が含まれる。非経腸用ビヒクルには、塩化ナトリウム溶液、リンゲル・デキストロース、デキストロースおよび塩化ナトリウム、乳酸化リンゲル、または不揮発性油が含まれる。静脈内用ビヒクルには、流動および栄養補充液、電解質補充液（例えば、リンゲル・デキストロースをベースとするもの）等が含まれる。防腐剤および他の添加物、例えば、抗菌剤、抗酸化剤、キレート剤、および不活性ガス等が存在していてもよい。さらに、本発明の医薬組成物は、医薬組成物の目的とする使用によっては、ドーパミンまたは精神薬理作用を有する薬剤（psychopharmacologic drug）のようなさらなる薬物を含み得る。

20

【0404】

投与量レジメンは、担当医または他の医療関係者により、種々の臨床的因子に基づき決定され得る。医薬分野の当業者にはよく知られている通り、何れかの患者に対する投与量は、患者の体格、体表面積、年齢、投与される特定の化合物、性別、投与時期および経路、全身的健康状態、および同時に投与される他の薬物を含む種々の因子によって変わる。本発明の抗タウ抗体の用量は、例えば、 $0.001 \mu\text{g} \sim 1000 \mu\text{g}$ の範囲であり得る。しかしながら、この例示的範囲以下または以上の用量が考慮され、とりわけ下記の数値が考慮される。一般的に、投与量は、宿主の体重1kg当たり、例えば、約 $0.0001 \sim 100 \text{mg}$ 、または約 $0.01 \sim 5 \text{mg}$ の範囲（例えば、 0.02mg 、 0.25mg 、 0.5mg 、 0.75mg 、 1mg 、 2mg など）であり得る。例えば、投与量は、 $1 \text{mg} / \text{kg}$ 体重または $10 \text{mg} / \text{kg}$ 体重であり得る、または $1 \sim 10 \text{mg} / \text{kg}$ の範囲内である、または少なくとも $1 \text{mg} / \text{kg}$ である。上記の範囲の中間の用量はまた、本発明の範囲内であることが意図される。対象は、1日1回、2日に1回、1週間に1回または実験的分析により決定される何れかの他のスケジュールで、かかる用量を投与され得る。例示的処置は、長期間、例えば、少なくとも6ヶ月の複数回投与を必要とする。さらなる例示的処置レジメンは、2週間毎に1回または1ヶ月に1回または3～6ヶ月毎に1回の投与を必要とする。例示的投与スケジュールは、1日1回連続して $1 \sim 10 \text{mg} / \text{kg}$ もしくは $15 \text{mg} / \text{kg}$ 、2日に1回 $30 \text{mg} / \text{kg}$ 、または1週間に1回 $60 \text{mg} / \text{kg}$ を含む。ある方法において、2種またはそれ以上の異なる結合特異性を有するモノクローナル抗体を同時に投与し、このとき、投与される各抗体の投与量は、記載した範囲内である。疾患の進行を、定期的な評価によりモニターすることができる。

30

40

【0405】

50

併用療法

本発明の抗タウ抗体は、それを必要とする個体に単独で（例えば、単剤療法として）、または1つもしくはそれ以上のさらなる治療剤との併用療法にて投与され得る。

【0406】

ADの処置に関して、好適なさらなる治療剤には、Ariccept（ドネペジル）、Exelon（リバスチグミン）、メトリホナート、およびタクリン（Cognex）を含むが、これらに限定されないアセチルコリンエステラーゼ阻害剤；抗A抗体；イブプロフェンおよびインドメタシンを含むが、これらに限定されない非ステロイド性抗炎症剤；Celebrex（セレブレックス）のようなシクロオキシゲナーゼ-2（Cox2）阻害剤；ならびに、セレギリン（Selegiline）（Elderylまたはデプレニル）のよう

10

【0407】

ADの処置における別の好適なさらなる治療剤は、タウ凝集を阻害する薬物、例えば、米国特許番号第7,605,179号に記載の、タウ凝集を阻害するナフトキノ誘導体である。別の好適なさらなる治療剤は、タウのリン酸化を阻害する薬物、例えば、米国特許番号第7,572,793号に記載の、タウタンパク質キナーゼ1を阻害する3-置換-4-ピリミドン誘導体である。

【0408】

本明細書で用いる“～との併用”は、例えば、第一の化合物が、第二の化合物の全投与期間中に投与される；第一の化合物が、第二の化合物の投与と重複する期間に投与される、例えば第一の化合物の投与が、第二の化合物の投与前に始まり、そして第一の化合物の投与が、第二の化合物の投与終了前に終了する；第二の化合物の投与が、第一の化合物の投与前に始まり、そして第二の化合物の投与が、第一の化合物の投与終了前に終了する；第一の化合物の投与が、第二の化合物の投与開始前に始まり、そして第二の化合物の投与が、第一の化合物の投与終了前に終了する；第二の化合物の投与が、第一の化合物の投与開始前に始まり、第一の化合物の投与が、第二の化合物の投与終了前に終了する、ような使用を意味する。例えば“併用”はまた、2以上の化合物の投与を含むレジメンを意味し得る。本明細書で用いる“～との併用”はまた、同じか、または異なる製剤において、同じか、または異なる投与経路で、そして同じか、または異なる投与量形態タイプで投与され得る、2以上の化合物の投与を意味する。

20

30

【0409】

投与されるべき個体

本発明の抗タウ抗体での処置に好適な個体には、タウオパチーを有すると診断されている個体；一般集団よりもタウオパチーを発症する危険性の高い個体（例えば、タウオパチーを発症する遺伝的素因を有する個体）などが含まれる。ある場合において、該個体は、成人である。ある場合において、成人は、40歳もしくはそれ以上、50歳もしくはそれ以上、60歳もしくはそれ以上、70歳もしくはそれ以上、または80歳もしくはそれ以上である。例えば、成人は、40歳から50歳、50歳から60歳、60歳から70歳、または70歳以上であってよい。

40

【0410】

検出法

本発明は、個体から得られた生物学的サンプル中の細胞外タウ（eタウ）ポリペプチド（例えば、本発明のタウポリペプチド）を検出する方法；および、生存個体中のタウポリペプチドのインビボ検出方法を提供する。本発明の検出方法は、個体がタウオパチーを有する、またはその発症リスクを有するかどうかを決定するために用いられ得る。本発明の検出方法は、タウオパチーのステージ（重症度）を決定するために用いられ得る。本発明の検出方法は、タウオパチーを処置するための処置レジメンに対する患者の応答を決定するために用いられ得る。生物学的サンプルは、本発明の検出方法を用いて試験され得て、ここで、該生物学的サンプルは、タウオパチーを有すると予期された個体、タウオパチー

50

を有すると診断された個体、タウオパチーを発症する遺伝的素因を有する個体などから得られる。

【0411】

本発明は、個体における神経変性タウオパチーの診断方法を提供する。該方法は、一般的に、(a) 個体から得られた生物学的サンプル中の e タウポリペプチドの濃度を評価し、そして (b) e タウポリペプチドの濃度を、参照対照値、標準対照値、または 1 もしくは複数の対照対象における病理学的タウ病変もしくは凝集タウの濃度を示す正常対照値と比較すること、を含む。病理学的タウ病変もしくは凝集タウの濃度と、正常対照値との相違または類似は、該個体が神経変性タウオパチーを有することを示す。

【0412】

本発明は、個体における神経変性タウオパチーの進行をモニターする方法、またはその処置に対する応答をモニターする方法を提供する。該方法は、一般的に、第一の時点で個体から得られた生物学的サンプルにおける e タウポリペプチドの濃度を、第二の時点で個体から得られた生物学的サンプルにおける e タウポリペプチドの濃度と比較することを含む。第二の時点で個体から得られた生物学的サンプルにおける e タウポリペプチドの濃度の、第一の時点で個体から得られた生物学的サンプルにおける e タウポリペプチドの濃度との比較における相違は、i) タウオパチーが進行しているかどうか、または疾患の進行が停止しているかどうか、および / または ii) タウオパチーがどの程度早く進行しているか、および / または iii) 個体が、タウオパチーを処置するための薬剤または他の処置レジメンでの処置に有益な臨床応答を示しているかどうかの指標を提供し得る。

【0413】

本発明は、タウオパチーの診断方法を提供する。例えば、本発明の方法は、アルツハイマー病 (AD) の診断を提供し得る。例えば、生きている個体由来の生物学的サンプル (例えば、CSF または他の液体生物学的サンプル) における e タウポリペプチドの濃度は、AD の Braak ステージとしての指標を提供し得る。Braak and Braak (1995) Neurobiol. Aging 16:271。例えば、生きている個体由来の生物学的サンプルにおける目的のタウポリペプチドの濃度は、該個体が AD の移行嗅内野ステージ (transentorhinal stage) I - II ; AD の固有海馬ステージ (limbic stage) III - IV ; または、AD の新皮質連合ステージ (neocortical stage) V - VI であるかどうかの指標を提供し得る。

【0414】

生物学的サンプルにおける e タウポリペプチドの濃度は、当技術分野で公知の好適な方法により評価することができる。好適な方法は、タンパク質 (“ウエスタン”) プロット法、免疫沈降法、酵素免疫吸着測定法 (ELISA)、放射免疫測定法 (RIA)、蛍光活性化細胞分類法 (FACS)、二次元ゲル電気泳動法、質量分析法 (MS)、マトリックス支援レーザー脱離イオン化法 (MALDI-TOF)、表面エンハンス型レーザー脱離イオン化法 (SELDI-TOF)、高速液体クロマトグラフィー法 (HPLC)、高圧タンパク質液体クロマトグラフィー法 (FPLC)、多次元液体クロマトグラフィー (LC) とその後のタンデム質量分析 (MS/MS)、ならびにレーザー濃度測定法が含まれるが、これらに限定されない。

【0415】

インビボイメージング

上記の通り、本発明は、例えば、インビボイメージング技術により、生きている個体における e タウポリペプチドの検出方法を提供する。例えば、1つの態様において、e タウポリペプチドのインビボイメージングは、陽電子放出断層撮影 (PET)、単一光子放射断層撮影 (SPECT)、近赤外 (NIR) 分光法、または核磁気共鳴画像法 (MRI) により達成できる。本発明の抗タウ抗体が個体に投与され、タウポリペプチドの存在および / またはレベルが検出される。抗タウ抗体は、PET、SPECT、NIR、または MRI における使用に好適な標識を含み得る。そのような標識には、造影剤または放射性同位元素が含まれ、該造影剤または放射性同位元素は、イメージング、例えば、上記の通り

10

20

30

40

50

、ヒトに行われるイメージング方法における使用に好適なものである。

【0416】

レポート作成

ある例において、本発明の検出方法は、個体から得られた生物学的サンプルにおける e タウポリペプチドの検出、および検出したタウポリペプチドの濃度に基づき、レポートの作成および/または生物学的サンプルが得られた個体の治療またはマネジメントの方向付けを行うことを含む。

【0417】

レポートは、個体がタウオパチーを有する可能性があるかどうかの指標、タウオパチーの重症度の指標、個体がタウオパチーの処置に対して有益な臨床応答を示すかどうかの指標などの1つまたはそれ以上を含み得る。

10

【0418】

従って、レポートは、個体がタウオパチーを有する、またはタウオパチーを発症し得るかどうかの予測；さらなる評価に関する勧告；治療薬および/または他の健康管理への介入に関する勧告などのような情報を含み得る。

【0419】

例えば、本明細書に記載の方法はさらに、目的の評価の結果を提供するレポートを作成または出力する工程を含み得て、該レポートは、電子媒体の形態（例えば、コンピューターモニター上の電子表示）で、または有形的表現媒体の形態（例えば、紙に印刷されたものまたは他の有形的表現媒体）で提供され得る。個体がタウオパチーを有する、またはタウオパチーを発症する危険性を有する可能性の評価は、“リスクレポート”、“リスクスコア”または“可能性のスコア”として示され得る。レポートを作成する個人または機関（“レポート作成者”）はまた、サンプル収集、サンプル処理などのような工程を行うこともできる。あるいは、レポート作成者以外の機関は、サンプル収集、サンプル処理などのような工程を行うことができる。リスク評価レポートは、ユーザーに提供され得る。“ユーザー”とは、医療専門家（例えば、臨床医、研究者、または研究医）であり得る。

20

【0420】

健康管理の指示

ある例において、本発明の検出方法は、個体から得られた生物学的サンプルにおける e タウポリペプチドを検出すること、および検出されたタウポリペプチドの濃度に基づき、レポートの作成および/または生物学的サンプルが得られた個体の治療またはマネジメントの指示を行うことを含む。

30

【0421】

従って、例えば、本発明の検出方法の結果によって、タウオパチーの治療的介入（処置）を施されている個体および/または特別な健康管理が考慮されている個体に、忠告がなされ得る。

【0422】

治療的介入には、例えば、アルツハイマー病の処置のための薬物療法が含まれ得る。アルツハイマー病の処置のための薬物療法の例としては、A r i c e p t（ドネペジル）、E x e l o n（リバスチグミン）、メトリホナート、およびタクリン（C o g n e x）を含むが、これらに限定されないアセチルコリンエステラーゼ阻害剤；抗A 抗体（例えば、パピネオズマブ、s o l a n e z u m a b（ソラネズマブ））；抗タウ抗体；イブプロフェンおよびインドメタシンを含むが、これに限定されない非ステロイド性抗炎症剤；C e l e b r e xのようなシクロオキシゲナーゼ-2（C o x 2）阻害剤；ならびに、S e l l e g i l e n e（E l d e p r y lまたはデプレニル）のようなモノアミンオキシダーゼ阻害剤、が含まれるが、これらに限定されない。上記の各薬物の投与量は、当技術分野で公知である。例えば、A r i c e p tは、6週間の間、1日当たり50mgの経口用量が投与されてよく、個体が良好な耐容性を示すとき、その後1日当たり10mgが投与されてよい。

40

【0423】

50

キットおよびアッセイ装置

本発明は、本明細書に記載の診断法を実行するためのキットおよびアッセイ装置を提供する。

【0424】

キット

本発明は、本明細書に記載の診断法を実行するためのキットを提供する。ある場合において、本発明のキットは、本発明の抗タウ抗体を含む。他の場合において、本発明のキットは、本発明のタウペプチドを含む。

【0425】

抗タウ抗体を含むキット

ある場合において、本発明のキットは、本発明の抗タウ抗体を含む。抗タウ抗体は、上記の通り、不溶性支持体（例えば、テストストリップ、マルチウェルプレートの各ウェル、ビーズ（例えば、磁気ビーズ）など）に固定化され得る。

【0426】

抗タウ抗体は、検出可能なラベルを含む。抗体が検出可能なラベルを含むとき、本発明のキットは、検出可能なラベルを生じる1種またはそれ以上の試薬を含み得る。標識された抗体は、化学発光剤、微粒子標識、比色剤、エネルギー転移剤、酵素、蛍光剤、または放射性同位元素のような標識を含み得る。好適な検出可能なラベルには、分光学的手段、光化学的手段、生化学的手段、免疫化学的手段、電気的手段、光学的手段または化学的手段により検出可能な任意の組成物が含まれる。好適な検出可能なラベルには、蛍光標識（例えば、フルオレセインイソチオシアネート、テキサスレッド、ローダミン、緑色蛍光タンパク質、赤色蛍光タンパク質、黄色蛍光タンパク質など）；放射性標識（例えば、 ^3H 、 ^{125}I 、 ^{35}S 、 ^{14}C 、または ^{32}P ）；および、酵素（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、ルシフェラーゼ、ならびに蛍光的手段、比色手段または分光学的手段により検出され得る生成物を生じる基質として働く他の酵素）が含まれるが、これらに限定されない。

【0427】

ある態様において、本発明のキットは、精製した本発明のタウペプチドを含み、該精製したタウペプチドを陽性対照として使用することができ、ここで、タウペプチドは、90%以上純粋、95%以上純粋、98%以上純粋、または99%以上純粋である。標準的タウペプチドは、合成的に製造され得るか、タウペプチドを製造する細胞から単離され得るか、またはタウペプチドを製造する細胞を含む細胞培養液から単離され得る。ある場合において、標準的タウペプチドは、例えば、ペプチドの標準的化学合成法を用いて、合成的に製造される。ある場合において、精製したタウペプチドは、例えば、試験個体由来の試験生物学的サンプルにおいて検出されるタウペプチドを定量するための、標準曲線の作成に好適である。標準曲線の作成に好適なタウペプチドの量の例としては、例えば、0.5 μg 、1.0 μg 、1.5 μg 、2.0 μg 、および5.0 μg が挙げられる。

【0428】

タウペプチドを含むキット

他の場合において、本発明のキットは、本発明のタウペプチドを含む。かかるキットは、該キットのタウペプチドに特異的に結合する抗体の存在を検出するのに使用できる。ある場合において、タウペプチドは、90%以上純粋、95%以上純粋、98%以上純粋、または99%以上純粋である。

【0429】

キット中に存在するタウペプチドは、検出可能なラベルを含んでいてよい。好適な検出可能なラベルには、分光学的手段、光化学的手段、生化学的手段、免疫化学的手段、電気的手段、光学的手段または化学的手段により検出可能な任意の部分が含まれる。好適な検出可能なラベルには、磁気ビーズ（例えば、Dynabeads（商標））；蛍光タンパク質（例えば、緑色蛍光タンパク質、赤色蛍光タンパク質、黄色蛍光タンパク質など）；蛍光色素（例えば、フルオレセインイソチオシアネート、テキサスレッド、ローダミンま

10

20

30

40

50

たはローダミン誘導体（例えば、ローダミン B ; T A M R A）、7 - アミノ - 4 - メチル - クマリン（A M C）、5 - （（2 - アミノエチル）アミノ）ナフタレン - 1 - スルホン酸（E D A N S）、7 - ニトロベンズ - 2 - オキサ - 1, 3 - ジアゾール（N B D）など）；蛍光クエンチャー（例えば、D a b c y l、D a n s y l、2, 4 - ジニトロフェノールなど）；p - ニトロアニリン；放射性標識（例えば、³H、¹²⁵I、³⁵S、¹⁴C、¹⁴N、¹³C、¹⁵N、または³²P）；酵素（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、ルシフェラーゼ、および酵素免疫測定法（E L I S A）において常用される他のもの）；金コロイドまたは着色ガラスもしくはプラスチックなどの比色標識（例えば、ポリスチレン、ポリプロピレン、ラテックスなど）ビーズ；などが挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0430】

キット中に存在するタウペプチドは、固体支持体に直接またはリンカーを介して結合され得る。好適な支持体は当技術分野で周知であり、とりわけ、市販のカラム材料、ポリスチレンビーズ、ラテックスビーズ、磁気ビーズ、コロイド金属粒子、ガラスおよび/またはシリコンのチップならびにガラスおよび/またはシリコンの表面、ニトロセルロースストリップ、ナイロン膜、シート、反応トレーのウェル（例えば、マルチウェルプレート）、プラスチックチューブなどが含まれる。固体支持体は、例えば、ガラス、ポリスチレン、ポリ塩化ビニル、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリカーボネート、デキストラン、ナイロン、アミロース、天然セルロースおよび修飾セルロース、ポリアクリルアミド、アガロース、ならびに磁鉄鉱を含む種々の物質のいずれかを含み得る。固体支持体上に本発明のタウペプチドを固定化するための好適な方法は周知であり、イオン性、疎水性、および共有結合性の相互作用などを含むが、これらに限定されない。固体支持体は、例えば、水溶液に可溶性または不溶性であり得る。ある態様において、好適な固体支持体は、一般に、水溶液に不溶性である

20

【0431】

付加的成分

キットの種々の成分は、別個の容器中に存在していてもよい、または任意の相溶性成分が、要すれば、単一の容器内で予め混合されていてよい。本発明のキットはさらに、1つまたはそれ以上の付加的成分を含んでいてよく、ここで、好適な付加的成分には、1) 陽性対照；2) バッファー（例えば、結合バッファー；洗浄バッファーなど）；3) 検出可能なシグナルを生じるのに使用される試薬などが含まれる。該キットの他の任意の成分には、プロテアーゼ阻害剤；検出可能な標識などが含まれる。

30

【0432】

上記の成分に加えて、本発明のキットは、本発明の方法を実行するためのキットの成分の使用のための指示書を含み得る。本発明の方法を実行するための指示書は、一般に、好適な記録媒体に記録されている。例えば、該指示書は、紙またはプラスチックなどのような物質に印刷されていてよい。そのようなものとして、指示書は、パッケージ挿入物としてキット中に存在する、キットまたはその構成要素（すなわち、パッケージまたはサブパッケージと関連して）などの容器の標識に存在していてもよい。他の態様において、該指示書は、好適なコンピューターの読み出し可能な記録媒体、例えば、コンパクトディスク - 読み出し専用記憶装置（C D - R O M）、デジタル多用途ディスク（D V D）、フロッピーディスク（diskette）などに存在する電子記憶データとして存在する。さらに他の態様において、実際の指示書は、キットに存在せず、リモート・ソースから、例えばインターネットを介して、指示書を得るための手段が提供される。この態様の例は、指示書が見られ、および/または指示書がダウンロードされ得る、ウェブアドレスを含むキットである。指示書と共に、この指示書を得るための手段が、適当な回路基板に記録される。

40

【0433】

アッセイ装置

本発明は、本発明の診断法を実行するためのアッセイ装置を提供する。本発明のアッセイ装置は、本明細書に記載の通り、個体から得られた液体生物学的サンプル中においてタ

50

ウペプチドを検出するために使用され得る。

【0434】

本発明の装置は、アキシャルフロー経路を定義するマトリックスを含み得る。該マトリックスは、i) フロー経路の上流端に液体サンプルを受容するサンプル受容ゾーンを含み得る。該マトリックスは、ii) フロー経路内で、かつサンプル受容ゾーンの下流に位置する、1つまたはそれ以上のテストゾーンをさらに含んでいてよく、該1つまたはそれ以上のテストゾーンはそれぞれ、テストゾーンの各々中に本発明のタウペプチドに特異的な抗体を含み、ここで、固定化された抗体のそれぞれは、液体サンプル中に存在する異なるタウペプチドに結合して、固定化されたタウペプチドを形成することができる。該マトリックスは、iii) フロー経路内で、かつサンプル受容ゾーンの下流に位置する、1つまたはそれ以上の対照ゾーンをさらに含んでいてよく、ここで、該1つまたはそれ以上の対照ゾーンは、陽性および/または陰性対照を含み得る。テストゾーンおよび対照ゾーンは、何れかの対象ゾーンの上流に位置するテストゾーンで始まるフロー経路内に交互形式で配置されていてよい。ある場合において、アッセイ装置は、フロー経路内で、かつサンプル受容ゾーンの下流に位置する唯一のテストゾーンを有し、ここで、該1つのテストゾーンは、本発明のタウペプチドに特異的な抗体を含む。

10

【0435】

かかるアッセイ装置の使用において、ある態様において、本発明のタウペプチドに特異的な標識された抗体は、初めに、液体サンプルが該装置のサンプル受容ゾーンに適用される前に、該液体サンプルと混合され、該混合によって、標識された抗体/タウペプチド複合体が得られ得る。これらの態様において、標識された抗体/タウペプチド複合体を含む液体サンプルは、該アッセイ装置のサンプル受容ゾーンに適用される。液体サンプルは、それがテストゾーンに達するまで該装置に沿って流れている。テストゾーンに存在する抗体は、標識された抗体/タウペプチド複合体中に存在するタウペプチドに結合し、その後、検出され得る。

20

【0436】

アッセイ装置は、タウペプチドに特異的な標識された抗体を含むラベルゾーンをさらに含んでいてよく、該標識された抗体は、固定化されたタウペプチド複合体中に存在するタウペプチドに結合して、標識されたタウペプチド複合体を形成することができ、ここで、該標識された抗体は、液体サンプルの存在下で固定化可能である。かかるアッセイ装置の使用において、タウペプチドを含む液体サンプルは、該装置のサンプル受容ゾーンに適用される；ラベルゾーンに存在する抗体はタウペプチドに結合して、標識された抗体/タウペプチド複合体を形成し、それは、標識された抗体のように、固定化され得る。そして、該標識された抗体/タウペプチド複合体は、液体サンプルがテストゾーンに達するまで該装置を単独で流れる。テストゾーンに存在する抗体は、標識された抗体/タウペプチド複合体に存在するタウペプチドを結合し、その後、検出され得る。

30

【0437】

標識された抗体は、化学発光剤、微粒子標識、比色剤、エネルギー転移剤、酵素、蛍光剤または放射性同位元素のような標識を含み得る。好適な標識は上記に記載されている。

【0438】

対照ゾーンは、陽性対照ゾーンおよび陰性対照ゾーンを含む。

40

【0439】

マトリックスは一般的に不溶性支持体であって、ここで、好適な不溶性支持体には、ポリフッ化ビニリデン(PVDF)、セルロース、ニトロセルロース、ナイロンなどが含まれるが、これに限定されない。マトリックスは、可撓性であってもよく、または比較的不可撓性であってもよい。マトリックスは、支持体、および要すれば、カバーを含むハウジング内に配置されてよく、ここで、該ハウジングは、1つの適用口および1つまたは複数の観察用ポートを含む。アッセイ装置は、様々な形式のいずれか、例えば、テストストリップ、ディップスティックなどであり得る。

【実施例】

50

【0440】

実施例

以下の実施例は、本発明を如何に実施し、使用するかについて完全な開示および説明を当業者に提供するために示され、発明者らが彼らの発明と見なすものの範囲を限定するものではなく、また、以下の実験が実行される全ての実験または唯一の実験であると示すためのものでもない。使用する数字（例えば、量、温度など）に関して正確さを確保する努力がなされたが、いくつかの実験誤差および偏差が考慮されるべきである。特に示さない限り、%は重量%であり、分子量は重量平均分子量であり、温度は摂氏温度であり、圧力は大気圧またはそれに近いものである。標準的な略語、例えば、bp、塩基対（複数可）；kb、キロベース（複数可）；pl、ピコリットル（複数可）；sまたはsec、秒（複数可）；min、分（複数可）；hまたはhr、時（複数可）；aa、アミノ酸（複数可）；kb、キロベース（複数可）；bp、塩基対（複数可）；nt、ヌクレオチド（複数可）；i.m.、筋肉内；i.p.、腹腔内；s.c.、皮下；kdまたはkDa、キロダルトン；Ab、抗体などを用いることができる。

10

【0441】

実施例1：細胞外タウペプチドの単離および特性化

細胞外タウ（“eタウ”）形態は、アルツハイマー病の個体から作製されたiPSCから誘導された皮質ニューロンの馴化培地から単離された。

AD患者の皮膚パンチ生検由来の線維芽細胞から作製したiPSCを、皮質ニューロンに分化させ、そしてこれらのニューロンからの馴化培地（CM）を、ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動（SDS-PAGE）により分離し、IPN002およびタウH-150抗体を用いてウェスタンブロットした。

20

【0442】

図3は、種々のサンプル中のeタウペプチドの濃度を示すデータを示す。健常者（“H”）およびPSEN1 fAD（家族性AD）系統の複数の生物学的複製物は、健常系統と比較して、fAD系統により多くのeタウの存在を示す。これらのデータは、複数の健常系統、このfAD系統およびダウン症系統（APP重複を含む）を含む、この、および他の実験および系統について定量化され、一貫して、健常系統に対してfADまたはダウン症系統中のeタウの30%増加から100%増加までの範囲を示す。これらの増加は、健常者のCSF中に存在するタウと比較してAD CSF中に存在するタウの濃度増加と一致する。

30

【0443】

これらのN末端eタウバンドは、馴化培地中に存在するタウの切断産物を示唆し、これらのフラグメントのタンパク質配列は、既報ではない。従って、これらのeタウ反応性タンパク質を単離するための方法が開発された。そして、該フラグメントのアミノ酸配列が決定された。馴化培地（sAD（散発性AD）およびfAD患者のiPSC由来の皮質ニューロン培養物から集めた1.6リットル）を、IgGに結合したセファロース4B樹脂上で予め清澄化し、その後、IPN001抗体（タウアミノ酸反応性の#2-18）がセファロース4B樹脂に結合されているカラム上で親和的に単離した。IPN001樹脂からのフロースルーを、タウ46 C末端抗体に結合したセファロース4Bカラムに添加し、低pHグリシン緩衝液で溶出することにより親和的に単離した。これらの両方のカラムからの溶出液を濃縮し、ウェスタンブロットで試験した小分子部分を、IPN002およびDako タウ（C末端タウ）でプローブした。

40

【0444】

図4は、IPN002が、IPN001溶出液中の50kdサイズの全長分子量に弱いバンドを認識し、そして複数のIPN002反応性eタウが20-30kdのバンドサイズであることを示す。対照的に、タウ14溶出液のDako C-末端抗体プローブは、免疫反応性のバンドを示さず、AD iPSCの馴化培地が、タウのN末端形態を含むが、C末端のインタクトなタウを含まないことを示唆している。

【0445】

50

I P N 0 0 2 免疫反応性バンドの配列を決定するために、サンプルの残りを S D S - P A G E で分離し、クマシーで染色し、そして4つのバンド(20 - 30 k d)に存在する e タウバンド、ならびに全長タウをゲルから切り出し、そして L C / M S / M S 分析を行った。これらのゲルスライスを、3つの異なるプロテアーゼ:トリプシン、キモトリプシン、およびエラスターゼで別々にタンパク質分解処理した。タンパク質分解フラグメントを分離し、ThermoFisher Orbitrap Velos Pro に接続される Waters NanoAcquity HPLC システムを含む N A N O L C / M S / M S により処理した。配列データを、Swissprot のヒトデータベースに対して Mascot (Mascot) 検索エンジンを使用して検索した。

【0446】

e タウ1 と称される e タウフラグメントのアミノ酸配列(アミノ酸 2 - 166 ; アミノ酸 2 - 172 ; および、アミノ酸 2 - 176)、e タウ2、e タウ3、ならびに e タウ4 を、図1A に示す。

10

【0447】

実施例2: タウペプチドを用いた能動免疫

タウペプチドを、タウオパチーの1つまたはそれ以上の病理学的特徴を低減するのに有効な、動物モデルにおいて免疫応答を誘発するタウペプチドの能力について、非ヒト動物モデルにおいて試験した。

【0448】

好適な非ヒト動物モデルには、P301L 変異を有するヒトタウイソ型を発現するトランスジェニックマウス、例えば、変異(P301L) タウを発現する J N P L 3 トランスジェニックマウスが含まれる。例えば、Lewis et al. (2000) Nat. Genet. 25:402; および、Lin et al. (2003) Am. J. Pathol. 162:213 を参照のこと。

20

【0449】

本発明のタウペプチドは、免疫原を生成するためにリン酸アルミニウム粒子上に吸着されるか、またはキーホールリンペットヘモシアニン(KLH)などの担体に連結されている。タウペプチド免疫原は、約2月齢、または4月齢、または4月齢以上のマウスの皮下に注射され(CFA または IFA の有無にかかわらず)、その後、免疫を、約2週間毎に行う。対照マウスは、タウペプチドを含まないリン酸アルミニウム粒子を投与される。

【0450】

ペプチドに反応する抗体は、タウペプチド免疫原に特異的な抗体のマウスから採取した血漿中の存在を検出する E L I S A を用いて決定される。96 ウェルプレートのウェルを、目的のタウペプチドでコーティングし、マウス由来の血漿を該ウェルに添加し、そして、血漿中に存在する抗体の結合を、マウス I g G に特異的な検出可能に標識された二次抗体を用いて検出した。例えば、該二次抗体は、西洋ワサビペルオキシダーゼなどの酵素に結合させることができる。

30

【0451】

タウオパチーの種々の病理学的特徴上のタウペプチドでの免疫の効果を決定する。例えば、タウペプチドで免疫したマウスおよび対照マウスの脳を、タウ凝集物の存在について免疫組織化学的方法を用いて分析する。例えば、タウペプチドで免疫したマウスおよび対照マウスの歯状回を、タウ凝集物の存在について免疫組織化学的方法を用いて分析する。神経原線維変化の存在および量を評価することができる。

40

【0452】

タウオパチーの行動特性のタウペプチドでの免疫の効果を分析することができる。例えば、Carter, R. J., Morton, J. and Dunnett, S. B. 2001. Motor Coordination and Balance in Rodents. Current Protocols in Neuroscience. 8.12.18.12.14 を参照のこと。例えば、自発運動を試験することができる。タウペプチドで免疫したマウスおよび対照マウスに、ロータロッド試験(例えば、Jones and Roberts (1968) J Pharm Pharmacol. 19 68 Apr;20(4):302 - 4. "The quantitative measurement of motor inco-ordination in naive mice using an accelerating rotarod" 参照); および/または、梁歩行試験(t raverse beam test)を行うことができる。例えば、Brooks and Dunnett (2009) Nat. Re

50

v. *Neurosci.* 10:519 - 29: “Tests to assess motor phenotype in mice: a user’s guide” を参照のこと。

【0453】

認知機能のタウペプチドによる免疫の効果を試験することができる。例えば、タウペプチドで免疫したマウスおよび対照マウスに、自発的な物体認識試験（短期記憶の喪失を測定する）を行うことができる。例えば、Ennaceur and Delacour (1988) *Behav. Brain Res.* 31:47を参照のこと。学習および記憶障害を評価するために設計された行動試験を使用することができる。試験等の例は、モリス水迷路である (Morris (1981) *Learn Motivat* 12:239 - 260)。記憶および学習障害は、記憶障害を操作するための3パネル走路テスト（4つの選択枝点での3パネルゲートを通させ、2つの誤ったパネルを通しようとする試み）を用いて試験することができる (Ohno et al. *Pharmacol Biochem Behav* 57:257 - 261 (1997))。

10

【0454】

実施例3：抗タウ抗体を用いた受動免疫

抗タウ抗体を、タウオパチーの1つ以上の病理学的特徴を低減するために、抗タウ抗体の能力について非ヒト動物モデルにおいて試験した。

【0455】

好適な非ヒト動物モデルには、実施例2に記載のように、P301L変異を有するヒトタウイソ型を発現するトランスジェニックマウス、例えば、変異 (P301L) タウを発現するJNPL3トランスジェニックマウスが含まれる。

20

【0456】

本発明のタウペプチドに特異的な抗体をマウスの腹腔内へ注射する。対照マウスに、マウスIgGを注射する。マウスに、約3月齢、4月齢または4月齢以上にて、抗タウ抗体を注射し、その後、7日間隔で追加の注射を行う。

【0457】

マウスを実施例2に記載の通りに分析することができる。

【0458】

実施例4：患者サンプル中のeタウの検出

材料および方法

iPSC由来の皮質ニューロンからの馴化培地収集

30

iPSC (人工多能性幹細胞) を、健常な年齢を適合させた対照およびアルツハイマー患者から、Dimos et al. (2008) *Science* 321:1218に記載された山中法 (Takahashi et al. (2007) *Cell* 131(5), 861) を用いて作製した。iPSCを、デュアルSMAD単層培養法 (Chambers et al. (2009) *Nat. Biotechnol.* 27:275) を用いて公開されたプロトコルにて該株の大部分を皮質ニューロンに分化させ、その後、皮質ニューロン分化を、Burkhardt et al. (2012) *Mol. Cell Neurosci.* 56C:355 - 364に記載の方法で行った。特記されない限り、108日間培養したiPSC由来の皮質ニューロン (iPSC-CN) を洗浄し、新鮮な培地を添加し、3日後に馴化培地を集めた。該株からの多重分化が、eタウレベルの再現性を確保するために行われた。馴化培地を、ウェスタンブロットまたは

40

【0459】

ヒト初代皮質ニューロンから馴化培地収集

ヒト皮質ニューロン培養 (HCC) を、Wright et al. (2007) *Neurobiol. Aging* 28:226に記載の通りに作製した。要約すれば、ヒト胎児脳皮質組織をAdvanced Bioscience Resources (Alameda, CA) から得て、胎児研究に関する連邦のガイドラインおよび統一死体提供法 (Uniform Anatomical Gift Act) に従った。組織をハंक緩衝食塩水溶液 (Cellgro) で濯ぎ、1 μg/ml DNase (EMD) の存在下で粉碎し、100 μ

50

mの細胞ストレーナーを通して篩い分けした。遠心後、ペレットを、0.05% トリプシン/EDTA (Invitrogen) 中に、37 で20分間、再懸濁した。トリプシンは、等量の10%ウシ胎仔血清(FBS)含有培地を加えることにより不活性化され、サンプルをDNaseの存在下で再び穏やかに粉碎した。遠心後、細胞を平板培地(Neurobasal c containing B27, Invitrogen)に再懸濁し、数カウントした。細胞をプレートまたはポリ-d-リシンおよびラミニンでコートしたカバーガラス上に播種した。3週間後にHCCを洗浄し、新鮮な培地を添加し、馴化の3日後に培地を集めた。馴化培地を15,000 rpmで15分間遠心し、その後、ウェスタンブロットした。

【0460】

P301LマウスISFおよびヒトCSF収集

マウスをイソフルラン(2%、800mL/分 O₂)で麻酔した。プピバカイン/エピネフリンを局所麻酔に用いて、ファインダインまたはカルプロフェンを術中術後鎮痛に用いた。動物を定位フレーム(Kopf instruments, USA)中に置いた。プッシュ・プルマイクロダイアリシス法によるプローブ(ホスファチジルエタノールアミン(PEE)膜、Brainlink, the Netherlands)を、海馬(3mm 露出表面)中に挿入した。マイクロダイアリシス法によるサンプリングを、術後24時間および48時間に行った。サンプリングの日に、動物のプローブを、微量灌流ポンプと接続されたフッ化エチレンプロピレン(FEP)管(Harvard PHD 2000 Syringe pump, Holliston, MA or similar)と接続した。マイクロダイアリシス法によるプローブを、147mM NaCl、3.0mM KCl、1.2mM CaCl₂および1.2mM MgCl₂を含む人工CSF(aCSF)、

【0461】

10名の健常者(Precision Med)、10名のAD患者(Precision Med)および10名のPSP患者の集団から、10mLのCSF(Precision Med)を集め、15,000 rpmで15分間遠心し、上清をIgG親和性樹脂上でプレクリア(precleared)をして、次いで、IPN002抗タウ親和性樹脂上でタウを単離し、洗浄し、1M TBS、pH 8.3を含むチューブ中、50mM グリシン、pH 2.3と150mM NaClで溶出し、pHを中和し、YM10フィルターで濃縮し、タウウェスタンブロットを行った。fAD PSEN1患者からのiPSC-CN馴化培地を、結合パターンを比較するために陽性対照として、同様に単離した。

【0462】

ウェスタンブロット

馴化培地をLaemmliサンプルバッファー(Sigma)で希釈した。培養ニューロンをPBSで濯ぎ、その後、DMEM中の0.05% トリプシン(Invitrogen)中でインキュベートし、濯ぎ、そしてLaemmliサンプルバッファー中で溶解した。全てのサンプルを沸騰させ、トリ-グリシンポリアクリルアミドゲル(Invitrogen)上で分離させ、iBlot(Invitrogen)を用いてニトロセルロースに転写した。膜をブロッキングバッファー(LiCor)中でインキュベートし、0.1% Tween-20を含むブロッキングバッファー中、0.5μg/mLのタウに対するIPN001抗体および-アクチンに対する抗体(1:2000; Abcam)でプローブ化し、抗マウス680および抗ウサギ800二次抗体(LiCor)でプローブ化した。ブロットをOdyssey SAのインフラレッドイメージングシステムを用いてスキャンし、Odyssey SAソフトウェア(LiCor)を用いて分析した。

【0463】

タウ ELISA

iPSC由来の皮質ニューロン培養物から3日の馴化期間後に培地を集め、AlpHa

10

20

30

40

50

s c r e e n ホモジニアスアッセイを用いてアッセイしてタウを測定した。10 μ g / ml の抗タウ A l p h a L I S A アクセプタービーズおよび1 nM ビオチニル化 - 抗タウ抗体を、馴化培地と共に、室温にて一晩、混合した。40 μ g / ml のストレプトアビジン - ドナービーズ (Perkin Elmer) を、室温で30分間添加し、プレートを E n v i s i o n プレートリーダーにて読み出した。

【0464】

e タウ精製

A D 患者由来の i P S C - C N から集めた馴化培地を、15,000 r p m で15分間遠心し、I g G 親和性樹脂上でプレクリアした上清を集めた。プレクリアした上清を I P N 0 0 2 抗タウ抗体樹脂を通して濾過し、洗浄し、1 M T B S、p H 8 . 3 を含むチューブ中、e タウを50 m M クエン酸ナトリウム、p H 2 . 3 と150 m M N a C l で溶出し、p H を中和した。溶出物を濃縮し、バッファーを P B S に取り換えた。

10

【0465】

結果

アッセイを、種々の液体中の e タウフラグメントを検出することにより行った。結果を図5に示す。

【0466】

図5 A、左パネルに示す通り、内生タウは、ヒト人工多能性幹細胞 (ヒト i P S C - 皮質ニューロン; i P S C - C N) に由来する皮質ニューロンから分泌され、該分泌されたタウは、細胞外タウまたは“ e タウ”と呼ばれる。図5 A、左から2番目のパネルに示す通り、e タウは、ヒト初代ニューロン (ヒト皮質細胞; “ H C C ”) からの馴化培地にも存在し、e タウが i P S C 分化の人工物ではないことが確認される。これらの e タウフラグメントは、ニューロンの溶解物にも検出され、タウが、e タウ分泌の前にニューロン内部で切断されることが示唆される。

20

【0467】

図5 A、中パネルに示す通り、類似のタウフラグメントが、P 3 0 1 L タウマウス由来の間質液 (I S F) 中に検出され、完全長タウはどちらのシステムでも検出されなかった。P 3 0 1 L マウスは、P 3 0 1 L 変異を有するヒトタウ形態の遺伝子導入マウスである。P 3 0 1 L マウスは、ヒトタウオパチーのモデルである。例えば、Goetz et al. (2001) J. Biol. Chem. 276 : 529 ; および、Lewis et al. (2000) Nature Genetics 25 : 402 を参照のこと。

30

【0468】

図5 A、右パネルに示す通り、e タウレベルは、健常者のレーンと比較して、A D 患者からの C S F、および家族性 A D (f A D) 患者からの複数のレーンで増加する。図5 A、右パネルに示す通り、e タウは、P S P 患者からの C S F 中でも検出される。

【0469】

e タウ分泌の機序を明らかにするために、e タウ放出の動態を特性化した。図5 B に示すデータは、e タウが健康なおよび f A D 由来のニューロンから、新鮮な培地を添加後2分という早さで分泌されることを示す。

【0470】

ニューロンを、古典的な E R - ゴルジ分泌経路の阻害剤であるプレフェルディン A で処理した。図5 C に示す通り、プレフェルディン A は、e タウ分泌に顕著な影響を及ぼさず、e タウ分泌の非古典的経路であることを示唆する。これらのデータは、e タウがニューロンから急速に分泌され、A D ニューロンにおける上昇した e タウレベルと A D 患者由来の C S F における増加したタウレベルとの興味深い相関が示唆されることを示す。

40

【0471】

健康な個体およびおそらく慢性外傷性脳症 (C T E) を有する個体由来の C S F を、I P N 0 0 2 (タウのアミノ酸 15 - 24 内のエピトープを認識する m A b) ; H T 7 (ヒトタウのアミノ酸 159 - 163 内のエピトープに結合するマウスモノクローナル抗体) ; または、T 4 6 (タウの C 末端領域内のエピトープに結合する抗体) を用いて免疫沈降

50

させた。免疫沈殿物質をゲル上で分離し、該分離した物質を膜に転写し、そして該膜を I P N 0 0 1 (タウのアミノ酸 1 - 3 0 内のエピトープを認識し、それに結合する m A b) でプローブした。データを図 6 に示す。N 3 は、培地対照である。C M は、f A d i P S C - C N 系統 1 1 3 6 9 . 1 からの馴化培地である。組み換え全長タウ (“ r タウ ”) および e タウ 1 a (アミノ酸 2 - 1 6 6 ; 配列番号 3)、ならびに分子量 (M W) マーカーを、同じゲルに流した。データは、タウフラグメントが、C T E を有する個体の C S F 中に存在し、これらのタウフラグメントが、I P N 0 0 2 および H T 7 により認識されるが、T 4 6 により認識されないことを示す。

【 0 4 7 2 】

健康な個体、A D を有する個体、および F T D を有する個体から得られた細胞由来の i P S C - C N からの馴化培地を、I P N 0 0 1 で免疫沈降させた。免疫沈殿物質をゲル上で分離し、分離した物質を膜に転写し、そして該膜を I P N 0 0 2 でプローブした。データを図 7 に示す。図 7 に示す通り、I P N 0 0 1 / I P N 0 0 2 - 反応性タウフラグメントは、A D を有する個体および F T D を有する個体から得られた細胞由来の i P S C - C N 中に存在する。

【 0 4 7 3 】

実施例 5 : e タウは、ニューロンの過剰活性化を誘導する

方法

マイクロピペット (2 - 5 M O h m) を用いて正常なヒトアストロサイトの単層上に培養した i P S C - C N からの全細胞パッチクランプ記録を、K - メチル - 硫酸 (1 4 0 m M)、N a C l (1 0 m M)、C a C l ₂ (1 m M)、M g - A T P (3 m M) ; N a - G T P (0 . 4 m M)、E G T A (0 . 2 m M)、H E P E S (1 0 m M)、ホスホクレアチン (1 0 m M) を含む、p H = 7 . 3 および m O s m = 3 0 5 に調節した溶液で満たして行った。ニューロンを、N a C l (1 4 0 m M)、K C l (2 . 5 m M)、M g C l ₂ (2 m M)、C a C l ₂ (2 m M)、H e p e s (1 0 m M)、D - グルコース (1 0 m M)、スクロース (2 0 m M) を含む、p H = 7 . 4、m O s m = 3 1 0 に調節した人工脳脊髄液でかん流した (2 m l / 分)。p C l a m p - 1 0 . 3 データ収集ソフトウェア (Molecular Devices) および M u l t i C l a m p 7 0 0 B 増幅器 (Axon Instrument ; Foster City CA) を用いて記録を行った。e タウ、または阻害剤、テトロドトキシン (T T X) (T o c r i s)、M K 8 0 1 (S i g m a)、もしくは N B Q X (T o c r i s) を含む e タウのパフアプリケーション (Puff application) を、M i n i s Q u i r t マイクロパヒュージョンシステム (AutoMate, Berkeley, CA) を用いて行った。オフラインでデータ分析を、Clampfit 10.2 分析ソフトウェア (Molecular Devices) を用いて行った。記録を 3 4 - 3 7 で行った。

【 0 4 7 4 】

結果

e タウが神経機能を変え得るかどうかを決定するために、精製した e タウフラグメントを、i P S C - C N または H C C に適用した。図 8 A に示す通り、e タウのこれらのニューロンへの添加は、ニューロンの過剰活性化を促進した。図 8 B に示す通り、e タウにより誘導される過活動は、テトロドトキシン (T T X) により、ならびに N M D A および A M P A グルタミン酸受容体アンタゴニスト、M K 8 0 1 および N B Q X により、阻害された。T T X は、神経細胞膜における電位依存性開口型の高速ナトリウムチャンネルに結合することによりニューロンにおける活動電位を阻止する。これらのデータは、e タウ誘導性ニューロンの過剰活性化が、グルタミン酸塩の活動電位仲介性放出に依存することを示唆する。対称的に、図 8 A の中パネルに示す通り、完全長タウの適用は、顕著に高い濃度のときでさえもニューロン活動における検出可能な変化を生じず、e タウ誘導性過活動が、タウフラグメントに依存することを示した。これらの e タウ誘導性過活動の結果は、カルシウム動員が、ニューロン内で生じ得ることを強く示唆する。カルシウム動員がニューロン内で生じるかどうかを決定するために、e タウのカルシウム動員への作用を試験した。

図 8 C に示す通り、e タウ - 1 a は、確実にカルシウムを動員する。このタイプのニューロンの過剰活性化は、A D におけるような慢性化の状態に維持されるとき、結果として、変更されたシナプスの発火および異常な神経刺激を介するニューロンの機能不全を生じ得る。

【 0 4 7 5 】

実施例 6 : e タウは、マウス皮質ニューロンに取り込まれる

方法

マウス皮質細胞 (MCC) を、Wright et al. ((2012) Neurobiol. Aging 33:1379) に記載される通り 15 日齢のマウス皮質 / 海馬 (BrainBits) から調製し、ペニシリン / ストレプトマイシン、グルタマックスおよび B 2 7 (Invitrogen) を含む神経細胞用基礎培地 (Neurobasal Medium) 中で 3 週間培養した。他に特記されない限り、増殖培地中で 1 日間、MCC を 50 nM e タウで処理した。e タウ取り込みアッセイはまた、5 μg / ml のサイトカラシン D (Sigma) の存在下で 1 時間またはその後、または 4 にて MCC のインキュベーション後に 1 時間の e タウ処理の後、実施した。

【 0 4 7 6 】

免疫蛍光

MCC を PBS で濯ぎ、4 % パラホルムアルデヒドで固定し、PBS 中 10 % の正常口バ血清 (Jackson ImmunoResearch) でブロッキングし、PBS 中 0.2 % のトライトン X - 100 で 15 分間、透過処理し (他に特記されない限り)、そしてタウに対する IPN 001 抗体を口バ抗マウス - A 4 8 8 二次抗体 (Molecular Probes) および DAPI (Invitrogen) と共に用いて染色した。画像は、LAS AF ソフトウェアを用いて Leica DMI 600 B 顕微鏡 (Leica) を 40 倍で用いて取得した。共焦点画像は、Nikon Eclipse Ti 共焦点顕微鏡 (Nikon) を用いて取得した。

【 0 4 7 7 】

結果

e タウが受容ニューロンに取り込まれるかどうかを調べるために、ヒト e タウを、A D 患者 iPSC - CN 馴化培地から精製し、マウス皮質ニューロンに添加した。ヒトタウプロテイン (図 9 A) およびタウ免疫蛍光 (図 9 B) により検出される通り、e タウは皮質ニューロンと結合することが見いだされた。図 9 B に示す通り、細胞透過は e タウを検出し、e タウがニューロン内にあることを確認する必要がある。e タウは、主に細胞体内に分布するだけでなく、神経突起に沿って存在していた。共焦点画像により検出されるように、e タウのパターンは、細胞質ゾルの小胞内に現れ、図 9 C に示す通り、エンドサイトーシスによる e タウの内化が示唆される。

【 0 4 7 8 】

e タウのニューロンへの取り込み機序を理解するために、e タウの取り込み速度を特徴づけた。図 8 D に示す通り、e タウは、受容ニューロンに 2 分で素早く取り込まれ始め、60 分で最大レベルに達し、72 時間の間、定常レベルで維持された。図 9 E に示す通り、サイトカラシン D、アクチン重合阻害剤での処理および 4 でのインキュベーションが取り込みを阻害することから、e タウは、おそらく、能動輸送機構により取り込まれている。これらのデータをまとめて考慮すると、タウ、e タウの新規形態の内因性の分泌を初めての実証し、ならびにタウ取り込みおよび A D における e タウの潜在的な役割の神経モデルを確立する。

【 0 4 7 9 】

インビトロでのマウス皮質ニューロン (MCC) への e タウの取り込みを、図 10 に示す。レーン 1 は、培地中の e タウ - 1 a (組み換え e タウ - 1 a ; " r e タウ 1 a ") を示す。レーン 2 は、培地中の e タウ 2 (組み換え e タウ 2 ; " r e タウ 2 ") を示す。レーン 3 は、培地中の組み換え e タウ 3 (" r e タウ 3 ") を示す。レーン 4 は、MW ラダーを示す。レーン 5 は、e タウの存在下で培養されていない MCC を示す。レーン 6 は、MCC 中の r e タウ 1 a を示す。レーン 7 は、MCC 中の r e タウ 2 を示す。そしてレーン 8 は、MCC 中の r e タウ 3 を示す。データは、e タウが、インビトロにおいて MCC

により取り込まれることを示す。

【0480】

実施例7：インビボでのeタウの取り込み

細胞外タウフラグメントをマウスに注射した。海馬の脳スライスをIPN001で染色した。結果を図11に示す。図11に示す通り、eタウは、海馬のニューロンにより取り込まれた。

【0481】

実施例8：ニューロン培養培地からのeタウの質量分析

iPS由来の皮質ニューロンからの馴化培地に分泌されたeタウを、質量分析(MS)した。iPSCを、AD患者の皮膚パンチ生検由来の線維芽細胞から実施例1に記載の通りに作製し、皮質ニューロンに分化させた。これらのニューロンからの馴化培地を、タウに結合する抗体であるIPN001を用いて親和性クロマトグラフィーを行った。こうして得られた親和性精製したeタウを“Prep 19” eタウと命名した。親和性精製したPrep 19 eタウを、10-20%勾配のトリシンポリアクリルアミドゲル電気泳動により分離した。ゲルをプロットし、該プロットをIPN001で染色し、抗体がタウに結合する。結果を図12に示し、~30kDaのバンドが馴化培地中に存在する主要なタウ生成物であったことを示している。タウ-383(全長)は、比較のために示されている。

【0482】

図13は、i)組み換え作製されたeタウ 2-172(“eタウ1ロット1”)；ii)AD患者由来のiPSCから分化した皮質ニューロンの馴化培地中に存在するeタウ(“内生eタウ Prep 19”および“内生eタウ Prep 20”)；および、iii)組み換え作製されたeタウ 2-166(“eタウ1aロット11”；および“eタウ1aロット15”)のクマシー染色ゲルを示す。サンプル中のタンパク質を、12% NuPAGEゲル上で、MOPS泳動バッファーを用いて分離した。その後、ゲルをクマシーブルーで染色した。図12は、組み換え作製されたeタウ 2-166(“eタウ1aロット11”；および“eタウ1aロット15”)サンプルが、AD患者由来のiPSCから分化した皮質ニューロンの馴化培地中に存在するeタウの分子量(MW)よりも僅かに小さい分子量を有したことを示す。AD患者由来のiPSCから分化した皮質ニューロンの馴化培地中に存在するeタウは、組み換え作製されたeタウ 2-172のMWと同程度のMWを有した。

【0483】

内生eタウ Prep 19を、親和性精製し、質量分析(MS)した。図14Bに示す通り、17668.80の主要ピーク、ならびに17512.80、18092.60および17710.60の小さなピークが観察された。図14Aは、タウ 0N3R(配列番号73)と比較した、eタウ 2-166(配列番号3)のアミノ酸配列を示す。eタウ 2-172およびeタウ 2-176のC末端アミノ酸を矢印で示す。17669のMWを有する主産物は、アミノ酸 2-172を含むタウのアセチル化フラグメントと一致している。図14Cは、内生eタウ Prep 19内に存在するeタウ種の期待された分子量および観察された分子量を示す表を提供する。

【0484】

実施例9：抗タウ抗体

上記の通り、AD患者の人工多能性幹細胞由来の皮質ニューロン培養物の馴化培地中に存在するタウの幾つかのフラグメントを同定した。タウのこれらのフラグメントを、タウ特異的モノクローナル抗体を用いて親和性クロマトグラフィーにより培養上清から精製した。精製後、4つの主要フラグメント(eタウ1、eタウ2、eタウ3およびeタウ4)を同定し、LC/MSによるこれらのフラグメントの配列決定により、それらがタウのN末端ドメインに由来することを確認した。

【0485】

eタウの各フラグメントに対する抗体を調製し、そしてネオエピトープ抗体(すなわち

10

20

30

40

50

、タンパク質のタンパク質分解後に生成されたエピトープに対する抗体)を同定するために、マウスを、遊離システイン残基を仲介してウシ血清アルブミン(BSA)に結合させた各ペプチドのC末端領域に由来するペプチド(表2)で免疫化した。

【0486】

簡潔には、eタウフラグメントに対する抗体を以下のように製造した：NZBWマウスを、BSAに結合させた特定のペプチド(表2)で免疫化し、得られたハイブリドーマのライブラリーを、当業者に公知の技術(例えば、Galfré et al., Methods in Enzymology 73:346 (1981))を用いて96ウェルプレートに固定化した、同じ配列または伸長したペプチド配列(表2)を含むペプチドを用いてスクリーニングした。免疫原として使用されるペプチドのタウ由来配列に、図1A中で下線を付す。フローサイトメトリーを用いて、単一細胞クローンを生成し、そしてこれらの個々のクローンからの上清を、例えば、Nix et al., in Immunoassays, A Practical Approach, editor J.P. Gosling, pp. 239 - 261, Oxford University Press (2000)に記載されているように、溶液相のモノクローナル抗体捕捉アッセイを用いてビオチン標識した全長タウまたは組み換え的に発現されたeタウフラグメントへの結合についてスクリーニングした。

10

【0487】

【表2】

表2：eタウフラグメントに特異的な抗体を作製およびスクリーニングするために用いたペプチド

標的タンパク質	免疫原 ¹	スクリーニングペプチド
eタウ1	CSLPTPPTREP (配列番号93)	CSLPTPPTREPKKVAVVRTP(配列番号94)
eタウ2	CSSPGSPGTPGSR (配列番号95)	CSSPGSPGTPGSRSRTPSL(配列番号96)
eタウ3	CRIPAKTPPAPK (配列番号97)	CRIPAKTPPAPKTPPSS(配列番号98)
eタウ4	CEDEAAGHVTQAR (配列番号99)	CEDEAAGHVTQARMVSKS(配列番号100)

20

¹プレーンテキストのシステインアミノ酸は、BSAに該ペプチドを結合させるために使用した。

30

【0488】

表3は、各ライブラリースクリーニングで同定されたモノクローナル抗体の数をまとめたもので、さらなる特徴付けのために選択した最も高い親和性クローンを同定する。8つの選択されたモノクローナル抗体を、プロテインAクロマトグラフィーにより組織培養上清から精製し、該精製した抗体を、直接結合ELISA型アッセイにおいてさらに特徴付けた。

【0489】

【表 3】

表 3 : ハイブリドーマスクリーニングの結果 : e タウフラグメントに特異的な抗体の同定

標的タンパク質	免疫原 ¹	陽性クローン数	選択されたクローン
e タウ 1	CSLPTPPTREP K (配列番号93)	1 4	7 2 9 5 - M 6、 - M 8
e タウ 2	CSSPGSPGTPG SR (配列番号95)	2 0	7 2 9 7 - 2 M 1
e タウ 3	CRIPAKTPPAP K (配列番号97)	1 0	7 2 9 8 - M 1、 - M 2
e タウ 4	CEDEAAGHVT QAR (配列番号99)	2 0	7 2 9 9 - M 2、 - M 5、 - M 9

¹ プレーンテキストのシステインアミノ酸は、BSAに該ペプチドを結合させるために使用した。

【 0 4 9 0 】

表 4 に示す通り、7 つの精製された抗タウ抗体は、高い親和性 (K_D 範囲 $8.00E-11$ から $6.68E-9M$) で全長組み換えタウ (0N4R) に結合した。驚くべきことに、e タウ 4 フラグメントの C 末端からのペプチドで免疫したマウス由来のハイブリドーマライブラリーで同定された、抗体 7 2 9 9 - M 2 は、全長タウへの検出可能な結合を示さなかった。精製したモノクローナル抗体の特異性をさらに定義するために、結合アッセイを、それぞれ単離された組み換え e タウフラグメントを用いて行った。

【 0 4 9 1 】

【表 4】

表 4 : 抗 e タウモノクローナル抗体の特性化

抗体	イソ型	標的タンパク質	タウ 0 N 4 R への結合 K_D (M)
7 2 9 5 - M 6	I g G 2 b	e タウ 1	$1.17E-10$
7 2 9 5 - M 8	I g G 2 b	e タウ 1	$8.00E-11$
7 2 9 7 - 2 M 1	I g G 1	e タウ 2	$2.21E-09$
7 2 9 8 - M 1	I g G 2 a	e タウ 3	$6.68E-09$
7 2 9 8 - M 2	I g G 2 a	e タウ 3	$4.41E-09$
7 2 9 9 - M 2	I g G 1	e タウ 4	ND ¹
7 2 9 9 - M 5	I g G 2 b	e タウ 4	$5.11E-10$
7 2 9 9 - M 9	I g G 1	e タウ 4	$2.77E-10$

¹ ND - タウ 0 N 4 R への検出可能な結合がない

【 0 4 9 2 】

表 5 に示す通り、抗体は、特異性の予期される範囲を示した。例えば、e タウ 1 の C 末端に対して作製された抗体は、e タウ 1 フラグメントにのみ結合した。e タウ 2 に対して作製された抗体は、e タウ 1 が e タウ 2 配列の全体を含むため、e タウ 2 および e タウ 1 の両方に結合した。抗体 7 2 9 9 - M 2 は、e タウ 4 にユニークな特異性を示し、他の e タウフラグメントに検出可能な結合を有さなかった (表 5 および図 1 5)。e タウ 4 フラグメントが、より長い e タウフラグメントの全てに包含される通り、これらのデータは、

抗体 7299-M2 が e タウ 4 の C 末端によって定義される新規のエピトープ（ネオエピトープ）に特異的であることを示唆している。

【 0 4 9 3 】

【 表 5 】

表 5：特定の e タウフラグメントに対する選択されたモノクローナル抗体の結合

抗体	標的タンパク質	e タウ 1 K _D (M)	e タウ 2 K _D (M)	e タウ 3 K _D (M)	e タウ 4 K _D (M)
7295-M6	eTau1	5.28E-11	ND	ND	ND
7295-M8	eTau1	4.40E-11	ND	ND	ND
7297-2M1	eTau2	1.00E-10	9.00E-11	ND	ND
7298-M1	eTau3	3.00E-09	1.00E-09	1.00E-10	ND
7298-M2	eTau3	2.00E-09	7.00E-10	8.00E-11	ND
7299-M2	eTau4	ND ¹	ND	ND	8.00E-10
7299-M5	eTau4	6.00E-10	1.00E-09	6.00E-10	5.00E-10
7299-M9	eTau4	6.00E-10	7.00E-10	1.00E-09	6.00E-10

¹ND—検出可能な結合なし

10

【 0 4 9 4 】

各抗タウ抗体の V H および V L 領域のアミノ酸配列決定を公知の方法（M C L A B, South San Francisco, CA）を用いて行った。具体的には、細胞ペレットを各モノクローナル抗体について作製し、RNA を RNA aqueous（登録商標）- 4 PCR キット（Life Technologies Inc., Grand Island, NY）を用いて抽出した。V 領域を、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）により、マウス抗体のシグナル配列のための縮重プライマーの集合体と I g M V H、I g G V H、I g V L および I g V L の定常領域プライマーを用いてを共に用いて、増幅させた。成功裏に増幅したそれぞれから得られたポリメラーゼ連鎖反応（PCR）産物を精製し、' T A ' クローニングベクター（p G E M - T（登録商標）E a s y、P r o m e g a、M a d i s o n、W I）中にクローニングし、それにより配列が得られた。各抗体の V H および V L 領域の推定アミノ酸配列は、図 17 - 20 の表 6 - 9 に提供される。また、それぞれの抗体の各 C D R も表 6 - 9 に提供され、それらは、www(dot)bioinf(dot)org(dot)uk/abs/（“配列を見ることにより C D R を同定する方法”）に記載の方法を用いて決定された。

20

30

【 0 4 9 5 】

抗タウ抗体は、生物学的サンプル中の e タウフラグメントを検出するための方法において使用され得る。図 16 は、かかるアッセイの例を提供する。

【 0 4 9 6 】

本発明は、その特定の態様を引用して記載されているが、種々の変更が行われ得て、同等物は、本発明の真の精神および範囲から逸脱することなく置き換えることができることが、当業者には理解されるべきである。さらに、多くの改良が、本発明の目的、精神および範囲に、特定の状況、材料、物質の組成、方法、1 工程または複数工程を適合させて行うことができる。全てのそのような改良は、本明細書に添付した特許請求の範囲内であることが意図される。

40

【 1 - 1 】

	10	20	30	40	50	60
MAEPRQEFV	MEDHAGTYGL	GDRKDQGGY	MHQDQEGD	AGLKAEEAGI	GDTPTSLEDEA	
AGHVTQARMV	SKSKDGTGSD	DKKAKGADGK	TKIATPRGAA	PPGQKQANA	TRIPAKTPPA	
PKTPSSGEP	PKSGDRSGYS	SPGSPGTPGS	RSRTFSLPTP	FTREPKVAV	VRTPPKSPSS	
AKSRLQTAPV	PMPDLKNVKS	KIGSTENLKH	QPGGKQVQII	NKKLDSLNVQ	SKGSGKDNIK	
HVPGGGSVQI	VYKPVDLISKV	TSKCGSLGNI	HHKPGGQVE	VKSEKLDFFK	RVQSKTGSILD	
NITHVPGGN	KKIETHKLT	RENAKAKTDH	QGL	GAEIYKSPV	VSGDTSPRHL	
MVDSPLATL	ADEVSASLAK	QGL	(配列番号 8)			

配列 #2	70	80	90	100	110	120
AGHVTQARMV	SKSKDGTGSD	DKKAKGADGK	TKIATPRGAA	PPGQKQANA	TRIPAKTPPA	
AGHVTQARMV	SKSKDGTGSD	DKKAKGADGK	TKIATPRGAA	PPGQKQANA	TRIPAKTPPA	
AGHVTQARMV	SKSKDGTGSD	DKKAKGADGK	TKIATPRGAA	PPGQKQANA	TRIPAKTPPA	
eTau 2-172						
eTau 2-176						
eTau 2-166						

配列 #2	130	140	150	160	170	180
PKTPSSGEP	PKSGDRSGYS	SPGSPGTPGS	RSRTFSLPTP	FTREPKVAV	VRTPPKSPSS	
PKTPSSGEP	PKSGDRSGYS	SPGSPGTPGS	RSRTFSLPTP	FTREPKVAV	VRTPPKSPSS	
PKTPSSGEP	PKSGDRSGYS	SPGSPGTPGS	RSRTFSLPTP	FTREPKVAV	VRTPPKSPSS	
eTau 2-172						
eTau 2-176						
eTau 2-166						

FIG. 2

【 2 】

Tau383 (ON4R)

MAEPRQEFV MEDHAGTYGL GDRKDQGGY MHQDQEGD AGLKAEEAGI GDTPTSLEDEA
 AGHVTQARMV SKSKDGTGSD DKKAKGADGK TKIATPRGAA PPGQKQANA TRIPAKTPPA
 PKTPSSGEP PKSGDRSGYS SPGSPGTPGS RSRTFSLPTP FTREPKVAV VRTPPKSPSS
 AKSRLQTAPV PMPDLKNVKS KIGSTENLKH QPGGKQVQII NKKLDSLNVQ SKGSGKDNIK
 HVPGGGSVQI VYKPVDLISKV TSKCGSLGNI HHKPGGQVE VKSEKLDFFK RVQSKTGSILD
 NITHVPGGN KKIETHKLT RENAKAKTDH QGL GAEIYKSPV VSGDTSPRHL SNVSTGSID
 MVDSPLATL ADEVSASLAK QGL (配列番号 8)

【 1 - 2 】

配列 #2	AKSRLQTAPV	PMPDLKNVKS	KIGSTENLKH	QPGGKQVQII	VYKPVDLISKV	TSKCGSLGNIH
配列 #3	HKPGGQVEV	KSEKLDFFK	RVQSKTGSILD	NITHVPGGN	KKIETHKLT	RENAKAKTDHG
配列 #7	AEIYKSPV	VSGDTS	PRHLSNV	STGSDIM	VDSPQLATL	ADEVSASLAKQGL (配列番号 7)

FIG. 1B

【 3 】

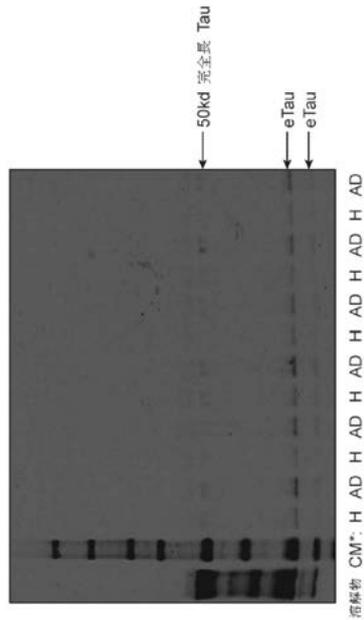


FIG. 3

溶解物 CM: H AD H AD H AD H AD H AD H AD

【 図 4 】

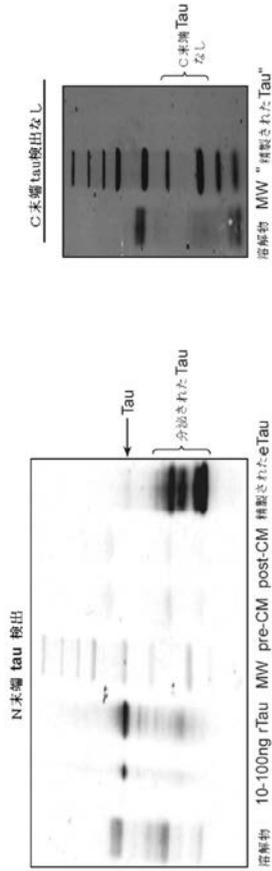


FIG. 4

【 図 5 】

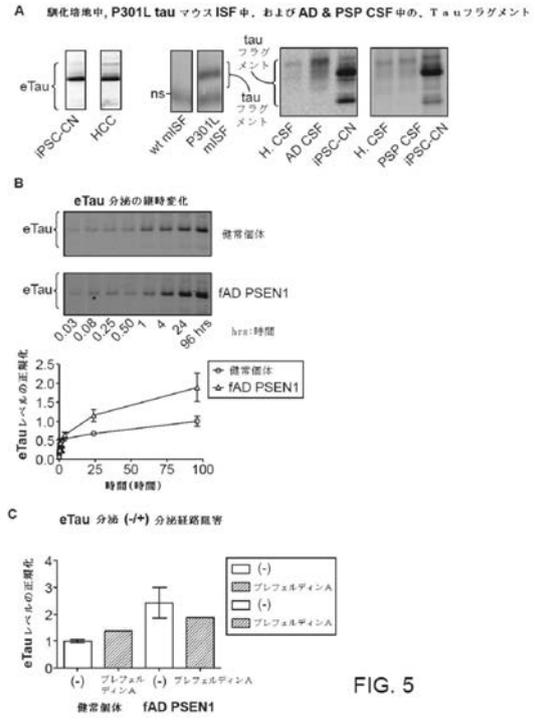


FIG. 5

【 図 6 】

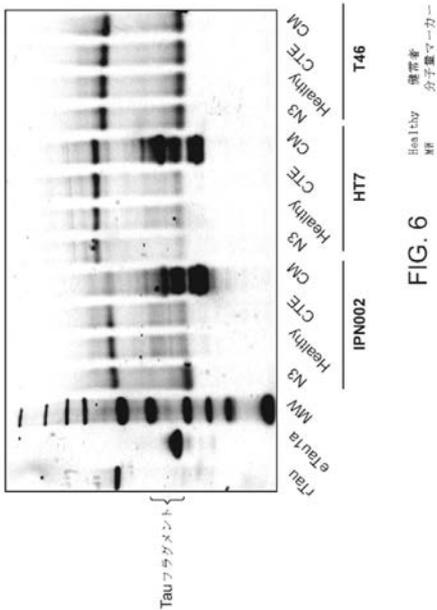


FIG. 6

【 図 7 】

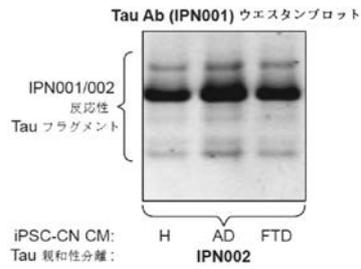


FIG. 7

【 図 8 - 1 】

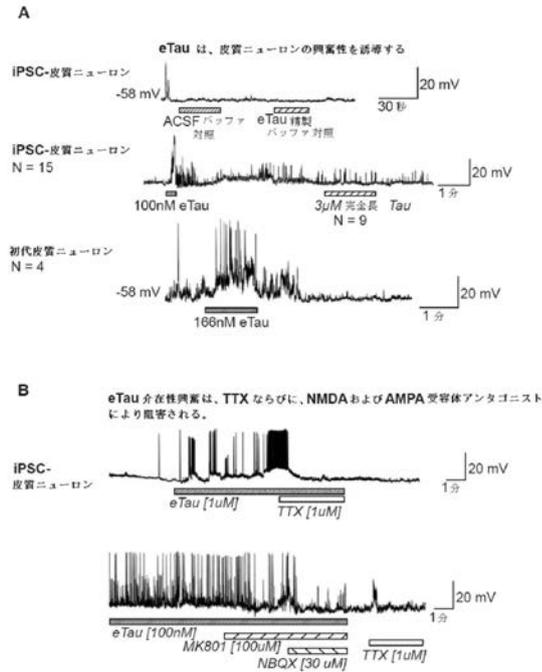


FIG. 8

【 図 8 - 2 】

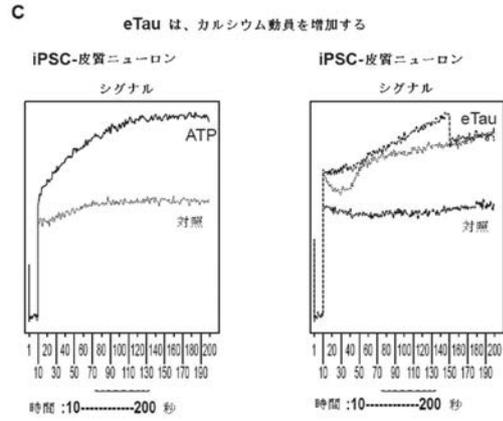


FIG. 8 (Cont.)

【 図 9 - 1 】

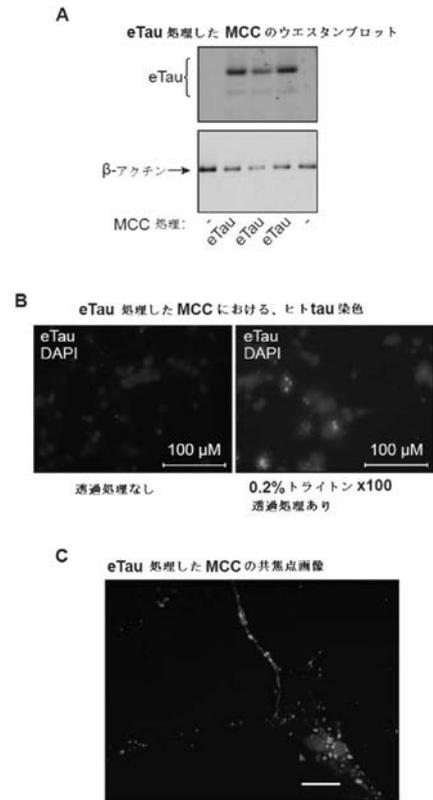


FIG. 9

【 図 9 - 2 】

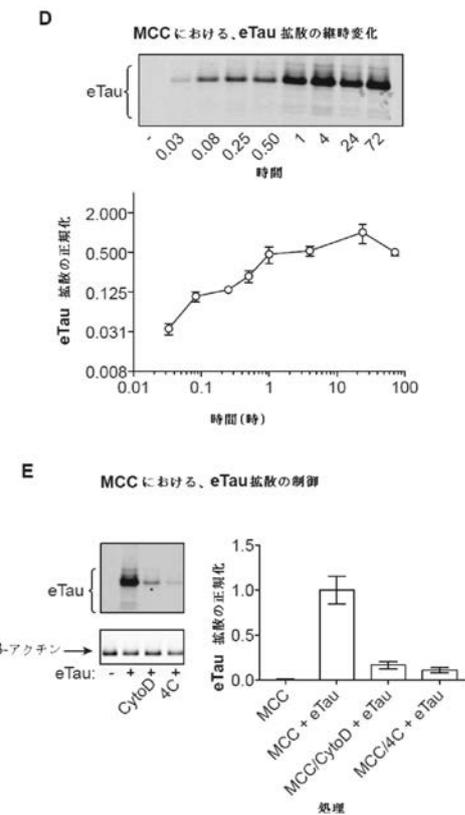
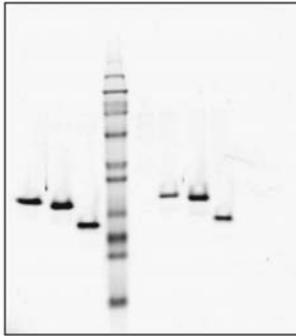


FIG. 9 (Cont.)

【 図 1 0 】

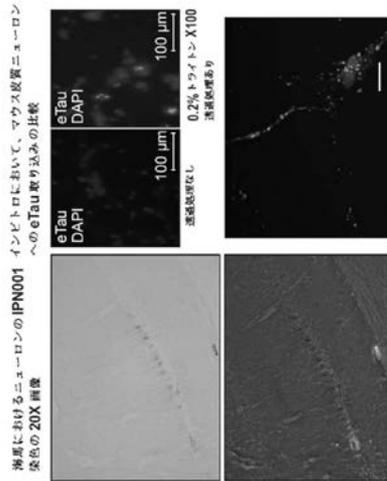
MCCによる組み換えeTauフラグメントの取り込み



- 1= 0.1x 培地 reTau 1a
- 2= 0.1x 培地 reTau 2
- 3= 0.1x 培地 reTau 3
- 4= MW ラダー
- 5= MCC
- 6= MCC + reTau 1a (50nM)
- 7= MCC + reTau 2 (50nM)
- 8= MCC + reTau 3 (50nM)

FIG. 10

【 図 1 1 】

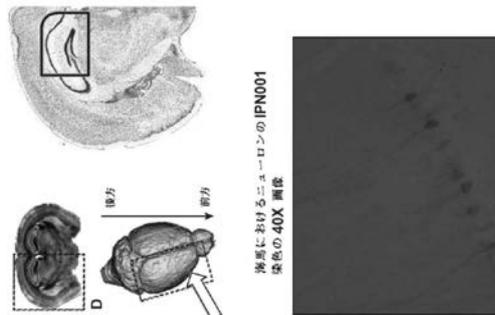


IPN001ニューロンにおいて、マウス由来ニューロンへのeTau取り込みの比較

eTau DAPI
100 μm
0.2% トライトン X100 透過処理あり

eTau DAPI
100 μm
透過処理なし

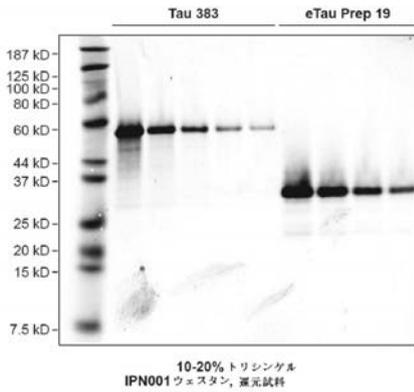
FIG. 11



IPN001ニューロンにおけるeTauの取り込みの比較

40x 染色の40x 画像

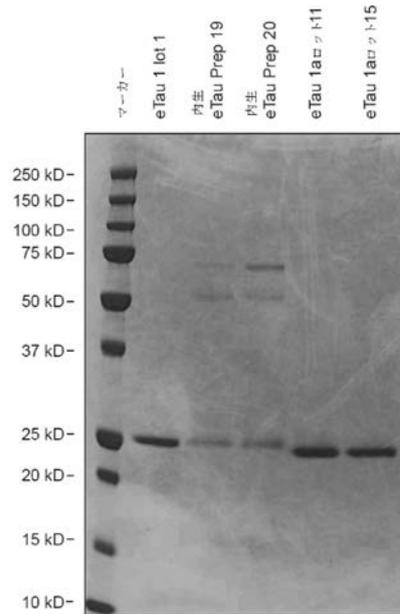
【 図 1 2 】



10-20% トリシンゲル
IPN001 ウェスタン, 還元試料

FIG. 12

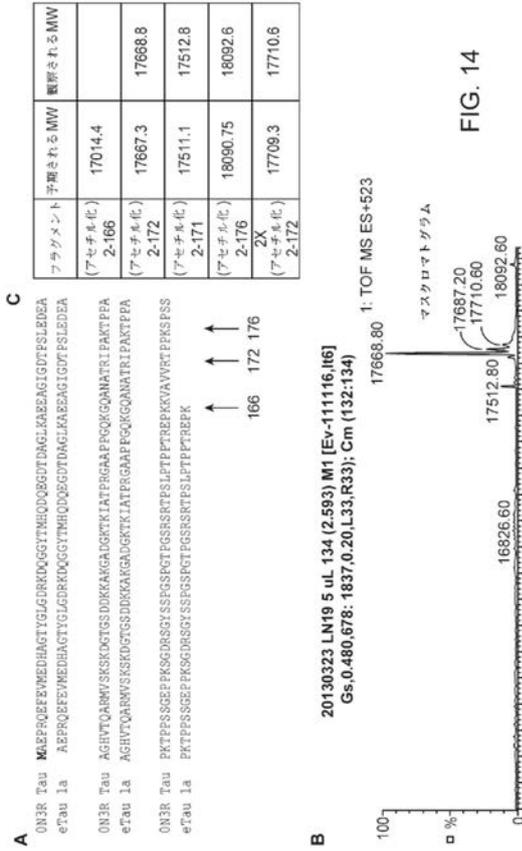
【 図 1 3 】



12% NuPAGEゲル, MOPS 泳動バッファ
クマシー染色, 還元試料

FIG. 13

【 図 1 4 】



【 図 1 5 】

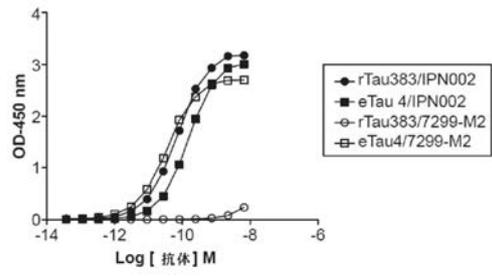


FIG. 15

【 図 1 6 】

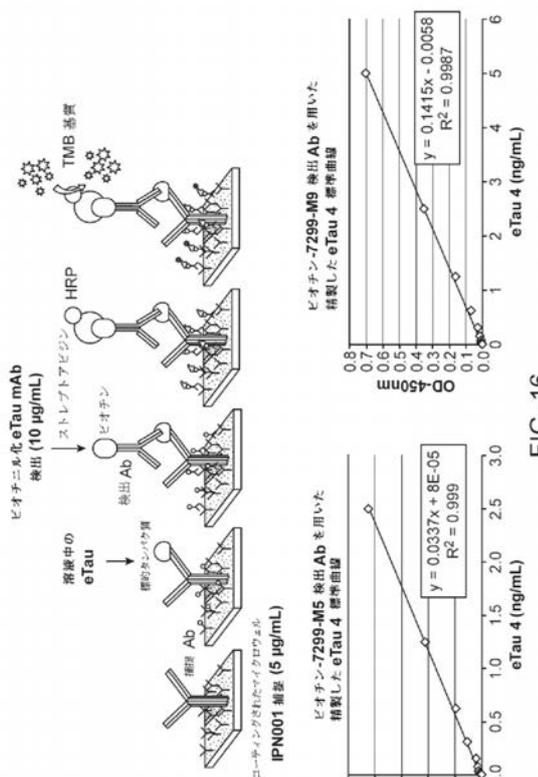


FIG. 16

【 図 1 7 】

CDRI	CDR2	CDR3	可変領域
729S-M6 VL RSSQTIHSGNTYLE	配列番号 9 KVSNRFS	配列番号 11 FQGSHPFT	配列番号 15 DVLITQPLSLPVSIGDPASISCRSSQTIHSGN TYLEWYLKQFGSKLLIYKVSNSRSGVDPDRFS GSGSGTDFLTKSRVEADLGVYFCQSHVFP TFSGTKLEKRRADAAPTST
729S-M6 VH GFNIKDYIH	配列番号 12 WIDPENGDIYAPKFGQ	配列番号 14 APGY	配列番号 16 LPEVLEESGAELVRSASVTLCTASGFNIKD YYIHWVKRPEQGLEWIGWIDPENGDIYAPK FOGKATMTADTSNTAYLQLSLTSEDYAVVY CNGAPGYWGPGLTIVSSAKTTPPSVYS
729S-M8 VL RSSQTIHSGNTYLE	配列番号 17 KVSNRFS	配列番号 19 FQGSHPFT	配列番号 23 DVLITQPLSLPVSIGDPASISCRSSQTIHSGN TYLEWYLKQFGSKLLIYKVSNSRSGVDPDRFS GSGSGTDFLTKSRVEADLGVYFCQSHVFP TFSGTKLEKRRADAAPTST
729S-M8 VH GFNIKDYIH	配列番号 20 WIDPENGDIYAPKFGQ	配列番号 22 APGY	配列番号 24 LPEVLEESGAELVRSASVTLCTASGFNIKD YYIHWVKRPEQGLEWIGWIDPENGDIYAPK FOGKATMTADTSNTAYLQLSLTSEDYAVVY CNGAPGYWGPGLTIVSSAKTTPPSVYS

表 6

FIG. 17

【 1 8 】

	CDR1	CDR2	CDR3	可変領域
7298-M1 VL	配列番号 25 RASKSSTSDYSYMH	配列番号 26 LASNLES	配列番号 27 QHSRELPFT	配列番号 31 DIVLTQSPISLAVSLGORATSCRASKSSTSDYSY YMHWYQKQPGPKLLYLASNLESYVPAFESGS GSGTDFTLNHPVEEDAATYYCQHSRELPFTFGG GTKLEIKRADAAPTYSY
7298-M1 VH	配列番号 28 SGFTFDYMS	配列番号 29 NRNKTKGYTTEYSASVK	配列番号 30 GMDY	配列番号 32 LPEVLEESGGGLVORPGSISLSCAASGFTFDY YMSWVROPQKALEWVALNRNKTKGYTTEYSA SVKGRFTISDNKSNLSYLQMINALRAEEDATYYC ARGMDYWGQGGTSTVYSSAKTTPPSVYS
7298-M2 VL	配列番号 33 RASKSSTSDYSYMH	配列番号 34 LASNLES	配列番号 35 QHSRELPFT	配列番号 39 DIVLTQSPISLAVSLGORATSCRASKSSTSDYSY YMHWYQKQPGPKLLYLASNLESYVPAFESGS GSGTDFTLNHPVEEDAATYYCQHSRELPFTFGG GTKLEIKRADAAPTYSY
7298-M2 VH	配列番号 36 GFTFTYPM	配列番号 37 SINSGGTYPPDTV	配列番号 38 GRDYHDF	配列番号 40 LPEVLEESGGGLVORPGSISLSCAASGFTSTYP MSWVROPQKALEWVALNRNKTKGYTTEYCR FTISRDNARNLILYQMISSIRSEDTAMYYCARGRD YHDFWQGGTTLTVSSAKTTPPSVYS

表 7

FIG. 18

【 1 9 】

	CDR1	CDR2	CDR3	可変領域
7299-ME VL	配列番号 41 KSSQLLYSDGKFTLN	配列番号 42 LVSKLQS	配列番号 43 VQGTHTPPT	配列番号 47 DIVLTQSPISLAVSLGORATSCRASKSSTSDYSY KTLAWLQSPGSPRLLYLVSKLQSPDRF SOSGSGTDFTLKSRVEAEDLGYVYVQGTHTP YTFGGTKLEIKRADAAPTYSY
7299-ME VH	配列番号 44 GYFTNYWIN	配列番号 45 IYPGSTRANYNEKFKS	配列番号 46 THSI	配列番号 48 LPEVLEESGAEIVKPGASVLSCKASGYFTT NYMHWVQRPQGLEWIGNIDPSETHYQ EKFKDKATLVYDSSSTAYMQLSSITSDSNAV YYCTRHSIWGGTQVTVSSAKTTPPSVYS
7299-ME VL	配列番号 49 KSSQLLYSDGKFTLN	配列番号 50 QVSKLDP	配列番号 51 LOGTYYPHT	配列番号 55 DIVLTQSPISLAVSLGORATSCRASKSSTSDYSY KTLAWLQSPGSPRLLYLVSKLQSPDRF FSGSGTDFTLKSRVEAEDLGYVYVQGTHTP YPHTEGGTKLEIKRADAAPTYSY
7299-ME VH	配列番号 52 GYFTSNWMIH	配列番号 53 IDPDSETHYVQKFKD	配列番号 54 RDRDGYFFDY	配列番号 56 LPEVLEESGAEIVKPGASVLSCKASGYFTIS NYMHWVQRPQGLEWIGNIDPSETHYQ EKFKDKATLVYDSSSTAYMQLSSITSDSNAV YCARDRDGYFFDYVWQGGTTLTVSSAKTTPPS VYS
7299-M9 VL	配列番号 57 KSSQLLYSDGKFTLN	配列番号 58 QVSKLDP	配列番号 59 LOGTYYPHT	配列番号 63 DIVLTQSPISLAVSLGORATSCRASKSSTSDYSY KTLAWLQSPGSPRLLYLVSKLQSPDRF SOSGSGTDFTLKSRVEAEDLGYVYVQGTHTP PHTEGGTKLEIKRADAAPTYSY
7299-M9 VH	配列番号 60 GYFTNYWIN	配列番号 61 IYPGSTRANYNEKFKS	配列番号 62 THSI	配列番号 64 LPEVLEESGAEIVKPGASVLSCKASGYFTT NYMHWVQRPQGLEWIGNIDPSETHYQ EKFKDKATLVYDSSSTAYMQLSSITSDSNAV YYCTRHSIWGGTQVTVSSAKTTPPSVYS

表 8

FIG. 19

【 2 0 】

	CDR1	CDR2	CDR3	可変領域
7297-2M1 VL	配列番号 65 KASQDINKYIA	配列番号 66 YVSTLQS	配列番号 67 LQYDHLIT	配列番号 71 DIVLTQSPISLAVSLGGKVTITCKASQDINKYIA WYQHKPGKQPKRLHYHTSLQSGIPSRFSGSGS GRDYSFNSINLEPEDAATYYCYDHLITFGAG TKLEIKRADAAPTYSY
7297-2M1 VH	配列番号 68 GYFTSNWMIH	配列番号 69 NIDPDSETHYVQKFKD	配列番号 70 RDRDGYFFDY	配列番号 72 LPEVLEESGAEIVKPGASVLSCKASGYFTIS NWMHWVQRPQGLEWIGNIDPSETHYVQ KFKDKATLVYDSSSTAYMQLSSITSDSNAVY YCARDRDGYFFDYVWQGGTTLTVSSAKTTPPS VYS

表 9

FIG. 20

【配列表】

2017512751000001.app

【手続補正書】

【提出日】平成29年2月13日(2017.2.13)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

単離されたタウペプチドおよび薬学的に許容される添加物を含む医薬組成物であって、該タウペプチドは、

(a) 配列番号1～3のいずれか1つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約150アミノ酸長から約175アミノ酸長を有する；

(b) 配列番号4に記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約125アミノ酸長から約150アミノ酸長を有する；

(c) 配列番号5に記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約100アミノ酸長から約121アミノ酸長を有する；

(d) 配列番号5に記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約100アミノ酸長から約150アミノ酸長を有する；

(e) 配列番号1からなるアミノ酸配列を含む；

(f) 配列番号2からなるアミノ酸配列を含む；

(g) 配列番号3からなるアミノ酸配列を含む；

(h) 配列番号4からなるアミノ酸配列を含む；または

(i) 配列番号5からなるアミノ酸配列を含む

医薬組成物。

【請求項2】

タウペプチドが、少なくとも1つのアセチル化N末端アミノ酸を含む、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項3】

検出可能にラベルを付した単離されたタウペプチドであって、該タウペプチドは、

(a) 配列番号1～3のいずれか1つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約150アミノ酸長から約175アミノ酸長を有する；

(b) 配列番号4に記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約125アミノ酸長から約150アミノ酸長を有する；

(c) 配列番号5に記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約100アミノ酸長から約121アミノ酸長を有する；

(d) 配列番号5に記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約100アミノ酸長から約150アミノ酸長を有する；

(e) 配列番号1からなるアミノ酸配列を含む；

(f) 配列番号2からなるアミノ酸配列を含む；

(g) 配列番号3からなるアミノ酸配列を含む；

(h) 配列番号4からなるアミノ酸配列を含む；または

(i) 配列番号5からなるアミノ酸配列を含む

タウペプチド。

【請求項4】

タウペプチドに特異的な抗体の作製方法であって、非ヒト哺乳動物に、

(a) 配列番号 1 ~ 3 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 150 アミノ酸長から約 175 アミノ酸長を有する、タウペプチド；

(b) 配列番号 4 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 125 アミノ酸長から約 150 アミノ酸長を有する、タウペプチド；

(c) 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 100 アミノ酸長から約 121 アミノ酸長を有する、タウペプチド；

(d) 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 100 アミノ酸長から約 150 アミノ酸長を有する、タウペプチド；

(e) 配列番号 1 からなるアミノ酸配列を含むタウペプチド；

(f) 配列番号 2 からなるアミノ酸配列を含むタウペプチド；

(g) 配列番号 3 からなるアミノ酸配列を含むタウペプチド；

(h) 配列番号 4 からなるアミノ酸配列を含むタウペプチド；または

(i) 配列番号 5 からなるアミノ酸配列を含むタウペプチド

を投与し、

ここで、該投与が、ペプチドに対する抗体の産生を誘導し；そして

該哺乳動物から該抗体および/または該抗体を産生する細胞を単離することを含む、方法。

【請求項 5】

個体においてタウペプチドに対する免疫応答を刺激するための、請求項 1 または 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

該免疫応答がタウに特異的な抗体の産生を含む、請求項 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

該免疫応答が、結果として以下の 1 またはそれ以上の変化をもたらす、請求項 5 に記載の医薬組成物：

- a) 脳組織における細胞外遊離タウの量；
- b) 間質液 (I S F) における細胞外遊離タウの量；
- c) 脳脊髄液 (C S F) における細胞外遊離タウの量；
- d) ニューロンから他のニューロンへのタウの拡散；
- e) ニューロン内のタウ凝集量；
- f) ミクログリアおよび/またはアストロサイト活性化の程度；
- g) リン酸化または高リン酸化タウの量；
- h) I S F または C S F における、全タウまたは遊離タウの量；
- i) 細胞内のタウの N 末端フラグメントの量；
- j) ニューロンの過剰活性化；
- k) C S F 中の A₄₀ および/または A₄₂ の量；
- l) A₄₂ プラークの増加；
- m) ニューロンからの A₄₀ および/または A₄₂ の分泌；
- n) アミロイド前駆体タンパク質 (A P P) プロモーター活性化；
- o) A P P m R N A および/またはタンパク質レベル；
- p) - セクレターゼおよび/または - セクレターゼの活性化；
- q) A₄₂ 誘導性シグナル伝達経路の活性化状態；
- r) 細胞内全タウまたは遊離タウの量；
- s) I S F または C S F における、抗タウ抗体 - 結合タウの量；および
- t) 細胞内抗タウ抗体 - 結合タウの量。

【請求項 8】

タウペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む組換え発現ベクターであって、ここで、該タウペプチドが、

(a) 配列番号 1 ~ 3 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95 % の配列

同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 150 アミノ酸長から約 175 アミノ酸長を有する；

(b) 配列番号 4 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 125 アミノ酸長から約 150 アミノ酸長を有する；

(c) 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 100 アミノ酸長から約 121 アミノ酸長を有する；

(d) 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 100 アミノ酸長から約 150 アミノ酸長を有する；

(e) 配列番号 1 からなるアミノ酸配列を含む；

(f) 配列番号 2 からなるアミノ酸配列を含む；

(g) 配列番号 3 からなるアミノ酸配列を含む；

(h) 配列番号 4 からなるアミノ酸配列を含む；または

(i) 配列番号 5 からなるアミノ酸配列を含む

組換え発現ベクター。

【請求項 9】

請求項 8 に記載の組換えベクターを含む、遺伝子組み換えされた宿主細胞。

【請求項 10】

細胞外タウ (e タウ) ポリペプチド内のエピトープに特異的に結合する、単離されたモノクローナル抗体であって、e タウポリペプチドが、

(a) 配列番号 1 ~ 3 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 150 アミノ酸長から約 175 アミノ酸長を有する；

(b) 配列番号 4 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 125 アミノ酸長から約 150 アミノ酸長を有する；

(c) 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 100 アミノ酸長から約 121 アミノ酸長を有する；

(d) 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 100 アミノ酸長から約 150 アミノ酸長を有する；

(e) 配列番号 1 からなるアミノ酸配列を含む；

(f) 配列番号 2 からなるアミノ酸配列を含む；

(g) 配列番号 3 からなるアミノ酸配列を含む；

(h) 配列番号 4 からなるアミノ酸配列を含む；または

(i) 配列番号 5 からなるアミノ酸配列を含む

モノクローナル抗体。

【請求項 11】

請求項 10 に記載の抗体であって、エピトープが：

(a) 線形エピトープである；

(b) 該ペプチドの C 末端におけるネオエピトープである；

(c) 該ペプチドの C 末端領域内にある；

(d) エピトープ内のアミノ酸のリン酸化とは無関係に該抗体によって結合される；

(e) リン酸化アミノ酸を含まない；または

(f) リン酸化アミノ酸、ニトロ化アミノ酸、またはリン酸化アミノ酸およびニトロ化アミノ酸の両方を含む

抗体。

【請求項 12】

抗体がヒト化されている、請求項 10 または 11 に記載の抗体。

【請求項 13】

抗体が、

a) 配列番号：9、配列番号：10 および配列番号：11 から選択される 1 つまたはそれ以上の相補性決定領域 (CDR) を含む、VL 領域；および / または 配列番号：12、配

列番号：13および配列番号：14から選択される1つまたはそれ以上の相補性決定領域（CDR）を含む、VH領域；

b) 配列番号：17、配列番号：18および配列番号：19から選択される1つまたはそれ以上の相補性決定領域（CDR）を含む、VL領域；および/または配列番号：20、配列番号：21および配列番号：22から選択される1つまたはそれ以上の相補性決定領域（CDR）を含む、VH領域；

c) 配列番号：65、配列番号：66および配列番号：67から選択される1つまたはそれ以上の相補性決定領域（CDR）を含む、VL領域；および/または配列番号：68、配列番号：69および配列番号：70から選択される1つまたはそれ以上の相補性決定領域（CDR）を含む、VH領域；

d) 配列番号：25、配列番号：26および配列番号：27から選択される1つまたはそれ以上の相補性決定領域（CDR）を含む、VL領域；および/または配列番号：28、配列番号：29および配列番号：30から選択される1つまたはそれ以上の相補性決定領域（CDR）を含む、VH領域；

e) 配列番号：33、配列番号：34および配列番号：35から選択される1つまたはそれ以上の相補性決定領域（CDR）を含む、VL領域；および/または配列番号：36、配列番号：37および配列番号：38から選択される1つまたはそれ以上の相補性決定領域（CDR）を含む、VH領域；

f) 配列番号：41、配列番号：42および配列番号：43から選択される1つまたはそれ以上の相補性決定領域（CDR）を含む、VL領域；および/または配列番号：44、配列番号：45および配列番号：46から選択される1つまたはそれ以上の相補性決定領域（CDR）を含む、VH領域；

g) 配列番号：49、配列番号：50および配列番号：51から選択される1つまたはそれ以上の相補性決定領域（CDR）を含む、VL領域；および/または配列番号：52、配列番号：53および配列番号：54から選択される1つまたはそれ以上の相補性決定領域（CDR）を含む、VH領域；または

h) 配列番号：57、配列番号：58および配列番号：59から選択される1つまたはそれ以上の相補性決定領域（CDR）を含む、VL領域；および/または配列番号：60、配列番号：61および配列番号：62から選択される1つまたはそれ以上の相補性決定領域（CDR）を含む、VH領域

を含む、請求項10または11に記載の抗体。

【請求項14】

エピトープが、タウポリペプチドのアミノ酸15 - 24内、アミノ酸5 - 20内、アミノ酸2 - 18内、またはアミノ酸19 - 46内ではない、請求項10から13のいずれか一項に記載の単離された抗体。

【請求項15】

a) 請求項10から14のいずれか一項に記載の抗体；および

b) 薬学的に許容される添加物

を含む、医薬組成物。

【請求項16】

個体の組織または体液中のタウの異常な濃度により特徴付けられるタウオパチーを処置するための請求項15に記載の医薬組成物。

【請求項17】

個体から得られた生物学的サンプル中の細胞外タウ（eタウ）ポリペプチドを検出する方法であって、

a) 該サンプルとタウペプチドに特異的な抗体を接触させ；そして

b) サンプル中に存在するタウペプチドへの抗体の結合を検出すること

を含み、

eタウポリペプチドが、

(a) 配列番号1～3のいずれか1つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約95%の配列

同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 150 アミノ酸長から約 175 アミノ酸長を有する；

(b) 配列番号 4 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 125 アミノ酸長から約 150 アミノ酸長を有する；

(c) 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 100 アミノ酸長から約 121 アミノ酸長を有する；

(d) 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、約 100 アミノ酸長から約 150 アミノ酸長を有する；

(e) 配列番号 1 からなるアミノ酸配列を含む；

(f) 配列番号 2 からなるアミノ酸配列を含む；

(g) 配列番号 3 からなるアミノ酸配列を含む；

(h) 配列番号 4 からなるアミノ酸配列を含む；または

(i) 配列番号 5 からなるアミノ酸配列を含む

方法。

【請求項 18】

個体の脳組織におけるタウペプチドへの抗体の結合を画像検査法を用いて検出することによって、生体中、インビボで細胞外タウ (e タウ) ポリペプチドを検出するための組成物であって、該組成物は請求項 10 から 14 のいずれか一項に記載の抗体を含む組成物。

【請求項 19】

請求項 10 から 14 のいずれか一項に記載の単離された抗体を含むキット。

【請求項 20】

個体から得られた液体生物学的サンプルにおいて、細胞外タウ (e タウ) ポリペプチドを検出するために用いられるアッセイ装置であって、アキシアルフロー経路を定義するマトリックスを含み、該マトリックスが、液体サンプルを受容するフロー経路の上流末端にサンプル受容ゾーンを含む、装置。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 14/16597
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 38/00; A61K 39/00; G01N 33/53; C12P 21/08 (2014.01) USPC - 514/17.8; 424/133.1; 435/7.1; 530/388.1 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC(8) - A61K 38/00; A61K 39/00; G01N 33/53; C12P 21/08 (2014.01) USPC - 514/17.8; 424/133.1; 435/7.1; 530/388.1; 514/17.7 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched IPC(8) - A61K 38/00; A61K 39/00; G01N 33/53; C12P 21/08 (2014.01) - see keyword below USPC - 514/17.8; 424/133.1; 435/7.1; 530/388.1; 514/17.7 - see keyword below Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PubWEST(USPT,PGPB,EPAB,JPAB); PatBase; Medline, Google: extracellular, tau, secreted, tauopathies, pharmaceutical, composition, purified, isolated, peptide, polypeptide, excipient, carrier, administer, acetylation, N-terminal, amino terminus, degradation, blood, CNS, spinal, human, fragment, protein, amino acid, epitope, sample, detect		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — Y	US 2012/0142602 A1 (BRADY et al.) 07 June 2012 (07.06.2012), Abstract, para [0005], [0009], [0010], [0011], [0013], [0015], [0017], [0066], and SEQ ID NO: 1	1-5 6
Y	KUO et al. N-terminal polyubiquitination and degradation of the Arf tumor suppressor. Genes Dev. 2004, Vol. 18(15), p. 1862-74. Abstract; and pg 1871, col 1, last para, and col 2, para 1	6
A	US 2005/0181460 A1 (OHNO et al.) 18 August 2005 (18.08.2005), para [0033], [0078], [0085], and SEQ ID NO: 7	1-6
A	US 2009/0047875 A1 (ROBERTS et al.) 19 February 2009 (19.02.2009), para [0066]	1-6
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 06 May 2014 (06.05.2014)		Date of mailing of the international search report 24 JUL 2014
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 14/16597

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

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

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

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

- 3. Claims Nos.: 7-18, 21-23, 39-67, 73-79
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

Group I, claims 1-6, drawn to a pharmaceutical composition comprising: a) an isolated tau peptide, and b) a pharmaceutically acceptable excipient.

Group II, claim 19, drawn to a detectably labeled isolated tau peptide.

Group III, claims 20, 27-38, drawn to a method of generating an antibody specific for a tau peptide, or an isolated monoclonal antibody that specifically binds an epitope within an extracellular Tau (eTau) polypeptide.

Group IV, claims 24-26, drawn to a recombinant expression vector comprising a nucleotide sequence encoding a tau peptide.
*****Continued in the extra sheet*****

- 1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
- 2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
- 3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
- 4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-6

- Remark on Protest
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
 - The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
 - No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 14/16597

Continuation of:
Box No III (unity of invention is lacking)

Group V, claims 68-72, 80-86, drawn to a method of detecting an extracellular Tau (eTau) polypeptide in a biological sample comprising detecting binding of an antibody to tau peptide present in the sample, or an assay device for the detection.

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

Special Technical Feature

Group I includes the special technical feature of a pharmaceutical composition comprising a pharmaceutically acceptable excipient, not required by Groups II-V.

Group II includes the special technical feature of a detectably labeled isolated tau peptide, not required by Groups I, III-V.

Group III includes the special technical feature of generating an antibody, not required by Groups I-II, IV-V.

Group IV includes the special technical feature of a recombinant expression vector, not required by Groups I-III, V.

Group V includes the special technical feature of detecting binding of an antibody to tau peptide present in the sample or an assay device, not required by Groups I-IV.

Common Technical Features

The inventions of Groups I-V share the technical feature of a tau peptide (or an isolated tau peptide for Groups I-II), or an extracellular Tau (eTau) polypeptide (Groups III and V), wherein the tau peptide (or eTau polypeptide) comprises an amino acid sequence having at least about 95% amino acid sequence identity to the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 1, wherein the tau peptide has a length of from about 5 amino acids to about 175 amino acids [Please Note: SEQ ID NO: 1 comprises SEQ ID NOs: 2-5, wherein each of the sequence of SEQ ID NOs: 2-5 is a sequence of an N-terminal portion of amino acid sequence of SEQ ID NO:1 with different length];

The inventions of Groups III and V further share the technical feature of an antibody binds to the eTau polypeptide.

However, these shared technical features do not represent a contribution over prior art as being anticipated by US 2012/0142602 A1 to BRADY et al. (hereinafter 'Brandy') as follows:

Brandy discloses an isolated tau peptide, wherein the tau peptide comprises an amino acid sequence having at least about 95% amino acid sequence identity to the amino acid sequence set forth in any one of SEQ ID NOs: 1-3, wherein the tau peptide has a length of from about 5 amino acids to about 175 amino acids (para [0014] - 'tau peptide or tau peptide fragment is isolated and purified'; para [0011] - 'tau peptide encompassing the sequence Ala-Glu-Pro-Arg-Gln-Glu-Phe-Glu-Val-Met-Glu-Asp-His-Ala-Gly-Thr-Tyr (SEQ ID NO:1) present in human tau or a fragment ... include a peptide ...between 5 and 20 amino acid residues', wherein 'SEQ ID NO: 1' is 100% identical to the amino acid residues 1-17 of each of the claimed SEQ ID NOs: 1-3, and wherein 'present in human tau' indicating the sequence is derived from 'an amino acid sequence having at least about 95% amino acid sequence identity to the amino acid sequence set forth in any one of SEQ ID NOs: 1-3', because SEQ ID NOs: 1-3 was known; Please see US 2005/0181460 A1 to OHNO et al.: para [0033], [0078], and [0095] - 'tau N-side fragment (SEQ ID NO: 7)', wherein SEQ ID NO: 7 consisting of 191 amino acids, and comprising a region between amino acid residues 2-176, that is 100% identical to the claimed SEQ ID NO: 1, which comprises SEQ ID NOs: 2-3).

Brandy further discloses an antibody that specifically binds to an epitope within N-terminal of tau peptide an amino acid sequence having at least about 95% amino acid sequence identity to the amino acid sequence set forth in any one of SEQ ID NOs: 1-3, wherein the tau peptide has a length of from about 5 amino acids to about 175 amino acids (para [0066] - 'Tau12 is a mouse monoclonal antibody specific for residues 9-18 in the amino terminus of tau'; para [0017] - 'antibodies specific for the PAD peptide ...One of these antibodies, TNT1 ... recognize ... tau from the brains of Alzheimer's patients'; para [0009] - 'peptide encompassing amino acids 2-18 of tau... as the "phosphatase-activating domain" (PAD), wherein 'peptide encompassing amino acids 2-18 of tau' is the region of amino acid residues 1-17 of the sequence set forth in any of the claimed SEQ ID NOs: 1-3; para [0010] - 'the PAD peptide sequence in endogenous tau including phosphorylation of Thr17 or Tyr18'; para [0011] - 'a tau peptide encompassing the sequence Ala-Glu-Pro-Arg-Gln-Glu-Phe-Glu-Val-Met-Glu-Asp-His-Ala-Gly-Thr-Tyr (SEQ ID NO:1)', wherein 'SEQ ID NO: 1' is 100% identical to the amino acid residues 1-17 of each of the claimed SEQ ID NO: 1-3, and wherein 'present in human tau' indicating the sequence is derived from 'an amino acid sequence having at least about 95% amino acid sequence identity to the amino acid sequence set forth in any one of SEQ ID NOs: 1-3', as discussed above; and further wherein 'SEQ ID NO: 1' of Brandy is 100% identical to the amino acid residues 2-18 of the N-terminal tau disclosed by Ohno et al.: para [0095] - 'tau N-side fragment (SEQ ID NO: 7)').

Although Brandy does not specifically teach wherein the tau peptide is an extracellular Tau (eTau) polypeptide, this limitation is determined the inherent property of the tau peptide sequence (Specification: para [0015] - 'the eTau polypeptide comprises: a) an amino acid sequence... SEQ ID NOs: 1-3, ...a length of from about 5 amino acids to about 175 amino acids').

Without a shared special technical feature, the inventions lack unity with one another.

Groups I-V therefore lack unity under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

Note re item 4: Claims 7-18, 21-23, 39-67, 73-79 are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4 (a). These claims are improper multiple dependent claims.

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	4 C 0 8 5
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	4 C 0 8 7
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	4 H 0 4 5
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	C 1 2 Q 1/02	
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 P 37/04	
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D
A 6 1 K 39/39 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/39	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
A 6 1 K 49/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 K 51/00 (2006.01)	A 6 1 K 49/00	A
A 6 1 K 47/50 (2017.01)	A 6 1 K 49/02	A
A 6 1 K 47/10 (2006.01)	A 6 1 K 47/48	
A 6 1 K 35/12 (2015.01)	A 6 1 K 47/10	
A 6 1 K 35/76 (2015.01)	A 6 1 K 35/12	
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	A 6 1 K 35/76	
G 0 1 N 33/543 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	D
G 0 1 N 33/531 (2006.01)	G 0 1 N 33/543	5 2 1
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	G 0 1 N 33/531	A
	C 1 2 P 21/08	

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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. テフロン

(72) 発明者 グレアム・パリー

アメリカ合衆国 9 4 0 8 0 カリフォルニア州サウス・サンフランシスコ、ゲイトウェイ・ブルバ
ード 9 5 1 番

(72) 発明者 トニー・サンヨン・ピョン

アメリカ合衆国 9 4 0 0 5 カリフォルニア州プリズベン、クレセント・コート 2 3 4 番

F ターム(参考) 4B063 QA01 QQ02 QQ08 QQ79 QR48 QR72 QR77 QS28 QS36 QX01
4B064 AG27 CA19 CC24 DA01 DA13
4B065 AA01X AA57X AA72X AA87X AA90Y AB01 AC14 BA02 CA24 CA25
CA44 CA46
4C076 AA12 BB13 BB15 BB16 BB21 CC01 CC07 EE23 EE59
4C084 AA19 BA01 BA08 BA22 BA23 CA18 CA53 CA56 MA17 MA56
MA65 MA66 NA05 NA13 ZA161 ZB091 ZC751
4C085 AA13 AA14 BB31 BB41 BB43 CC03 CC21 CC23 DD62 EE01

	EE06	FF24	GG01	GG02	GG03	GG04	HH03	HH11	HH13	KA03
	KA04	KA27	KA29	LL13						
4C087	AA01	AA02	BB65	BC83	CA12	MA17	MA56	MA65	MA66	NA05
	NA14	ZA16	ZB09	ZC75						
4H045	AA10	AA11	AA30	BA10	BA13	BA50	BA60	CA40	DA76	EA20
	EA50	FA74	GA01	GA31						