(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2011-529084
(P2011-529084A)
(43)公表日　平成23年12月1日(2011.12.1)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C07K 14/47	(2006.01)	C07K	14/47	ZNA	4C084
C40B 40/10	(2006.01)	C40B	40/10		4C085
A61K 38/00	(2006.01)	A61K	37/02		4H045
A61P 25/28	(2006.01)	A61P	25/28		
A61K 39/00	(2006.01)	A61K	39/00	H	

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 164 頁）　最終頁に続く

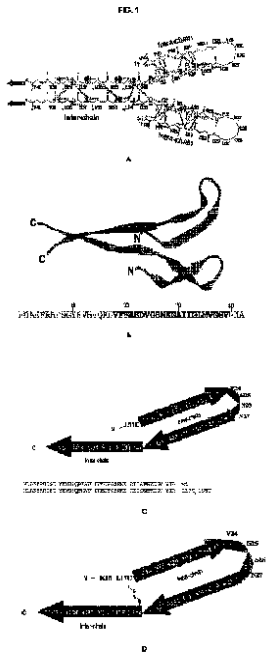
(21)出願番号　特願2011-520233 (P2011-520233)
(86)(22)出願日　平成21年7月24日 (2009.7.24)
(85)翻訳文提出日　平成23年3月16日 (2011.3.16)
(86)国際出願番号　PCT/US2009/051721
(87)国際公開番号　WO2010/011947
(87)国際公開日　平成22年1月28日 (2010.1.28)
(31)優先権主張番号　61/083,589
(32)優先日　平成20年7月25日 (2008.7.25)
(33)優先権主張国　米国(US)

(71)出願人　391008788
アボット・ラボラトリーズ
ＡＢＢＯＴＴ　ＬＡＢＯＲＡＴＯＲＩＥＳ
アメリカ合衆国　イリノイ州　アボット　パーク　アボット　パーク　ロード　１０００
(71)出願人　511020748
アボット　ゲーエムベーハー　ウント　カンパニー　カーゲー
ドイツ国、６７０６１・ルードビヒスハーフエン、クノルシユトラーセ・５０
(74)代理人　110001173
特許業務法人川口國際特許事務所

最終頁に続く

(54)【発明の名称】アミロイドβペプチド類似体、これらのオリゴマー、前記類似体またはオリゴマーを調製するためのプロセスおよび前記類似体またはオリゴマーを含む組成物ならびにこれらの使用

(57)【要約】
本発明は、（ｉ）ループを形成しており、（ｉｉ）天然Ａβペプチドまたはその一部のアミノ酸配列と少なくとも６６％の同一性を有し、（ｉｉｉ）少なくとも６個の連続アミノ酸残基を含み、（ｉｖ）相互に共有結合している少なくとも２個の非連続アミノ酸残基を有するアミノ酸配列またはこのペプチド模倣物を含むアミロイドβペプチド類似体に関し、前記アミロイドβペプチド類似体を含むオリゴマーに関し、アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーを調製するプロセスに関し、アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーを含む組成物に関し、ならびにアミロイドーシスを（例えば能動免疫法によって）治療するまたは予防するため、アミロイドーシスを診断するためおよびアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質を提供するための使用などのアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーの使用に関する。本発明はアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質（例えば抗体）、作用物質を含む組成物ならびにアミロイドーシスを（例えば受動免疫法によって）治療するまたは予防



【特許請求の範囲】
【請求項１】
アミノ酸配列を含むアミロイドβペプチド類似体てであって、前記配列は（ｉ）ループを形成しており、（ｉｉ）天然ヒトＡβペプチドまたはその一部と少なくとも６６％の同一性を有し、（ｉｉｉ）少なくとも６個の連続アミノ酸残基を含み、（ｉｖ）相互に共有結合している少なくとも２個の非連続アミノ酸残基を有する、アミロイドβペプチド類似体。
【請求項２】
アミノ酸配列を含むアミロイドβペプチド類似体てであって、前記配列は（ｉ）ループを形成しており、（ｉｉ）天然ヒトＡβペプチドまたはその一部と少なくとも６６％の同一性を有し、（ｉｉｉ）少なくとも６個の連続アミノ酸残基を含み、（ｉｖ）相互に共有結合している少なくとも２個の非連続アミノ酸残基を有する、アミロイドβペプチド類似体。
【請求項３】
ループがβ－ヘアピンループである、請求項１または２のアミロイドβペプチド類似体。
【請求項４】
天然Ａβヒトペプチドまたはその一部がＡβ（Ｘ．．Ｙ）であり、Ｘが１．．２３、１５．．２３または１８．．２２の数からなる群から選択され、ならびにＹが２８．．４３または２８．．４３の数からなる群から選択される、請求項１から３のいずれか一項のアミロイドβペプチド類似体。
【請求項５】
６個の連続アミノ酸残基が配列ＶＧＳＮもしくはＤＶＧＳＮＫまたはＡＥＤを含む、請求項１から４のいずれか一項のアミロイドβペプチド類似体。
【請求項６】
アミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列が配列$F_{19}X_{20}A_{21}$－Ｑ－$A_{30}I_{31}I_{32}$（X_{20}は１個のアミノ酸を表し、Ｑは配列ＶＧＳＮを含むアミノ酸配列である。）を含む、請求項１から５のいずれか一項のアミロイドβペプチド類似体。
【請求項７】
アミノ酸配列Ｑの少なくとも一部がループを形成しており、ならびにアミノ酸配列$F_{19}X_{20}A_{21}$と$A_{30}I_{31}I_{32}$とが逆平行配向にある、請求項６のアミロイドβペプチド類似体。
【請求項８】
アミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列が、配列番号１－３６８からなる群から選択される配列を含み、前記配列の少なくとも２個のアミノ酸残基が、配列内共有結合を形成するように修飾されている、請求項１から７のいずれか一項のアミロイドβペプチド類似体。
【請求項９】
アミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列が、配列番号３６９－６９８からなる群から選択される配列であり、
X_{12}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{13}が、ヒスチジン、チロシン、セリン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{14}が、ヒスチジン、チロシン、セリン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{15}が、グルタミン、アスパラギン、メチオニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{16}が、リジン、アルギニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、

X_{17}が、ロイシン、イソロイシン、バリン、フェニルアラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{18}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{19}が、フェニルアラニン、チロシン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{20}が、フェニルアラニン、チロシン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{21}が、アラニン、バリン、グリシン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{22}が、グルタミン酸、アスパラギン酸または配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{29}が、グリシン、アラニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{30}が、アラニン、バリン、グリシン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{31}が、イソロイシン、ロイシン、バリン、フェニルアラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{32}が、イソロイシン、ロイシン、バリン、フェニルアラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{33}が、グリシン、アラニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{34}が、ロイシン、イソロイシン、バリン、フェニルアラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{35}が、メチオニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{36}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{37}が、グリシン、アラニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{38}が、グリシン、アラニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{39}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{12}、X_{13}、X_{14}、X_{15}、X_{16}、X_{17}、X_{18}、X_{19}、X_{20}、X_{21}およびX_{22}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{29}、X_{30}、X_{31}、X_{32}、X_{33}、X_{34}、X_{35}、X_{36}、X_{37}、X_{38}、X_{39}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している、請求項１から８のいずれか一項のアミロイドβペプチド類似体。

【請求項１０】

アミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列が配列$X_{20}-Q-X_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}A_{30}I_{31}$を含み、$X_{20}$、$X_{24}$、$X_{25}$、$X_{26}$、$X_{27}$、$X_{28}$、$X_{29}$がそれぞれ独立にアミノ酸を表し、ならびにＱが配列ＡＥＤを含むアミノ酸配列である、請求項１から５のいずれか一項のアミロイドβペプチド類似体。

【請求項１１】

アミノ酸配列$X_{24}X_{25}X_{26}X_{27}$の少なくとも一部がループを形成しており、ならびにアミノ酸配列$X_{20}A_{21}E_{22}D_{23}$と$X_{28}X_{29}A_{30}I_{31}$とが逆平行配向にある、請求項１０のアミロイドβペプチド類似体。

【請求項１２】

アミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列が、配列番号６９９－９６０からなる群か

ら選択される配列であり、
X_{12}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{13}が、ヒスチジン、チロシン、セリン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{14}が、ヒスチジン、チロシン、セリン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{15}が、グルタミン、アスパラギン、メチオニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{16}が、リジン、アルギニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{17}が、ロイシン、イソロイシン、バリン、フェニルアラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{18}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{19}が、フェニルアラニン、チロシン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{20}が、フェニルアラニン、チロシン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{24}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{25}が、グリシン、アラニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{26}が、セリン、グリシン、アラニン、スレオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{27}が、アルパラギン、グルタミン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{28}が、リジン、アルギニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{29}が、グリシン、アラニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{30}が、アラニン、バリン、グリシン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{31}が、イソロイシン、ロイシン、バリン、フェニルアラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{32}が、イソロイシン、ロイシン、バリン、フェニルアラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{33}が、グリシン、アラニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{34}が、ロイシン、イソロイシン、バリン、フェニルアラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{35}が、メチオニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{36}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{37}が、グリシン、アラニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{38}が、グリシン、アラニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{39}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン、メチオニンまたは配列の他のア

ミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{12}、X_{13}、X_{14}、X_{15}、X_{16}、X_{17}、X_{18}、X_{19}、X_{20}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{29}、X_{30}、X_{31}、X_{32}、X_{33}、X_{34}、X_{35}、X_{36}、X_{37}、X_{38}、X_{39}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している、請求項１から５のいずれか一項のアミロイドβペプチド類似体。
【請求項１３】
請求項１から１２のいずれか一項に定義される複数のアミロイドβペプチド類似体を含むオリゴマー。
【請求項１４】
（ｉｉｉ）ペプチドまたはこのペプチド模倣物を提供するステップ、
（ｉｖ）ペプチドまたはペプチド模倣物を、結合が形成するのに十分な条件に供するステップ
を含む、請求項１から１２のいずれか一項に定義されるアミロイドβペプチド類似体を調製するためのプロセス。
【請求項１５】
（ｉ）ペプチドまたはこのペプチド模倣物を提供するステップ、
（ｉｉ）ペプチドまたはペプチド模倣物をオリゴマーおよび結合が形成するのに十分な条件に供するステップ
を含む、請求項１３に定義されるオリゴマーを調製するためのプロセス。
【請求項１６】
請求項１から１３のいずれか一項に定義されるアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーを含み、ならびに薬学的に許容される担体を必要に応じて含む、ワクチンなどの組成物。
【請求項１７】
アルツハイマー病などのアミロイドーシスまたはダウン症候群のアミロイドーシスを治療するまたは予防する際の能動免疫法のための医薬組成物を調製するための、請求項１から１３のいずれか一項に定義されるアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーの使用。
【請求項１８】
アルツハイマー病などのアミロイドーシスまたはダウン症候群のアミロイドーシスを診断するための組成物を調製するための、請求項１から１３のいずれか一項に定義されるアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーの使用。
【請求項１９】
ａ）対象の１つ以上の作用物質をアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに、１つ以上の作用物質がアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合するのに十分な時間および条件下でさらすステップ、およびｂ）アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合するこれらの作用物質を同定するステップを含む、請求項１から１３のいずれか一項に定義されるアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質を同定する方法。
【請求項２０】
ｉ）アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーを含む抗原を提供するステップ、
ｉｉ）抗体レパートリーを前記抗原にさらすステップ、および
ｉｉｉ）アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合する抗体を前記レパートリーから選択するステップ
を含む、請求項１から１３のいずれか一項に定義されるアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる抗体を提供する方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】

（発明の分野）
本発明は、アミロイドβペプチド類似体、複数の前記アミロイドβペプチド類似体を含むオリゴマー、アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーを調製するためのプロセス、アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーを含む組成物ならびにアミロイドーシスを（例えば能動免疫法によって）治療または予防するため、アミロイドーシスを診断するためおよびアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質を提供するための使用などのアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーの使用に関する。本発明は、アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質（例えば抗体）、作用物質を含む組成物、ならびにアミロイドーシスを（例えば受動免疫法によって）治療または予防するためおよびアミロイドーシスを診断するための使用などの作用物質の使用も記載している。

【背景技術】

【０００２】

（発明の背景）
１９０７年に医師アロイス・アルツハイマーは、後に彼に敬意を示してアルツハイマー病（ＡＤ）と名付けられる認知症の一形態の神経病理学的特性を初めて記載した。詳細にはＡＤは、６５才を超える人口における約１０％の発症率を有して高齢者での認知症における最多原因である。加齢に伴って疾病の可能性も増加する。全世界では、約１５００万人がこの疾患に罹っており、平均余命のさらなる延長によりこの疾患に罹患する人々の数が今後１０年にわたって約３倍まで増加することが予想されている。

【０００３】

分子的な観点からアルツハイマー病（ＡＤ）は、異常に凝集したタンパク質の沈着によって特徴付けられる。細胞外アミロイドプラークの場合、これらの沈着は主にアミロイドβペプチド線維からなり、細胞内神経原線維変化（ＮＦＴ）の場合は主にタウタンパク質からなる。アミロイドβ（Ａβ）ペプチドは、βアミロイド前駆体タンパク質からタンパク質切断によって生じる。この切断は、α－、β－およびγ－セクレターゼと称されるいくつかのプロテアーゼの協同的な活性によってもたらされる。切断は、異なる長さの多数の特異的断片を生じる。アミロイドプラークは、主に長さ４０または４２アミノ酸のペプチド（Ａβ４０、Ａβ４２）からなる。主要な切断産物はＡβ４０であるが、Ａβ４２ははるかに強い毒性効果を有する。アルツハイマー病において観察されるものとよく似た脳アミロイド沈着および認知障害は、出生８００回に約１回の頻度で生じるダウン症候群（２１トリソミー）の特徴でもある。

【０００４】

ハーディーおよびヒギンスのアミロイドカスケード仮説は、Ａβ（１－４２）の産生の増加が前原線維および原線維（すなわちＡβプラークの主な要素）の形成を生じ、これらの原線維がアルツハイマー病の症状に関与すると仮定した。認知症の重症度と沈着したＡβプラーク量との間の相間性が乏しいにもかかわらず、この仮説は最近まで支持されていた。

【０００５】

ＵＳ　７，３４２，０９１は、残基Ｇｌｎ１５とＶａｌ２４（ＡＰＰにおいて６８６および６９５）との間の領域間にペプチド内架橋を有するアミロイドβペプチドの可溶性環状類似体を、架橋形成に関与する２個のアミノ酸を相対的にｉ＋３、ｉ＋４、ｉ＋５、ｉ＋６またはｉ＋７離して配置して記載している。具体的にはＡβペプチドのＡｓｐ１７およびＬｙｓ２１（ＡＰＰ番号付けでは残基６８８および６９２）の側鎖は共有結合を介して結合されている。ＵＳ７，３４２，０９１において記載のアミロイドβペプチドの可溶性環状類似体は、内在性Ａβペプチドによるアミロイド生成またはアミロイド形成を阻害するように設計されている。つまり可溶性環状類似体は、Ａβペプチドと物理学的に相互作用し、アミロイドの形成を阻止すると推定される。

【０００６】

プラーク量よりもＡＤ症状によりよく相関するＡＤ脳中の可溶性Ａβ形態の発見は、し

かしアミロイドカスケード仮説の改訂を導いた。

【０００７】

ほとんどの条件下でアミロイドβペプチドは、原線維形態に迅速に転換する。しかし、界面活性剤または脂肪酸の添加は、マウスおよびウサギにおいて特異的抗体を誘発する強力な抗原である長寿命の可溶性形態を生じ得る（ＷＯ　２００４／０６７５６１、ＷＯ　２００６／０９４７２４、Ｓ．Ｂａｒｇｈｏｒｎら、Ｊ．Ｎｅｕｒｏｃｈｅｍ．９５、８３４（２００５））。これらは、海馬細胞培養物中でニューロンの樹状突起に結合し、ラット海馬切片において長期増強を完全に遮断することが示されている。これらのデータは、インビトロで調製された可溶性形態に類似する構造的特性を有するアミロイドβペプチドがインビボにも存在することを示唆している。

【０００８】

より具体的には、ＷＯ　２００４／０６７５６１は、Ａβ（１－４２）ペプチドの球状オリゴマー（「球状体」）およびこれらを調製するためのプロセスに関する。データは、１つ以上の特有の抗原決定基（本明細書以下で球状体抗原決定基と称する。）を提示するＡβオリゴマーへのＡβフォールディングおよび構築についてアミロイド原線維非依存性経路の存在を示唆している。球状体抗原決定基がＡＤ患者およびＡＰＰ遺伝子導入マウスの脳で検出されたことおよび球状体がニューロンに特異的に結合しＬＴＰを遮断することから、球状体は病理学的に関連するＡβ配座異性体を意味している。ＷＯ　２００４／０６７５６１は、球状体の限定的タンパク質分解がＡβ（２０－４２）またはＡβ（１２－４２）球状体などの前記球状体の切断バージョンを生じることをさらに記載している。これらのＡβ（２０－４２）およびＡβ（１２－４２）球状体は、球状体特異的抗体を生成するために使用されている。例えばＷＯ　２００７／０６２８５２は、Ａβ（２０－４２）球状体を特異的に認識する数個のモノクローナル抗体を記載している。

【０００９】

ＷＯ　２００６／０９４７２４は、非拡散性球状Ａβ（Ｘ－３８．．４３）オリゴマーに関し、Ｘは１．．２４の数からなる群から選択される。これらの球状体は、ＷＯ　２００４／０６７５６１での記載と同じプロセスによって、すなわちＡβ（１－３８．．４３）球状体を生成するためのＡβ（１－３８．．４３）ペプチドのＳＤＳ－または脂肪酸誘発オリゴマー形成およびこれらの切断バージョン（すなわちＸが２．．２４の数からなる群から選択されるＡβ（Ｘ－３８．．４３）球状体）を生成するためのＡβ（１－３８．．４３）球状体の限定タンパク質分解によって入手可能であると述べられている。

【００１０】

ＷＯ　２００４／０６７５６１およびＷＯ　２００６／０９４７２４の両方は、球状体をグルタルジアルデヒドなどの架橋剤と反応させることによって得られる架橋結合した球状体も記載している。架橋結合は、Ｌｙｓ－２８を残す（したがってＡβ（１－４２）球状体の内部に隠されなければならない。）一方でＮ末端とＬｙｓ－１６のアミノ基の間にのみ生じることが観察された。得られた架橋結合は分子内よりもむしろ主に分子間である。

【００１１】

ＷＯ　２００７／０６４９１７は、アミロイドβペプチドの組換え形態のクローニング、発現および単離を記載している。大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）で発現されたペプチドは、そのＮ末端メチオニン残基を完全に保持しており、位置０から位置４２までアミロイドベータの天然配列（本明細書以下でＮ－ＭｅｔＡβ（１－４２）と称する。）を示している。

【００１２】

Ａβ－（１－４２）ペプチドと同様に、Ｎ－ＭｅｔＡβ－（１－４２）ペプチドの調製物に脂肪酸または炭化水素界面活性剤のいずれかを添加することは、オリゴマーの状態が残留界面活性剤（ＳＤＳ）または脂質様添加物の量に依存することが観察された安定な可溶性凝集体の形成をもたらす。０．２％ＳＤＳの存在下でアミロイドβペプチドは、小さな可溶性凝集体（本明細書以下でＮ－ＭｅｔＡβ（１－４２）前球状体と称する。）を形成し、次いでＳＤＳ濃度が０．０５％に希釈されると、より高ＭＷの可溶性凝集体（本明

細書以下でＮ－ＭｅｔＡβ（１－４２）球状体と称する。）に転換され得る。沈降研究に基づくとＮ－ＭｅｔＡβ（１－４２）前球状体は、ＭＷ１６ｋＤａ（約４ペプチド／可溶性凝集体に相当する。）を有し、一方Ｎ－ＭｅｔＡβ（１－４２）球状体は、ＭＷ約６４ｋＤａ（約１４－１６ペプチド／可溶性凝集体に相当する。）を有する。

【００１３】

Ｎ－ＭｅｔＡβ（１－４２）前球状体の生物物理学的および構造的な特徴付けは、原線維の構造研究において見出された全ての平行アミロイドβペプチドとは異なる混ざりあった分子間平行／分子内逆平行βシートを含有することを明らかにした。

【００１４】

球状体形成の前記方法は、高収率で均一なＡβオリゴマー調製を成立させる能力において大きな一歩を示している。しかし、この方法でさえもドデシル硫酸ナトリウム（ＳＤＳ）を除去すると徐々に、ある程度の不均一性を示す製剤を生じる場合がある。加えて、球状体抗原決定基の最良の提示のために行われている切断は、しばしば不均一性をさらに増加させ、Ａβ球状体の安定性を減少させる。これらの問題は、系からＳＤＳが除去される場合にだけ増大する。加えて、Ｎ－末端切断Ａβ球状体は界面活性剤の非存在下では非常に低い可溶性を示す。

【先行技術文献】

【特許文献】

【００１５】

【特許文献１】米国特許第７，３４２，０９１号明細書
【特許文献２】国際公開第２００４／０６７５６１号
【特許文献３】国際公開第２００６／０９４７２４号
【特許文献４】国際公開第２００７／０６２８５２号
【特許文献５】国際公開第２００７／０６４９１７号

【非特許文献】

【００１６】

【非特許文献１】Ｓ．Ｂａｒｇｈｏｒｎら、Ｊ．Ｎｅｕｒｏｃｈｅｍ．９５、８３４（２００５）

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【００１７】

したがってモノマーまたはオリゴマーである場合と同様の関連する高次構造または抗原決定基を提示するアミロイドβペプチド類似体を提供することが本発明の目的であった。好ましくは、そのようなアミロイドβペプチド類似体またはこのオリゴマーは、周知の球状体よりよい物理的／化学的特性を示し、例えば、より小さなサイズ、増強された均一性、増強された安定性、寿命の増大および／またはインビボでのプロテアーゼへのより強い耐性を示す。よりよい再現性もさらなる有利点となる。

【課題を解決するための手段】

【００１８】

（発明の要旨）

本発明は、１）アルツハイマー病の進行に関与する毒性応答（Ａβミスフォールドペプチド中に包含された「毒素」）、２）この高次構造に対して特異的であり、ＣＳＦおよび血漿に検出可能な内在性の生理的単量体Ａβペプチドに交差反応しない治療関連抗体の生成ならびに／もしくは３）ポリクローナルであるがこの毒性高次構造に単一特異性であり、ＣＳＦおよび血漿に検出可能な内在性の生理的単量体Ａβペプチドに交差反応しない抗体応答を誘発する能動免疫法による免疫応答の発生、のために重要な抗原決定基を提示するＡβペプチドまたはその一部の安定化された高次構造を提供する。この安定化は、ペプチドまたはこのペプチド模倣物を両者がより安定で必要な抗原決定基を提示する高次構造に固定する分子内共有結合によって達成される。これらの安定化されたペプチドまたはペプチド模倣物の望ましい効力は、標準的免疫測定（例えば免疫沈降、ＥＬＩＳＡ、ドット

ブロット）において、ＷＯ　２００７／０６４９７２およびＷＯ　２００７／０６２８５２に記載のとおり利用できる球状体選択抗体での交差反応によって、またはＡβペプチドの毒性を評価するために使用される標準的細胞アッセイにおいて容易に測定され得る。

【００１９】

第１の態様によれば、本発明は、（ｉ）ループを形成しており、（ｉｉ）天然Ａβペプチドまたはその一部のアミノ酸配列と少なくとも６６％の同一性を有し、（ｉｉｉ）少なくとも６個の連続アミノ酸残基を含み、（ｉｖ）相互に共有結合している少なくとも２個の非連続アミノ酸残基を有するアミノ酸配列を含むアミロイドβペプチド類似体に関する。

【００２０】

第２の態様によれば、本発明は、本明細書において定義の前記アミノ酸配列のペプチド模倣物を含むアミロイドβペプチド類似体にも関する。

【００２１】

アミロイドβペプチド類似体の具体的な実施形態は、

ループがβヘアピンループであるアミロイドβペプチド類似体；

天然Ａβヒトペプチドまたはその一部がＡβ（Ｘ．．Ｙ）であり、Ｘが１．．２３の数からなる群から選択され、Ｙが２８．．４３の数からなる群から選択される、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；

Ｘが１５．．２３の数からなる群から選択される、前記実施形態のアミロイドβペプチド類似体；

Ｘが１８．．２２の数からなる群から選択される、前記実施形態のアミロイドβペプチド類似体；

Ｙが２８．．４３の数からなる群から選択される、前記実施形態のアミロイドβペプチド類似体；

天然Ａβペプチドまたはその一部が、配列番号１－３６８からなる群から選択される配列を有する、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；

６個の連続アミノ酸残基が配列ＶＧＳＮまたはＤＶＧＳＮＫを含む、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；

６個の連続アミノ酸残基が配列ＡＥＤを含む、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；

アミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列が配列$X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}X_{23}$－ＶＧＳＮ－$X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}$を含み、$X_{19}$、$X_{20}$、$X_{21}$、$X_{22}$、$X_{23}$、$X_{28}$、$X_{29}$、$X_{30}$、$X_{31}$、$X_{32}$がそれぞれ独立に、他のアミノ酸と共有結合できるアミノ酸を表す、前記実施形態のいずれか１つに記載のアミロイドβペプチド類似体；

アミノ酸配列$X_{19}X_{20}X_{21}$と$X_{30}X_{31}X_{32}$とが逆平行配向にある、前記実施形態のアミロイドβペプチド類似体；

X_{19}が、フェニルアラニン、チロシン、バリン、ロイシン、イソロイシンおよびメチオニンからなる群から選択されるアミノ酸残基である、前記実施形態のアミロイドβペプチド類似体；

X_{20}が、フェニルアラニン、チロシン、バリン、ロイシン、イソロイシンおよびメチオニンからなる群から選択されるアミノ酸残基である、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；

X_{21}が、アラニン、バリン、グリシンおよびセリンからなる群から選択されるアミノ酸残基である、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；

X_{22}が、グルタミン酸およびアスパラギン酸からなる群から選択されるアミノ酸残基である、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；

X_{23}が、グルタミン酸およびアスパラギン酸からなる群から選択されるアミノ酸残基である、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；

X_{28}が、リジンおよびアルギニンからなる群から選択されるアミノ酸残基である、前記

実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；
X_{29}が、グリシン、アラニンおよびセリンからなる群から選択されるアミノ酸残基である、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；
X_{30}が、アラニン、バリン、グリシンおよびセリンからなる群から選択されるアミノ酸残基である、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；
X_{31}が、イソロイシン、ロイシン、バリン、フェニルアラニンおよびメチオニンからなる群から選択されるアミノ酸残基である、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；
X_{32}が、イソロイシン、ロイシン、バリン、フェニルアラニンおよびメチオニンからなる群から選択されるアミノ酸残基である、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；
アミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列が配列$F_{19}X_{20}A_{21}－Q－A_{30}I_{31}I_{32}$を含み、$X_{20}$がアミノ酸を表し、Ｑが配列ＶＧＳＮを含むアミノ酸配列である、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；
アミノ酸配列Ｑの少なくとも一部がループを形成している、前記実施形態のアミロイドβペプチド類似体；
アミノ酸配列Ｑが５、６、７または８個のアミノ酸残基からなる、前記実施形態のアミロイドβペプチド類似体；
アミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列が配列$F_{19}X_{20}A_{21}X_{22}D_{23}V_{24}G_{25}S_{26}N_{27}K_{28}X_{29}A_{30}I_{31}I_{32}$を含み、$X_{20}$、$X_{22}$、$X_{29}$がそれぞれ独立にアミノ酸残基を表す、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；
アミノ酸配列$F_{19}X_{20}A_{21}$および$A_{30}I_{31}I_{32}$が逆平行配向にある、前記実施形態のアミロイドβペプチド類似体；
F_{19}（ＮＨ）－I_{32}（ＮＨ）、F_{19}（ＮＨ）－I_{32}（ＨＢ）、F_{19}（ＮＨ）－I_{32}（ＣＧ２）、A_{21}（ＮＨ）－A_{30}（ＮＨ）、A_{21}（ＮＨ）－A_{30}（ＣＢ）、A_{21}（ＮＨ）－I_{31}（ＣＤ１）、A_{21}（ＮＨ）－I_{31}（ＣＧ２）、I_{32}（ＮＨ）－F_{19}（ＣＤ１）、I_{32}（ＮＨ）－F_{19}（ＣＤ２）、I_{32}（ＨＮ）－F_{19}（ＣＢ）およびA_{30}（ＮＨ）－A_{21}（ＣＢ）からなる群から選択される少なくとも１つの原子対についてのプロトン間距離が１．８から６．５オングストロームである、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；
原子対F_{19}（ＣＯ）－I_{32}（Ｎ）、I_{32}（ＣＯ）－F_{19}（Ｎ）、A_{21}（ＣＯ）－A_{30}（Ｎ）およびA_{30}（ＣＯ）－A_{21}（Ｎ）が３．３±０．５Åの距離にあり、式中ＣＯが主鎖酸素原子を示し、残基のファイ（φ）角が－１８０から－３０の範囲であり、残基のプサイ（ψ）角がおよそ６０から１８０またはおよそ－１８０から－１５０の範囲である、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；
アミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列が配列番号１－３６８からなる群から選択される配列を含み、前記配列の少なくとも２個のアミノ酸残基が、配列内共有結合を形成するように修飾されている、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；
アミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列が配列番号３６９－６９８からなる群から選択される配列であり、
X_{12}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{13}が、ヒスチジン、チロシン、セリン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{14}が、ヒスチジン、チロシン、セリン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{15}が、グルタミン、アスパラギン、メチオニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{16}が、リジン、アルギニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ

酸残基であり、
X_{17}が、ロイシン、イソロイシン、バリン、フェニルアラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{18}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{19}が、フェニルアラニン、チロシン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{20}が、フェニルアラニン、チロシン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{21}が、アラニン、バリン、グリシン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{22}が、グルタミン酸、アスパラギン酸または配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{29}が、グリシン、アラニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{30}が、アラニン、バリン、グリシン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{31}が、イソロイシン、ロイシン、バリン、フェニルアラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{32}が、イソロイシン、ロイシン、バリン、フェニルアラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{33}が、グリシン、アラニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{34}が、ロイシン、イソロイシン、バリン、フェニルアラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{35}が、メチオニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{36}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{37}が、グリシン、アラニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{38}が、グリシン、アラニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{39}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{12}、X_{13}、X_{14}、X_{15}、X_{16}、X_{17}、X_{18}、X_{19}、X_{20}、X_{21}およびX_{22}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{29}、X_{30}、X_{31}、X_{32}、X_{33}、X_{34}、X_{35}、X_{36}、X_{37}、X_{38}、X_{39}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；
X_{12}、X_{13}、X_{14}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{37}、X_{38}、X_{39}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している、前記実施形態のアミロイドβペプチド類似体、X_{13}、X_{14}、X_{15}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{36}、X_{37}、X_{38}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している、前記実施形態のアミロイドβペプチド類似体、X_{14}、X_{15}、X_{16}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{35}、X_{36}、X_{37}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している、前記実施形態のアミロイドβペプチド類似体、X_{15}、X_{16}、X_{17}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{34}、X_{35}、X_{36}からなる群から選択される少なくとも１個のア

ミノ酸残基とが相互に共有結合している、前記実施形態のアミロイドβペプチド類似体、X_{16}、X_{17}、X_{18}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{33}、X_{34}、X_{35}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している、前記実施形態のアミロイドβペプチド類似体、X_{17}、X_{18}、X_{19}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{32}、X_{33}、X_{34}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している、前記実施形態のアミロイドβペプチド類似体、X_{18}、X_{19}、X_{20}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{31}、X_{32}、X_{33}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している、前記実施形態のアミロイドβペプチド類似体、X_{19}、X_{20}、X_{21}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{30}、X_{31}、X_{32}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している、前記実施形態のアミロイドβペプチド類似体、X_{20}、X_{21}およびX_{22}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{29}、X_{30}、X_{31}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している、またはアミノ酸残基X_{12}とX_{39}とが、X_{13}とX_{38}とが、X_{14}とX_{37}とが、X_{15}とX_{36}とが、X_{16}とX_{35}とが、X_{17}とX_{34}とが、X_{18}とX_{33}とが、X_{19}とX_{32}とが、X_{20}とX_{31}とが、X_{21}とX_{30}とがまたはX_{22}とX_{29}とが相互に共有結合している、前記実施形態のアミロイドβペプチド類似体；

アミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列が配列$X_{20}A_{21}E_{22}D_{23}-X_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}$を含み、$X_{20}$、$X_{24}$、$X_{25}$、$X_{26}$、$X_{27}$、$X_{28}$、$X_{29}$、$X_{30}$、$X_{31}$がそれぞれ独立に、他のアミノ酸に共有結合できるアミノ酸を表す、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；

アミノ酸配列$X_{20}X_{21}X_{22}X_{23}$と$X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}$とが逆平行配向にある、前記実施形態のアミロイドβペプチド類似体；

X_{20}が、フェニルアラニン、チロシン、バリン、ロイシン、イソロイシンおよびメチオニンからなる群から選択されるアミノ酸残基である、前記実施形態のアミロイドβペプチド類似体；

X_{24}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニンおよびメチオニンからなる群から選択されるアミノ酸残基である、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；

X_{25}が、グリシン、アラニンおよびセリンからなる群から選択されるアミノ酸残基である、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；

X_{26}が、セリン、グリシン、アラニンおよびスレオニンからなる群から選択されるアミノ酸残基である、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；

X_{27}が、アスパラギン、グルタミンおよびメチオニンからなる群から選択されるアミノ酸残基である、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；

X_{28}が、リジンおよびアルギニンからなる群から選択されるアミノ酸残基である、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；

X_{29}が、グリシン、アラニンおよびセリンからなる群から選択されるアミノ酸残基である、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；

X_{30}が、アラニン、バリン、グリシンおよびセリンからなる群から選択されるアミノ酸残基である、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；

X_{31}が、イソロイシン、ロイシン、バリン、フェニルアラニンおよびメチオニンからなる群から選択されるアミノ酸残基である、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；

アミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列が配列$X_{20}-Q-X_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}A_{30}I_{31}$を含み、$X_{20}$、$X_{24}$、$X_{25}$、$X_{26}$、$X_{27}$、$X_{28}$、$X_{29}$がそれぞれ独立にアミノ酸を表し、Ｑが配列ＡＥＤを含むアミノ酸配列である前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；

アミノ酸配列$X_{24}X_{25}X_{26}X_{27}$の少なくとも一部がループを形成している、前記実施形態のアミロイドβペプチド類似体；
アミノ酸配列Qが３、４、５または６個のアミノ酸残基からなる、前記実施形態のアミロイドβペプチド類似体；
アミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列が配列$X_{20}A_{21}E_{22}D_{23}X_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}A_{30}I_{31}$を含み、$X_{20}$、$X_{24}$、$X_{25}$、$X_{26}$、$X_{27}$、$X_{28}$、$X_{29}$がそれぞれ独立にアミノ酸残基を表す、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；
アミノ酸配列$X_{20}A_{21}E_{22}D_{23}$と$X_{28}X_{29}A_{30}I_{31}$とが逆平行配向にある、前記実施形態のアミロイドβペプチド類似体；
A_{21}（ＮＨ）－A_{30}（ＮＨ）、A_{21}（ＮＨ）－A_{30}（ＣＢ）、A_{21}（ＮＨ）－I_{31}（ＣＤ１）、A_{21}（ＮＨ）－I_{31}（ＣＧ２）およびA_{30}（ＮＨ）－A_{21}（ＣＢ）からなる群から選択される少なくとも１つの原子対についてのプロトン間距離が１．８から６．５オングストロームである、前記実施形態のアミロイドβペプチド類似体；
原子対A_{21}（ＣＯ）－A_{30}（Ｎ）およびA_{30}（ＣＯ）－A_{21}（Ｎ）が３．３±０．５Åの距離にあり、式中ＣＯが主鎖酸素原子を示し、残基のファイ（φ）角が－１８０から－３０の範囲であり、残基のプサイ（ψ）角がおよそ６０から１８０またはおよそ－１８０から－１５０の範囲である、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；
アミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列が配列番号６９９－９６０からなる群から選択される配列であり、
X_{12}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{13}が、ヒスチジン、チロシン、セリン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{14}が、ヒスチジン、チロシン、セリン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{15}が、グルタミン、アスパラギン、メチオニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸であり、
X_{16}が、リジン、アルギニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{17}が、ロイシン、イソロイシン、バリン、フェニルアラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{18}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{19}が、フェニルアラニン、チロシン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{20}が、フェニルアラニン、チロシン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{24}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{25}が、グリシン、アラニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{26}が、セリン、グリシン、アラニン、スレオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{27}が、アスパラギン、グルタミン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{28}が、リジン、アルギニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{29}が、グリシン、アラニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合してい

るアミノ酸残基であり、
X_{30}が、アラニン、バリン、グリシン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{31}が、イソロイシン、ロイシン、バリン、フェニルアラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{32}が、イソロイシン、ロイシン、バリン、フェニルアラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{33}が、グリシン、アラニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{34}が、ロイシン、イソロイシン、バリン、フェニルアラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{35}が、メチオニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{36}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{37}が、グリシン、アラニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{38}が、グリシン、アラニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{39}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{12}、X_{13}、X_{14}、X_{15}、X_{16}、X_{17}、X_{18}、X_{19}、X_{20}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{29}、X_{30}、X_{31}、X_{32}、X_{33}、X_{34}、X_{35}、X_{36}、X_{37}、X_{38}、X_{39}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；
X_{12}、X_{13}、X_{14}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{37}、X_{38}、X_{39}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合しており、X_{13}、X_{14}、X_{15}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{36}、X_{37}、X_{38}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合しており、X_{14}、X_{15}、X_{16}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{35}、X_{36}、X_{37}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合しており、X_{15}、X_{16}、X_{17}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{34}、X_{35}、X_{36}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合しており、X_{16}、X_{17}、X_{18}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{33}、X_{34}、X_{35}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合しており、X_{17}、X_{18}、X_{19}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{32}、X_{33}、X_{34}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合しており、X_{18}、X_{19}、X_{20}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{31}、X_{32}、X_{33}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合しており、X_{19}、X_{20}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{30}、X_{31}、X_{32}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合しており、アミノ酸残基X_{20}とX_{29}、X_{30}、X_{31}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している、またはアミノ酸残基X_{12}とX_{39}とが、X_{13}とX_{38}とが、X_{14}とX_{37}とが、X_{15}とX_{36}とが、X_{16}とX_{35}とが、X_{17}とX_{34}とが、X_{18}とX_{33}とが、X_{19}とX_{32}とが、またはX_{20}とX_{31}とが相互に共有結合している、前記実施形態のアミロイドβペプチド類似体；
アミノ酸残基がその側鎖を介して共有結合している、前記実施形態のいずれか１つのアミ

ロイドβペプチド類似体；
アミノ酸残基の側鎖が、チオール基、アミノ基、カルボキシル基および水酸基からなる群から独立に選択される官能基を有する、前記実施形態のアミロイドβペプチド類似体；
他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基が、システイン、リジン、アスパラギン酸およびグルタミン酸からなる群から選択されるアミノ酸残基である、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；
システインとシステインとの、システインとリジンとの、アスパラギン酸もしくはグルタミン酸とリジンとの、またはリジンとリジンとの側鎖が相互に共有結合している、前記実施形態のアミロイドβペプチド類似体；
側鎖が直接共有結合を介して共有結合している、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；
側鎖がリンカーを介して共有結合している、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；
リンカーがホモ二官能性またはヘテロ二官能性リンカーである、前記実施形態のアミロイドβペプチド類似体；
リンカーが光反応性リンカーである、前記実施形態のアミロイドβペプチド類似体；
共有結合がジスルフィド結合を含む、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；
共有結合がアミド結合を含む、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体；
アミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列が、２個の非連続アミノ酸残基間の１つの共有結合を含む、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体
を含む。

【００２２】

第３の態様によれば、本発明は、複数の前記アミロイドβペプチド類似体を含むオリゴマーに関する。

【００２３】

オリゴマーの詳細な実施形態は、
複数が、２から２８個のアミロイドβペプチド類似体であるオリゴマー；
各アミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列が、１つのアミロイドβペプチド類似体の配列$L^{A}_{34}M^{A}_{35}V^{A}_{36}G^{A}_{37}G^{A}_{38}$が他のアミロイドβペプチド類似体の配列$L^{B}_{34}M^{B}_{35}V^{B}_{36}G^{B}_{37}G^{B}_{38}$と平行配向にある配列$L_{34}M_{35}V_{36}G_{37}G_{38}$を含む、前記実施形態のオリゴマー；
M^{A}_{35}（ＮＨ）－V^{B}_{36}（ＮＨ）、G^{A}_{37}（ＮＨ）－G^{B}_{38}（ＮＨ）、L^{A}_{34}（ＮＨ）－L^{B}_{34}（$C_{\delta}H_{3}$）、M^{A}_{35}（ＮＨ）－V^{B}_{36}（$C_{\gamma}H_{3}$）からなる群から選択される少なくとも１つの原子対についてのプロトン間距離が１．８から６．５オングストロームである、前記実施形態のオリゴマー；
各アミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列が、１つのアミロイドβペプチド類似体の配列$G^{A}_{33}L^{A}_{34}M^{A}_{35}V^{A}_{36}G^{A}_{37}G^{A}_{38}V^{A}_{39}$が他のアミロイドβペプチド類似体の配列$G^{B}_{33}L^{B}_{34}M^{B}_{35}V^{B}_{36}G^{B}_{37}G^{B}_{38}V^{B}_{39}$と平行配向にある配列$G_{33}L_{34}M_{35}V_{36}G_{37}G_{38}V_{39}$を含む、前記実施形態のいずれか１つのオリゴマー；
G^{A}_{33}（ＮＨ）－G^{B}_{34}（ＮＨ）、M^{A}_{35}（ＮＨ）－V^{B}_{36}（ＮＨ）、G^{A}_{37}（ＮＨ）－G^{B}_{38}（ＮＨ）、L^{A}_{34}（ＮＨ）－L^{B}_{34}（$C_{\delta}H_{3}$）、M^{A}_{35}（ＮＨ）－V^{B}_{36}（$C_{\gamma}H_{3}$）、G^{A}_{38}（ＮＨ）－V^{B}_{39}（$C_{\gamma}H_{3}$）およびV^{A}_{39}（ＮＨ）－V^{B}_{39}（$C_{\gamma}H_{3}$）からなる群から選択される少なくとも１つの原子対についてのプロトン間距離が１．８から６．５オングストロームである、前記実施形態のオリゴマー；
分子間平行βシートを含む、前記実施形態のいずれか１つのオリゴマー；
βシートが、あるアミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列$G^{A}_{33}L^{A}_{34}M^{A}_{35}$

$V^{A}{}_{36}G^{A}{}_{37}G^{A}{}_{38}V^{A}{}_{39}$および別のアミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列$G^{A}{}_{33}L^{A}{}_{34}M^{A}{}_{35}V^{A}{}_{36}G^{A}{}_{37}G^{A}{}_{38}V^{A}{}_{39}$を含む、前記実施形態のオリゴマー；
原子対G^{A}３３（ＣＯ）－L^{B}３４（Ｎ）、L^{B}３４（ＣＯ）－M^{A}３５（Ｎ）、M^{A}３５（ＣＯ）－V^{B}３６（Ｎ）、V^{B}３６（ＣＯ）－G^{A}３７（Ｎ）およびG^{B}３７（ＣＯ）－G^{A}３８（Ｎ）が３．３±０．５Åの距離にあり、式中ＣＯが主鎖酸素原子を示し、残基のファイ（φ）角が－１８０から－３０の範囲であり、残基のプサイ（ψ）角がおよそ６０から１８０またはおよそ－１８０から－１５０の範囲である、前記実施形態のオリゴマー
を含む。

【００２４】
さらなる詳細な実施形態は、Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎにより寄託番号ＰＴＡ－７２４１と指定された融合細胞から得られるモノクローナル抗体５Ｆ７、Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎにより寄託番号ＰＴＡ－７２４０と指定された融合細胞から得られるモノクローナル抗体７Ｃ６、Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎにより寄託番号ＰＴＡ－７４０５と指定された融合細胞から得られるモノクローナル抗体４Ｄ１０またはＡｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎにより寄託番号ＰＴＡ－７８０９と指定された融合細胞から得られるモノクローナル抗体７Ｅ５からなる群から選択されるモノクローナル抗体によって認識される抗原決定基を含む、前記実施形態のいずれか１つのアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーを含む。

【００２５】
本発明は、
（ｉ）ペプチドまたはこのペプチド模倣物を提供するステップ、
（ｉｉ）ペプチドまたはペプチド模倣物を結合の形成に十分な条件に供するステップ
を含む、本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体を調製するためのプロセスにも関する。

【００２６】
本発明は、
（ｉ）ペプチドまたはこのペプチド模倣物を提供するステップ、
（ｉｉ）ペプチドまたはペプチド模倣物をオリゴマーおよび結合の形成に十分な条件に供するステップ
を含む、本明細書において定義のオリゴマーを調製するためのプロセスにも関する。

【００２７】
プロセスの詳細な実施形態は、オリゴマー形成がその結合形成に先行するプロセスを含む。

【００２８】
さらに本発明は、本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーを含む組成物に関する。

【００２９】
プロセスの詳細な実施形態は、ワクチンであり、薬学的に許容される担体をさらに含む組成物を含む。

【００３０】
本発明は、アミロイドーシスを治療または予防するための医薬組成物を調製するための本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーの使用に関し、それに対応する本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーを対象に投与することを含む、それを必要とする対象においてアミロイドーシスを治療するまたは予防する方法にも関する。

【００３１】
使用および方法の詳細な実施形態は、

医薬組成物が能動免疫法用である使用および方法；
アミロイドーシスがアルツハイマー病であるまたはアミロイドーシスがダウン症候群のアミロイドーシスである、前記実施形態の使用および方法
を含む。
【００３２】
本発明は、アミロイドーシスを診断するための組成物を調製するための本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーの使用に関し、それに対応するアミロイドーシスを有すると疑われる対象由来試料を提供するステップ、試料を本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーにアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーおよび抗体を含む複合体の形成に十分な時間および条件下で接触させるステップを含む、アミロイドーシスを診断する方法（複合体の存在は対象がアミロイドーシスを有することを示す。）にも関する。
【００３３】
使用および方法の詳細な実施形態は、アミロイドーシスがアルツハイマー病であるまたはアミロイドーシスがダウン症候群のアミロイドーシスである使用および方法を含む。
【００３４】
さらに本発明は、本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質を前記作用物質を含む製剤中で濃縮する方法に関し、この方法は、ａ）アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーを作用物質を含む製剤に、作用物質がアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合するための十分な時間および条件下でさらすステップならびにｂ）作用物質を濃縮された形態で得るステップを含む。
【００３５】
使用および方法の詳細な実施形態は、作用物質が抗体、アプタマーまたは低分子化合物である使用および方法を含む。
【００３６】
本発明はまた、
ｉ）アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーを含む抗原を提供するステップ、
ｉｉ）抗体レパートリーを前記抗原にさらすステップおよび
ｉｉｉ）前記レパートリーからアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合する抗体を選択するステップ
を含む、アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質を提供するための本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーの使用に関し、それに対応する方法、例えば本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる抗体を提供する方法に関する。
【００３７】
使用および方法の詳細な実施形態は、作用物質が抗体、非抗体結合分子、アプタマーまたは低分子化合物である使用および方法を含む。
【００３８】
前記プロセスによって得られる抗体も、本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質と同様に記載される。
【００３９】
さらに本発明は、本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質を含む組成物；アミロイドーシスを治療または予防するための医薬組成物を調製するための本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質の使用およびそれに対応する本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質を対象に投与するステップを含む、それを必要とする対象においてアミロイドーシスを治療または予防する方法；アミロイドーシスを診断するための組成物を調製するための本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質の使用およびそれに対応するアミロイドーシスを有すると疑われる対象由来の試料を提供するステップ、試料を本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合で

きる作用物質に、作用物質および抗原を含む複合体の形成に十分な時間および条件下で接触させるステップを含むアミロイドーシスを診断する方法（複合体の存在は対象がアミロイドーシスを有することを示す。）を記載する。

【図面の簡単な説明】

【００４０】

【図１－１】Ａは３次元フォールドを明らかにするために使用した残基間ＮＯＥ’ｓを示すＡβ前球状体のＮＭＲ由来構造の略図であり、破線は観察されたＮＯＥｓを示し、丸はＮＨ／ＮＤ交換実験において低い交換を示す骨格アミドを表す。ＢはＳＤＳ中のＡβ前球状体のＮＭＲ由来の構造を表すリボン図であり、明確な構造を有する残基を太字で強調している。

【図１－２】ＣはＬｅｕからＣｙｓへの変異を示す、ＮＭＲでのＡβ前球状体構造で観察された一単量体の略図である。ＤはＬｅｕからＣｙｓへの変異およびそれにより生じたジスルフィド結合構造を表すＮＭＲでのＡβ前球状体構造で観察された一単量体の略図である。

【図２－１】ＡはＳ＃６０４６：ｗｔ　Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）ペプチド、Ｍｕｔ　Ｐｒｅ：０．２％ＳＤＳ中の（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）変異ペプチド、Ｍｕｔ　Ｐｏｓｔ：０．０５％ＳＤＳ中の（Ｌ１７Ｃ、Ｌ３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）変異ペプチドで作製した球状体から形成された典型的Ａβ球状体バンドパターンでのＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルの図である。標準物質（レーン１およびレーン５）は、ミオシン（２１０ｋＤａ）、ホスホリラーゼ（９８ｋＤａ）、ＢＳＡ（７８ｋＤａ）、グルタミン酸脱水素酵素（５５ｋＤａ）、アルコール脱水素酵素（４５ｋＤａ）、炭酸脱水酵素（３４ｋＤａ）、ミオグロビン赤（１７ｋＤａ）、リゾチーム（１６ｋＤａ）、アプロチニン（７ｋＤａ）およびインスリン（４ｋＤａ）である。バンドパターンの性状は、約４０－５０ｋＤａのバンドクラスター、約１５ｋＤａのバンドクラスターおよび約５ｋＤａのバンド（単量体）である。

【図２－２】Ｂは１）マーカータンパク質、２）（１４Ｃ、３７Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、３）サーモリシン消化後の（１４Ｃ、３７Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、４）（１５Ｃ、３６Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、５）サーモリシン消化後の（１５Ｃ、３６Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、６）（１６Ｃ、３５Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、７）サーモリシン消化後の（１６Ｃ、３５Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、８）（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、９）サーモリシン消化後の（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、１０）（１８Ｃ、３３Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、１１）サーモリシン消化後の（１８Ｃ、３３Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、のＳＤＳ－ＰＡＧＥの図である。標準物質（マーカータンパク質）は、ミオシン（２１０ｋＤａ）、ホスホリラーゼ（９８ｋＤａ）、ＢＳＡ（７８ｋＤａ）、グルタミン酸脱水素酵素（５５ｋＤａ）、アルコール脱水素酵素（４５ｋＤａ）、炭酸脱水酵素（３４ｋＤａ）、ミオグロビン赤（１７ｋＤａ）、リゾチーム（１６ｋＤａ）、アプロチニン（７ｋＤａ）およびインスリン（４ｋＤａ）である。バンドパターンの性状は、約４０－５０ｋＤａのバンドクラスター、約１５ｋＤａのバンドクラスターおよび約５ｋＤａのバンド（単量体）である。Ｃは１）マーカータンパク質、２）（１９Ｃ、３２Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、３）サーモリシン消化後の（１９Ｃ、３２Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、４）（２０Ｃ、３１Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、５）サーモリシン消化後の（２０Ｃ、３１Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、６）（２１Ｃ、３０Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、７）サーモリシン消化後の（２１Ｃ、３０Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、８）（２２Ｃ、２９Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、９）サーモリシン消化後の（２２Ｃ、２９Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、１０）Ａβ（１－４２）球状体、１１）サーモリシン消化後のＡβ（１－４２）球状体、のＳＤＳ－ＰＡＧＥの図である。標準物質（マーカータンパク質

）は、ミオシン（２１０ｋＤａ）、ホスホリラーゼ（９８ｋＤａ）、ＢＳＡ（７８ｋＤａ）、グルタミン酸脱水素酵素（５５ｋＤａ）、アルコール脱水素酵素（４５ｋＤａ）、炭酸脱水酵素（３４ｋＤａ）、ミオグロビン赤（１７ｋＤａ）、リゾチーム（１６ｋＤａ）、アプロチニン（７ｋＤａ）およびインスリン（４ｋＤａ）である。バンドパターンの性状は、約４０－５０ｋＤａのバンドクラスター、約１５ｋＤａのバンドクラスターおよび約５ｋＤａのバンド（単量体）である。

【図２－３】Ｄは１）（１７Ｋ、３４Ｅ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（０．２％ＳＤＳ）、２）（１７Ｋ、３４Ｅ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（０．０５％ＳＤＳ）、３）（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ））Ａβ（１６－３５）オリゴマー（０．２％ＳＤＳ）、４）（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ））Ａβ（１６－３５）オリゴマー（０．０５％ＳＤＳ）、５）（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（０．２％ＳＤＳ）、６）（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（０．０５％ＳＤＳ）、７）（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－４２）オリゴマー（０．２％ＳＤＳ）、８）（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－４２）オリゴマー（０．０５％ＳＤＳ）、９）（１７ＫＣ、３４Ｃ）Ａβ（１３－４２）オリゴマー（０．２％ＳＤＳ）、１０）（１７ＫＣ、３４Ｃ）Ａβ（１３－４２）オリゴマー（０．０５％ＳＤＳ）、１１）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのＳＤＳ－ＰＡＧＥの図である。バンドパターンの性状は、約４０－５０ｋＤａのバンドクラスター、約１５ｋＤａのバンドクラスターおよび約５ｋＤａのバンド（単量体）である。

【図３－１】ＡはＮ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）球状体および（Ｌ１７Ｃ、Ｌ３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）変異体球状体の球状体特異的モノクローナル抗体５Ｆ７への直接Ｅｌｉｓａ応答の比較を示すグラフである。Ｂは球状体特異的ｍＡｂ　５Ｆ７の見かけの結合親和性をジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）変異体球状体対、サーモリシンでの酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じ変異体球状体で比較する直接ＥＬＩＳＡ結果の比較を示すグラフである。

【図３－２】Ｃは球状体特異的ｍＡｂ　７Ｃ６の見かけの結合親和性をジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）変異体球状体対、サーモリシンでの酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じ変異体球状体で比較する直接ＥＬＩＳＡ結果の比較を示すグラフである。Ｄは球状体特異的ウサギポリクローナル抗血清５５９９の見かけの結合親和性をジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）変異体球状体対、サーモリシンでの酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じ変異体球状体で比較する直接ＥＬＩＳＡ結果の比較を示すグラフである。

【図３－３】Ｅは球状体特異的ｍＡｂ　５Ｆ７の見かけの結合親和性をジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマー対、サーモリシンでの酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーで比較する直接ＥＬＩＳＡ結果の比較を示すグラフである。Ｆは球状体特異的ｍＡｂ　７Ｃ６の見かけの結合親和性をジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマー対、サーモリシンでの酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーで比較する直接ＥＬＩＳＡ結果の比較を示すグラフである。

【図３－４】Ｇは球状体特異的ウサギポリクローナル抗血清５５９９の見かけの結合親和性をジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマー対、サーモリシンでの酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーで比較する直接ＥＬＩＳＡ結果の比較を示すグラフである。Ｈは球状体特異的ｍＡｂ　５Ｆ７の見かけの結合親和性をＡβ（１６－３５）オリゴマー対、サーモリシンでの酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーで比較する直接ＥＬＩＳＡ結果の比較を示すグラフである。

【図３－５】Ｉは球状体特異的ｍＡｂ　７Ｃ６の見かけの結合親和性をＡβ（１６－３５）オリゴマー対、サーモリシンでの酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーで比較する直接ＥＬＩＳＡ結果の比較を示すグラフである。

【図３－６】Ｊは球状体特異的ウサギポリクローナル抗血清５５９９の見かけの結合親和

性をＡβ（１６－３５）オリゴマー対、サーモリシンでの酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーで比較する直接ＥＬＩＳＡ結果の比較を示すグラフである。Ｋは球状体特異的ｍＡｂ　５Ｆ７の見かけの結合親和性を（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ））Ａβ（１６－３５）オリゴマー対、サーモリシンでの酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーで比較する直接ＥＬＩＳＡ結果の比較を示すグラフである。

【図３－７】Ｌは球状体特異的ｍＡｂ　７Ｃ６の見かけの結合親和性を（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ））Ａβ（１６－３５）オリゴマー対、サーモリシンでの酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーで比較する直接ＥＬＩＳＡ結果の比較を示すグラフである。Ｍは球状体特異的ウサギポリクローナル抗血清５５９９の見かけの結合親和性を（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ））Ａβ（１６－３５）オリゴマー対、サーモリシンでの酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーで比較する直接ＥＬＩＳＡ結果の比較を示すグラフである。

【図３－８】Ｎは球状体特異的ｍＡｂ　５Ｆ７の見かけの結合親和性をジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマー（オリゴマー形成の前に環化された。）対、サーモリシンでの酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーで比較する直接ＥＬＩＳＡ結果の比較を示すグラフである。Ｏは球状体特異的ｍＡｂ　７Ｃ６の見かけの結合親和性をジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマー（オリゴマー形成の前に環化された。）対、サーモリシンでの酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーで比較する直接ＥＬＩＳＡ結果の比較を示すグラフである。

【図３－９】Ｐは球状体特異的ウサギポリクローナル抗血清５５９９の見かけの結合親和性をジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマー（オリゴマー形成の前に環化された。）対、サーモリシンでの酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーで比較する直接ＥＬＩＳＡ結果の比較を示すグラフである。Ｑは球状体特異的ｍＡｂ　５Ｆ７の見かけの結合親和性をジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマー（オリゴマー形成の前に環化された。）対、ジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－４２）、（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）および（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（全てオリゴマー形成の後に環化された。）で比較する直接ＥＬＩＳＡ結果の比較を示すグラフである。

【図３－１０】Ｒは球状体特異的ｍＡｂ　５Ｆ７の見かけの結合親和性をサーモリシン切断ジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマー（オリゴマー形成の前に環化された。）対、サーモリシン切断ジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－４２）、（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）および（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（全てオリゴマー形成の後に環化された。）で比較する直接ＥＬＩＳＡ結果の比較を示すグラフである。Ｓは球状体特異的ｍＡｂ　５Ｆ７の見かけの結合親和性をジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－４２）オリゴマー対、サーモリシンでの酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーで比較する直接ＥＬＩＳＡ結果の比較を示すグラフである。

【図３－１１】Ｔは球状体特異的ｍＡｂ　７Ｃ６の見かけの結合親和性をジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－４２）オリゴマー対、サーモリシンでの酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーで比較する直接ＥＬＩＳＡ結果の比較を示すグラフである。Ｕは球状体特異的ウサギポリクローナル抗血清５５９９の見かけの結合親和性をジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－４２）オリゴマー対、サーモリシンでの酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーで比較する直接ＥＬＩＳＡ結果の比較を示すグラフである。

【図３－１２】Ｖは球状体特異的ｍＡｂ　５Ｆ７の見かけの結合親和性をジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１２－４２）オリゴマー対、サーモリシンでの酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーで比較する直接ＥＬＩＳＡ結果の比較を示すグラフである。Ｗは球状体特異的ｍＡｂ　７Ｃ６の見かけの結合親和性をジスル

フィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１２－４２）オリゴマー対、サーモリシンでの酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーで比較する直接ＥＬＩＳＡ結果の比較を示すグラフである。

【図３－１３】Ｘは球状体特異的ウサギポリクローナル抗血清５５９９の見かけの結合親和性をジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１２－４２）オリゴマー対、サーモリシンでの酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーで比較する直接ＥＬＩＳＡ結果の比較を示すグラフである。Ｙはジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）（Ｋ挿入）Ａβ（１３－４２）オリゴマーへの球状体特異的ｍＡｂ　５Ｆ７の見かけの結合親和性を比較する直接ＥＬＩＳＡ結果を示すグラフである。

【図３－１４】Ｚはジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）（Ｋ挿入）Ａβ（１３－４２）オリゴマーへの球状体特異的ｍＡｂ　７Ｃ６の見かけの結合親和性を比較する直接ＥＬＩＳＡ結果を示すグラフである。ＡＡはジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）（Ｋ挿入）Ａβ（１３－４２）オリゴマーへの球状体特異的ウサギポリクローナル抗血清５５９９の見かけの結合親和性を比較する直接ＥＬＩＳＡ結果を示すグラフである。

【図４－１】（Ｌ１７Ｃ、Ｌ３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）変異体ペプチドと（Ａ）ジスルフィド結合形成条件下および（Ｂ）ＤＴＴでの還元後に形成したＡβ球状体から得た質量スペクトルを示すグラフであり；完全な同位体デコンボリューションが示されている。

【図４－２】（Ｌ１７Ｃ、Ｌ３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）変異体ペプチドと（Ａ）ジスルフィド結合形成条件下および（Ｂ）ＤＴＴでの還元後に形成したＡβ球状体から得た質量スペクトルを示すグラフであり；完全な同位体デコンボリューションが示されている。

【図４－３】（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマーから（Ｃ）ジスルフィド結合形成条件下および（Ｄ）ＤＴＴでの還元後に得た質量スペクトルを示すグラフであり；完全な同位体デコンボリューションが示されている。

【図４－４】（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマーから（Ｃ）ジスルフィド結合形成条件下および（Ｄ）ＤＴＴでの還元後に得た質量スペクトルを示すグラフであり；完全な同位体デコンボリューションが示されている。

【図４－５】（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－４２）オリゴマーから（Ｅ）ジスルフィド結合形成条件下および（Ｆ）ＤＴＴでの還元後に得た質量スペクトルを示すグラフであり；完全な同位体デコンボリューションが示されている。

【図４－６】（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－４２）オリゴマーから（Ｅ）ジスルフィド結合形成条件下および（Ｆ）ＤＴＴでの還元後に得た質量スペクトルを示すグラフであり；完全な同位体デコンボリューションが示されている。

【図４－７】（１７Ｃ、４２Ｃ）Ａβ（１２－４２）オリゴマーから（Ｇ）ジスルフィド結合形成条件下および（Ｈ）ＤＴＴでの還元後に得た質量スペクトルを示すグラフであり；完全な同位体デコンボリューションが示されている。

【図４－８】（１７Ｃ、４２Ｃ）Ａβ（１２－４２）オリゴマーから（Ｇ）ジスルフィド結合形成条件下および（Ｈ）ＤＴＴでの還元後に得た質量スペクトルを示すグラフであり；完全な同位体デコンボリューションが示されている。

【図４－９】（１７ＫＣ、４２Ｃ）Ａβ（１３－４２）オリゴマーから（Ｉ）ジスルフィド結合形成条件下および（Ｊ）ＤＴＴでの還元後に得た質量スペクトルを示すグラフであり；完全な同位体デコンボリューションが示されている。

【図４－１０】（１７ＫＣ、４２Ｃ）Ａβ（１３－４２）オリゴマーから（Ｉ）ジスルフィド結合形成条件下および（Ｊ）ＤＴＴでの還元後に得た質量スペクトルを示すグラフであり；完全な同位体デコンボリューションが示されている。

【図５－１】ＡはＮ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）球状体（破線）およびジスルフィド安定化（Ｌ１７Ｃ、Ｌ３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）変異体球状体（実線）の５ｍＭ　$NaPO_4$、３５ｍＭ　ＮａＣｌ、ｐＨ７．４中での不均一性の沈降速度分析を示すグラフである。

【図５－２】ＢはＮ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）球状体（破線）およびサーモリシンでの酵素切断によって残基２０で切断したジスルフィド安定化（Ｌ１７Ｃ、Ｌ３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）変異体球状体（実線）の０．０５％ＳＤＳを含む５ｍＭ　$NaPO_4$、３５ｍＭ　ＮａＣｌ、ｐＨ７．４中での不均一性の沈降速度分析を示すグラフである。

【図５－３】Ｃはサーモリシンでの酵素切断によって残基２０で切断したジスルフィド安定化（Ｌ１７Ｃ、Ｌ３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）変異体球状体（実線）の５ｍＭ　$NaPO_4$、３５ｍＭ　ＮａＣｌ、ｐＨ７．４中での不均一性の沈降速度分析を示すグラフである。

【図６】ＳＥＬＤＩ－ＭＳで検出されたサーモリシン消化前後での（ｘＣ、ｙＣ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのペプチド質量を示す表である。

【図７】ＳＥＬＤＩ－ＭＳで検出されたヨードアセトアミド処理したサーモリシン切断（ｘＣ、ｙＣ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーまたはサーモリシン切断Ａβ（１－４２）球状体のペプチド質量ピークを示す表である。

【図８】Ａ）モノクローナル抗体７Ｃ６およびＢ）ウサギポリクローナル抗体５５９９での反応性のドットブロット分析を示す図であり、１．（１４Ｃ、３７Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー；２．サーモリシン切断（１４Ｃ、３７Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー；３．（１５Ｃ、３６Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー；４．サーモリシン切断（１５Ｃ、３６Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー；５．（１６Ｃ、３５Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー；６．サーモリシン切断（１６Ｃ、３５Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー；７．（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー；８．サーモリシン切断（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー；９．（１８Ｃ、３３Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー；１０．サーモリシン切断（１８Ｃ、３３Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー；１１．（１９Ｃ、３２Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー；１２．サーモリシン切断（１９Ｃ、３２Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー；１３．（２０Ｃ、３１Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー；１４．サーモリシン切断（２０Ｃ、３１Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー；１５．（２１Ｃ、３０Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー；１６．サーモリシン切断（２１Ｃ、３０Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー；１７．（２２Ｃ、２９Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー；１８．サーモリシン切断（２２Ｃ、２９Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー；１９．Ａβ（１－４２）球状体；２０．Ａβ（１－４２）サーモリシントランケート型球状体である。

【図９】ＳＥＬＤＩ－ＭＳで検出されたヨードアセトアミド処理したサーモリシン切断（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１６－３５）オリゴマーのペプチド質量ピークを示す表である。

【図１０】Ａはヨードアセトアミドアルキル前処理を行わない（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマーの免疫沈降量を示す表である。ＢはＤＴＴ存在下でのヨードアセトアミドアルキル化後の（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマーの免疫沈降量を示す表である。

【図１１－１】Ａはスルホ－ＳＭＣＣでの処置における（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）のＫ１６またはＫ１７のいずれかでの架橋結合の位置を示す模式図である。Ｂはスルホ－ＭＢＳでの処置における（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）のＫ１６またはＫ１７のいずれかでの架橋結合の位置を示す模式図である。

【図１１－２】Ｃはスルホ－ＳＩＡＢでの処置における（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）のＫ１６またはＫ１７のいずれかでの架橋結合の位置を示す模式図である。ＤはＥＤＡＣ／ＮＨＳでの処置における（１７Ｋ、３４Ｅ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）の潜在的架橋結合の位置を示す模式図である。

【図１２－１】Ａはヘテロ二官能性架橋試薬スルホ－ＳＭＣＣとの架橋反応後に（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）ペプチドで作製したオリゴマーの質量スペクト

ル（ＥＳＩ）を示すグラフである。矢印は、所望の架橋結合形成後に期待される質量を示す。
【図１２－２】Ｂはヘテロ二官能性架橋試薬スルホ－ＭＢＳとの架橋反応後に（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）ペプチドで作製した球状体の質量スペクトル（ＭＡＬＤＩ）を示すグラフである。矢印は、所望の架橋結合形成後に期待される質量を示す。
【図１２－３】Ｃはヘテロ二官能性架橋試薬スルホ－ＳＩＡＢとの架橋反応後に（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）ペプチドで作製した球状体の質量スペクトル（ＥＳＩ）を示すグラフである。矢印は、所望の架橋結合形成後に期待される質量を示す。
【図１２－４】Ｄはヘテロ二官能性架橋試薬ＥＤＣおよびＮＨＳとの架橋反応後に（１７Ｋ、３４Ｅ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）ペプチドで作製した球状体の質量スペクトル（ＭＡＬＤＩ）を示すグラフである。矢印は、所望の架橋結合形成後に期待される質量を示す。
【図１３－１】Ａは架橋結合していない（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーとジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーとでの球状体特異的モノクローナル抗体５Ｆ７への直接Ｅｌｉｓａ応答の比較を示すグラフである。Ｂは架橋結合していない（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーとジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーとでの球状体特異的モノクローナル抗体７Ｃ６への直接Ｅｌｉｓａ応答の比較を示すグラフである。
【図１３－２】Ｃは架橋結合していない（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーとジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーとでの球状体特異的ウサギポリクローナル抗血清５５９９への直接Ｅｌｉｓａ応答の比較を示すグラフである。
【図１４－１】Ａは架橋結合していない（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーと、ＳＭＣＣで架橋結合した（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシン切断の前後とでの球状体特異的モノクローナル抗体５Ｆ７への直接Ｅｌｉｓａ応答の比較を示すグラフである。Ｂは架橋結合していない（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーと、ＳＭＣＣで架橋結合した（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシン切断の前後とでの球状体特異的モノクローナル抗体７Ｃ６への直接Ｅｌｉｓａ応答の比較を示すグラフである。
【図１４－２】Ｃは架橋結合していない（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーと、ＳＭＣＣで架橋結合した（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシン切断の前後とでの球状体特異的ウサギポリクローナル抗血清５５９９への直接Ｅｌｉｓａ応答の比較を示すグラフである。
【図１５－１】Ａは架橋結合していない（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーと、ＭＢＳで架橋結合した（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシン切断の前後とでの球状体特異的モノクローナル抗体５Ｆ７への直接Ｅｌｉｓａ応答の比較を示すグラフである。Ｂは架橋結合していない（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーと、ＭＢＳで架橋結合した（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシン切断の前後とでの球状体特異的モノクローナル抗体７Ｃ６への直接Ｅｌｉｓａ応答の比較を示すグラフである。
【図１５－２】Ｃは架橋結合していない（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシン切断の前後とでのＭＢＳで架橋結合した（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーの球状体特異的ウサギポリクローナル抗血清５５９９への直接Ｅｌｉｓａ応答の比較を示すグラフである。
【図１６－１】Ａは架橋結合していない（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーと、ＳＩＡＢで架橋結合した（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシン切断の前後とでの球状体特異的モノクローナル抗体５Ｆ７

への直接Ｅｌｉｓａ応答の比較を示すグラフである。Ｂは架橋結合していない（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーと、ＳＩＡＢで架橋結合した（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシン切断の前後とでの球状体特異的モノクローナル抗体７Ｃ６への直接Ｅｌｉｓａ応答の比較を示すグラフである。

【図１６－２】Ｃは架橋結合していない（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーと、ＳＩＡＢで架橋結合した（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシン切断の前後とでの球状体特異的ウサギポリクローナル抗血清５５９９への直接Ｅｌｉｓａ応答の比較を示すグラフである。

【図１７－１】Ａは架橋結合していない（１７Ｃ、３４Ｅ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーと、ジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーとでの球状体特異的モノクローナル抗体５Ｆ７への直接Ｅｌｉｓａ応答の比較を示すグラフである。Ｂは架橋結合していない（１７Ｃ、３４Ｅ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーと、ジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーとでの球状体特異的モノクローナル抗体７Ｃ６への直接Ｅｌｉｓａ応答の比較を示すグラフである。

【図１７－２】Ｃは架橋結合していない（１７Ｃ、３４Ｅ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーと、ジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーとでの球状体特異的ウサギポリクローナル抗血清５５９９への直接Ｅｌｉｓａ応答の比較を示すグラフである。

【図１８－１】Ａは架橋結合していない（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーと、ＥＤＣ／ＮＨＳで架橋結合した（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシン切断前後とでの球状体特異的モノクローナル抗体５Ｆ７への直接Ｅｌｉｓａ応答の比較を示すグラフである。Ｂは架橋結合していない（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーと、ＥＤＣ／ＮＨＳで架橋結合した（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシン切断前後とでの球状体特異的モノクローナル抗体７Ｃ６への直接Ｅｌｉｓａ応答の比較を示すグラフである。

【図１８－２】Ｃは架橋結合していない（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーと、ＥＤＣ／ＮＨＳで架橋結合した（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシン切断前後とでの球状体特異的ウサギポリクローナル抗血清５５９９への直接Ｅｌｉｓａ応答の比較を示すグラフである。

【図１９－１】Ａはメチレンジチオエーテル結合を形成するための戦略を示す模式図である。Ｂはアリルグリシン間の閉環メタセシス反応を実施するための戦略を示す模式図である。

【図１９－２】Ｃは修飾アミノ酸Ｘ＝（Ｓ）－Ｆｍｏｃ－α（２’ペンテニル）アラニン間の閉環メタセシス反応を実施するための戦略を示す模式図である。ＤはＬｙｓ（Ｎ３）とプロパルグリグリシンアミノ酸とのクリック化学を実施するための戦略を示す模式図である。

【発明を実施するための形態】

【００４１】

（発明の詳細な記述）

本発明のアミロイドβペプチド類似体は、アミノ酸配列（ペプチド）またはアミノ酸配列のペプチド模倣物を含む。詳細な実施形態によれば、本発明のアミロイドβペプチド類似体は、前記アミノ酸配列または前記アミノ酸配列のペプチド模倣物以外のいかなるアミノ酸またはこれ以外のいかなるアミノ酸のペプチド模倣物も含まない（しかし本発明のアミロイドβペプチド類似体は、前記アミノ酸配列またはペプチド模倣物に付着している化学基または成分をさらに含み得る。）。一態様によれば、アミノ酸配列は、４５、４４、４３、４２、４１、４０、３９、３４、３３、３２、３１、３０、２９、２８、２７、２６、２５、２４、２３、２０、１６アミノ酸まで（または相当するペプチド模倣物）から

なる。他の態様によれば、アミノ酸配列は、少なくとも１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６アミノ酸（または相当するペプチド模倣物）からなる。

【００４２】

他に記載しない限り本明細書において使用する用語「アミノ酸」は、単独でまたは他の基の一部として、限定されることなく「α」炭素－ＣＲＲ’－と称される同じ炭素（Ｒおよび／またはＲ’は水素を含む天然または非天然側鎖であり得る。）に結合したアミノ基およびカルボキシル基を有する。「α」炭素での完全な「Ｓ」立体配置は、通例「Ｌ」または「天然」立体配置と称される。「Ｒ」および「Ｒ’」（プライム）の両方の置換基が等しく水素である場合、アミノ酸はグリシンであり不斉ではない。

【００４３】

アミノ酸は、遺伝的にコードされたＬ－鏡像異性アミノ酸（アラニン（Ａ　Ａｌａ）、アルギニン（Ｒ；Ａｒｇ）、アスパラギン（Ｎ；Ａｓｎ）、アスパラギン酸（Ｄ；Ａｓｐ）、システイン（Ｃ；Ｃｙｓ）、グルタミン（Ｑ；Ｇｌｎ）、グルタミン酸（Ｅ；Ｇｌｕ）、グリシン（Ｇ；Ｇｌｙ）、ヒスチジン（Ｈ；Ｈｉｓ）、イソロイシン（Ｉ；Ｉｌｅ）、ロイシン（Ｌ；Ｌｅｕ）、リジン（Ｋ；Ｌｙｓ）、フェニルアラニン（Ｆ；Ｐｈｅ）、プロリン（Ｐ；Ｐｒｏ）、セリン（Ｓ；Ｓｅｒ）、スレオニン（Ｔ；Ｔｈｒ）、トリプトファン（Ｗ：Ｔｒｐ）、チロシン（Ｙ；Ｔｙｒ）、バリン（Ｖ；Ｖａｌ）、）、相当するＤ－アミノ酸ならびに、これだけに限らないがβ－アラニン（β－Ａｌａ）および３－アミノプロピオン酸、２，３－ジアミノプロピオン酸（Ｄｐｒ）、４－アミノ酪酸などの他のオメガアミノ酸；α－アミノイソ酪酸（Ａｉｂ）；ε－アミノヘキサン酸（Ａｈａ）；δ－アミノ吉草酸（Ａｖａ）；Ｎ－メチルグリシンまたはサルコシン（ＭｅＧｌｙ）；オルニチン（Ｏｒｎ）；シトルリン（Ｃｉｔ）；ｔ－ブチルアラニン（ｔ－ＢｕＡ）；ｔ－ブチルグリシン（ｔ－ＢｕＧ）；Ｎ－メチルイソロイシン（ＭｅＩｌｅ）；フェニルグリシン（Ｐｈｇ）；シクロヘキシルアラニン（Ｃｈａ）；ノルロイシン（Ｎｌｅ）；ナフチルアラニン（Ｎａｌ）；４－フェニルフェニルアラニン、４－クロロフェニルアラニン（Ｐｈｅ（４－Ｃｌ））；２－フルオロフェニルアラニン（Ｐｈｅ（２－Ｆ））；３－フルオロフェニルアラニン（Ｐｈｅ（３－Ｆ））；４－フルオロフェニルアラニン（Ｐｈｅ（４－Ｆ））；ペニシラミン（Ｐｅｎ）；１，２，３，４－テトラヒドロイソキノリン－３－カルボン酸（Ｔｉｃ）；β－２－チエニルアラニン（Ｔｈｉ）；メチオニンスルホキシド（ＭＳＯ）；ホモアルギニン（ｈＡｒｇ）；Ｎ－アセチルリジン（ＡｃＬｙｓ）；２，４－ジアミノ酪酸（Ｄｂｕ）；２，３－ジアミノ酪酸（Ｄａｂ）；ｐ－アミノフェニルアラニン（Ｐｈｅ（ｐNH_2））；Ｎ－メチルバリン（ＭｅＶａｌ）；ホモシステイン（ｈＣｙｓ）；ホモフェニルアラニン（ｈＰｈｅ）およびホモセリン（ｈＳｅｒ）；ヒドロキシプロリン（Ｈｙｐ）；ホモプロリン（ｈＰｒｏ）、Ｎ－メチル化アミノ酸ならびにペプトイド（Ｎ置換グリシン）を含む遺伝的にコードされない多数のアミノ酸を含む。

【００４４】

保存的なアミノ酸置換を定めるために、アミノ酸は好都合にも２つの主な種類、親水性および疎水性にアミノ酸側鎖の物理的化学的特徴に主として基づいて分類され得る。これらの２つの主な種類は、アミノ酸側鎖の特徴をより明確に定義する下位の種類にさらに分類され得る。例えば親水性アミノ酸の種類は、酸性、塩基性および極性アミノ酸にさらに再分類され得る。疎水性アミノ酸の種類は、非極性および芳香族アミノ酸にさらに再分類され得る。

【００４５】

用語「親水性アミノ酸」は、Ｅｉｓｅｎｂｅｒｇら、１９８４、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１７９：１２５－１４２頁の標準化共通疎水性スケールによって０より少ない疎水性を呈するアミノ酸を意味する。遺伝的にコードされている親水性アミノ酸としてＴｈｒ（Ｔ）、Ｓｅｒ（Ｓ）、Ｈｉｓ（Ｈ）、Ｇｌｕ（Ｅ）、Ａｓｎ（Ｎ）、Ｇｌｎ（Ｑ）、Ａｓｐ（Ｄ）、Ｌｙｓ（Ｋ）およびＡｒｇ（Ｒ）が挙げられる。

【００４６】

用語「疎水性アミノ酸」は、Ｅｉｓｅｎｂｅｒｇ、１９８４、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．

１７９：１．２５－１４２頁の標準化共通疎水性スケールによって０より大きい疎水性を呈するアミノ酸を意味する。遺伝的にコードされている疎水性アミノ酸としてＰｒｏ（Ｐ）、Ｉｌｅ（Ｉ）、Ｐｈｅ（Ｆ）、Ｖａｌ（Ｖ）、Ｌｅｕ（Ｌ）、Ｔｒｐ（Ｗ）、Ｍｅｔ（Ｍ）、Ａｌａ（Ａ）、Ｇｌｙ（Ｇ）およびＴｒｙ（Ｙ）が挙げられる。

【００４７】

用語「酸性アミノ酸」は、７より少ない側鎖ｐＫ値を有する親水性アミノ酸を意味する。酸性アミノ酸は、水素イオンの損失により生理学的ｐＨで典型的には負に荷電した側鎖を有する。遺伝的にコードされている酸性アミノ酸としてＧｌｕ（Ｅ）およびＡｓｐ（Ｄ）が挙げられる。

【００４８】

用語「塩基性アミノ酸」は、７より大きい側鎖ｐＫ値を有する親水性アミノ酸を意味する。塩基性アミノ酸は、ヒドロニウムイオンとの会合により生理学的ｐＨで典型的には正に荷電した側鎖を有する。遺伝的にコードされている塩基性アミノ酸としてＨｉｓ（Ｈ）、Ａｒｇ（Ｒ）およびＬｙｓ（Ｋ）が挙げられる。

【００４９】

用語「極性アミノ酸」は、生理学的ｐＨで荷電しない側鎖を有する親水性アミノ酸を意味するが、通常原子２個によって共有される電子対が原子の内の１個によってより近くに保持される少なくとも１つの結合を有する。遺伝的にコードされている極性アミノ酸としてＡｓｎ（Ｎ）、Ｇｌｎ（Ｑ）、Ｓｅｒ（Ｓ）およびＴｈｒ（Ｔ）が挙げられる。

【００５０】

用語「非極性アミノ酸」は、生理学的ｐＨで荷電しない側鎖を有し、通常原子２個によって共有される電子対が２個の原子のそれぞれによって一般に等しく保持される結合（すなわち側鎖が極性でない。）を有する疎水性アミノ酸を意味する。遺伝的にコードされている非極性アミノ酸としてＬｅｕ（Ｌ）、Ｖａｌ（Ｖ）、Ｉｌｅ（Ｉ）、Ｍｅｔ（Ｍ）、Ｇｌｙ（Ｇ）およびＡｌａ（Ａ）が挙げられる。

【００５１】

用語「芳香族アミノ酸」は、少なくとも１つの芳香環または芳香族複素環を有する側鎖を有する疎水性アミノ酸を意味する。芳香環または芳香族複素環は、－ＯＨ、－ＳＨ、－ＣＮ、－Ｆ、－Ｃｌ、－Ｂｒ、－Ｉ、－NO_2、－ＮＯ、－NH_2、－ＮＨＲ、－ＮＲＲ、－Ｃ（Ｏ）Ｒ、－Ｃ（Ｏ）ＯＨ、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ、－Ｃ（Ｏ）NH_2、－Ｃ（Ｏ）ＮＨＲ、－Ｃ（Ｏ）ＮＲＲなど（各Ｒは独立に、（C_1－C_6）アルキル、置換（C_1－C_6）アルキル、（C_1－C_6）アルケニル、置換（C_1－C_6）アルケニル、（C_1－C_6）アルキニル、置換（C_1－C_6）アルキニル、（C_5－C_{20}）アリール、置換（C_5－C_{20}）アリール、（C_6－C_{26}）アルカリル、置換（C_6－C_{26}）アルカリル、５－２０員環のヘテロアリール、置換５－２０員環のヘテロアリール、６－２６員環のアルクヘテロアリールまたは置換６－２６員環のアルクヘテロアリールである）の１つ以上の置換基を含み得る。遺伝的にコードされている芳香族アミノ酸としてＰｈｅ（Ｆ）、Ｔｙｒ（Ｙ）およびＴｒｐ（Ｗ）が挙げられる。

【００５２】

用語「脂肪族アミノ酸」は、脂肪族炭化水素側鎖を有する疎水性アミノ酸を意味する。遺伝的にコードされている脂肪族性アミノ酸としてＡｌａ（Ａ）、Ｖａｌ（Ｖ）、Ｌｅｕ（Ｌ）およびＩｌｅ（Ｉ）が挙げられる。

【００５３】

アミノ酸残基Ｃｙｓ（Ｃ）は、他のＣｙｓ（Ｃ）残基とまたは他のスルファニル含有アミノ酸とジスルフィド架橋を形成できることにおいて独特である。還元された遊離の－ＳＨ形態または酸化されたジスルフィド架橋形態のいずれでもペプチド中に存在するＣｙｓ（Ｃ）残基（および－ＳＨを含む側鎖を有する他のアミノ酸）の能力は、Ｃｙｓ（Ｃ）残基が正味の疎水性または親水性特性をペプチドに与えるかどうかに影響する。

【００５４】

当業者によって理解されるとおり、上に定義の分類は相互排他的ではない。したがって

２つ以上の物理的化学的特性を呈する側鎖を有するアミノ酸は、複数の分類に含まれ得る。例えば極性置換基でさらに置換されている芳香族成分を有するアミノ酸側鎖、Ｔｙｒ（Ｙ）などは、芳香族疎水性特性および極性または親水性特性の両方を呈することができ、したがって芳香族分類および極性分類の両方に含まれ得る。任意のアミノ酸の適切な分類は、当業者に、特に本明細書において提供する詳細な開示を考慮すると明らかである。

【００５５】

アミノ酸（ペプチド）の配列の代わりに本発明のアミロイドβペプチド類似体は、鋳型アミノ酸配列（ペプチド）に類似する特性を有する前記配列の類似体を含み得る。非ペプチド配列のこれらの種類を「ペプチド模倣体」または「ペプチド模倣物」（Ｆａｕｃｈｅｒｅ，Ｊ．（１９８６）Ａｄｖ．Ｄｒｕｇ Ｒｅｓ．１５：２９；ＶｅｂｅｒおよびＦｒｅｉｄｉｎｇｅｒ（１９８５）ＴＩＮＳ ３９２頁；およびＥｖａｎｓら、（１９８７）Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ ３０：１２２９頁）と呼び、通例コンピューター分子モデルの助力で開発される。

【００５６】

ペプチド模倣物は、特定のアミノ酸配列に「由来する」と称される。これは、ペプチド模倣物が、アミノ酸配列の機能のために必須であるその構造的特性を保持するように明確なアミノ酸配列を参照して設計されることを意味している。これは、アミノ酸配列の具体的な側鎖または構造の水素結合能であり得る。そのような特性は、非ペプチド要素または１個以上のアミノ酸残基またはアミノ酸配列の前記アミノ酸残基を結合させている結合によって提供されることができ、安定性またはプロテアーゼ耐性などのアミノ酸配列の特定の機能を改善するためにその機能に必須であるアミノ酸配列の構造的特性を保持しながら修飾され得る。言い換えると、アミノ酸配列のペプチド模倣物を含むアミロイドβペプチド類似体およびペプチド模倣物が由来するアミノ酸配列を含むアミロイドβペプチド類似体は、それらがループを形成する能力ならびに、適切であれば本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体のさらなる構造的および機能的特性を提示する能力に関して同じ機能的特徴を有する。

【００５７】

ペプチド模倣物は、通例パラダイムペプチド（すなわち本発明のアミロイドβペプチド類似体に含まれるアミノ酸配列）に構造的に類似しているが、アミド結合に類似する結合（例えば、Ｎ－メチルアミド、チオアミド、チオエステル、ホスホン酸、ケトメチレン、ヒドロキシメチレン、フルオロビニル、（Ｅ）－ビニル、メチレンアミノ、メチレンチオまたはアルカン結合などのアミド同配体）によって任意に置換されている１つ以上のペプチド結合を有する。そのような結合は、詳細には：－CH_2－ＮＨ－、－CH_2－Ｓ－、－CH_2－CH_2－、－ＣＨ＝ＣＨ－（シスおよびトランス）、－ＣＯCH_2－、－ＣＨ（ＯＨ）CH_2－および－CH_2ＳＯ－からなる群から選択され得る。これらの結合は、当技術分野において周知であり以下の文献にさらに記載されている：「Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ａｎｄ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ｏｆ Ａｍｉｎｏ Ａｃｉｄｓ，Ｐｅｐｔｉｄｅｓ，ａｎｄ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ」Ｂ．Ｗｅｉｎｓｔｅｉｎ（編）、Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、２６７頁（１９８３）におけるＳｐａｔｏｌａ，Ａ．Ｆ．；Ｓｚａｔｏｌａ，Ａ．Ｆ．、Ｖｅｇａ Ｄａｔａ（１９８３年３月）、第１巻第３版、「Ｐｅｐｔｉｄｅ Ｂａｃｋｂｏｎｅ Ｍｏｄｉｆｉｃａｔｉｏｎｓ」（ｇｅｎｅｒａｌ ｒｅｖｉｅｗ）；Ｍｏｒｌｅｙ，Ｊ．Ｓ．、Ｔｒｅｎｄｓ Ｐｈａｒｍ Ｓｃｉ（１９８０）４６３－４６８頁（頁）；Ｈｕｄｓｏｎ，Ｄ．ら、Ｉｎｔ Ｊ Ｐｅｎｔ Ｐｒｏｔ Ｒｅｓ（１９７９）１４：１７７－１８５頁；Ｓｐａｔｏｌａ，Ａ．Ｆ．ら、Ｌｉｆｅ Ｓｃｉ（１９８６）３８：１２４３－１２４９頁；Ｈａｎｎ，Ｍ．Ｍ．、Ｊ Ｃｈｅｍ Ｓｏｃ Ｐｅｒｋｉｎ Ｔｒａｎｓ Ｉ（１９８２）３０７－３１４頁；Ａｌｍｑｕｉｓｔ，Ｒ．Ｇ．ら、Ｊ Ｍｅｄ Ｃｈｅｍ（１９８０）２３：１３９２－１３９８頁；Ｊｅｎｎｉｎｇｓ－Ｗｈｉｔｅ，Ｃ．ら、Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ Ｌｅｔｔ（１９８２）２３：２５３３頁；Ｓｚｅｌｋｅ，Ｍ．ら、ＥＰ ４５６６５（１９８２）ＣＡ：９７：３９４０５頁（１９８２）：Ｈｏｌｌａｄａｙ，Ｍ．Ｗ．ら、Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ

Ｌｅｔｔ（１９８３）２４：４４０１－４４０４頁；およびＨｒｕｂｙ，Ｖ．Ｊ．、Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉ（１９８２）３１：１８９－１９９頁。特に好ましい非ペプチド結合は－ＣＨ$_2$ＮＨ－である。そのようなペプチド模倣体は、例えば：より経済的な生産、より大きな化学的安定性、増強された薬学的特性（半減期、吸収、強度、有効性など）などを含むペプチド実施形態を超える顕著な有利点を有し得る。

【００５８】

ペプチド模倣物は、「逆行」または「逆」アミノ酸配列も含む。逆行または逆アミノ酸配列は、アミノ酸骨格におけるカルボキシルからアミノへの通常のペプチド結合形成の方向が、左から右の従来の方向に読むとペプチド結合のアミノ成分がカルボニル成分に（続くのではなく）先行するように逆行している共有結合アミノ酸残基を含む。概略的にＧｏｏｄｍａｎ，Ｍ．ａｎｄ　Ｃｈｏｒｅｖ，Ｍ．Ａｃｃｏｕｎｔｓ　ｏｆ　Ｃｈｅｍ．Ｒｅｓ．１９７９、１２、４２３を参照されたい。

【００５９】

逆方向ペプチドは、（ａ）１個以上個のアミノ末端残基が逆方向（「ｒｅｖ」）に転換されているもの（したがって第２の「カルボキシル末端」が分子の最左部に得られる。）および（ｂ）１個以上個のカルボキシル末端残基が逆方向（「ｒｅｖ」）に転換されているもの（第２の「アミノ末端」が分子の最右部に得られる。）を含む。ペプチド（アミド）結合は、正常方向の残基と逆方向の残基との境界では形成され得ない。

【００６０】

したがって本発明の特定の逆行アミノ酸配列は、逆行ペプチド（逆行アミド）結合を利用する配列の２つの連続部分を結合するために適切なアミノ酸模倣成分を利用することによって形成され得る。上記（ａ）の場合は、ペプチド模倣物構造をもたらすためにジケト化合物の中央残基が２つのアミド結合を有する構造を結合するために好都合に利用され得る。上記（ｂ）の場合は、ペプチド模倣物構造を形成するためにジアミノ化合物の中央残基が２つのアミド結合を有する構造を結合するために同様に有用である。

【００６１】

加えて、そのような化合物中の逆方向の結合は、一般に、逆行していないアミノ酸のものと同様の側鎖の空間的配向性を維持するために逆行アミノ酸残基の鏡像的立体配置の転化を必要とする。ペプチドの逆行部分におけるアミノ酸の立体配置は、好ましくは（Ｄ）であり、逆行していない部分の立体配置は好ましくは（Ｌ）である。反対のまたは混合の立体配置は、結合活性を最適化するために適切である場合は許容され得る。

【００６２】

本発明のアミロイドβペプチド類似体に含まれるアミノ酸配列またはペプチド模倣物は、ループ（同義語：ターン）を含む詳細な２次構造によって特徴付けられる。本明細書において使用するループ（またはターン）は、少なくとも２つのＣα原子の近距離接近（通常＜７Å）を定義している。

【００６３】

適切なループは、α－、β－、γ－およびπ－ループを含む。本発明の詳細な実施形態によれば、ループは、β－ループである。本明細書において使用するβ－ループは、（供与残基と受容残基とが３残基離れているｉ→ｉ＋／－３Ｈ－結合）（１つまたは複数の）水素結合によって特徴付けられるループを定義している。

【００６４】

本発明の詳細な実施形態によれば、ループは、β－ヘアピンループである。本明細書において使用するβ－ヘアピンループは、ペプチドまたはペプチド模倣物骨格の方向が逆行しており、隣接する２次構造要素が相互作用しているループを定義している。

【００６５】

本発明のさらなる詳細な実施形態によれば、アミロイドβペプチド類似体は、分子内逆平行β－シートを形成しているアミノ酸配列を含む。本明細書において使用する逆平行β－シートは、３つ以上の水素結合によって側方につながっており、全体にねじれたひだ状のシートを形成している少なくとも２つのβ－ストランドの会合体を定義している。β－

ストランドは、ペプチド骨格がほとんど完全に引き延ばされた典型的には３－１０個のアミノ酸を含むアミノ酸の伸展またはこのペプチド模倣物である。

【００６６】

詳細な実施形態によれば、本発明のアミロイドβペプチド類似体は、逆平行β－シートを形成しているβ－ストランドがループ、好ましくは本明細書において定義のβ－ヘアピンループを介してつながっているアミノ酸配列を含む。

【００６７】

本発明のアミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列は、天然ヒトＡβペプチドまたはその一部のアミノ酸配列と少なくとも６６％の同一性を有する。

【００６８】

本明細書において使用する用語「天然ヒトＡβペプチド」は、Ａβ（１－４０）またはＡβ（１－４２）ペプチドなどのヒト由来の天然に存在するＡβ（Ｘ－Ｙ）ペプチドを意味する。

【００６９】

本明細書における用語「天然に存在するＡβ（Ｘ－Ｙ）ペプチド」は、ヒトアミロイドβタンパク質のアミノ酸位置Ｘからアミノ酸位置Ｙまでのアミノ酸配列をＸおよびＹの両方を含んで意味し、詳細にはアミノ酸配列ＤＡＥＦＲＨＤＳＧＹ　ＥＶＨＨＱＫＬＶＦＦ　ＡＥＤＶＧＳＮＫＧＡ　ＩＩＧＬＭＶＧＧＶＶ　ＩＡＴ（ヒト検索配列；アミノ酸位置１から４３に相当する。）またはこの天然に存在する任意の変種のアミノ酸位置Ｘからアミノ酸位置Ｙを意味し、詳細にはＡ２Ｔ、Ｈ６Ｒ、Ｄ７Ｎ、Ａ２１Ｇ（「フレミッシュ」）、Ｅ２２Ｇ（「アークティック」）、Ｅ２２Ｑ（「ダッチ」）、Ｅ２２Ｋ（「イタリアン」）、Ｄ２３Ｎ（「アイオワ」）、Ａ４２ＴおよびＡ４２Ｖ（番号はＡβペプチドの開始に対してである。）からなる群から選択される少なくとも１つの変異を有するものを位置Ｘおよび位置Ｙの両方を含んで意味する。

【００７０】

例えば本明細書において用語「天然に存在するＡβ（１－４２）ペプチド」は、ヒトアミロイドβタンパク質のアミノ酸位置１からアミノ酸位置４２由来のアミノ酸配列を１および４２の両方を含んで意味し、詳細にはアミノ酸配列ＤＡＥＦＲＨＤＳＧＹ　ＥＶＨＨＱＫＬＶＦＦ　ＡＥＤＶＧＳＮＫＧＡ　ＩＩＧＬＭＶＧＧＶＶ　ＩＡまたはこの天然に存在する任意の変種を意味し、詳細にはＡ２１Ｇ（「フレミッシュ」）、Ｅ２２Ｇ（「アークティック」）、Ｅ２２Ｑ（「ダッチ」）、Ｅ２２Ｋ（「イタリアン」）、Ｄ２３Ｎ（「アイオワ」）、Ａ４２ＴおよびＡ４２Ｖ（番号はＡβペプチドの開始に対してである。）からなる群から選択される少なくとも１つの変異を有するものを位置１および位置４２の両方を含んで意味する。

【００７１】

したがって本発明のアミロイドβペプチド類似体は、天然に存在するＡβペプチド、機能的断片および上に記載のヒト検索配列またはその一部と少なくとも約６６％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９７％、９９％またはこれを超えて同一であるこれらの変種配列に相当するアミノ酸配列を含む。

【００７２】

本明細書において使用する用語「相当する」は、アミノ酸配列が参照アミノ酸配列の全てまたは一部に相同であること（すなわち同一である、厳密にではなく進化的に関連している）を意味する。

【００７３】

以下の用語は、２つ以上のポリヌクレオチドまたはアミノ酸配列の間の配列関係性を記載するために使用される：「参照配列」、「比較ウィンドウ」「配列同一性」および「配列同一性の百分率」。「参照配列」または「検索配列」は、配列比較の基準として使用される明確な配列である；参照配列は、より大きな配列の一部であることができ、例えば全長ｃＤＮＡ、遺伝子配列またはポリペプチド配列の一部であることができる、または完全ｃＤＮＡ、遺伝子配列または上に記載のヒトＡβペプチド配列などのポリペプチド配列を

含み得る。２つの配列がそれぞれ（１）２つの配列間で類似している配列（すなわち完全な配列の一部）を含み得る、（２）２つの配列間で相違する配列をさらに含み得ることから、２つ（またはそれを超える）ポリヌクレオチド間での配列比較は典型的には配列類似性の局在性領域を同定および比較するために「比較ウィンドウ」について２つの配列の配列を比較することによって実施される。本明細書において使用する「比較ウィンドウ」は、配列が少なくとも６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０または４２個の連続アミノ酸または１８、２４、３０、３６、４２、４８、５４、６０、６６、７２、７８、８４、９０、９６、１０２、１０８、１１４、１２０または１２６個のヌクレオチドの参照配列と比較され得る少なくとも６個の連続アミノ酸または２４個のヌクレオチド位置の概念的セグメントを意味し、比較ウィンドウ中の配列の一部は、２つの配列の最適な配列比較のために参照配列（付加または欠失を含まない）と比較して２０パーセントまたはそれより少ない付加または欠失（すなわちギャップ）を含み得る。配列比較用の配列の最適な配列比較に関して、比較ウィンドウは、ＳｍｉｔｈおよびＷａｔｅｒｍａｎ（１９８１）Ａｄｖ．Ａｐｐｌ．Ｍａｔｈ．２：４８２の局在性相同性アルゴリズムによって、ＮｅｅｄｌｅｍａｎおよびＷｕｎｓｃｈ（１９７０）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．４８：４４３の相同性配列比較アルゴリズムによって、ＰｅａｒｓｏｎおよびＬｉｐｍａｎ（１９８８）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．（Ｕ．Ｓ．Ａ．）８５：２４４４の類似性検索法によって、これらのアルゴリズム（Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｓｏｆｔｗａｒｅ Ｐａｃｋａｇｅ Ｒｅｌｅａｓｅ ７．０、Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ｇｒｏｕｐ、５７５ Ｓｃｉｅｎｃｅ Ｄｒ．、Ｍａｄｉｓｏｎ、Ｗｉｓ．でのＧＡＰ、ＢＥＳＴＦＩＴ、ＦＡＳＴＡおよびＴＦＡＳＴＡ）のコンピューター化された実行によって、または検査によって実行されることができ、種々の方法によって生じた最良の（すなわち比較ウィンドウについて最も高い相同性の百分率値をもたらす）配列比較が選択される。用語「配列同一性」は、２つの配列が比較のウィンドウにおいて（すなわちヌクレオチドはヌクレオチドに基づいて、アミノ酸はアミノ酸に基づいて）同一であることを意味する。用語「配列同一性の百分率」は、最適に並べた２つの配列を比較のウィンドウについて比較し、一致する位置の数を得るために両方の配列において同一の核酸塩基またはアミノ酸が存在する位置の数を決定し、一致した位置の数を比較のウィンドウ中の位置の数（すなわちウィンドウの大きさ）で割り、配列同一性の百分率を得るために結果を１００倍することによって算出される。

【００７４】

アミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列の天然ヒトＡβペプチドのアミノ酸配列に対する同一性が決定されると、比較のウィンドウは、アミロイドβペプチド類似体またはその一部に含まれる完全なアミノ酸配列を含み得る。アミロイドβペプチド類似体に含まれるアミノ酸配列が天然ヒトＡβペプチドのアミノ酸配列より短い場合は、比較のウィンドウは天然ヒトＡβペプチドの一部だけを含み、それにより配列同一性の百分率はその部分だけを参照する。アミロイドβペプチド類似体に含まれるアミノ酸配列が天然ヒトＡβペプチドのアミノ酸配列より長い場合は、比較のウィンドウはアミロイドＡβペプチド類似体に含まれるアミノ酸配列の一部だけを含み、それにより配列同一性の百分率はその部分だけを参照する。

【００７５】

詳細な実施形態によれば、本発明は、アミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列が天然ヒトＡβ（Ｘ－Ｙ）配列（Ｘは１．．２３、例えば１５、１８、１９、２０、２１、２２または２３の数からなる群から選択され、Ｙは２８．．４３、例えば２８、２９、３０、３１、３４、３７、４０、４２または４３の数からなる群から選択される）と少なくとも６６％の同一性を有するアミロイドβペプチド類似体に関する。

【００７６】

本明細書において使用する省略記号Ａ．．Ｂは、ＡからＢのその両方を含める全ての自然数を含む集合を意味し、例えば「１７．．２０」はしたがって１７、１８、１９および

２０の数の群を意味する。ハイフンはアミノ酸の連続配列を意味し、すなわち「Ｘ－Ｙ」はアミノ酸Ｘからアミノ酸Ｙまでの配列を両方を含めて含む。したがって「Ａ．．Ｂ－Ｃ．．Ｄ」は、これら２つの集合の要素間で可能な全ての組合せを含み、例えば「１７．．２０－４０．．４２」は、１７－４０、１７－４１、１７－４２、１８－４０、１８－４１、１８－４２、１９－４０、１９－４１、１９－４２、２０－４０、２０－４１および２０－４２の全てを含む。他に記載する場合を除いて、全ての数は成熟ペプチドの開始端を参照し、１はＮ末端アミノ酸を表す。

【００７７】

詳細には、アミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列は配列番号１－３６８：

【００７８】

【表１】

配列	配列番号
DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIAT-	1
-AEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIAT-	2
--EFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIAT-	3
---FRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIAT-	4
----RHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIAT-	5
-----HDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIAT-	6
------DSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIAT-	7
-------SGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIAT-	8
--------GYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIAT-	9
---------YEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIAT-	10
----------EVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIAT-	11
-----------VHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIAT-	12
------------HHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIAT-	13
-------------HQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIAT-	14
--------------QKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIAT-	15
---------------KLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIAT-	16
----------------LVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIAT-	17
-----------------VFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIAT-	18
------------------FFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIAT-	19

----------FAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIAT-	20
----------AEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIAT-	21
----------EDVGSNKGAIIGLMVGGVVIAT-	22
----------DVGSNKGAIIGLMVGGVVIAT-	23
DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA--	24
-AEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA--	25
--EFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA--	26
---FRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA--	27
----RHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA--	28
-----HDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA--	29
------DSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA--	30
-------SGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA--	31
--------GYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA--	32
---------YEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA--	33
----------EVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA--	34
-----------VHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA--	35
------------HHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA--	36
-------------HQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA--	37
--------------QKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA--	38
---------------KLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA--	39
----------------LVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA--	40
-----------------VFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA--	41
------------------FFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA--	42
----------FAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA--	43
----------AEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA--	44
----------EDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA--	45
----------DVGSNKGAIIGLMVGGVVIA--	46
DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVI---	47
-AEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVI---	48
--EFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVI---	49
---FRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVI---	50
----RHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVI---	51
-----HDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVI---	52
------DSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVI---	53
-------SGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVI---	54
--------GYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVI---	55
---------YEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVI---	56
----------EVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVI---	57
-----------VHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVI---	58

----------HHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVI---	59
----------HQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVI---	60
----------QKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVI---	61
----------KLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVI---	62
----------LVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVI---	63
----------VFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVI---	64
----------FFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVI---	65
----------FAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVI---	66
----------AEDVGSNKGAIIGLMVGGVVI---	67
----------EDVGSNKGAIIGLMVGGVVI---	68
----------DVGSNKGAIIGLMVGGVVI---	69
DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVV----	70
-AEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVV----	71
--EFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVV----	72
---FRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVV----	73
----RHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVV----	74
-----HDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVV----	75
------DSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVV----	76
-------SGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVV----	77
--------GYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVV----	78
---------YEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVV----	79
----------EVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVV----	80
----------VHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVV----	81
----------HHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVV----	82
----------HQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVV----	83
----------QKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVV----	84
----------KLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVV----	85
----------LVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVV----	86
----------VFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVV----	87
----------FFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVV----	88
----------FAEDVGSNKGAIIGLMVGGVV----	89
----------AEDVGSNKGAIIGLMVGGVV----	90
----------EDVGSNKGAIIGLMVGGVV----	91
----------DVGSNKGAIIGLMVGGVV----	92
DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGV-----	93
-AEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGV-----	94
--EFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGV-----	95
---FRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGV-----	96
----RHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGV-----	97

-----HDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGV-----	98
------DSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGV-----	99
-------SGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGV-----	100
--------GYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGV-----	101
---------YEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGV-----	102
----------EVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGV-----	103
-----------VHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGV-----	104
------------HHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGV-----	105
-------------HQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGV-----	106
--------------QKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGV-----	107
---------------KLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGV-----	108
----------------LVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGV-----	109
-----------------VFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGV-----	110
------------------FFAEDVGSNKGAIIGLMVGGV-----	111
-------------------FAEDVGSNKGAIIGLMVGGV-----	112
--------------------AEDVGSNKGAIIGLMVGGV-----	113
---------------------EDVGSNKGAIIGLMVGGV-----	114
----------------------DVGSNKGAIIGLMVGGV-----	115
DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGG------	116
-AEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGG------	117
--EFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGG------	118
---FRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGG------	119
----RHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGG------	120
-----HDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGG------	121
------DSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGG------	122
-------SGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGG------	123
--------GYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGG------	124
---------YEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGG------	125
----------EVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGG------	126
-----------VHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGG------	127
------------HHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGG------	128
-------------HQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGG------	129
--------------QKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGG------	130
---------------KLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGG------	131
----------------LVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGG------	132
-----------------VFFAEDVGSNKGAIIGLMVGG------	133
------------------FFAEDVGSNKGAIIGLMVGG------	134
-------------------FAEDVGSNKGAIIGLMVGG------	135
--------------------AEDVGSNKGAIIGLMVGG------	136

----------EDVGSNKGAIIGLMVGG------	137
----------DVGSNKGAIIGLMVGG------	138
DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVG-------	139
-AEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVG-------	140
--EFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVG-------	141
---FRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVG-------	142
----RHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVG-------	143
-----HDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVG-------	144
------DSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVG-------	145
-------SGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVG-------	146
--------GYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVG-------	147
---------YEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVG-------	148
----------EVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVG-------	149
-----------VHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVG-------	150
------------HHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVG-------	151
-------------HQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVG-------	152
--------------QKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVG-------	153
---------------KLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVG-------	154
----------------LVFFAEDVGSNKGAIIGLMVG-------	155
-----------------VFFAEDVGSNKGAIIGLMVG-------	156
------------------FFAEDVGSNKGAIIGLMVG-------	157
-------------------FAEDVGSNKGAIIGLMVG-------	158
--------------------AEDVGSNKGAIIGLMVG-------	159
----------EDVGSNKGAIIGLMVG-------	160
----------DVGSNKGAIIGLMVG-------	161
DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMV--------	162
-AEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMV--------	163
--EFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMV--------	164
---FRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMV--------	165
----RHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMV--------	166
-----HDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMV--------	167
------DSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMV--------	168
-------SGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMV--------	169
--------GYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMV--------	170
---------YEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMV--------	171
----------EVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMV--------	172
-----------VHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMV--------	173
------------HHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMV--------	174
-------------HQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMV--------	175

----------QKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMV--------	176
----------KLVFFAEDVGSNKGAIIGLMV--------	177
----------LVFFAEDVGSNKGAIIGLMV--------	178
----------VFFAEDVGSNKGAIIGLMV--------	179
----------FFAEDVGSNKGAIIGLMV--------	180
----------FAEDVGSNKGAIIGLMV--------	181
----------AEDVGSNKGAIIGLMV--------	182
----------EDVGSNKGAIIGLMV--------	183
----------DVGSNKGAIIGLMV--------	184
DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLM---------	185
-AEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLM---------	186
--EFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLM---------	187
---FRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLM---------	188
----RHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLM---------	189
-----HDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLM---------	190
------DSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLM---------	191
-------SGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLM---------	192
--------GYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLM---------	193
---------YEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLM---------	194
----------EVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLM---------	195
-----------VHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLM---------	196
------------HHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLM---------	197
-------------HQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLM---------	198
--------------QKLVFFAEDVGSNKGAIIGLM---------	199
---------------KLVFFAEDVGSNKGAIIGLM---------	200
----------------LVFFAEDVGSNKGAIIGLM---------	201
-----------------VFFAEDVGSNKGAIIGLM---------	202
------------------FFAEDVGSNKGAIIGLM---------	203
-------------------FAEDVGSNKGAIIGLM---------	204
--------------------AEDVGSNKGAIIGLM---------	205
---------------------EDVGSNKGAIIGLM---------	206
----------------------DVGSNKGAIIGLM---------	207
DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGL----------	208
-AEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGL----------	209
--EFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGL----------	210
---FRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGL----------	211
----RHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGL----------	212
-----HDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGL----------	213
------DSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGL----------	214

-------SGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGL----------	215
--------GYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGL----------	216
---------YEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGL----------	217
----------EVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGL----------	218
-----------VHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGL----------	219
------------HHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGL----------	220
-------------HQKLVFFAEDVGSNKGAIIGL----------	221
--------------QKLVFFAEDVGSNKGAIIGL----------	222
---------------KLVFFAEDVGSNKGAIIGL----------	223
----------------LVFFAEDVGSNKGAIIGL----------	224
-----------------VFFAEDVGSNKGAIIGL----------	225
------------------FFAEDVGSNKGAIIGL----------	226
-------------------FAEDVGSNKGAIIGL----------	227
--------------------AEDVGSNKGAIIGL----------	228
---------------------EDVGSNKGAIIGL----------	229
----------------------DVGSNKGAIIGL----------	230
DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIG-----------	231
-AEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIG-----------	232
--EFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIG-----------	233
---FRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIG-----------	234
----RHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIG-----------	235
-----HDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIG-----------	236
------DSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIG-----------	237
-------SGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIG-----------	238
--------GYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIG-----------	239
---------YEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIG-----------	240
----------EVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIG-----------	241
-----------VHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIG-----------	242
------------HHQKLVFFAEDVGSNKGAIIG-----------	243
-------------HQKLVFFAEDVGSNKGAIIG-----------	244
--------------QKLVFFAEDVGSNKGAIIG-----------	245
---------------KLVFFAEDVGSNKGAIIG-----------	246
----------------LVFFAEDVGSNKGAIIG-----------	247
-----------------VFFAEDVGSNKGAIIG-----------	248
------------------FFAEDVGSNKGAIIG-----------	249
-------------------FAEDVGSNKGAIIG-----------	250
--------------------AEDVGSNKGAIIG-----------	251
---------------------EDVGSNKGAIIG-----------	252
----------------------DVGSNKGAIIG-----------	253

DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAII----------	254
-AEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAII----------	255
--EFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAII----------	256
---FRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAII----------	257
----RHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAII----------	258
-----HDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAII----------	259
------DSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAII----------	260
-------SGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAII----------	261
--------GYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAII----------	262
---------YEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAII----------	263
----------EVHHQKLVFFAEDVGSNKGAII----------	264
-----------VHHQKLVFFAEDVGSNKGAII----------	265
------------HHQKLVFFAEDVGSNKGAII----------	266
-------------HQKLVFFAEDVGSNKGAII----------	267
--------------QKLVFFAEDVGSNKGAII----------	268
---------------KLVFFAEDVGSNKGAII----------	269
----------------LVFFAEDVGSNKGAII----------	270
-----------------VFFAEDVGSNKGAII----------	271
------------------FFAEDVGSNKGAII----------	272
-------------------FAEDVGSNKGAII----------	273
--------------------AEDVGSNKGAII----------	274
---------------------EDVGSNKGAII----------	275
----------------------DVGSNKGAII----------	276
DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAI----------	277
-AEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAI----------	278
--EFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAI----------	279
---FRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAI----------	280
----RHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAI----------	281
-----HDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAI----------	282
------DSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAI----------	283
-------SGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAI----------	284
--------GYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAI----------	285
---------YEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAI----------	286
----------EVHHQKLVFFAEDVGSNKGAI----------	287
-----------VHHQKLVFFAEDVGSNKGAI----------	288
------------HHQKLVFFAEDVGSNKGAI----------	289
-------------HQKLVFFAEDVGSNKGAI----------	290
--------------QKLVFFAEDVGSNKGAI----------	291
---------------KLVFFAEDVGSNKGAI----------	292

----------LVFFAEDVGSNKGAI----------	293
----------VFFAEDVGSNKGAI----------	294
----------FFAEDVGSNKGAI----------	295
----------FAEDVGSNKGAI----------	296
----------AEDVGSNKGAI----------	297
----------EDVGSNKGAI----------	298
----------DVGSNKGAI----------	299
DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGA----------	300
-AEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGA----------	301
--EFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGA----------	302
---FRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGA----------	303
----RHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGA----------	304
-----HDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGA----------	305
------DSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGA----------	306
-------SGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGA----------	307
--------GYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGA----------	308
---------YEVHHQKLVFFAEDVGSNKGA----------	309
----------EVHHQKLVFFAEDVGSNKGA----------	310
----------VHHQKLVFFAEDVGSNKGA----------	311
----------HHQKLVFFAEDVGSNKGA----------	312
----------HQKLVFFAEDVGSNKGA----------	313
----------QKLVFFAEDVGSNKGA----------	314
----------KLVFFAEDVGSNKGA----------	315
----------LVFFAEDVGSNKGA----------	316
----------VFFAEDVGSNKGA----------	317
----------FFAEDVGSNKGA----------	318
----------FAEDVGSNKGA----------	319
----------AEDVGSNKGA----------	320
----------EDVGSNKGA----------	321
----------DVGSNKGA----------	322
DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKG----------	323
-AEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKG----------	324
--EFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKG----------	325
---FRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKG----------	326
----RHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKG----------	327
-----HDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKG----------	328
------DSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKG----------	329
-------SGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKG----------	330
--------GYEVHHQKLVFFAEDVGSNKG----------	331

---------YEVHHQKLVFFAEDVGSNKG----------	332
----------EVHHQKLVFFAEDVGSNKG----------	333
-----------VHHQKLVFFAEDVGSNKG----------	334
------------HHQKLVFFAEDVGSNKG----------	335
-------------HQKLVFFAEDVGSNKG----------	336
--------------QKLVFFAEDVGSNKG----------	337
---------------KLVFFAEDVGSNKG----------	338
----------------LVFFAEDVGSNKG----------	339
-----------------VFFAEDVGSNKG----------	340
------------------FFAEDVGSNKG----------	341
-------------------FAEDVGSNKG----------	342
--------------------AEDVGSNKG----------	343
---------------------EDVGSNKG----------	344
----------------------DVGSNKG----------	345
DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNK----------	346
-AEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNK----------	347
--EFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNK----------	348
---FRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNK----------	349
----RHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNK----------	350
-----HDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNK----------	351
------DSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNK----------	352
-------SGYEVHHQKLVFFAEDVGSNK----------	353
--------GYEVHHQKLVFFAEDVGSNK----------	354
---------YEVHHQKLVFFAEDVGSNK----------	355
----------EVHHQKLVFFAEDVGSNK----------	356
-----------VHHQKLVFFAEDVGSNK----------	357
------------HHQKLVFFAEDVGSNK----------	358
-------------HQKLVFFAEDVGSNK----------	359
--------------QKLVFFAEDVGSNK----------	360
---------------KLVFFAEDVGSNK----------	361
----------------LVFFAEDVGSNK----------	362
-----------------VFFAEDVGSNK----------	363
------------------FFAEDVGSNK----------	364
-------------------FAEDVGSNK----------	365
--------------------AEDVGSNK----------	366
---------------------EDVGSNK----------	367
----------------------DVGSNK----------	368

からなる群から選択される配列と少なくとも６６％の同一性を有する。

【００７９】

詳細な実施形態によれば、本発明のアミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列は、選択された配列の少なくとも１個のアミノ酸が他のアミノ酸によって置換されている配列番

号１－３６８からなる群から選択される配列に相当する。

【００８０】

本発明の特定の実施形態においてアミノ酸置換が保存的である、すなわち置換するアミノ酸残基が置換されるアミノ酸残基と同様の物理的および化学的特性を有することは認識される。特に好ましい保存的アミノ酸置換群は、バリン－ロイシン－イソロイシン、フェニルアラニン－チロシン、リジン－アルギニン、アラニン－バリンおよびアスパラギン－グルタミンである。

【００８１】

さらに、同じ種類のＤ－アミノ酸（例えばＬ－リジンの代わりにＤ－リジン）での上の配列の１個以上個のアミノ酸の系統的置換も安定性を増強するために使用され得る。

【００８２】

本発明の特定の実施形態においてアミノ酸置換は非保存的である、すなわち置換するアミノ酸残基が置換されるアミノ酸残基のものとは異なる物理的および化学的特性を有することは、さらに認識される。具体的にはこの実施形態は、結合を形成できる置換するアミノ酸残基に関する。つまり、そのようなアミノ酸置換は、置換するアミノ酸と、同様に置換するアミノ酸となり得るまたはなり得ない他のアミノ酸との間の共有結合の形成を可能にする。これはアミノ酸配列中の所定の位置のアミノ酸間での共有結合の導入を可能にする。

【００８３】

さらなる詳細な実施形態によれば、本発明のアミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列は、配列番号１－３６８からなる群から選択される配列を含み、前記配列の少なくとも２個、例えば２個のアミノ酸は、所要の配列内共有結合を形成するために修飾される。例えば、２つのアミノ酸のそれぞれはシステインに置換され得る。これは、種々の結合の形成を可能にする。そのようなアミノ酸置換の詳細な位置および種々の適切な結合は、本明細書に記載されている。さらに１個のアミノ酸は、システインによって置換されることができ、他のアミノ酸はリジンによって置換され得る。これは、種々の結合の形成を可能にする。そのようなアミノ酸置換の詳細な位置および種々の適切な結合は、本明細書に記載されている。さらに１個のアミノ酸は、グルタミン酸またはアスパラギン酸によって置換されることができ、他のアミノ酸はリジンによって置換され得る。これは、種々の結合の形成を可能にする。そのようなアミノ酸置換の詳細な位置および種々の適切な結合は、本明細書に記載されている。

【００８４】

本発明のアミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列は、少なくとも６個、好ましくは少なくとも８、１０、１２、１４、１６または１８個の連続アミノ酸残基を含む。さらに典型的な実施形態において、本発明のアミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列は、４５、４３、４１、３９、３７または３６より少ない連続アミノ酸残基を含む。好ましい実施形態によれば、連続アミノ酸残基は、配列ＶＧＳＮ、ＤＶＧＳＮまたはＶＧＳＮＫを含む。他の好ましい実施形態によれば、連続アミノ酸残基は、配列ＡＥＤを含む。さらに他の好ましい実施形態によれば、連続アミノ酸残基は、配列ＡＥＤおよび配列ＶＧＳＮ、ＤＶＧＳＮまたはＶＧＳＮＫの内の１つの両方を、詳細には配列ＡＥＤＶＧＳＮまたはＡＥＤＶＧＳＮＫを含む。

【００８５】

本発明のさらなる実施形態によれば、本発明のアミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列は、配列$X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}X_{23}$－ＶＧＳＮ－$X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}$を含み、$X_{19}$、$X_{20}$、$X_{21}$、$X_{22}$、$X_{23}$、$X_{28}$、$X_{29}$、$X_{30}$、$X_{31}$、$X_{32}$がそれぞれ独立に、詳細には本明細書において定義のアミノ酸を表す。前記アミノ酸のそれぞれは他のアミノ酸と、他のアミノ酸がX_{19}、X_{20}、X_{21}、X_{22}、X_{23}、X_{28}、X_{29}、X_{30}、X_{31}、X_{32}または異なるアミノ酸残基を表すものから選択されて共有結合できる。好ましくはアミノ酸配列$X_{19}X_{20}X_{21}$と$X_{30}X_{31}X_{32}$とは逆平行配向にある。

【００８６】
本発明の詳細なアミロイドβペプチド類似体は、
X_{19}が、フェニルアラニン、チロシン、バリン、ロイシン、イソロイシンおよびメチオニンからなる群から選択されるアミノ酸残基でありフェニルアラニンが好ましく、
X_{20}が、フェニルアラニン、チロシン、バリン、ロイシン、イソロイシンおよびメチオニンからなる群から選択されるアミノ酸残基でありフェニルアラニンが好ましく、
X_{21}が、アラニン、バリン、グリシンおよびセリンからなる群から選択されるアミノ酸残基でありアラニンが好ましく、
X_{22}が、グルタミン酸およびアスパラギン酸からなる群から選択されるアミノ酸残基でありグルタミン酸が好ましく、
X_{23}が、グルタミン酸およびアスパラギン酸からなる群から選択されるアミノ酸残基でありアスパラギン酸が好ましく、
X_{28}が、リジンおよびアルギニンからなる群から選択されるアミノ酸残基でありリジンが好ましく、
X_{29}が、グリシン、アラニンおよびセリンからなる群から選択されるアミノ酸残基でありグリシンが好ましく、
X_{30}が、アラニン、バリン、グリシンおよびセリンからなる群から選択されるアミノ酸残基でありアラニンが好ましく、
X_{31}が、イソロイシン、ロイシン、バリン、フェニルアラニンおよびメチオニンからなる群から選択されるアミノ酸残基でありイソロイシンが好ましく、
X_{32}が、イソロイシン、ロイシン、バリン、フェニルアラニンおよびメチオニンからなる群から選択されるアミノ酸残基でありイソロイシンが好ましい、
またはこれらの任意の組合せであるものを含む。
【００８７】
本発明のさらなる詳細なアミロイドβペプチド類似体は、アミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列が配列$F_{19}X_{20}A_{21}-Q-A_{30}I_{31}I_{32}$（$X_{20}$はアミノ酸を詳細には本明細書において定義のとおり表し、Ｑは配列ＶＧＳＮを含むアミノ酸配列である。）を含むものを含む。
【００８８】
アミノ酸配列Ｑは、通例５、６、７または８個のアミノ酸残基からなる。詳細な実施形態によれば、それはループを形成する、すなわちＱのいくつかのまたは全てのアミノ酸はループを形成するように配置されている。
【００８９】
配列$F_{19}X_{20}A_{21}X_{22}D_{23}V_{24}G_{25}S_{26}N_{27}K_{28}X_{29}A_{30}I_{31}I_{32}$（式中$X_{20}$、$X_{22}$、$X_{29}$がそれぞれ独立に、詳細には本明細書において定義のアミノ酸残基を表す。）を含むアミロイドβペプチド類似体は、本発明の好ましい実施形態を表す。これらのアミロイドβペプチド類似体において、アミノ酸配列$F_{19}X_{20}A_{21}$および$A_{30}I_{31}I_{32}$は好ましくは逆平行配向にある。より詳細には、F_{19}（ＮＨ）－I_{32}（ＮＨ）、F_{19}（ＮＨ）－I_{32}（ＨＢ）、F_{19}（ＮＨ）－I_{32}（ＣＧ２）、A_{21}（ＮＨ）－A_{30}（ＮＨ）、A_{21}（ＮＨ）－A_{30}（ＣＢ）、A_{21}（ＮＨ）－I_{31}（ＣＤ１）、A_{21}（ＮＨ）－I_{31}（ＣＧ２）、I_{32}（ＮＨ）－F_{19}（ＣＤ１）、I_{32}（ＮＨ）－F_{19}（ＣＤ２）、I_{32}（ＨＮ）－F_{19}（ＣＢ）およびA_{30}（ＮＨ）－A_{21}（ＣＢ）からなる群から選択される少なくとも１つの原子対についてのプロトン間距離が１．８から６．５オングストロームである場合は好ましい。原子対F_{19}（ＣＯ）－I_{32}（Ｎ）、I_{32}（ＣＯ）－F_{19}（Ｎ）、A_{21}（ＣＯ）－A_{30}（Ｎ）およびA_{30}（ＣＯ）－A_{21}（Ｎ）が３．３±０．５Åの距離にあり（式中ＣＯが主鎖酸素原子を示す。）、残基のファイ（φ）角が－１８０から－３０の範囲であり、残基のプサイ（ψ）角がおよそ６０から１８０またはおよそ－１８０から－１５０の範囲である場合も好ましい。
【００９０】

さらなる詳細な実施形態によれば、アミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列は配列番号３６９－６９８からなる群から選択される配列であり、
X_{12}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{13}が、ヒスチジン、チロシン、セリン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{14}が、ヒスチジン、チロシン、セリン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{15}が、グルタミン、アスパラギン、メチオニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{16}が、リジン、アルギニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{17}が、ロイシン、イソロイシン、バリン、フェニルアラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{18}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{19}が、フェニルアラニン、チロシン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{20}が、フェニルアラニン、チロシン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{21}が、アラニン、バリン、グリシン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{22}が、グルタミン酸、アスパラギン酸または配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{29}が、グリシン、アラニンおよびセリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{30}が、アラニン、バリン、グリシン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{31}が、イソロイシン、ロイシン、バリン、フェニルアラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{32}が、イソロイシン、ロイシン、バリン、フェニルアラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{33}が、グリシン、アラニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{34}が、ロイシン、イソロイシン、バリン、フェニルアラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{35}が、メチオニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{36}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{37}が、グリシン、アラニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{38}が、グリシン、アラニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり
X_{39}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{12}、X_{13}、X_{14}、X_{15}、X_{16}、X_{17}、X_{18}、X_{19}、X_{20}、X_{21}およびX_{22}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{29}、X_{30}、X_{31}、X_{32}、X_{33}、X_{34}、X_{35}、X_{36}、X_{37}、X_{38}およびX_{39}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している。

【００９１】
【表２】

配列	
DAEFRHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{-8}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIAT	369
AEFRHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIAT	370
EFRHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIAT	371
FRHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIAT	372
RHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIAT	373
HDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIAT	374
DSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIAT	375
SGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIAT	376
GYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{-8}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIAT	377
YEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIAT	378
EX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{35}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIAT	379
X$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIAT	380
X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$VVIAT	381
X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$GVVIAT	382
X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$GGVVIAT	383
X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$VGGVVIAT	384
X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$MVGGVVIAT	385
X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$LMVGGVVIAT	386
X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$GLMVGGVVIAT	387
X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$IGLMVGGVVIAT	388
X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$IIGLMVGGVVIAT	389
X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$AIIGLMVGGVVIAT	390
DAEFRHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{-8}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIA	391
AEFRHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIA	392
EFRHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIA	393
FRHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIA	394
RHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIA	395
HDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIA	396

DSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIA	397
SGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIA	398
GYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIA	399
YEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIA	400
EX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIA	401
X$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIA	402
X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$VVIA	403
X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$GVVIA	404
X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$GGVVIA	405
X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$VGGVVIA	406
X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$MVGGVVIA	407
X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$LMVGGVVIA	408
X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$GLMVGGVVIA	409
X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$IGLMVGGVVIA	410
X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$IIGLMVGGVVIA	411
X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$AIIGLMVGGVVIA	412
DAEFRHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VI	413
AEFRHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VI	414
EFRHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VI	415
FRHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VI	416
RHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VI	417
HDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VI	418
DSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VI	419
SGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VI	420
GYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VI	421
YEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VI	422
EX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VI	423
X$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VI	424
X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$VVI	425
X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$GVVI	426
X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$GGVVI	427
X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$VGGVVI	428
X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$MVGGVVI	429
X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$LMVGGVVI	430
X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$GLMVGGVVI	431
X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$IGLMVGGVVI	432
X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$IIGLMVGGVVI	433
X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$AIIGLMVGGVVI	434
DAEFRHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$V	435

AEFRHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$V	436
EFRHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$V	437
FRHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$V	438
RHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$V	439
HDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$V	440
DSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$V	441
SGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$V	442
GYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$V	443
YEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$V	444
EX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$V	445
X$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$V	446
X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$VV	447
X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$GVV	448
X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$GGVV	449
X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$VGGVV	450
X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$MVGGVV	451
X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$LMVGGVV	452
X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$GLMVGGVV	453
X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$IGLMVGGVV	454
X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$IIGLMVGGVV	455
X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$AIIGLMVGGVV	456
DAEFRHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$	457
AEFRHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$	458
EFRHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$	459
FRHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$	460
RHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$	461
HDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$	462
DSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$	463
SGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$	464
GYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$	465
YEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$	466
EX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$	467
X$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$	468
X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$V	469
X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$GV	470
X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$GGV	471
X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$VGGV	472
X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$MVGGV	473
X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$LMVGGV	474

$X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}$GLMVGGV	475
$X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}$IGLMVGGV	476
$X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}$IIGLMVGGV	477
X_{22}DVGSNKX$_{29}$AIIGLMVGGV	478
DAEFRHDSGYEVX$_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}$	479
AEFRHDSGYEVX$_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}$	480
EFRHDSGYEVX$_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}$	481
FRHDSGYEVX$_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}$	482
RHDSGYEVX$_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}$	483
HDSGYEVX$_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}$	484
DSGYEVX$_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}$	485
SGYEVX$_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}$	486
GYEVX$_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}$	487
YEVX$_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}$	488
EVX$_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}$	489
VX$_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}$	490
$X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}$	491
$X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$G	492
$X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$GG	493
$X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}$VGG	494
$X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}$MVGG	495
$X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}$LMVGG	496
$X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}$GLMVGG	497
$X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}$IGLMVGG	498
$X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}$IIGLMVGG	499
X_{22}DVGSNKX$_{29}$AIIGLMVGG	500
DAEFRHDSGYEVHX$_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$	501
AEFRHDSGYEVHX$_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$	502
EFRHDSGYEVHX$_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$	503
FRHDSGYEVHX$_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$	504
RHDSGYEVHX$_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$	505
HDSGYEVHX$_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$	506
DSGYEVHX$_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$	507
SGYEVHX$_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$	508
GYEVHX$_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$	509
YEVHX$_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$	510
EVHX$_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$	511
VHX$_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$	512
HX$_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$	513

$X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$	514
$X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$G	515
$X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}$VG	516
$X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}$MVG	517
$X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}$LMVG	518
$X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}$GLMVG	519
$X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}$IGLMVG	520
$X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}$IIGLMVG	521
X_{22}DVGSNKX_{29}AIIGLMVG	522
DAEFRHDSGYEVHHX$_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$	523
AEFRHDSGYEVHHX$_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$	524
EFRHDSGYEVHHX$_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$	525
FRHDSGYEVHHX$_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$	526
RHDSGYEVHHX$_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$	527
HDSGYEVHHX$_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$	528
DSGYEVHHX$_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$	529
SGYEVHHX$_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$	530
GYEVHHX$_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$	531
YEVHHX$_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$	532
EVHHX$_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$	533
VHHX$_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$	534
VHX$_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$	535
HX$_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$	536
$X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$	537
$X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}$V	538
$X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}$MV	539
$X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}$LMV	540
$X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}$GLMV	541
$X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}$IGLMV	542
$X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}$IIGLMV	543
X_{22}DVGSNKX_{29}AIIGLMV	544
DAEFRHDSGYEVHHQX$_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}$	545
AEFRHDSGYEVHHQX$_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}$	546
EFRHDSGYEVHHQX$_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}$	547
FRHDSGYEVHHQX$_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}$	548
RHDSGYEVHHQX$_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}$	549
HDSGYEVHHQX$_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}$	550
DSGYEVHHQX$_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}$	551
SGYEVHHQX$_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNK$X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}$	552

GYEVHHQX$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$	553
YEVHHQX$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$	554
EVHHQX$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$	555
VHHQX$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$	556
HHQX$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$	557
HQX$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$	558
QX$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$	559
X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$	560
X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$M	561
X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$LM	562
X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$GLM	563
X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$IGLM	564
X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$IIGLM	565
X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$AIIGLM	566
DAEFRHDSGYEVHHQKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	567
AEFRHDSGYEVHHQKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	568
EFRHDSGYEVHHQKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	569
FRHDSGYEVHHQKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	570
RHDSGYEVHHQKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	571
HDSGYEVHHQKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	572
DSGYEVHHQKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	573
SGYEVHHQKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	574
GYEVHHQKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	575
YEVHHQKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	576
EVHHQKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	577
VHHQKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	578
HHQKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	579
HQKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	580
QKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	581
KX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	582
X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	583
X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$L	584
X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$GL	585
X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$IGL	586
X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$IIGL	587
X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$AIIGL	588
DAEFRHDSGYEVHHQKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	589
AEFRHDSGYEVHHQKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	590
EFRHDSGYEVHHQKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	591

FRHDSGYEVHHQKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	592
RHDSGYEVHHQKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	593
HDSGYEVHHQKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	594
DSGYEVHHQKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	595
SGYEVHHQKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	596
GYEVHHQKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	597
YEVHHQKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	598
EVHHQKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	599
VHHQKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	600
HHQKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	601
HQKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	602
QKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	603
KLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	604
LX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	605
X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	606
X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$G	607
X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$IG	608
X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$IIG	609
X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$AIIG	610
DAEFRHDSGYEVHHQKLVX$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	611
AEFRHDSGYEVHHQKLVX$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	612
EFRHDSGYEVHHQKLVX$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	613
FRHDSGYEVHHQKLVX$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	614
RHDSGYEVHHQKLVX$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	615
HDSGYEVHHQKLVX$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	616
DSGYEVHHQKLVX$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	617
SGYEVHHQKLVX$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	618
GYEVHHQKLVX$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	619
YEVHHQKLVX$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	620
EVHHQKLVX$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	621
VHHQKLVX$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	622
HHQKLVX$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	623
HQKLVX$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	624
QKLVX$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	625
KLVX$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	626
LVX$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	627
VX$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	628
X$_{19}$X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	629
X$_{20}$X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$I	630

$X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}$II	631
X_{22}DVGSNKX$_{29}$AII	632
DAEFRHDSGYEVHHQKLVFX$_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}$	633
AEFRHDSGYEVHHQKLVFX$_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}$	634
EFRHDSGYEVHHQKLVFX$_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}$	635
FRHDSGYEVHHQKLVFX$_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}$	636
RHDSGYEVHHQKLVFX$_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}$	637
HDSGYEVHHQKLVFX$_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}$	638
DSGYEVHHQKLVFX$_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}$	639
SGYEVHHQKLVFX$_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}$	640
GYEVHHQKLVFX$_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}$	641
YEVHHQKLVFX$_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}$	642
EVHHQKLVFX$_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}$	643
VHHQKLVFX$_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}$	644
HHQKLVFX$_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}$	645
HQKLVFX$_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}$	646
QKLVFX$_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}$	647
KLVFX$_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}$	648
LVFX$_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}$	649
VFX$_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}$	650
FX$_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}$	651
$X_{20}X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}X_{31}$	652
$X_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}$I	653
X_{22}DVGSNKX$_{29}$AI	654
DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFX$_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}$	655
AEFRHDSGYEVHHQKLVFFX$_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}$	656
EFRHDSGYEVHHQKLVFFX$_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}$	657
FRHDSGYEVHHQKLVFFX$_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}$	658
RHDSGYEVHHQKLVFFX$_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}$	659
HDSGYEVHHQKLVFFX$_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}$	660
DSGYEVHHQKLVFFX$_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}$	661
SGYEVHHQKLVFFX$_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}$	662
GYEVHHQKLVFFX$_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}$	663
YEVHHQKLVFFX$_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}$	664
EVHHQKLVFFX$_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}$	665
VHHQKLVFFX$_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}$	666
HHQKLVFFX$_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}$	667
HQKLVFFX$_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}$	668
QKLVFFX$_{21}X_{22}$DVGSNKX$_{29}X_{30}$	669

KLVFFX$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$	670
LVFFX$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$	671
VFFX$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$	672
FFX$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$	673
FX$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$	674
X$_{21}$X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$X$_{30}$	675
X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$A	676
DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAX$_{22}$DVGSNKX$_{29}$	677
AEFRHDSGYEVHHQKLVFFAX$_{22}$DVGSNKX$_{29}$	678
EFRHDSGYEVHHQKLVFFAX$_{22}$DVGSNKX$_{29}$	679
FRHDSGYEVHHQKLVFFAX$_{22}$DVGSNKX$_{29}$	680
RHDSGYEVHHQKLVFFAX$_{22}$DVGSNKX$_{29}$	681
HDSGYEVHHQKLVFFAX$_{22}$DVGSNKX$_{29}$	682
DSGYEVHHQKLVFFAX$_{22}$DVGSNKX$_{29}$	683
SGYEVHHQKLVFFAX$_{22}$DVGSNKX$_{29}$	684
GYEVHHQKLVFFAX$_{22}$DVGSNKX$_{29}$	685
YEVHHQKLVFFAX$_{22}$DVGSNKX$_{29}$	686
EVHHQKLVFFAX$_{22}$DVGSNKX$_{29}$	687
VHHQKLVFFAX$_{22}$DVGSNKX$_{29}$	688
HHQKLVFFAX$_{22}$DVGSNKX$_{29}$	689
HQKLVFFAX$_{22}$DVGSNKX$_{29}$	690
QKLVFFAX$_{22}$DVGSNKX$_{29}$	691
KLVFFAX$_{22}$DVGSNKX$_{29}$	692
LVFFAX$_{22}$DVGSNKX$_{29}$	693
VFFAX$_{22}$DVGSNKX$_{29}$	694
FFAX$_{22}$DVGSNKX$_{29}$	695
FAX$_{22}$DVGSNKX$_{29}$	696
AX$_{22}$DVGSNKX$_{29}$	697
X$_{22}$DVGSNKX$_{29}$	698

【００９２】

１つまたは複数の前記配列内共有結合は、記載のとおり、本発明のアミロイドβペプチド類似体のループを安定化させるためであり、必要に応じてさらなる２次構造要素を安定化させるためである。したがって共有結合しているアミノ酸残基は、少なくともループ形成アミノ酸によって、例えば配列ＶＧＳＮ、ＤＶＧＳＮ、ＶＧＳＮＫまたはＱによって本明細書において記載のとおり好都合にも分離される。配列番号３６９－６９８における配列内共有結合の特に好ましい位置は、以下の実施形態の形式で記載され得る。

【００９３】

Ｘ$_{12}$、Ｘ$_{13}$、Ｘ$_{14}$からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とＸ$_{37}$、Ｘ$_{38}$、Ｘ$_{39}$からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している。

【００９４】

Ｘ$_{13}$、Ｘ$_{14}$、Ｘ$_{15}$からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とＸ$_{36}$、Ｘ$_{37}$、Ｘ$_{38}$からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互

に共有結合している。

【００９５】

X_{14}、X_{15}、X_{16}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{35}、X_{36}、X_{37}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している。

【００９６】

X_{15}、X_{16}、X_{17}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{34}、X_{35}、X_{36}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している。

【００９７】

X_{16}、X_{17}、X_{18}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{33}、X_{34}、X_{35}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している。

【００９８】

X_{17}、X_{18}、X_{19}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{32}、X_{33}、X_{34}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している。

【００９９】

X_{18}、X_{19}、X_{20}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{31}、X_{32}、X_{33}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している。

【０１００】

X_{19}、X_{20}、X_{21}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{30}、X_{31}、X_{32}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している。

【０１０１】

X_{20}、X_{21}およびX_{22}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{29}、X_{30}、X_{31}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している。

【０１０２】

より詳細には、アミノ酸残基X_{12}とX_{39}とが、X_{13}とX_{38}とが、X_{14}とX_{37}とが、X_{15}とX_{36}とが、X_{16}とX_{35}とが、X_{17}とX_{34}とが、X_{18}とX_{33}とが、X_{19}とX_{32}とが、X_{20}とX_{31}とが、X_{21}とX_{30}とが、またはX_{22}とX_{29}とが好都合にも相互に共有結合できる。

【０１０３】

本発明のさらなる実施形態によれば、本発明のアミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列は、配列$X_{20}A_{21}E_{22}D_{23}X_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}$を含み、$X_{20}$、$X_{24}$、$X_{25}$、$X_{26}$、$X_{27}$、$X_{28}$、$X_{29}$、$X_{30}$、$X_{31}$がそれぞれ独立に、詳細には本明細書において定義のアミノ酸を表す。前記アミノ酸のそれぞれは他のアミノ酸と、他のアミノ酸がX_{20}、X_{24}、X_{25}、X_{26}、X_{27}、X_{28}、X_{29}、X_{30}、X_{31}または異なるアミノ酸を表すものから選択されて共有結合できる。好ましくはアミノ酸配列$X_{20}A_{21}E_{22}D_{23}$と$X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}$とは逆平行配向にある。

【０１０４】

本発明の詳細なアミロイドβペプチド類似体は、

X_{20}が、フェニルアラニン、チロシン、バリン、ロイシン、イソロイシンおよびメチオニンからなる群から選択されるアミノ酸残基でありフェニルアラニンが好ましく、

X_{24}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニンおよびメチオニンからなる群から選択されるアミノ酸残基でありバリンが好ましく、

X_{25}が、グリシン、アラニンおよびセリンからなる群から選択されるアミノ酸残基であ

りグリシンが好ましく、
X_{26}が、セリン、グリシン、アラニンおよびスレオニンからなる群から選択されるアミノ酸残基でありセリンが好ましく、
X_{27}が、アスパラギン、グルタミンおよびメチオニンからなる群から選択されるアミノ酸残基でありアスパラギンが好ましく、
X_{28}が、リジンおよびアルギニンからなる群から選択されるアミノ酸残基でありリジンが好ましく、
X_{29}が、グリシン、アラニンおよびセリンからなる群から選択されるアミノ酸残基でありグリシンが好ましく、
X_{30}が、アラニン、バリン、グリシンおよびセリンからなる群から選択されるアミノ酸残基でありアラニンが好ましく、
X_{31}が、イソロイシン、ロイシン、バリン、フェニルアラニンおよびメチオニンからなる群から選択されるアミノ酸残基でありイソロイシンが好ましい、
またはこれらの任意の組合せであるものを含む。

【０１０５】

本発明のさらなる詳細なアミロイドβペプチド類似体は、アミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列が配列$X_{20}-Q-X_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}A_{30}I_{31}$を含み、$X_{20}$、$X_{24}$、$X_{25}$、$X_{26}$、$X_{27}$、$X_{28}$、$X_{29}$がそれぞれ独立に、詳細には本明細書において定義のアミノ酸を表し、Ｑが配列ＡＥＤを含むアミノ酸配列であるものを含む。

【０１０６】

アミノ酸配列Ｑは、通例３、４、５または６個のアミノ酸残基からなる。詳細な実施形態によりアミノ酸配列$X_{24}X_{25}X_{26}X_{27}$の少なくとも一部はループを形成している。

【０１０７】

アミロイドβペプチド類似体は、配列$X_{20}A_{21}E_{22}D_{23}X_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}A_{30}I_{31}$を含み、$X_{20}$、$X_{24}$、$X_{25}$、$X_{26}$、$X_{27}$、$X_{28}$、$X_{29}$がそれぞれ独立に、詳細には本明細書において定義のアミノ酸残基を表し、本発明の好ましい実施形態を表す。これらのアミロイドβペプチド類似体において、アミノ酸配列$X_{20}A_{21}E_{22}D_{23}$および$X_{28}X_{29}A_{30}I_{31}$の少なくとも３個の連続アミノ酸は、好ましくは逆平行配向にある。より詳細には、A_{21}（ＮＨ）－A_{30}（ＮＨ）、A_{21}（ＮＨ）－A_{30}（ＣＢ）、A_{21}（ＮＨ）－I_{31}（ＣＤ１）、A_{21}（ＮＨ）－I_{31}（ＣＧ２）およびA_{30}（ＮＨ）－A_{21}（ＣＢ）からなる群から選択される少なくとも１つの原子対についてのプロトン間距離が１．８から６．５オングストロームである場合は好ましい。原子対A_{21}（ＣＯ）－A_{30}（Ｎ）およびA_{30}（ＣＯ）－A_{21}（Ｎ）が３．３±０．５Åの距離にあり、式中ＣＯが主鎖酸素原子を示し、残基のファイ（φ）角が－１８０から－３０の範囲であり、残基のプサイ（ψ）角がおよそ６０から１８０またはおよそ－１８０から－１５０の範囲である場合も好ましい。

【０１０８】

さらなる詳細な実施形態によれば、アミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列は配列番号６９９－９６０からなる群から選択される配列であり、
X_{12}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{13}が、ヒスチジン、チロシン、セリン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{14}が、ヒスチジン、チロシン、セリン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{15}が、グルタミン、アスパラギン、メチオニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{16}が、リジン、アルギニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ

酸残基であり、
X_{17}が、ロイシン、イソロイシン、バリン、フェニルアラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{18}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{19}が、フェニルアラニン、チロシン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{20}が、フェニルアラニン、チロシン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{24}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{25}が、グリシン、アラニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{26}が、セリン、グリシン、アラニン、スレオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{27}が、アスパラギン、グルタミン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{28}が、リジン、アルギニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{29}が、グリシン、アラニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{30}が、アラニン、バリン、グリシン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{31}が、イソロイシン、ロイシン、バリン、フェニルアラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{32}が、イソロイシン、ロイシン、バリン、フェニルアラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{33}が、グリシン、アラニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{34}が、ロイシン、イソロイシン、バリン、フェニルアラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{35}が、メチオニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{36}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{37}が、グリシン、アラニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{38}が、グリシン、アラニン、セリンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{39}が、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン、メチオニンまたは配列の他のアミノ酸残基に共有結合しているアミノ酸残基であり、
X_{12}、X_{13}、X_{14}、X_{15}、X_{16}、X_{17}、X_{18}、X_{19}、X_{20}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX_{29}、X_{30}、X_{31}、X_{32}、X_{33}、X_{34}、X_{35}、X_{36}、X_{37}、X_{38}およびX_{39}からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している。
【０１０９】

【表３】

配列	
DAEFRHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIAT	699
AEFRHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIAT	701
EFRHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIAT	702
FRHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIAT	703
RHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIAT	704
HDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIAT	705
DSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIAT	706
SGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIAT	707
GYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIAT	708
YEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIAT	709
EX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIAT	710
X$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIAT	711
X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$VVIAT	712
X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$GVVIAT	713
X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$GGVVIAT	714
X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$VGGVVIAT	715
X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$MVGGVVIAT	716
X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$LMVGGVVIAT	717
X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$GLMVGGVVIAT	718
X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$IGLMVGGVVIAT	719
DAEFRHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIA	720
AEFRHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIA	721
EFRHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIA	722
FRHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIA	723
RHDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIA	724
HDSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIA	725
DSGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIA	726
SGYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIA	727
GYEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIA	728
YEX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIA	729
EX$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIA	730
X$_{12}$X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$X$_{39}$VIA	731
X$_{13}$X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$X$_{38}$VVIA	732
X$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$X$_{37}$GVVIA	733

$X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$GGVVIA	734
$X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}$VGGVVIA	735
$X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}$MVGGVVIA	736
$X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}$LMVGGVVIA	737
$X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}$GLMVGGVVIA	738
X_{20}AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}$IGLMVGGVVIA	739
DAEFRHDSGYEX$_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$VI	740
AEFRHDSGYEX$_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$VI	741
EFRHDSGYEX$_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$VI	742
FRHDSGYEX$_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$VI	743
RHDSGYEX$_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$VI	744
HDSGYEX$_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$VI	745
DSGYEX$_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$VI	746
SGYEX$_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$VI	747
GYEX$_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$VI	748
YEX$_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$VI	749
EX$_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$VI	750
$X_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$VI	751
$X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}$VVI	752
$X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$GVVI	753
$X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$GGVVI	754
$X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}$VGGVVI	755
$X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}$MVGGVVI	756
$X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}$LMVGGVVI	757
$X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}$GLMVGGVVI	758
X_{20}AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}$IGLMVGGVVI	759
DAEFRHDSGYEX$_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$V	760
AEFRHDSGYEX$_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$V	761
EFRHDSGYEX$_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$V	762
FRHDSGYEX$_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$V	763
RHDSGYEX$_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$V	764
HDSGYEX$_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$V	765
DSGYEX$_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$V	766
SGYEX$_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$V	767
GYEX$_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$V	768
YEX$_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$V	769
EX$_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$V	770
$X_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$V	771
$X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}$AEDX$_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}$VV	772

$X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}GVV$	773
$X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}GGVV$	774
$X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}VGGVV$	775
$X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}MVGGVV$	776
$X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}LMVGGVV$	777
$X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}GLMVGGVV$	778
$X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}IGLMVGGVV$	779
$DAEFRHDSGYEX_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$	780
$AEFRHDSGYEX_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$	781
$EFRHDSGYEX_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$	782
$FRHDSGYEX_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$	783
$RHDSGYEX_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$	784
$HDSGYEX_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$	785
$DSGYEX_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$	786
$SGYEX_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$	787
$GYEX_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$	788
$YEX_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$	789
$EX_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$	790
$X_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$	791
$X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}V$	792
$X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}GV$	793
$X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}GGV$	794
$X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}VGGV$	795
$X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}MVGGV$	796
$X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}LMVGGV$	797
$X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}GLMVGGV$	798
$X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}IGLMVGGV$	799
$DAEFRHDSGYEVX_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}$	800
$AEFRHDSGYEVX_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}$	801
$EFRHDSGYEVX_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}$	802
$FRHDSGYEVX_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}$	803
$RHDSGYEVX_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}$	804
$HDSGYEVX_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}$	805
$DSGYEVX_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}$	806
$SGYEVX_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}$	807
$GYEVX_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}$	808
$YEVX_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}$	809
$EVX_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}$	810
$VX_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}$	811

$X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}$	813
$X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}G$	814
$X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}GG$	815
$X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}VGG$	816
$X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}MVGG$	817
$X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}LMVGG$	818
$X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}GLMVGG$	819
$X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}IGLMVGG$	820
$DAEFRHDSGYEVHX_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$	821
$AEFRHDSGYEVHX_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$	822
$EFRHDSGYEVHX_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$	823
$FRHDSGYEVHX_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$	824
$RHDSGYEVHX_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$	825
$HDSGYEVHX_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$	826
$DSGYEVHX_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$	827
$SGYEVHX_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$	828
$GYEVHX_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$	829
$YEVHX_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$	830
$EVHX_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$	831
$VHX_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$	832
$HX_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$	833
$X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}$	834
$X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}G$	835
$X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}VG$	836
$X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}MVG$	837
$X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}LMVG$	838
$X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}GLMVG$	839
$X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}IGLMVG$	840
$DAEFRHDSGYEVHHX_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$	841
$AEFRHDSGYEVHHX_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$	842
$EFRHDSGYEVHHX_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$	843
$FRHDSGYEVHHX_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$	844
$RHDSGYEVHHX_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$	845
$HDSGYEVHHX_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$	846
$DSGYEVHHX_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$	847
$SGYEVHHX_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$	848
$GYEVHHX_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$	849
$YEVHHX_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$	850
$EVHHX_{15}X_{16}X_{17}X_{18}X_{19}X_{20}AEDX_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}$	851

VHHX$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$	852
VHX$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$	853
HX$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$	854
X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$X$_{36}$	855
X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$V	856
X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$MV	857
X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$LMV	858
X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$GLMV	859
X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$IGLMV	860
DAEFRHDSGYEVHHQX$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$	861
AEFRHDSGYEVHHQX$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$	862
EFRHDSGYEVHHQX$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$	863
FRHDSGYEVHHQX$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$	864
RHDSGYEVHHQX$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$	865
HDSGYEVHHQX$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$	866
DSGYEVHHQX$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$	867
SGYEVHHQX$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$	868
GYEVHHQX$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$	869
YEVHHQX$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$	870
EVHHQX$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$	871
VHHQX$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$	872
HHQX$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$	873
HQX$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$	874
QX$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$	875
X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$X$_{35}$	876
X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$M	877
X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$LM	878
X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$GLM	879
X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$IGLM	880
DAEFRHDSGYEVHHQKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	881
AEFRHDSGYEVHHQKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	882
EFRHDSGYEVHHQKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	883
FRHDSGYEVHHQKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	884
RHDSGYEVHHQKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	885
HDSGYEVHHQKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	886
DSGYEVHHQKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	887
SGYEVHHQKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	888
GYEVHHQKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	889
YEVHHQKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	890

EVHHQKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	891
VHHQKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	892
HHQKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	893
HQKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	894
QKX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	895
KX$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	896
X$_{17}$X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$X$_{34}$	897
X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$L	898
X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$GL	899
X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$IGL	900
DAEFRHDSGYEVHHQKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	901
AEFRHDSGYEVHHQKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	902
EFRHDSGYEVHHQKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	903
FRHDSGYEVHHQKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	904
RHDSGYEVHHQKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	905
HDSGYEVHHQKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	906
DSGYEVHHQKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	907
SGYEVHHQKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	908
GYEVHHQKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	909
YEVHHQKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	910
EVHHQKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	911
VHHQKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	912
HHQKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	913
HQKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	914
QKLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	915
KLX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	916
LX$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	917
X$_{18}$X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$X$_{33}$	918
X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$G	919
X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$IG	920
DAEFRHDSGYEVHHQKLVX$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	921
AEFRHDSGYEVHHQKLVX$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	922
EFRHDSGYEVHHQKLVX$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	923
FRHDSGYEVHHQKLVX$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	924
RHDSGYEVHHQKLVX$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	925
HDSGYEVHHQKLVX$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	926
DSGYEVHHQKLVX$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	927
SGYEVHHQKLVX$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	928
GYEVHHQKLVX$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	929

YEVHHQKLVX$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{25}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	930
EVHHQKLVX$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	931
VHHQKLVX$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	932
HHQKLVX$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	933
HQKLVX$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	934
QKLVX$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	935
KLVX$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	936
LVX$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	937
VX$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	938
X$_{19}$X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$X$_{32}$	939
X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$I	940
DAEFRHDSGYEVHHQKLVFX$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$	941
AEFRHDSGYEVHHQKLVFX$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$	942
EFRHDSGYEVHHQKLVFX$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$	943
FRHDSGYEVHHQKLVFX$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$	944
RHDSGYEVHHQKLVFX$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$	945
HDSGYEVHHQKLVFX$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{25}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$	946
DSGYEVHHQKLVFX$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$	947
SGYEVHHQKLVFX$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$	948
GYEVHHQKLVFX$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$	949
YEVHHQKLVFX$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$	950
EVHHQKLVFX$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$	951
VHHQKLVFX$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$	952
HHQKLVFX$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$	953
HQKLVFX$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$	954
QKLVFX$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$	955
KLVFX$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$	956
LVFX$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$	957
VFX$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$	958
FX$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$	959
X$_{20}$AEDX$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$X$_{28}$X$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$	960

【０１１０】

１つまたは複数の前記配列内共有結合は、記載のとおり本発明のアミロイドβペプチド類似体のループを安定化させるためであり、必要に応じてさらなる２次構造要素を安定化させるためである。したがって共有結合しているアミノ酸残基は、少なくともループ形成アミノ酸、例えば配列X$_{24}$X$_{25}$X$_{26}$X$_{27}$によって本明細書において記載のとおり好都合にも分離される。配列番号６９９－９６０における配列内共有結合の特に好ましい位置は、以下の実施形態の形式で記載され得る。

【０１１１】

X$_{12}$、X$_{13}$、X$_{14}$からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX$_{37}$、X$_{38}$、X$_{39}$からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している。

【０１１２】

X$_{13}$、X$_{14}$、X$_{15}$からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX

$_{36}$、X$_{37}$、X$_{38}$からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している。

【０１１３】

X$_{14}$、X$_{15}$、X$_{16}$からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX$_{35}$、X$_{36}$、X$_{37}$からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している。

【０１１４】

X$_{15}$、X$_{16}$、X$_{17}$からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX$_{34}$、X$_{35}$、X$_{36}$からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している。

【０１１５】

X$_{16}$、X$_{17}$、X$_{18}$からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX$_{33}$、X$_{34}$、X$_{35}$からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している。

【０１１６】

X$_{17}$、X$_{18}$、X$_{19}$からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX$_{32}$、X$_{33}$、X$_{34}$からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している。

【０１１７】

X$_{18}$、X$_{19}$、X$_{20}$からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX$_{31}$、X$_{32}$、X$_{33}$からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している。

【０１１８】

X$_{19}$、X$_{20}$からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とX$_{30}$、X$_{31}$、X$_{32}$からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している。

【０１１９】

アミノ酸残基X$_{20}$とX$_{29}$、X$_{30}$、X$_{31}$からなる群から選択される少なくとも１個のアミノ酸残基とが相互に共有結合している。

【０１２０】

より詳細には、アミノ酸残基X$_{12}$とX$_{39}$とが、X$_{13}$とX$_{38}$とが、X$_{14}$とX$_{37}$とが、X$_{15}$とX$_{36}$とが、X$_{16}$とX$_{35}$とが、X$_{17}$とX$_{34}$とが、X$_{18}$とX$_{33}$とが、X$_{19}$とX$_{32}$とが、またはX$_{20}$とX$_{31}$とが好都合にも相互に共有結合できる。

【０１２１】

本発明のアミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列が、本明細書において具体的に記載される以外のアミノ酸残基も含み得ることに留意されたい。詳細には、１個または１個を超える追加的アミノ酸残基が配列番号１－９６０からなる群から選択される配列のＮ末端位置および／またはＣ末端位置に存在できる。例えば本発明のアミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列は、特にアミノ酸配列に相当するペプチドが原核生物宿主において組換え的に産生される場合に、配列番号１－９６０に明記する配列の内の１つのＮ末端位置にメチオニンを含み得る。さらに１個または１個を超えるアミノ酸が本明細書において記載のアミノ酸配列に挿入され得る。

【０１２２】

配列番号１－９６０において、配列番号１、配列番号３６９または配列番号６９９のいずれかからＮ末端アミノ酸を３、１１、１５または１９個欠失している配列が本発明の詳細な実施形態を表すことにさらに留意されたい。

【０１２３】

同様に配列番号１－９６０において、配列番号１、配列番号３６９または配列番号６９９のいずれかからＣ末端アミノ酸を１、２、３、４、５、６、７または８個欠失している

配列が本発明の詳細な実施形態を表すことに留意されたい。

【０１２４】

本発明の詳細な実施形態は、アミノ酸配列がＡβ（１－４２）、Ａβ（１２－４２）、Ａβ（１６－４２）、Ａβ（２０－４２）またはＡβ（１６－３５）であり、位置１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１または２２のアミノ酸がシステイン、リジン、グルタミン酸またはアスパラギン酸からなる群から選択され、具体的にはシステインまたはリジンであり、位置３７、３６、３５、３４、３３、３２、３１、３０または２９のアミノ酸がシステイン、リジン、グルタミン酸またはアスパラギン酸からなる群から選択され、詳細にはシステイン、リジンまたはグルタミン酸であり、位置１４のアミノ酸が位置３７のアミノ酸と共有結合しており、位置１５のアミノ酸が位置３６のアミノ酸と共有結合しており、位置１６のアミノ酸が位置３５のアミノ酸と共有結合しており、位置１７のアミノ酸が位置３４のアミノ酸と共有結合しており、位置１８のアミノ酸が位置３３のアミノ酸と共有結合しており、位置１９のアミノ酸が位置３２のアミノ酸と共有結合しており、位置１２０のアミノ酸が位置３１のアミノ酸と共有結合しており、位置２１のアミノ酸が位置３０のアミノ酸と共有結合しており、位置２２のアミノ酸が位置２９のアミノ酸と共有結合している、本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体を含む。

【０１２５】

２個のアミノ酸残基間の共有結合は、当技術分野において周知の種々の手段、例えばジスルフィド架橋形成または架橋結合技術によって達成され得る。詳細には、アミノ酸残基の側鎖は、相互に結合され得る。特に官能基、例えばチオール、アミノ、カルボキシルまたはヒドロキシル基を有する側鎖は、例えばジスルフィド結合を形成する２個のシステイン残基などのように直接相互に結合でき、またはリンカーを介して間接的に結合できる。したがって他のアミノ酸残基と共有結合しているアミノ酸残基は、詳細には、システイン、リジン、アスパラギン酸およびグルタミン酸からなる群から選択されるアミノ酸残基であり得る。

【０１２６】

タンパク質の架橋は、多くの先行文献を含む長く包括的な歴史を有する。天然または非天然アミノ酸側鎖の間に特定の共有結合架橋の作製を可能にする当業者に周知の任意の方法は、本発明において計画する位置特異的架橋を形成するために使用され得る。この方法のいくつかの例を下に列挙する。

【０１２７】

当業者に周知である多数の化学的架橋結合剤がある。本発明のために好ましい架橋剤としてホモ二官能性架橋リンカーおよびヘテロ二官能性架橋リンカーが挙げられ、ヘテロ二官能性架橋リンカーが段階的なやり方でアミノ酸を架橋するこれらの適合性のため好まれる。

【０１２８】

ヘテロ二官能性架橋リンカーは、より特異的な架橋を確立する能力も提供し、それにより望ましくない副反応の発生を低減する。

【０１２９】

多種多様なヘテロ二官能性架橋リンカーが当技術分野において周知である。

【０１３０】

これらは、２つのアミノ（－NH_2）基の間、１つのアミノ基と１つのチオール（またはスフヒドリル、すなわち－ＳＨ）基の間または２つのチオール基の間の結合を形成するためのヘテロ二官能性架橋リンカーを含む。

【０１３１】

ヘテロ二官能基架橋リンカーの一部として有用な１つの反応基は、アミン反応基である。慣用のアミン反応基として、Ｎ－ヒドロキシサクシニミド（ＮＨＳ）エステルが挙げられる。ＮＨＳエステルは、わずかに酸性から中性（ｐＨ６．５－７．５）条件下で遊離アミン（例えばリジン残基）と数分の内に特異的に反応する。

【０１３２】

Ｎ－ヒドロキシサクシニミド成分を有する架橋結合剤は、一般により高い水溶性を有するこれらのＮ－ヒドロキシスルホサクシニミド類似体の形態においても使用され得ることが記載される。

【０１３３】

ヘテロ二官能性架橋リンカーの一部として有用な他の反応基は、チオール反応基である。慣用のチオール反応基として、マレイミド、ハロゲンおよびピリジルジスルフィドが挙げられる。マレイミドは、好ましくはわずかに酸性から中性（ｐＨ６．５－７．５）条件下で遊離チオール基（例えばシステイン残基中の）と数分の内に特異的に反応する。ハロゲン（ヨードアセチル官能基）は、－ＳＨ基と生理学的ｐＨで反応する。これら両方の反応基は、安定なチオエーテル結合の形成をもたらす。

【０１３４】

例えばサクシニミジル－４－（Ｎ－マレイミドメチル）－シクロヘキサン－１－カルボキシレート（ＳＭＣＣ）またはスルホ－ＳＭＣＣは、例えばＬｙｓ側鎖のアミンと例えばＣｙｓ側鎖の遊離ＳＨとの間の架橋結合を形成するために使用され得る。アミン反応性Ｎ－ヒドロキシサクシニミド（ＮＨＳ）エステルは、アミノ基（例えばＬｙｓ残基のアミノ基）と反応し安定なアミド結合を形成する。生じるマレイミド活性化ペプチドは、次いで同じペプチドのスルフヒドリル基（例えばＣｙｓ残基のスルフヒドリル基）と反応しジスルフィド結合を形成し、それにより共有結合を確立する。この化学は文献に十分に記載されており；例えば、Ｕｔｏ．Ｉ．ら、（１９９１）、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ １３８、８７－９４頁；Ｂｉｅｎｉａｒｚ，Ｃ．ら、（１９９６）、Ｅｘｔｅｎｄｅｄ Ｌｅｎｇｔｈ Ｈｅｔｅｒｏｂｉｆｕｎｃｔｉｏｎａｌ Ｃｏｕｐｌｉｎｇ Ａｇｅｎｔｓ ｆｏｒ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｃｏｎｊｕｇａｔｉｏｎｓ．Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇ．Ｃｈｅｍ．７，８８－９５頁；Ｃｈｒｉｓｅｙ，Ｌ．Ａ．ら、（１９９６）．Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２４（１５），３０３１－３０３９頁；Ｋｕｉｊｐｅｒｓ，Ｗ．Ｈ．ら、（１９９３）、Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇ．Ｃｈｅｍ．４（１）、９４－１０２頁；Ｂｒｉｎｋｌｅｙ，Ｍ．Ａ．（１９９２）．Ａ ｓｕｒｖｅｙ ｏｆ ｍｅｔｈｏｄｓ ｆｏｒ ｐｒｅｐａｒｉｎｇ ｐｒｏｔｅｉｎ ｃｏｎｊｕｇａｔｅｓ ｗｉｔｈ ｄｙｅｓ，ｈａｐｔｅｎｓ ａｎｄ ｃｒｏｓｓｌｉｎｋｉｎｇ ｒｅａｇｅｎｔｓ．Ｂｉｏ ｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ．３，２－１３頁；Ｈａｓｈｉｄａ，Ｓ．ら、（１９８４）．Ｍｏｒｅ ｕｓｅｆｕｌ ｍａｌｅｉｍｉｄｅ ｃｏｍｐｏｕｎｄｓ ｆｏｒ ｔｈｅ ｃｏｎｊｕｇａｔｉｏｎ ｏｆ Ｆａｂ ｔｏ ｈｏｒｓｅｒａｄｉｓｈ ｐｅｒｏｘｉｄａｓｅ ｔｈｒｏｕｇｈ ｔｈｉｏｌ ｇｒｏｕｐｓ ｉｎ ｔｈｅ ｈｉｎｇｅ．Ｊ．Ａｐｐｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．６、５６－６３頁；Ｍａｔｔｓｏｎ、Ｇ．ら、（１９９３）．Ａ ｐｒａｃｔｉｃａｌ ａｐｐｒｏａｃｈ ｔｏ ｃｒｏｓｓｌｉｎｋｉｎｇ．Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ Ｒｅｐｏｒｔｓ １７、１６７－１８３頁；Ｐａｒｔｉｓ、Ｍ．Ｄ．ら、（１９８３）．Ｃｒｏｓｓｌｉｎｋｉｎｇ ｏｆ ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｂｙ ｏｍｅｇａ－ｍａｌｅｉｍｉｄｏ ａｌｋａｎｏｙｌ Ｎ－ｈｙｄｒｏｘｙｓｕｃｃｉｎｉｍｉｄｅ ｅｓｔｅｒｓ．Ｊ．Ｐｒｏｔｅｉｎ．Ｃｈｅｍ．２、２６３－２７７頁；Ｓａｍｏｓｚｕｋ，Ｍ．Ｋ．ら（１９８９）．Ａ ｐｅｒｏｘｉｄｅ－ｇｅｎｅｒａｔｉｎｇ ｉｍｍｕｎｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ ｄｉｒｅｃｔｅｄ ｔｏ ｅｏｓｉｎｏｐｈｉｌ ｐｅｒｏｘｉｄａｓｅ ｉｓ ｃｙｔｏｔｏｘｉｃ ｔｏ Ｈｏｄｇｋｉｎ’ｓ ｄｉｓｅａｓｅ ｃｅｌｌｓ ｉｎ ｖｉｔｒｏ．Ａｎｔｉｂｏｄｙ，Ｉｍｍｕｎｏｃｏｎｊｕｇａｔｅｓ ａｎｄ Ｒａｄｉｏｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ ２、３７－４５頁；Ｙｏｓｈｉｔａｋｅ、Ｓ．ら、（１９８２）．Ｍｉｌｄ ａｎｄ ｅｆｆｉｃｉｅｎｔ ｃｏｎｊｕｇａｔｉｏｎ ｏｆ ｒａｂｂｉｔ Ｆａｂ ａｎｄ ｈｏｒｓｅｒａｄｉｓｈ ｐｅｒｏｘｉｄａｓｅ ｕｓｉｎｇ ａ ｍａｌｅｉｍｉｄｅ ｃｏｍｐｏｕｎｄ ａｎｄ ｉｔｓ ｕｓｅ ｆｏｒ ｅｎｚｙｍｅ ｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ．Ｊ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．９２、１４１３－１４２４頁を参照されたい。

【０１３５】

さらなるヘテロ二官能性架橋リンカーは、同様に使用され得る、例えば（［Ｎ－ε－マ

レイミドカプロイルオキシ］サクシニミドエステル、Ｎ－［γ－マレイミドブチリルオキシ］サクシニミドエステル、Ｎ－［κ－マレイミドウンデカノイルオキシ］スルホサクシニミドエステル、ｍ－マレイミドベンゾイル－Ｎ－ヒドロキシサクシニミドエステル（ＭＢＳ）またはこれらのスルホサクシニミド類似体（例えばスルホ－ＭＢＳ）。

【０１３６】

例えばＬｙｓ側鎖のアミンと例えばＣｙｓ側鎖の遊離－ＳＨとの間の架橋結合を形成するために使用され得るヘテロ二官能性架橋リンカーのさらなる例は、サクシニミジル－６－［（３－（２－ピリジルジチオ）－プロピオン酸］ヘキサン酸（ＬＣ－ＳＰＤＰ）またはスルホ－ＬＣ－ＳＰＤＰである。アミン反応性Ｎ－ヒドロキシサクシニミド（ＮＨＳ）エステルは、アミノ基（例えばＬｙｓ残基の）と反応し安定なアミド結合を形成する。生じたペプチドは、次いで同じペプチドのスルフヒドリル基（例えばＣｙｓ残基の）と反応し、ジスルフィド結合を形成するピリジルジスルフィド基を有し、それにより共有結合を確立する。この化学は文献に十分に記載されており；例えばＣａｒｌｓｓｏｎ，Ｊ．ら、（１９７８）Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｊ．１７３、７２３－７３７頁；Ｓｔａｎ，Ｒ．Ｖ．（２００４）Ａｍ．Ｊ．Ｐｈｙｓｉｏｌ．Ｈｅａｒｔ　Ｃｉｒｃ．Ｐｈｙｓｉｏｌ．２８６、Ｈ１３４７－Ｈ１３５３；Ｍａｄｅｒ，Ｃ．ら、（２００４）Ｊ．Ｂａｃｔｅｒｉｏｌ．１８６、１７５８－１７６８頁を参照されたい。

【０１３７】

さらなるヘテロ二官能性架橋リンカーは、同様の様式で使用され得る、例えば４－サクシニミジルオキシカルボニル－α－メチル－α－（２－ピリジルジチオ）－トルエン（ＳＭＰＴ）またはスルホ－ＳＭＰＴ、Ｎ－サクシニミジル－３－（２－ピリジルジチオ）－プロピオン酸（ＳＰＤＰ）またはスフホ－ＳＰＤＰ。

【０１３８】

（例えばＬｙｓ側鎖の）アミンと（例えばＣｙｓ側鎖の）遊離－ＳＨとの間に架橋結合を形成するために使用され得るヘテロ二官能性架橋リンカーのさらなる例は、Ｎ－サクシニミジル－Ｓ－アセチルチオ酢酸（ＳＡＴＡ）またはスフホ－ＳＡＴＡである。アミン反応性Ｎ－ヒドロキシサクシニミド（ＮＨＳ）エステルは、アミノ基（例えばＬｙｓ残基のアミノ基）と反応し、安定なアミド結合を形成する。得られたペプチドの保護された－ＳＨ基は、次いでヒドロキシルアミンでの処置によって脱保護され、得られた遊離－ＳＨは、次いで同じペプチドのスルフヒドリル基（例えばＣｙｓ残基のスルフヒドリル基）と反応してジスルフィド結合を形成し、それにより共有結合を確立する。

【０１３９】

さらなるヘテロ二官能性架橋リンカーは、同様の様式で使用され得る、例えばＮ－サクシニミジル－Ｓ－アセチルチオプロピオン酸またはそのスルホサクシニミド類似体。

【０１４０】

さらなる適切なヘテロ二官能性架橋リンカーとして、Ｎ－サクシニミジル－（４－ヨードアセチル）－アミノ安息香酸（ＳＩＡＢ）またはスルホ－ＳＩＡＢが挙げられる。

【０１４１】

特定の、段階的架橋結合もアミノ基（－NH_2）とカルボキシ基（－ＣＯＯＨ）との間に形成され得る。

【０１４２】

例えば１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）－カルボジイミド塩酸塩（ＥＤＣ）は、例えばＬｙｓ側鎖のアミンと酸性側鎖の遊離－ＣＯＯＨとの間の架橋結合を形成するために使用され得る。カルボキシ反応性カルボジイミドは、カルボキシ基（例えばＡｓｐ、Ｇｌｕ、Ｄａｂ（２，４－ジアミノ酪酸）、Ｄａｐ（２，４－ジアミノプロピオン酸）またはオルニチン残基のカルボキシ基）と反応して不安定なｏ－アシルイソウレアエステルを形成する。反応性ｏ－アシルイソウレアエステルは、次いで同じペプチドのアミノ基（例えばＬｙｓ残基のアミノ基）と反応してアミド結合を形成し、それにより共有結合を確立する。別法として反応性ｏ－アシルイソウレアエステルは、Ｎ－ヒドロキシサクシニミド、Ｎ－ヒドロキシスルホサクシニミドまたはスルホ－Ｎ－ヒドロキシスルホサ

クシニミドと反応でき、半安定性アミン反応性ＮＨＳエステルを生じ、次いで同じペプチドのアミノ基（例えばＬｙｓ残基のアミノ基）と反応してアミド結合を形成し、それにより共有結合を確立する。この化学は文献に十分に記載されており、例えば：ＤｅＳｌｉｖａ，Ｎ．Ｓ．（２００３）Ｉｎｔｅｒａｃｔｉｏｎｓ ｏｆ Ｓｕｒｆａｃｔａｎｔ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｄ ｗｉｔｈ Ｆａｔｔｙ Ａｃｉｄｓ．Ａｍ．Ｊ．Ｒｅｓｐｉｒ．Ｃｅｌｌ Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２９、７５７－７７０頁；Ｇｒａｂａｒｅｋ，Ｚ．およびＧｅｒｇｅｌｙ，Ｊ．（１９９０）Ｚｅｒｏ－ｌｅｎｇｔｈ ｃｒｏｓｓｌｉｎｋｉｎｇ ｐｒｏｃｅｄｕｒｅ ｗｉｔｈ ｔｈｅ ｕｓｅ ｏｆ ａｃｔｉｖｅ ｅｓｔｅｒｓ．Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．１８５、１３１－１３５頁；Ｓｉｎｚ，Ａ．（２００３）．Ｊ．Ｍａｓｓ Ｓｐｅｃｔｒｏｍ．３８、１２２５－１２３７頁．Ｓｔａｒｏｓ，Ｊ．Ｖ．，Ｗｒｉｇｈｔ，Ｒ．Ｗ．およびＳｗｉｎｇｌｅ，Ｄ．Ｍ．（１９８６）Ｅｎｈａｎｃｅｍｅｎｔ ｂｙ Ｎ－ｈｙｄｒｏｘｙｓｕｌｆｏｓｕｃｃｉｎｉｍｉｄｅ ｏｆ ｗａｔｅｒ－ｓｏｌｕｂｌｅ ｃａｒｂｏｄｉｉｍｉｄｅ－ｍｅｄｉａｔｅｄ ｃｏｕｐｌｉｎｇ ｒｅａｃｔｉｏｎｓ．Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．１５６、２２０－２２２頁；Ｔａｎｉｕｃｈｉ，Ｍ．ら、（１９８６）．Ｉｎｄｕｃｔｉｏｎ ｏｆ ｎｅｒｖｅ ｇｒｏｗｔｈ ｆａｃｔｏｒ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ｉｎ Ｓｃｈｗａｎｎ ｃｅｌｌｓ ａｆｔｅｒ ａｘｏｔｏｍｙ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ８３、４０９４－４０９８頁を参照されたい。

【０１４３】

ヘテロ二官能性架橋リンカーは、Ｌｙｓ（Ｎ３）とプロパギルグリシンアミノ酸との反応も含む。この反応は、溶液中または樹脂上で実施され得る（例えばＪｉａｎｇ，Ｓ．，（２００８）Ｃｕｒｒ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．１２，１５０２－１５４２頁およびこれの参照文献に記載のとおり。）。

【０１４４】

架橋リンカーの詳細な種類、具体的にはヘテロ二官能性架橋リンカーは光反応性架橋リンカーを含む。

【０１４５】

例えば（ＳＤＡ）は、（例えばＬｙｓ側鎖の）アミンと（例えば他のＬｙｓ側鎖の）アミンとの間の架橋結合を形成するために使用され得る。アミン反応性Ｎ－ヒドロキシサクシニミド（ＮＨＳ）エステルは、アミノ基（例えばＬｙｓ残基のアミノ基）と反応し安定なアミド結合を形成する。生じるペプチドは、感光性ジアジリン成分を有し、ＵＶ光への暴露において同じペプチドのアミノ基（例えばＬｙｓ残基のアミノ基）と反応して安定な結合を形成し、それにより共有結合を確立する。

【０１４６】

さらなる適切な光反応性架橋リンカーとして、ビス－［β－（４－アジドサリチルアミド）－エチル］－ジスルフィド（ＢＡＳＥＤ）およびＮ－サクシニミジル－６－（４’－アジド－２’－ニトロフェニル－アミノ）－ヘキサン酸（ＳＡＮＰＡＨ）が挙げられる。

【０１４７】

ヘテロ二官能性架橋リンカーに加えて、ホモ二官能性架橋リンカーを含む多数の他の架橋リンカー剤が存在する。

【０１４８】

これらは、２つのアミノ（－NH_2）基の間の結合を形成するためのホモ二官能性架橋リンカーを含む。

【０１４９】

例えばジサクシニミジルスベリン酸（ＤＳＳ）は、（例えばＬｙｓ側鎖の）アミンと（例えば他のＬｙｓ側鎖の）アミンとの間の架橋結合を形成するために使用され得る。アミン反応性Ｎ－ヒドロキシサクシニミド（ＮＨＳ）エステルは、アミノ基（例えばＬｙｓ残基のアミノ基）と反応し安定なアミド結合を形成する。生じるペプチドは、次いで同じペプチドの他のアミノ基（例えばＬｙｓ残基のアミノ基）と反応してさらなる安定なアミド結合を形成し、それにより共有結合を確立する。

【０１５０】
さらなる適切なホモ二官能性架橋リンカーは、ビスマレイミドヘキサン（ＢＭＨ）およびピメルイミド酸ジメチル（ＤＭＰ）を含む。
【０１５１】
さらなる適切なホモ二官能性架橋リンカーは、２個のシステイン間のメチレンジチオエーテル結合を含む。ペプチドとＴＢＡＦ（フッ化テトラブチルアンモニウム）との反応は、部分的に脱保護されたペプチドを含有する樹脂上で実施されることができ、切断が続く（例えば、Ｕｅｋｉら、（１９９９）Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．、９、１７６７－１７７２頁およびＵｅｋｉら、ｉｎ Ｐｅｐｔｉｄｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ、１９９９、５３９－５４１頁を参照されたい。）。
【０１５２】
さらなる適切なホモ二官能性架橋リンカー系は、アリルグリシン間の（例えば、Ｗｅｌｓ，Ｂ．ら、（２００５）Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．１３、４２２１－４２２７頁を参照されたい。）または修飾アミノ酸、例えば（Ｓ）－Ｆｍｏｃ－α（２’ペンテニル）アラニン間の（例えば、Ｗａｌｅｎｓｋｙ，Ｌ．Ｄ．ら、（２００４）Ｓｃｉｅｎｃｅ ３０５、１４６６－１４７０頁；Ｓｃｈａｆｍｅｉｓｔｅｒ，Ｃ．Ｅ．ら、（２０００）Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．１２２、５８９１－５８９２頁；Ｑｉｕ，Ｗ．ら、（２０００）Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ ５６、２５７７－２５８２頁；Ｂｅｌｏｋｏｎ，Ｙ．Ｎ．ら、（１９９８）Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ：Ａｓｙｍｍｅｔｒｙ、９、４２４９－４２５２頁）；Ｑｉｕ Ｗ．，（２００８）Ａｎａｓｐｅｃ ｐｏｓｔｅｒ ａｔ ２０ｔｈ Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｐｅｐｔｉｄｅ Ｓｏｃｉｅｔｙ Ａｎｎｕａｌ Ｍｅｅｔｉｎｇを参照されたい。）閉環メタセシス反応を含む。これらの反応は、それぞれ溶液中の保護されたペプチド断片上でまたは樹脂上で実施され得る。
【０１５３】
ホモおよびヘテロ二官能性架橋リンカーは、スペーサーアームまたはブリッジを含み得る。ブリッジは、２つの反応性末端をつないでいる構造である。ブリッジの最も明らかな特質は、立体障害へのその効果である。ある場合には、長いブリッジは、２個のアミノ酸残基を結合するために必要な距離により容易に及び得る。
【０１５４】
２個の非連続アミノ酸残基間の１つの共有結合は十分な安定化を提供し得るが、本発明のアミロイドβペプチド類似体は１つより多い共有結合を含み得る。
【０１５５】
本発明は、本明細書において定義の複数のアミロイドβペプチド類似体を含むオリゴマーにも関する。
【０１５６】
用語「オリゴマー」は本明細書において、均一性および異なる物理的特徴を有する本明細書において定義の２つ以上のアミロイドβペプチド類似体の非共有結合性会合を意味する。一態様によれば、オリゴマーは、アミロイドβペプチド類似体の安定な、非原線維性のオリゴマー会合体である。一実施形態によれば、前記会合体は、２から２８個のアミロイドβペプチド類似体を含む。
【０１５７】
そのようなオリゴマーは、２つまたはアミロイドβペプチド類似体間の具体的な相互作用によってさらに特徴付けられ得る。
【０１５８】
例えば各アミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列が、１つのアミロイドβペプチド類似体（Ａ）の配列$L^{A}_{34}M^{A}_{35}V^{A}_{36}G^{A}_{37}G^{A}_{38}$が別のアミロイドβペプチド類似体（Ｂ）の配列$L^{B}_{34}M^{B}_{35}V^{B}_{36}G^{B}_{37}G^{B}_{38}$と平行配向にある配列$L_{34}M_{35}V_{36}G_{37}G_{38}$を含む場合は好ましい。より詳細には、$M^{A}_{35}$（ＮＨ）－$V^{B}_{36}$（ＮＨ）、$G^{A}_{37}$（ＮＨ）－$G^{B}_{38}$（ＮＨ）、$L^{A}_{34}$（ＮＨ）－$L^{B}_{34}$（$C_{\delta}H_{3}$）、$M^{A}_{35}$（ＮＨ）－$V^{B}_{36}$（$C_{\gamma}H_{3}$）からなる群から選択され

る少なくとも１つの原子対についてのプロトン間距離が１．８から６．５オングストロームである場合は好ましい。

【０１５９】

さらなる実施形態によれば、本発明は、各アミロイドβペプチド類似体のアミノ酸配列が、１つのアミロイドβペプチド類似体（Ａ）の配列$G^{A}_{33}L^{A}_{34}M^{A}_{35}V^{A}_{36}G^{A}_{37}G^{A}_{38}V^{A}_{39}$が別のアミロイドβペプチド類似体（Ｂ）の配列$G^{B}_{33}L^{B}_{34}M^{B}_{35}V^{B}_{36}G^{B}_{37}G^{B}_{38}V^{B}_{39}$と平行配向にある配列$G_{33}L_{34}M_{35}V_{36}G_{37}G_{38}V_{39}$を含むオリゴマーに関する。より詳細には、$G^{A}_{33}$（ＮＨ）－$G^{B}_{34}$（ＮＨ）、$M^{A}_{35}$（ＮＨ）－$V^{B}_{36}$（ＮＨ）、$G^{A}_{37}$（ＮＨ）－$G^{B}_{38}$（ＮＨ）、$L^{A}_{34}$（ＮＨ）－$L^{B}_{34}$（$C_{\delta}H_{3}$）、$M^{A}_{35}$（ＮＨ）－$V^{B}_{36}$（$C_{\gamma}H_{3}$）、$G^{A}_{38}$（ＮＨ）－$V^{B}_{39}$（$C_{\gamma}H_{3}$）および$V^{A}_{39}$（ＮＨ）－$V^{B}_{39}$（$C_{\gamma}H_{3}$）からなる群から選択される少なくとも１つの原子対についてのプロトン間距離が１．８から６．５オングストロームである場合は好ましい。

【０１６０】

さらにオリゴマーが、異なるアミロイドβペプチド類似体のβ－ストランドによって形成される分子間平行β－シートを含む場合は好ましい。さらなる詳細な実施形態によれば、β－シートは、１つのアミロイドβペプチド類似体（Ａ）のアミノ酸配列$G^{A}_{33}L^{A}_{34}M^{A}_{35}V^{A}_{36}G^{A}_{37}G^{A}_{38}V^{A}_{39}$および別のアミロイドβペプチド類似体（Ｂ）のアミノ酸配列$G^{A}_{33}L^{A}_{34}M^{A}_{35}V^{A}_{36}G^{A}_{37}G^{A}_{38}V^{A}_{39}$を含む。より詳細には、原子対$G^{A}$３３（ＣＯ）－$L^{B}$３４（Ｎ）、$L^{B}$３４（ＣＯ）－$M^{A}$３５（Ｎ）、$M^{A}$３５（ＣＯ）－$V^{B}$３６（Ｎ）、$V^{B}$３６（ＣＯ）－$G^{A}$３７（Ｎ）および$G^{B}$３７（ＣＯ）－$G^{A}$３８（Ｎ）が３．３±０．５Åの距離にあり、ＣＯが主鎖酸素原子を示し、残基のファイ（φ）角が－１８０から－３０の範囲であり、残基のプサイ（ψ）角がおよそ６０から１８０またはおよそ－１８０から－１５０の範囲であることは好ましい。

【０１６１】

逆平行β－シートの構造を決めるプロトン間距離は、主鎖アミド間および主鎖アミドと側鎖との間の分子内核オーバーハウザー効果（ＮＯＥｓ）によって測定され得る。

【０１６２】

平行β－シートの構造を決めるプロトン間距離は、主鎖ＮＨ－ＮＨ間および主鎖ＮＨと側鎖のメチル基との間の分子間核オーバーハウザー効果（ＮＯＥｓ）によって測定され得る。

【０１６３】

分子内ＮＯＥｓ対分子間ＮＯＥｓは、例えば参照により本明細書に組み込むＷＯ２００７／０６４９１７、詳細には実施例Ｖ、Ｇ部、ＮＭＲ　Ｆｅａｔｕｒｅｓに記載のとおり異なる同位体標識試料を使用して区別され得る。

【０１６４】

ＮＭＲデータの分析からＮＯＥ由来距離制限を使用して、例えば、模擬アニーリングプロトコール［Ｍ．Ｎｉｌｇｅｓら、ＦＥＢＳ　Ｌｅｔｔ．２２９、３１７－３２４頁（１９８８）］を使用するプログラムＣＮＸ［Ａ．Ｔ．Ｂｒｕｎｇｅｒら、Ａｃｔａ　Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒ．Ｄ５４（Ｐｔ５）、９０５－２１頁、（１９９８）］を使用して構造は算出されることができ、それにより２原子間のさらなる分子内および／または分子間距離を提供する。

【０１６５】

さらなる詳細な実施形態によれば、本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーは、具体的な抗体とのこれらの反応性によって特徴付けられる。そのような抗体は、詳細には、Ａβ（１－４２）球状体への抗体の結合親和性より大きい結合親和性をＡβ（２０－４２）トランケート型球状体に有する抗体を含む。

【０１６６】

本明細書において用語「Ａβ（Ｘ－Ｙ）球状体」（Ａβ（Ｘ－Ｙ）球状オリゴマー）は

、本明細書において定義のＡβ（Ｘ－Ｙ）ペプチドの可溶性で球状の非共有結合会合体を意味し、均一性および独特の物理的特徴を有する。一態様によれば、Ａβ（Ｘ－Ｙ）球状体は、Ａβ（Ｘ－Ｙ）ペプチドの安定で非原線維性のオリゴマー会合体である。単量体および原線維とは対照的にこれらの球状体は、サブユニットの明確な会合体数によって特徴付けられる（例えば、ＷＯ２００４／０６７５６１に記載のとおり初期会合体形態、ｎ＝４－６、「オリゴマーＡ」および後期会合体、ｎ＝１２－１４「オリゴマーＢ」）。球状体は、３次元球状型構造（「モルテングロビュール」、Ｂａｒｇｈｏｒｎら、２００５，Ｊ　Ｎｅｕｒｏｃｈｅｍ、９５、８３４－８４７頁を参照されたい。）を有する。これらは、１つ以上の以下の特性：
－球状体のトランケート型形態を生じる無差別プロテアーゼ（サーモリシンまたはエンドプロテイナーゼ　ＧｌｕＣなど）でのＮ－末端アミノ酸Ｘ－２３の切断性；
－無差別プロテアーゼおよび抗体でのＣ末端アミノ酸２４－Ｙへの非到達性；
－これらの球状体のトランケート型形態が前記球状体の３次元コア構造をその球状体立体配置中でのコア抗原決定基Ａβ（２０－Ｙ）のよりよい到達性を有して維持していることによってさらに特徴付けられ得る。

【０１６７】

用語「Ａβ（Ｘ－Ｙ）球状体」は、ＷＯ２００７／０６４９１７に記載のＮ－Ｍｅｔ　Ａβ（Ｘ－Ｙ）球状体も含む。

【０１６８】

本明細書における用語「Ａβ（Ｘ－Ｙ）トランケート型球状体」は、Ａβ（Ｘ－Ｙ）球状体を限定的なタンパク質消化に供することによって得ることができるＡβ（Ｘ－Ｙ）球状体のトランケート型形態を意味する。より具体的にはＡβ（Ｘ－Ｙ）トランケート型球状体は、Ｘが２．．４（好ましくはＸは２０または１２である。）の数からなる群から選択され、Ｙが本明細書において定義のとおりであり、Ａβ（１－Ｙ）球状体を適切なプロテアーゼでの処理によって切断することによって得られるＮ－末端トランケート型形態を含む。例えばＡβ（２０－４２）球状体はＡβ（１－４２）球状体をサーモリシンタンパク質分解に供することによって得ることができ、Ａβ（１２－４２）球状体はＡβ（１－４２）球状体をエンドプロテイナーゼＧｌｕＣタンパク質分解に供することによって得ることができる。所望の程度のタンパク質分解が達成されたときに、プロテアーゼは一般に周知のやり方で不活性化される。得られた球状体は、次いで本明細書においてすでに記載の手順に従って単離され、必要であればさらなる後処理および精製のステップによりさらに処理され得る。前記のプロセスの詳細な記載は、参照により本明細書に組み込むＷＯ２００４／０６７５６１に開示されている。

【０１６９】

本発明の目的のためにＡβ（１－４２）球状体は、詳細には本明細書の参照実施例１に記載のＡβ（１－４２）球状体であり；Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）球状体は、詳細には参照実施例２に記載のＮ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）球状体であり；Ａβ（２０－４２）トランケート型球状体は、詳細には本明細書の参照実施例３に記載のＡβ（２０－４２）トランケート型球状体であり；Ａβ（１２－４２）トランケート型球状体は、詳細には本明細書の参照実施例４に記載のＡβ（１２－４２）トランケート型球状体である。

【０１７０】

Ａβ（１－４２）球状体への抗体の結合親和性を超えるＡβ（２０－４２）トランケート型球状体への結合親和性を有する抗体は、ＷＯ　２００７／０６２８５２に記載されており、例えば７Ｃ６、７Ｅ５、４Ｄ１０および５Ｆ７からなる群から選択されるモノクローナル抗体を含む。

【０１７１】

詳細な実施形態によれば、前記抗体は、本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに少なくとも１×１０$^{-6}$Ｍの範囲のK_Dで結合する。好ましくは抗体は、本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに高親和性で結合する、例えば、１×１０$^{-7}$ＭのK_Dまたはより大きい親和性で結合する、例えば３×１０$^{-8}$ＭのK_Dまた

はより大きい親和性で結合する、１×１０$^{-8}$ＭのＫ$_{D}$またはより大きい親和性で結合する、例えば３×１０$^{-9}$ＭのＫ$_{D}$またはより大きい親和性で結合する、１×１０$^{-9}$ＭのＫ$_{D}$またはより大きい親和性で結合する、例えば３×１０$^{-10}$ＭのＫ$_{D}$またはより大きい親和性で結合する、１×１０$^{-10}$ＭのＫ$_{D}$またはより大きい親和性で結合する、例えば３×１０$^{-11}$ＭのＫ$_{D}$またはより大きい親和性で結合する、または１×１０$^{-11}$ＭのＫ$_{D}$またはより大きい親和性で結合する。

【０１７２】

本明細書における用語「より大きい親和性」は、一方の未結合抗体および未結合アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーと、他方の抗体－アミロイドβペプチド類似体／オリゴマー複合体との間の平衡が、抗体－アミロイドβペプチド類似体／オリゴマー複合体をより支持している相互作用の程度を意味する。同様に本明細書における用語「より小さい親和性」は、一方の未結合抗体および未結合アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーと、他方の抗体－アミロイドβペプチド類似体／オリゴマー複合体との間の平衡が、未結合抗体および未結合アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーをより支持している相互作用の程度を意味する。用語「より大きい親和性」は、「より高い親和性」と同義語であり、用語「より小さい親和性」は「より低い親和性」と同義語である。

【０１７３】

所与の抗原（本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーなど）への抗体（モノクローナルまたはポリクローナル）の結合活性は、ＥＬＩＳＡ、ドットブロットまたはＢＩＡｃｏｒｅ分析（Ｐｈａｒｍａｃｉａ Ｂｉｏｓｅｎｓｏｒ ＡＢ、Ｕｐｐｓａｌａ、Ｓｗｅｄｅｎ ａｎｄ Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ、ＮＪ）などの標準的インビトロ免疫測定を使用することによって評価され得る。さらなる記載については、Ｊｏｎｓｓｏｎ，Ｕ．ら、（１９９３）Ａｎｎ．Ｂｉｏｌ．Ｃｌｉｎ．５１：１９－２６頁；Ｊｏｎｓｓｏｎ，Ｕ．ら、（１９９１）Ｂｉｏｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ １１：６２０－６２７頁；Ｊｏｈｎｓｓｏｎ，Ｂ．ら、（１９９５）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｒｅｃｏｇｎｉｔ．８：１２５－１３１頁；およびＪｏｈｎｓｓｏｎ，Ｂ．ら、（１９９１）Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．１９８：２６８－２７７頁を参照されたい。

【０１７４】

詳細な実施形態によれば、本明細書において定義される親和性は、実施例１２に記載のとおりドットブロットを実施し、それをデンシトメトリーによって評価することによって得られる値を意味する。本発明の詳細な実施形態によりドットブロットによって結合親和性を測定することは、以下：一定量の抗原または好都合にはその適切な希釈物、例えば２０ｍＭ ＮａＨ$_{2}$ＰＯ$_{4}$、１４０ｍＭ ＮａＣｌ、ｐＨ７．４、０．２ｍｇ／ｍｌ ＢＳＡ中の抗原濃度、例えば１００ｐｍｏｌ／μｌ、１０ｐｍｏｌ／μｌ、１ｐｍｏｌ／μｌ、０．１ｐｍｏｌ／μｌおよび０．０１ｐｍｏｌ／μｌでニトロセルロース膜に点を打ち、次いで非特異的結合を防ぐためにミルクで膜をブロックし洗浄する、次いで目的の抗体と接触させ、酵素抱合２次抗体および比色反応の手段による後者の検出が続くこと含み、規定の抗体濃度において結合した抗体の量が親和性測定を可能にする。したがって２つの異なる抗体の１つの標的への、または１つの抗体の２つの異なる標的への相対的親和性は、他は同一のドットブロット条件下で２つの抗体－標的組合せで観察された標的結合抗体それぞれの量の関係として本明細書において定義される。ウエスタンブロットに基づく同様の手法とは異なり、ドットブロット手法は、抗体の所与の標的への親和性を後者の天然立体構造で測定する。

【０１７５】

本明細書において使用する用語「Ｋ$_{d}$」は、当技術分野において周知のとおり具体的な抗体－抗原相互作用の解離定数を意味している。

【０１７６】

球状体特異的抗体と反応する本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーは、少なくとも１つの球状体抗原決定基を提示すると考えられている。したがって本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーは、Ａβ（２０－４２）トランケート型球

状体または他のトランケート型球状体が免疫原として使用される際に誘発される免疫応答と同様のプロファイルを有する免疫応答を誘発できる。

【０１７７】

用語「抗原決定基」は、免疫グロブリンに特異的に結合できる任意のポリペプチド決定基を含む。特定の実施形態において抗原決定基は、アミノ酸、糖側鎖、ホスホリルまたはスルホニルなどの分子の化学的に活性な表面配置を含み、特定の実施形態においては特定の３次元構造特徴および／または特定の荷電的特徴を有し得る。抗原決定基は、抗体に結合される抗原の領域である。抗原決定基は、免疫グロブリン以外の他の結合剤によっても認識され得る。

【０１７８】

さらなる詳細な実施形態により本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーは、例えば哺乳動物（例えばウサギまたはマウス）が本発明のオリゴマーまたは誘導体で免疫化される場合に、そのような具体的な免疫応答を誘発するこれらの能力によって特徴付けられる。

【０１７９】

免疫応答は、抗原（免疫原）で宿主をチャレンジ（免疫化）することから生じる抗体の混合物と考えられ得る。抗体の前記混合物は、宿主から得ることができ、本明細書以下でポリクローナル抗血清と称する。

【０１８０】

一態様においてそのような具体的な免疫応答、すなわち相当するポリクローナル抗血清は、単量体Ａβ（１－４２）、単量体Ａβ（１－４０）、単量体Ａβ（２０－４２）、原線維性Ａβ（１－４２）、原線維性Ａβ（１－４０）およびＡβ（１－４２）球状体からなる群から選択される少なくとも１つのＡβ形態への抗体の結合親和性よりも大きい結合親和性を本発明のアミロイドβペプチド類似体もしくはオリゴマーにまたはＡβ（２０－４２）トランケート型球状体に有する抗体を含有することによって特徴付けられる。

【０１８１】

詳細な実施形態によれば、免疫応答、すなわち相当するポリクローナル抗血清は、本発明のアミロイドβペプチド類似体もしくはオリゴマーにまたはＡβ（２０－４２）トランケート型球状体に、単量体Ａβ（１－４２）、単量体Ａβ（１－４０）、単量体Ａβ（２０－４２）、原線維性Ａβ（１－４２）、原線維性Ａβ（１－４０）およびＡβ（１－４２）球状体からなる群から選択される少なくとも１つのＡβ形態への抗血清の結合親和性よりも、少なくとも２倍大きい、例えば少なくとも３倍もしくは少なくとも５倍大きい、好ましくは少なくとも１０倍大きい、例えば少なくとも２０倍大きい、少なくとも３０倍もしくは少なくとも５０倍大きい、より好ましくは少なくとも１００倍大きい、例えば少なくとも２００倍大きい、少なくとも３００倍もしくは少なくとも５００倍およびさらに好ましくは少なくとも１０００倍大きい、例えば少なくとも２０００倍大きい、少なくとも３０００倍もしくは少なくとも５０００倍大きい、さらに好ましくは少なくとも１００００倍大きい、例えば少なくとも２００００倍大きい、少なくとも３００００もしくは少なくとも５００００倍大きい、最も好ましくは少なくとも１０００００倍大きい結合親和性を有することによって特徴付けられる。

【０１８２】

本明細書において用語「Ａβ（Ｘ－Ｙ）単量体」または「単量体Ａβ（Ｘ－Ｙ）」は、Ａβ（Ｘ－Ｙ）ペプチドの単離された形態を、好ましくは他のＡβペプチドとの非共有結合性相互作用に本質的に関与していないＡβ（Ｘ－Ｙ）ペプチドの一形態を意味する。それは、球状体抗原決定基を提示していない本質的に折りたたまれていないペプチドを表す。実質的にＡβ（Ｘ－Ｙ）単量体は、通例は水溶液の形態で提供される。本発明の具体的な好ましい実施形態において単量体水溶液は、０．０５％から０．２％、より好ましくは約０．１％NH_4OHを含有する。本発明の他の具体的な好ましい実施形態において単量体水溶液は、０．０５％から０．２％、より好ましくは約０．１％ＮａＯＨを含有する。使用される際に（例えば本発明の抗体の結合親和性を測定するために）、前記溶液を適切

なやり方で希釈することは好都合であり得る。さらに前記溶液をその調製後２時間以内に、詳細には１時間以内に、特に３０分以内に使用することは通例好都合である。

【０１８３】

より具体的には本明細書において用語「Ａβ（１－４０）単量体」は、本明細書の参照実施例５において記載のＡβ（１－４０）単量体製剤を意味し、本明細書において用語「Ａβ（１－４２）単量体」は、本明細書の参照実施例６に記載のＡβ（１－４２）単量体製剤を意味する。

【０１８４】

他の態様においてそのような免疫応答は、Ａβ（１－４２）球状体への抗体の結合親和性よりも大きい結合親和性を本発明のアミロイドβペプチド類似体もしくはオリゴマーにまたはＡβ（２０－４２）トランケート型球状体に有する抗体を含むことによって特徴付けられる。

【０１８５】

本明細書において用語「原線維」は、電子顕微鏡において原線維構造を示し、コンゴ赤に結合して偏光下で複屈折を呈し、Ｘ線回折パターンがクロスβ構造である、非共有結合的に会合した個々のＡβ（Ｘ－Ｙ）ペプチドの会合体を含む分子構造を意味する。

【０１８６】

本発明の他の態様において原線維は、２４単位を超える、好ましくは１００単位を超える凝集体の形成をもたらす界面活性剤非存在下、例えば０．１Ｍ　ＨＣｌ中での適切なＡβペプチドの自己誘導ポリマー凝集を含むプロセスによって得ることができる分子構造である。このプロセスは当技術分野において十分に周知である。好都合には、Ａβ（Ｘ－Ｙ）原線維は、水溶液の形態で使用される。本発明の詳細な好ましい実施形態において水溶性原線維溶液は、Ａβペプチドを０．１％NH_4OH中に溶解し、それを１：４に２０ｍＭ　NaH_2PO_4、１４０ｍＭ　ＮａＣｌ、ｐＨ７．４で希釈し、続いてｐＨを７．４に再調整し、溶液を３７℃、２０時間温置し、１０，０００ｇ、１０分間の遠心分離および２０ｍＭ　NaH_2PO_4、１４０ｍＭ　ＮａＣｌ、ｐＨ７．４中への再懸濁が続くことによって作製される。

【０１８７】

本明細書における用語「Ａβ（Ｘ－Ｙ）原線維」は、本質的にＡβ（Ｘ－Ｙ）サブユニットからなる原線維を意味し、平均でサブユニットの少なくとも９０％がＡβ（Ｘ－Ｙ）型である場合が好ましく、サブユニットの少なくとも９８％がＡβ（Ｘ－Ｙ）型である場合はより好ましく、非Ａβ（Ｘ－Ｙ）ペプチドの含有量が検出閾値より低い場合は最も好ましい。

【０１８８】

より詳細には本明細書における用語「Ａβ（１－４２）原線維」は、本明細書の参照実施例７に記載のＡβ（１－４２）原線維製剤を意味する。

【０１８９】

本発明は、精製した本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーにも関する。本発明の一実施形態によれば、精製アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーは、Ａβペプチド全体の８０重量％を超える、好ましくはＡβペプチド全体の９０重量％を超える、好ましくはＡβペプチド全体の９５重量％を超える純度を有するものである。

【０１９０】

本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーが、アミロイドβ由来アミノ酸配列またはこのペプチド模倣物に加えて１つ以上のさらなる成分を含むことは好都合であり得る。例えば診断的適用は、アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーを標識する必要がある場合がある。能動免疫法においても、能動免疫的適用において好都合であることを示している成分を付着することは有利点であり得る。

【０１９１】

したがって本発明は、検出を促進する共有結合基、好ましくはフルオロフォア、例えばフルオレセインイソチオシアネート、フィコエリトリン、Ａｌｅｘａ－４８８、アエクオ

レア・ビクトリア（Ａｅｑｕｏｒｅａ　ｖｉｃｔｏｒｉａ）蛍光タンパク質、ジクチオソーマ（Ｄｉｃｔｙｏｓｏｍａ）蛍光タンパク質またはこれらの任意の組合せもしくは蛍光活性誘導体；発色団；化学発光団、例えばルジフェラーゼ、好ましくはフォチヌス・ピラリス（Ｐｈｏｔｉｎｕｓ　ｐｙｒａｌｉｓ）ルシフェラーゼ、ビブリオ・フィシェリ（Ｖｉｂｒｉｏ　ｆｉｓｃｈｅｒｉ）ルシフェラーゼまたはこれらの任意の組合せもしくは化学発光活性誘導体；酵素的に活性な基、例えばペルオキシダーゼ、例えば西洋わさびペルオキシダーゼまたはこれらの任意の酵素的に活性な誘導体；高電子密度基、例えば重金属を含む基、例えば金を含む基；ハプテン、例えばフェノール誘導ハプテン；強力な抗原性構造、例えば抗原性が予測されるペプチド配列（例えばＫｏｌａｓｋａｒおよびＴｏｎｇａｏｎｋａｒのアルゴリズムによって抗原性が予測される）；アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーへの免疫応答の誘発を助ける分子、例えば血清アルブミン、オボアルブミン、キーホールリンペットヘモシアニン、サイログロブリン、破傷風類毒素およびジフテリア類毒素などの細菌由来類毒素、天然に存在するＴ細胞抗原決定基、天然に存在するＴヘルパー細胞抗原決定基；パンＤＲ抗原決定基（「ＰＡＤＲＥ」、ＷＯ　９５／０７７０７）などの人工的Ｔ細胞抗原決定基または、マンナン、トリパルミトイル－Ｓ－グリセリンシステインなどの他の免疫賦活剤；他の分子に対するアプタマー；キレート基、例えばヘキサヒスチジニル；さらなる特異的なタンパク質－タンパク質相互作用を介在する天然または天然由来のタンパク質構造、例えばｆｏｓ／ｊｕｎペアのメンバー；磁性基、例えば強磁性基；または放射性基、例えば１Ｈ、１４Ｃ、３２Ｐ、３５Ｓもしくは１２５Ｉを含む基またはこれらの任意の組合せを含む本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーにも関する。望ましくない炎症誘発性免疫応答Ｔｈ１－経路を避ける観点から、免疫応答を抗炎症経路（Ｔｈ２経路）に方向付けることができる分子、例えばＰＡＤＲＥなどのＢ細胞抗原決定基を含む分子を含むアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーは、能動免疫法において具体的な利点を提供することが予測されている（Ｐｅｔｒｕｓｈｉｎａ　Ｉ．ら、Ｔｈｅ　Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｎｅｕｒｏｓｃｉｅｎｃｅ　２００７、２７（４６）：１２７２１－１２７３１頁；Ｗｏｏｄｈｏｕｓｅ　Ａ．ら、Ｄｒｕｇｓ　Ａｇｉｎｇ　２００７；２４（２）：１０７－１１９頁も参照されたい。）。

【０１９２】

そのような基およびこれらをペプチドまたはペプチド類似体に結合するための方法は、当技術分野において周知である。

【０１９３】

本明細書において開示するアミロイドβペプチド類似体およびオリゴマーは、当技術分野において周知であるやり方で産生され得る。

【０１９４】

第１ステップにおいて所望のアミロイドβペプチド類似体またはこのペプチド模倣物のアミノ酸配列を含むペプチドが、提供される。

【０１９５】

前記ペプチドまたはペプチド模倣物は、Ｇ．ＢａｒａｎｙおよびＲ．Ｂ．Ｍｅｒｒｉｆｉｅｌｄ、「Ｔｈｅ　Ｐｅｐｔｉｄｅｓ：Ａｎａｌｙｓｉｓ，Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，Ｂｉｏｌｏｇｙ」；第２巻－「Ｓｐｅｃｉａｌ　Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｐｅｐｔｉｄｅ　Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，Ｐａｒｔ　Ａ」、３－２８４頁、Ｅ．ＧｒｏｓｓおよびＪ．Ｍｅｉｅｎｈｏｆｅｒ編、Ａｃａｄｅｍｉｃ　Ｐｒｅｓｓ、Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ、１９８０；ならびにＪ．Ｍ．ＳｔｅｗａｒｔおよびＪ．Ｄ．Ｙｏｕｎｇ、「Ｓｏｌｉｄ－Ｐｈａｓｅ　Ｐｅｐｔｉｄｅ　Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ」第２版、Ｐｉｅｒｃｅ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｃｏ．、Ｒｏｃｋｆｏｒｄ、ＩＬ、１９８４において記載のものなどの種々の固相技術を使用する化学合成によって産生され得る。この戦略は、アミノ酸側鎖の一時的保護のためのｔｅｒｔ－ブチル基と組み合わせてのα－アミノ基の一時的保護のためのＦｍｏｃ（９－フルオレニルメチルメチルオキシカルボニル）基に基づいている（例えば「Ｔｈｅ　Ｐｅｐｔｉｄｅｓ：Ａｎａｌｙｓｉｓ，Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，Ｂｉｏｌｏｇｙ」；第９巻－「Ｓｐｅ

ｃｉａｌ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｐｅｐｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ、Ｐａｒｔ Ｃ」１－３８頁、Ｓ．ＵｎｄｅｎｆｒｉｅｎｄおよびＭｅｉｅｎｈｏｆｅｒ編、Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ．Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ、１９８７におけるＥ．ＡｔｈｅｒｔｏｎおよびＲ．Ｃ．Ｓｈｅｐｐａｒｄ、「Ｔｈｅ Ｆｌｕｏｒｅｎｙｌｍｅｔｈｏｘｙｃａｒｂｏｎｙｌ Ａｍｉｎｏ Ｐｒｏｔｅｃｔｉｎｇ Ｇｒｏｕｐ」を参照されたい。

【０１９６】

ペプチドは、ペプチドのＣ末端から開始して不溶性ポリマー支持体（「樹脂」とも称される。）上で段階的なやり方で合成され得る。合成は、アミドまたはエステル結合の形成を通じてペプチドのＣ末端アミノ酸を樹脂に付加することによって開始される。これは、それぞれＣ末端がアミドまたはカルボン酸として生じるペプチドの最終的遊離を可能にする。別法としてＣ末端アミノアルコールが存在する場合Ｃ末端残基は、本明細書において記載のとおり２－メトキシ－４－アルコキシベンジルアルコール樹脂（ＳＡＳＲＩＮ（商標）、Ｂａｃｈｅｍ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ，Ｉｎｃ．，Ｋｉｎｇ ｏｆ Ｐｒｕｓｓｉａ，ＰＡ）に付着でき、ペプチド配列会合の完了後、生じたペプチドアルコールはＴＨＦ中の$LiBH_4$で遊離される（Ｊ．Ｍ．ＳｔｅｗａｒｔおよびＪ．Ｄ．Ｙｏｕｎｇ、上記９２頁を参照されたい。）。

【０１９７】

Ｃ末端アミノ酸および合成に使用される他の全てのアミノ酸は、α－アミノ保護基が合成中に選択的に除去され得るように特異的に保護されたそれらのα－アミノ基および側鎖官能性（存在する場合）を有する必要がある。アミノ酸のカップリングは、そのカルボキシ基の活性エステルとしての活性化およびこれらと樹脂に付着されているＮ末端アミノ酸の非遮断α－アミノ基との反応によって実施される。α－アミノ基脱保護とカップリングとの連続は、ペプチド配列全体が組み立てられるまで繰り返される。次いでペプチドは、通例、副反応を抑える適切なスカベンジャーの存在下で側鎖官能基の脱保護と同時に樹脂から遊離される。生じたペプチドは、最終的に逆相ＨＰＬＣで精製される。

【０１９８】

最終的なペプチドへの前駆体として必要とされるペプチド－樹脂の合成は、商業的に入手可能な架橋結合ポリスチレンポリマー樹脂（Ｎｏｖａｂｉｏｃｈｅｍ，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ；Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、Ｆｏｓｔｅｒ Ｃｉｔｙ、ＣＡ）を利用する。Ｃ末端カルボキサミドについて好ましい固体支持体は：４－（２’，４’－ジメトキシフェニル－Ｆｍｏｃ－アミノメチル）－フェノキシアセチル－ｐ－メチルベンズヒドリルアミン樹脂（ＲｉｎｋアミドＭＢＨＡ樹脂；９－Ｆｍｏｃ－アミノ－キサンテン－３－イルオキシ－メリーフィールド樹脂）（シーバーアミド樹脂）；４－（９－Ｆｍｏｃ）アミノメチル－３，５－ジメトキシフェノキシ）バレリル－アミノメチル－メリーフィールド樹脂（ＰＡＬ樹脂）である。最初および続くアミノ酸のカップリングは、ＤＩＣ／ＨＯＢＴ、ＨＢＴＵ／ＨＯＢＴ、ＢＯＰ、ＰｙＢＯＰまたはＤＩＣ／ＨＯＡＴ、ＨＡＴＵ／ＨＯＡＴからそれぞれ産生されるＨＯＢＴまたはＨＯＡＴ活性エステルを使用して達成され得る。保護ペプチド断片について好ましい固体支持体は：２－塩化クロロトリチル樹脂および９－Ｆｍｏｃ－アミノ－キサンテン－３－イルオキシ－メリーフィールド樹脂（シーバーアミド樹脂）である。２－塩化クロロトリチル樹脂への最初のアミノ酸の付加は、Ｆｍｏｃ保護アミノ酸を樹脂とジクロロメタンおよびＤＩＥＡ中で反応させることによって最もよく達成される。必要な場合は、アミノ酸の溶解を促進するために少量のＤＭＦを添加してもよい。

【０１９９】

合成は、Ａｄｖａｎｃｅｄ Ｃｈｅｍｔｅｃｈ Ｍｕｌｔｉｐｌｅ Ｐｅｐｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｚｅｒ（ＭＰＳ３９６）またはＡｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ Ｉｎｃ．ｐｅｐｔｉｄｅ ｓｙｎｔｈｅｓｉｚｅｒ（ＡＢＩ ４３３ａ）などのペプチド合成機を使用することによって実施され得る。

【０２００】

別法として：１）所望のペプチドペプチド模倣物を生じるペプチド結合の酵素的または

化学的切断のための適切な切断部位によって分離される所望のペプチドまたはペプチド模倣物の複数の複製物の合成、２）アミノ酸配列を含むＡＰＰの当業者に周知の任意の系における組換え発現に続く所望のペプチドを得るための酵素的または化学的のいずれかのプロセシング、３）当業者に周知の任意の系における融合タンパク質としての所望のペプチドの組換え発現、４）当業者に周知の任意の系における所望のペプチドの直接での組換え発現、を含む当業者に周知である任意の他の適切な方法が使用され得る。

【０２０１】

アミロイドβペプチドの組換え発現は、ＷＯ２００７／０６４９１７に記載されている。さらに組換え宿主における異種タンパク質の発現について、ポリペプチドの化学合成についておよびインビトロ翻訳についての全般的な方法は、当技術分野において十分に周知であり、さらにＭａｎｉａｔｉｓら、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｎｕａｌ（１９８９）第２版、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ、Ｎ．Ｙ．；ＢｅｒｇｅｒおよびＫｉｍｍｅｌ、Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ、第１５２巻、Ｇｕｉｄｅ ｔｏ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ（１９８７）、Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．、Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ、Ｃａｌｉｆ．；Ｍｅｒｒｉｆｉｅｌｄ，Ｊ．（１９６９）Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．９１：５０１；Ｃｈａｉｋｅｎ １．Ｍ．（１９８１）ＣＲＣ Ｃｒｉｔ．Ｒｅｖ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．１１：２５５；Ｋａｉｓｅｒら（１９８９）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４３：１８７；Ｍｅｒｒｉｆｉｅｌｄ，Ｂ．（１９８６）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２３２：３４２；Ｋｅｎｔ，Ｓ．Ｂ．Ｈ．（１９８８）Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．５７：９５７；およびＯｆｆｏｒｄ，Ｒ．Ｅ．（１９８０）Ｓｅｍｉｓｙｎｔｈｅｔｉｃ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ、Ｗｉｌｅｙ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ）に記載されている。

【０２０２】

第２ステップにおいて得られたペプチドまたはペプチド模倣物は、結合が形成できる条件に供される。当然ながら条件は、形成する結合の種類に依存し、当業者によって容易に決定され得る。本明細書において提供する結合およびこれらの化学に関する記載について述べる。

【０２０３】

オリゴマー合成は、追加的にオリゴマー形成に関与する。したがって第２ステップは、結合だけでなくオリゴマー形成も含む。

【０２０４】

オリゴマー形成に適切な条件は、参照により本明細書に組み込む例えばＷＯ ２００４／０６７５６１；ＷＯ ２００６／０９４７２４；Ｓ．Ｂａｒｇｈｏｒｎら、Ｊ．Ｎｅｕｒｏｃｈｅｍ．９５、８３４（２００５）およびＷＯ２００７／０６４９１７に記載されている。

【０２０５】

原理上、オリゴマー形成は結合形成に先行できる。これは、先に形成されたオリゴマーが、結合が形成されるように方向付けるまたは促進する場合に有利である。別法として結合形成は、オリゴマー形成に先行できる。これは、先に形成された結合がオリゴマー形成を方向付けるまたは促進する場合に有利である。オリゴマー形成および結合形成は、同時にも起こり得る。

【０２０６】

アミロイドβペプチド類似体およびオリゴマーの両方は、アミノ酸配列が異なるペプチドもしくはペプチド模倣物または最終アミロイドβペプチド類似体もしくはオリゴマーによって含まれるペプチド模倣物を使用して調製され得る。例えば開始ペプチドは、追加的アミノ酸をそのＣおよび／またはＮ末端に含むことができ、次いで合成途中で、例えばタンパク質切断により除去される。

【０２０７】

本発明の一実施形態おいてオリゴマーは、ペプチドまたはこのペプチド模倣物で形成され、次に１つ以上のペプチド内またはペプチド模倣物内の（１つまたは複数の）共有結合

によって安定化される。この実施形態において、ペプチド模倣物よりペプチドを使用することは好都合であり得る。

【０２０８】

本発明の他の実施形態においてオリゴマーは、ペプチドまたはこのペプチド模倣物で形成され、１つ以上のペプチド内またはペプチド模倣物内の共有結合によって安定化され、次に関連する構造要素をよりよく提示するトランケート型形態に化学的または酵素的手段によってプロセスされる。別法としてオリゴマーは、ペプチドまたはこのペプチド模倣物で形成され、関連する構造要素をよりよく提示するトランケート型形態に化学的または酵素的手段によってプロセスされ、次に１つ以上のペプチド内またはペプチド模倣物内の共有結合によって安定化される。これらの実施形態において、ペプチド模倣物よりペプチドを使用することは好都合であり得る。

【０２０９】

本発明のさらに他の実施形態においてペプチドまたはこのペプチド模倣物は、関連する構造要素を形成するために使用され、ここでペプチドまたはペプチド模倣物は、オリゴマー中の隣接するペプチドまたはペプチド模倣物との相互作用よりむしろ１つ以上のペプチド内またはペプチド模倣物内の共有結合によって適正な高次構造に保持される。１つ以上の適切なペプチド内またはペプチド模倣物内共有結合で安定化されたこれらのアミロイドβペプチド類似体が単量体として関連する構造要素を示すことは想定される。この実施形態において、ペプチドよりもペプチド模倣物を使用することは好都合であり得る。

【０２１０】

本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーは、多数の有用性を有する。例えばそれらは：１）免疫法に基づく介入治療（例えばアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーは、アミロイドーシスを治療または予防するための能動免疫法において使用され得る。）、２）診断検査（例えばアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーはアミロイドーシスを診断するために使用され得る。）、３）アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合する抗体およびアプタマーなどの作用物質を提供することおよび４）アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合する抗体およびアプタマーなどの作用物質を開発するための結晶学的またはＮＭＲに基づく構造に基づく設計研究において使用され得る。

【０２１１】

本明細書において用語「アミロイドーシス」は、異常なフォールディング、塊化、凝集および／または特定のタンパク質（アミロイド、線維性タンパク質およびこれらの前駆体）の身体のさまざまな組織における蓄積によって特徴付けられる多数の障害を意味する。アルツハイマー病およびダウン症候群において神経組織は冒され、脳アミロイド血管造影（ＣＡＡ）において血管が冒されている。本発明の詳細な実施形態によれば、アミロイドーシスは、アルツハイマー病（ＡＤ）およびダウン症候群のアミロイドーシスからなる群から選択される。

【０２１２】

能動免疫法においてＡβ（２０－４２）トランケート型球状体は、アルツハイマー病遺伝子導入マウスで認知障害を戻すことに有効であることが示された。本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーは、そのプロファイルがＡβ（２０－４２）トランケート型球状体によって誘発される免疫応答のプロファイルに類似している免疫応答を誘発できる。

【０２１３】

したがって本発明は、治療的使用のための本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーにも関する。

【０２１４】

一態様において本発明は、本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーを含む治療用組成物に関する。詳細な実施形態によれば、前記組成物は、薬学的に許容される担体をさらに含む医薬組成物である。

【０２１５】
さらなる態様において本発明は、アミロイドーシスを治療するまたは予防するための医薬組成物を調製するための本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーの使用に関する。
【０２１６】
本発明の好ましい実施形態において医薬組成物は、能動免疫法のためのワクチンである。
【０２１７】
したがって本発明は、本発明において定義のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーを対象に投与することを含む、それを必要とする対象においてアミロイドーシスを治療するまたは予防する方法にも関する。
【０２１８】
本発明の好ましい実施形態において、アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーを投与することは、対象をアミロイドーシスに対して能動的に免疫化するためである。
【０２１９】
能動免疫法との関連で、アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーが患者のＣＮＳに相当量では侵入できない場合は特に好ましい。
【０２２０】
アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーを含む医薬組成物がＡβオリゴマーに対して強力な免疫応答を誘導できる、好ましくはＡβオリゴマーに対してだけ方向付けられる強力な免疫応答を誘導できる、より好ましくはＡβオリゴマーに対してだけ非炎症性の抗体に基づく強力な免疫応答を誘発できる場合も特に好ましい。したがって本発明の一実施形態において医薬組成物は、免疫アジュバントを含む、好ましくはアジュバントおよび免疫応答を非炎症性、抗体に基づく種類に方向付けるシグナル伝達分子、例えばサイトカインを含む。そのようなアジュバントおよびシグナル伝達分子は当業者に十分に周知である。
【０２２１】
能動免疫法のための医薬組成物が、静脈経路、筋肉内経路、皮下経路、鼻腔内経路および吸入からなる群から選択される経路を介して投与される場合は、特に好ましい。組成物が、注射、ボーラス注入および持続注入から選択される方法によって投与され、そのそれぞれが１回、繰り返しまたは不定期に実施され得る場合も特に好ましい。
【０２２２】
本発明の詳細な実施形態において長期持続注入は、埋め込み式デバイスを使用することによって達成される。本発明のさらなる詳細な実施形態において組成物は、埋め込み式の徐放性デポー剤または放出制御デポー剤として適用される。適切な製剤およびデバイスは当業者に周知である。任意の所与の経路について使用される方法の詳細は、疾患の段階および重症度ならびに対象の全体的な医学的パラメータに依存し、好ましくは治療している医師または獣医師の判断で個々に決定される。
【０２２３】
本発明の特に好ましい実施形態において能動免疫法のための医薬組成物は、薬学的に許容される保存剤、薬学的に許容される着色剤、薬学的に許容される保護コロイド、薬学的に許容されるｐＨ調整剤および薬学的に許容される浸透圧調製剤からなる群から選択される１つ以上の物質を含む。そのような物質は、当技術分野において記載されている。
【０２２４】
球状体仮説と一致してアミロイドーシスを罹患している対象は、内在性球状体抗原決定基に対する免疫応答を発現していると考えられている。本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーが、前記抗原決定基に特異的に反応性である抗体と反応することから、オリゴマーは同じまたは非常によく似た抗原決定基を提示すると考えられている。
【０２２５】
したがって本発明は、診断的使用のための本明細書において定義のアミロイドβペプチ

ド類似体またはオリゴマーにも関する。

【０２２６】

一態様において本発明は、本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーを含む診断用組成物に関する。詳細な実施形態により前記組成物は、薬学的に許容される担体をさらに含む医薬組成物である。

【０２２７】

さらなる態様において本発明は、アミロイドーシスを診断するための組成物を調製するための本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーの使用に関する。

【０２２８】

したがって本発明は、アミロイドーシスを有すると疑われる対象由来の試料を提供するステップ、試料を本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーにアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーおよび抗体を含む複合体の形成に十分な時間および条件下で接触させるステップを含み、複合体の存在が対象がアミロイドーシスを有することを示す、アミロイドーシスを診断する方法にも関する。詳細な実施形態によれば、少なくとも試料を接触させるステップは、エクスビボ、詳細にはインビトロで実施される。

【０２２９】

したがって本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーは、種々の診断法およびアッセイにおいて使用され得る。

【０２３０】

一実施形態によれば、アミロイドーシスをこの疾患を有すると疑われる患者において診断する方法は：ａ）患者由来の生体試料を単離するステップ、ｂ）生体試料をアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに抗体／アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマー複合体の形成に十分な時間および条件下で接触させるステップ、ｃ）得られた抗体／アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマー複合体に結合抗体に抱合体が結合できる十分な時間および条件下で加えるステップ（抱合体は検出可能なシグナルを生じ得るシグナル生成化合物に付着している抗体を含む。）およびｄ）シグナル生成化合物によって生じるシグナルを検出することによって生体試料中に存在する可能性がある抗体の存在を検出するステップ（シグナルは患者におけるアミロイドーシスの診断を示す。）のステップを含む。詳細な実施形態によれば、ステップｂ）、ｃ）およびｄ）の内の少なくとも１つは、エクスビボ、詳細にはインビトロで実施される。さらに詳細な実施形態により方法は、ステップａ）を含まない。

【０２３１】

さらなる実施形態によれば、アミロイドーシスをこの疾患を有すると疑われる患者において診断する方法は：ａ）患者由来の生体試料を単離するステップ、ｂ）生体試料を試料中の抗体に特異的な抗抗体に抗抗体／抗体複合体の形成を可能にする十分な時間および条件下で接触させるステップ、ｂ）抱合体を得られた抗抗体／抗体複合体に抱合体が結合抗体に結合できる十分な時間および条件下で加えるステップ（ここで抱合体は、検出可能なシグナルを生じ得るシグナル生成化合物に付着している本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーを含む。）およびｃ）シグナル生成化合物によって生じるシグナルを検出するステップ（シグナルは患者におけるアミロイドーシスの診断を示す。）のステップを含む。詳細な実施形態によれば、前記ステップｂ）およびｃ）の内の少なくとも１つは、エクスビボ、詳細にはインビトロで実施される。さらなる詳細な実施形態により方法はステップａ）を含まない。

【０２３２】

より具体的には、本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーが球状体抗原決定基を提示し、球状体抗原決定基が内在性免疫応答を生じさせる内在性抗原であると考えられていることからアミロイドーシスの診断は、本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに特異的に結合する自己抗体の存在の測定に関し得る。

【０２３３】
したがって本発明は、オリゴマーまたは誘導体に結合する自己抗体を対象において検出するための組成物を調製するための本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーの使用にも関する。したがって本発明は、対象においてアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合する自己抗体の検出方法にも関し、方法は本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーを対象に投与するステップ、抗体およびアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーによって形成された複合体を検出するステップを含み、複合体の存在は、自己抗体の存在を示す。本発明の詳細な実施形態において対象は、任意の形態のアミロイドーシス、例えばアルツハイマー病を有することが疑われ、自己抗体の検出は、対象における任意の形態のアミロイドーシス、例えばアルツハイマー病の有無を診断するためである。

【０２３４】
本発明は、試料中のオリゴマーまたは誘導体に結合する自己抗体を検出するための本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーの使用にも関する。したがって本発明は、試料中のＡβアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合する自己抗体の検出方法にも言及し、方法は試料を本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに接触させるステップならびに抗体およびアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーによって形成される複合体を検出するステップを含み、複合体の存在は自己抗体の存在を示す。詳細な実施形態によれば、少なくとも試料を接触させるステップは、エクスビボ、詳細にはインビトロで実施される。本発明の好ましい実施形態において試料は、アミロイドーシス、例えばアルツハイマー病を有すると疑われる対象由来であり、自己抗体の検出は、対象におけるアミロイドーシス、例えばアルツハイマー病の有無を診断するためである。適切な試料は、前述の方法によって検査され得る生体液を含む。これらとして血漿、全血、乾燥全血、血清、脳脊髄液または組織および細胞の水性もしくは有機－水性抽出物が挙げられる。

【０２３５】
アミロイドーシスを有すると疑われる対象がアミロイドーシスを有するまたはアミロイドーシスに至る増大した危険性を有する対象である場合は特に好ましい。

【０２３６】
本発明の詳細な実施形態によれば、本明細書において記載の自己抗体を検出するステップは、自己抗体／抗原複合体の解離を生じる製剤（試料）の前処理をさらに含む。したがってそのような前処理を含む方法は、製剤（試料）中に存在する自己抗体の総量を決定するために使用され得る一方で、前記前処理を含まない方法は、抗原にまだ結合できる自己抗体の量を決定するために使用され得る。さらに両方法は、複合した自己抗体の量を間接的に決定できるようにする。

【０２３７】
自己抗体／抗原複合体の解離を誘発するために適切な条件は、当業者に周知である。例えば製剤（試料）を酸で、例えば得られる製剤（試料）のｐＨが１から５の範囲、好ましくは２から４の範囲、詳細には２から３の範囲であるような緩衝液を使用して処理するステップは好都合であり得る。適切な緩衝液として生理的濃度の塩、例えばＮａＣｌおよび酢酸が挙げられる。抗体／抗原複合体の分離のための方法は、本明細書にその全体を組み込むＷＯ２００５／０３７２０９に記載されている。

【０２３８】
簡潔には抗体／抗原複合体中の抗原から抗体を解離させるステップは、抗体／抗原複合体を含む試料を解離緩衝液と接触させるステップ、試料を温置するステップおよび任意選択により試料を濃縮するステップのステップを含む。

【０２３９】
解離緩衝液は、本明細書において記載の範囲のｐＨを有するＰＢＳ緩衝液であり得る。例えば約１．５％ＢＳＡおよび０．２Ｍグリシン－酢酸ｐＨ２．５または１４０ｍＭ　ＮａＣｌおよび０．５８％酢酸を含むＰＢＳ緩衝液は、適切である。

【０２４０】
数分間、例えば１０から３０分間、例えば２０分間、２０から４０℃の範囲の温度での温置が十分であると証明されている。
【０２４１】
濃縮は、周知のやり方、例えば試料をＣｅｎｔｒｉｐｒｅｐ　ＹＭ３０（Ａｍｉｎｃｏｎ　Ｉｎｃ．）に通すことによって達成され得る。
【０２４２】
本発明の一実施形態においてアミロイドβペプチド類似体もしくはオリゴマーまたはこれらの一部は、固相上にコートされ得る。次いで試料（例えば全血、脳脊髄液、血清など）は、固相上に接触させられ得る。抗体、例えば自己抗体が試料中に存在する場合、そのような抗体はアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに固相上で結合し、次いで直接的または間接的のいずれかの方法によって検出される。直接法は、複合体それ自体の存在したがって抗体の存在を単純に検出することを含む。間接的方法において抱合体は、結合抗体に添加される。抱合体は、シグナル生成化合物または標識に付着し、１次結合抗体に結合する２次抗体を含む。２次抗体が結合１次抗体に結合すると、シグナル生成化合物は測定可能なシグナルを生じる。それによりそのようなシグナルは、試料中の１次抗体の存在を示す。
【０２４３】
診断用免疫測定において使用される固相の例は、多孔性および非多孔性材料、ラテックス粒子、磁性粒子、微小粒子（米国特許第５，７０５，３３０号を参照されたい。）、ビーズ、膜、マイクロタイターウェルおよびプラスチックチューブである。固相材料の選択および抱合体中に存在する抗原または抗体を標識する方法は、所望により、所望のアッセイ形式実施特性に基づいて決定される。
【０２４４】
本明細書において記載のとおり抱合体（または指示試薬）は、シグナル生成化合物または「標識」に付着した抗体（またはアッセイに応じて恐らく抗抗体）を含む。このシグナル生成化合物または標識は、それ自体が検出可能であるまたは検出可能な産物を生成するために１つ以上の追加的化合物と反応できる。シグナル生成化合物の例は本明細書に記載されており、詳細には発色団、放射性同位元素（例えば、１２５Ｉ、１３１Ｉ、３２Ｐ、３Ｈ、３５Ｓおよび１４Ｃ）、化学発光化合物（例えばアクリジニウム）、粒子（可視または蛍光）、核酸、錯化剤または酵素（例えばアルカリホスファターゼ、酸性ホスファターゼ、西洋わさびペルオキシダーゼ、ベータガラクトシダーゼおよびリボヌクレアーゼ）などの触媒が挙げられる。酵素使用（例えばアルカリホスファターゼまたは西洋わさびペルオキシダーゼ）の場合は、発色性、蛍光発生または発光性基質の添加が検出可能なシグナルの発生をもたらす。時間分解蛍光、内部反射蛍光、増幅（例えばポリメラーゼ連鎖反応）およびラマン分光法などの他の検出可能な系も有用である。
【０２４５】
キットも本発明の範囲に含まれる。より詳細には本発明は、対象における自己抗体などの抗体の存在を決定するためのキットを含む。詳細には試料中の前記抗体の存在を決定するためのキットは、ａ）本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーおよび任意選択によりｂ）検出可能なシグナルを生じ得るシグナル生成化合物に付着している抗体を含む抱合体を含む。キットは、抗原に結合する試薬を含む対照物質または標準物質も含有できる。
【０２４６】
本発明は、試料中の自己抗体などの抗体を検出するための他の種類のキットも含む。キットは、ａ）目的の抗体に特異的な抗抗体およびｂ）本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーを含み得る。アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合する試薬を含む対照物質または標準物質も含まれ得る。より詳細にはキットは、ａ）自己抗体に特異的な抗抗体およびｂ）アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーを含む抱合体（抱合体は検出可能なシグナルを生じ得るシグナル生成化合物に付着し

ている）を含み得る。再びキットは、抗原に結合する試薬を含む対照物質または標準物質も含み得る。

【０２４７】

キットは、バイアル、ビンまたは条片などの１つの容器（各容器はあらかじめ定めた固相を有する）およびそれぞれの抱合体を含んでいる他の容器も含み得る。これらのキットは、洗浄、処理および指示試薬などアッセイを実施するために必要な他の試薬のバイアルまたは容器も含み得る。

【０２４８】

本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーは、アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質を提供するために有用である。そのような作用物質として、例えば抗体（本明細書以下で抗オリゴマー抗体とも称する。）、非抗体結合分子（例えばｔｈｅ Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ、Ｓｔｅｆａｎ Ｄｕｂｅｌ編、第ＩＩ巻、７章、Ｗｉｌｅｙ－ＶＣＨ Ｖｅｒｌａｇ ＧｍｂＨ ＆ Ｃｏ．ＫＧａＡ．Ｗｅｉｎｈｅｉｍ、２００７に記載のとおりアフィボディ、アフィリン分子、アドネクチン、アンチカリン、ダーピン、ドメイン抗体、エビボディ、クノチン（ｋｎｏｔｉｎｓ）、クニツ型ドメイン、マキシボディ、テトラネクチン、トランスボディおよびＶ（ＮＡＲ）ｓなど）、アプタマーまたは低分子化合物が挙げられる。

【０２４９】

したがって一態様において本発明は、アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質をスクリーニングするためのアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーの使用に関する。したがって本発明は、そのような作用物質の同定方法にも関し、方法は：ａ）目的の１つ以上の作用物質を本明細書において記載のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに、１つ以上の作用物質がアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合するために十分な時間および条件下でさらすステップおよびｂ）アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合するこれらの作用物質を同定するステップ、を含む。

【０２５０】

他の態様において本発明は、アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質を前記作用物質を含む製剤中で濃縮するためのアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーの使用に関する。したがって本発明は、そのような作用物質を前記作用物質を含む製剤中で濃縮する方法にも関し、方法は：ａ）アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーをアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質を含む製剤に、作用物質がアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合するために十分な時間および条件下でさらすステップおよびｂ）濃縮された形態で作用物質を得るステップ、を含む。より詳細には作用物質が捕捉され得るようにアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーは（例えば樹脂上に）固定化され得る。したがって濃縮形態で作用物質を得るステップは、捕捉された作用物質を放出する（好ましくは捕捉された作用物質を放出するステップが捕捉された作用物質を高塩濃度緩衝液または酸性溶液に接触させるステップを含むような方法で）ステップを含み得る。例えばこの方法は、ＩＶＩＧまたはＯｃｔａｇａｍ（登録商標）（Ｏｃｔａｐｈａｒｍａ Ｉｎｃ．Ｖｉｅｎｎａ、オーストリア）などの市販の免疫グロブリン製剤をこの方法に供することによって本明細書において記載の自己抗体を濃縮するために使用され得る。これらの免疫グロブリン製剤はＡβに対する自己抗体を含有し、対象を治療することによって彼らの身体中の抗Ａβ抗体のレベルを上昇させると考えられている。前記自己抗体について濃縮された製剤は、より有効であると予測されている。

【０２５１】

さらなる態様において本発明は、したがってアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合する抗体を提供するためのアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーの使用に関する。したがって本発明は、本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体

またはオリゴマーに結合する抗体を提供するための方法にも関し、方法は：
ａ）アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーを含む抗原を提供するステップ、
ｂ）抗体レパートリーまたは潜在的抗体レパートリーを前記抗原にさらすステップ、
ｃ）前記レパートリーから前記アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合する抗体を選択するステップ
を含む。

【０２５２】

ここで、「潜在的抗体レパートリー」がアミノ酸または相当する核酸配列の任意のライブラリー、収集物、会合体もしくはセット、またはインビボもしくはインビトロで抗体レパートリーを産生するために使用され得るアミノ酸配列の任意のそのようなライブラリー、収集物、会合体もしくはセットの発生元を意味することは理解される。本発明の好ましい実施形態において発生元は、動物の獲得免疫系であり、詳細には当業者に十分に周知の組換えプロセスによって抗体多様性を生じさせる哺乳動物の免疫系の抗原生成部分である。本発明の他の好ましい実施形態において発生元は、適切な抗体フレームへの挿入によって次いでインビトロで抗体レパートリーを産生するために使用され得るランダム核酸配列を生じさせるための系である。

【０２５３】

本発明の好ましい実施形態において抗体レパートリーまたは潜在的抗体レパートリーは前記抗原で生物を免疫化することによってインビボで抗原にさらされる。本発明の他の好ましい実施形態において潜在的抗体レパートリーは、当技術分野において記載のインビトロ親和性スクリーニング、例えばファージディスプレイおよびパニング系によって抗体にさらされる適切な核酸のライブラリーである。

【０２５４】

他の態様において本発明は、本明細書において定義のＡβ（Ｘ－３８．．４３）アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合する抗体も提供する。

【０２５５】

本発明の好ましい実施形態において抗体は、本明細書において記載のレパートリーまたは潜在的抗体レパートリーから抗体を選択するステップを含む方法によって得られる。

【０２５６】

詳細な好ましい実施形態により本発明は、アミロイドβペプチド類似体にまたはオリゴマーに特異的な抗体を提供する。これらは、詳細には本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに対してよりもＡβペプチドの単量体および原線維形態の両方に対して比較的小さい親和性を有する抗体を含む。特定の実施形態において抗体は、タンパク質および／または巨大分子の混成物中でその標的抗原を優先的に認識する場合に、抗原に特異的に結合すると称される。

【０２５７】

本発明の好ましい実施形態においてアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーへの抗体の親和性は、単量体Ａβ（１－４２）への抗体の結合親和性よりも少なくとも２倍大きい、例えば少なくとも３倍または少なくとも５倍大きい、好ましくは少なくとも１０倍大きい、例えば少なくとも２０倍大きい、少なくとも３０倍または少なくとも５０倍大きい、より好ましくは少なくとも１００倍大きい、例えば少なくとも２００倍大きい、少なくとも３００倍または少なくとも５００倍大きい、さらにより好ましくは少なくとも１０００倍大きい、例えば少なくとも２０００倍大きい、少なくとも３０００倍または少なくとも５０００倍大きい、さらにより好ましくは少なくとも１００００倍大きい、例えば少なくとも２００００倍大きい、少なくとも３００００倍または少なくとも５００００倍大きいおよび最も好ましくは少なくとも１０００００倍大きい。

【０２５８】

本発明の好ましい実施形態においてアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーへの抗体の親和性は、単量体Ａβ（１－４０）への抗体の結合親和性よりも少なくとも２倍大きい、例えば少なくとも３倍または少なくとも５倍大きい、好ましくは少なくとも１０倍

大きい、例えば少なくとも２０倍大きい、少なくとも３０倍または少なくとも５０倍大きい、より好ましくは少なくとも１００倍大きい、例えば少なくとも２００倍大きい、少なくとも３００倍または少なくとも５００倍大きい、さらにより好ましくは少なくとも１０００倍大きい、例えば少なくとも２０００倍大きい、少なくとも３０００倍または少なくとも５０００倍大きい、さらにより好ましくは少なくとも１００００倍大きい、例えば少なくとも２００００倍大きい、少なくとも３００００倍または少なくとも５００００倍大きいおよび最も好ましくは少なくとも１０００００倍大きい。

【０２５９】

好都合には本発明の抗体は、１つまたは、より好ましくは両方の単量体に低い親和性で結合する、最も好ましくは1×10^{-8}のK$_D$もしくはより小さい親和性で結合する、例えば、3×10^{-8}MのK$_D$もしくはより小さい親和性で結合する、1×10^{-7}MのK$_D$もしくはより小さい親和性で、例えば3×10^{-7}MのK$_D$もしくはより小さい親和性で結合する、または1×10^{-6}MのK$_D$もしくはより小さい親和性で結合する、例えば3×10^{-5}MのK$_D$もしくはより小さい親和性で結合する、または1×10^{-5}MのK$_D$もしくはより小さい親和性で結合する。

【０２６０】

本発明の好ましい実施形態において、アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーへの抗体の親和性は、原線維性Ａβ（１－４２）への抗体の結合親和性よりも少なくとも２倍大きい、例えば少なくとも３倍または少なくとも５倍大きい、好ましくは少なくとも１０倍大きい、例えば少なくとも２０倍大きい、少なくとも３０倍または少なくとも５０倍大きい、より好ましくは少なくとも１００倍大きい、例えば少なくとも２００倍大きい、少なくとも３００倍または少なくとも５００倍大きい、さらにより好ましくは少なくとも１０００倍大きい、例えば少なくとも２０００倍大きい、少なくとも３０００倍または少なくとも５０００倍大きい、さらにより好ましくは少なくとも１００００倍大きい、例えば少なくとも２００００倍大きい、少なくとも３００００倍または少なくとも５００００倍大きいおよび最も好ましくは少なくとも１０００００倍大きい。

【０２６１】

本発明の好ましい実施形態においてアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーへの抗体の親和性は、原線維性Ａβ（１－４０）への抗体の結合親和性よりも少なくとも２倍大きい、例えば少なくとも３倍または少なくとも５倍大きい、好ましくは少なくとも１０倍大きい、例えば少なくとも２０倍大きい、少なくとも３０倍または少なくとも５０倍大きい、より好ましくは少なくとも１００倍大きい、例えば少なくとも２００倍大きい、少なくとも３００倍または少なくとも５００倍大きい、さらにより好ましくは少なくとも１０００倍大きい、例えば少なくとも２０００倍大きい、少なくとも３０００倍または少なくとも５０００倍大きい、さらにより好ましくは少なくとも１００００倍大きい、例えば少なくとも２００００倍大きい、少なくとも３００００倍または少なくとも５００００倍大きいおよび最も好ましくは少なくとも１０００００倍大きい。

【０２６２】

好都合には本発明の抗体は、１つまたは、より好ましくは両方の原線維に低い親和性で結合する、最も好ましくは1×10^{-8}のK$_D$もしくはより小さい親和性で結合する、例えば、3×10^{-8}MのK$_D$もしくはより小さい親和性で結合する、1×10^{-7}MのK$_D$もしくはより小さい親和性で結合する、例えば3×10^{-7}MのK$_D$もしくはより小さい親和性で結合する、または1×10^{-6}MのK$_D$もしくはより小さい親和性で結合する、例えば3×10^{-5}MのK$_D$もしくはより小さい親和性で結合する、または1×10^{-5}MのK$_D$もしくはより小さい親和性で結合する。

【０２６３】

本発明の抗体は、好ましくは単離された抗体である。「単離された抗体」は、上に記載の結合親和性を有し、異なる結合親和性を有する他の抗体を本質的に含まない抗体を意味する。用語「本質的に含まない」は、本明細書において少なくとも９５％の抗体が所望の結合親和性を有する、好ましくは少なくとも９８％の抗体が所望の結合親和性を有する、

より好ましくは少なくとも９９％の抗体が所望の結合親和性を有する抗体製剤を意味する。さらに、単離された抗体は、他の細胞性物質および／または化学物質を実質的に含まない場合がある。

【０２６４】

本発明の単離された抗体は、モノクローナル抗体を含む。本明細書において使用する「モノクローナル抗体」は、さまざまなアミノ酸配列の抗体の混合物を含有する「ポリクローナル」抗体製剤とは対照的に共通の重鎖および共通の軽鎖アミノ酸配列を共有している抗体分子、抗体の製剤を意味している。モノクローナル抗体は、ファージ、細菌、酵母またはリボソームディスプレイなどのいくつかの新規技術によっておよび融合細胞由来抗体（例えば、標準的ＫｏｈｌｅｒおよびＭｉｌｓｔｅｉｎ融合細胞法（（１９７５）Ｎａｔｕｒｅ　２５６：４９５－４９７頁）などの融合細胞技術によって調製される融合細胞によって分泌される抗体）によって例示される古典的方法によって生成され得る。したがって非古典的方法によっても得ることができるが、均一の配列を有する非融合細胞由来抗体も本明細書においてモノクローナル抗体と称され、用語「モノクローナル」は融合細胞由来抗体に限定されず、１つの核酸クローンに由来する全ての抗体を意味して使用される。

【０２６５】

したがって本発明のモノクローナル抗体は、組換え抗体を含む。用語「組換え」は、本明細書において、例えば化学合成によるまたは核酸の単離されたセグメントの遺伝子工学技術での操作による、他では分離している２つの配列のセグメントの任意の人工的組合せを意味する。詳細には用語「組換え抗体」は、宿主細胞に形質移入された組換え発現ベクターを使用して発現される抗体などの組換え手段によって産生、発現、生成または単離される抗体；組換えコンビナトリアル抗体ライブラリーから単離される抗体；ヒト免疫グロブリン遺伝子で遺伝子導入された動物（例えばマウス）から単離される抗体（例えば、Ｔａｙｌｏｒ，Ｌ．Ｄ．ら、（１９９２）Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．２０：６２８７－６２９５頁を参照されたい。）；または具体的な免疫グロブリン遺伝子配列（ヒト免疫グロブリン遺伝子配列など）が他のＤＮＡ配列と会合している任意の他の方法において産生、発現、生成または単離される抗体を意味する。組換え抗体は、例えばキメラ、ＣＤＲグラフトおよびヒト化抗体を含む。当業者は、従来の融合細胞由来モノクローナル抗体の異種系での発現が、たとえ得られる抗体タンパク質のアミノ酸配列が変更されていないまたは変更させるつもりの場合でも組換え抗体の生成を必要とすることを承知している。

【０２６６】

本発明の詳細な実施形態において抗体は、ヒト化抗体である。

【０２６７】

複数の実施形態により抗体は、ヒト抗体またはマウス抗体など単一の種に完全に由来するアミノ酸配列を含み得る。他の実施形態により抗体は、キメラ抗体もしくはＣＤＲグラフト抗体またはヒト化抗体の他の形態であり得る。

【０２６８】

用語「抗体」は、ポリペプチド鎖４本、重（Ｈ）鎖２本および軽（Ｌ）鎖２本から構成される免疫グロブリン分子を意味している。鎖は通常はジスルフィド結合を介して相互に結合している。各重鎖は、前記重鎖の可変領域（本明細書においてＨＣＶＲまたはＶＨと省略する。）および前記重鎖の定常領域から構成される。重鎖定常領域は、３つのドメインＣＨ１、ＣＨ２およびＣＨ３からなる。各軽鎖は、前記軽鎖の可変領域（本明細書においてＬＣＶＲまたはＶＬと省略する。）および前記軽鎖の定常領域から構成される。軽鎖定常領域は、ＣＬドメインからなる。ＶＨおよびＶＬ領域は、相補性決定領域（ＣＤＲｓ）と称される高頻度可変領域にさらに分割される場合があり、フレームワーク領域（ＦＲ）と称される保存領域が散在している。各ＶＨおよびＶＬ領域は、したがって３つのＣＤＲｓおよび４つのＦＲｓからなり、Ｎ末端からＣ末端へ以下の順番：ＦＲ１、ＣＤＲ１、ＦＲ２、ＣＤＲ２、ＦＲ３、ＣＤＲ３、ＦＲ４で配置されている。この構造は、当業者に周知である。

【０２６９】

用語、抗体の「抗原結合成分」（または単に「抗体成分」）は、本発明の抗体の１つ以上の断片を意味し、前記断片は、上に定義の結合親和性をいまだ有する。完全な抗体の断片は、抗体の抗原結合機能を実行できることが示されている。用語、抗体の「抗原結合成分」に従って結合断片の例として（ｉ）Ｆａｂ断片、すなわちＶＬ、ＶＨ、ＣＬおよびＣＨ１ドメインからなる一価断片、（ｉｉ）Ｆ（ａｂ’）$_2$断片、すなわちヒンジ領域においてジスルフィド架橋を介して相互に結合している２つのＦａｂ断片を含む二価断片、（ｉｉｉ）ＶＨおよびＣＨ１ドメインからなるＦｄ断片、（ｉｖ）抗体の１つの腕のＦＬおよびＶＨドメインからなるＦｖ断片、（ｖ）ＶＨドメインからなるまたはＶＨ、ＣＨ１、ＣＨ２、ＤＨ３もしくはＶＨ、ＣＨ２、ＣＨ３からなるｄＡｂ断片（Ｗａｒｄら、（１９８９）Ｎａｔｕｒｅ ３４１：５４４－５４６頁）および（ｖｉ）単離された相補性決定領域（ＣＤＲ）が挙げられる。Ｆｖ断片の２つのドメイン、すなわちＶＬおよびＶＨは、離れた遺伝子によってコードされているが、それらは合成リンカー（例えばポリ－Ｇ$_4$Ｓアミノ酸配列）を使用して相互にさらに結合されることができ、ＶＬおよびＶＨ領域が一価分子（単鎖Ｆｖ（ＳｃＦｖ）として周知、例えばＢｉｒｄら、（１９８８）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４２：４２３－４２６頁；およびＨｕｓｔｏｎら、（１９８８）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８５：５８７９－５８８３頁を参照されたい。）を形成するように組み合わせた単一のタンパク質鎖としてそれらを調製することを可能にする組換え法を使用して相互に結合され得る。用語、抗体の「抗原結合成分」もそのような単鎖抗体を含んでいる。「二重特異性抗体」などの単鎖抗体の他の形態は、同様に本明細書に含まれる。二重特異性抗体は、二価の、二重特異性の抗体であり、ＶＨおよびＶＬドメインは単一のポリペプチド鎖上に発現されているが、２つのドメインを同じ鎖上で組み合わせできるようにするためには短すぎるリンカーを使用しており、それにより異なる鎖の相補性ドメインと対になり、２つの抗原結合部位を形成することを前記ドメインに強いている（例えばＨｏｌｌｉｇｅｒ，Ｐ．ら、（１９９３）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９０：６４４４－６４４８頁：Ｐｏｌｊａｋ．Ｒ．Ｊ．ら、（１９９４）Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ ２：１１２１－１１２３頁を参照されたい。）。免疫グロブリン定常ドメインは重鎖または軽鎖の定常ドメインを意味する。ヒトＩｇＧ重鎖および軽鎖定常ドメインアミノ酸配列は当技術分野において周知である。

【０２７０】

さらに本発明の抗体またはこの抗原結合成分は、前記抗体または抗体結合成分と１つ以上のさらなるタンパク質またはペプチドとの共有結合的または非共有結合的会合によって形成される、より大きな免疫付着分子の一部であり得る。そのような免疫付着分子に関するのは、四量体ｓｃＦｖ分子を調製するためのストレプトアビジンコア領域の使用（Ｋｉｐｒｉｙａｎｏｖ，Ｓ．Ｍ．ら、（１９９５）Ｈｕｍａｎ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｈｙｂｒｉｄｏｍａｓ ６：９３－１０１頁）および二価でビオチン化されたｓｃＦｖ分子を産生するためのシステイン残基、マーカーペプチドおよびＣ末端ポリヒスチジニルタグ、例えばヘキサヒスチジニルタグの使用（Ｋｉｐｒｉｙａｎｏｖ，Ｓ．Ｍ．ら、（１９９４）Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．３１：１０４７－１０５８頁）である。

【０２７１】

用語「ヒト抗体」は、例えばＫａｂａｔら（Ｋａｂａｔら、（１９９１）Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、第５版、Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ、ＮＩＨ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ Ｎｏ．９１－３２４２を参照されたい。）によって記載されたとおり可変および定常領域がヒト生殖系の免疫グロブリン配列に相当するまたは、それに由来する抗体を意味する。しかし本発明のヒト抗体は、例えばＣＤＲｓにおいておよび詳細にはＣＤＲ３において、ヒト生殖系免疫グロブリン配列によってコードされていないアミノ酸残基（例えばインビトロでのランダムもしくは部位特異的変異導入によってまたはインビボでの体細胞変異によって導入される変異）を含有できる。本発明の組換えヒト抗体は、可変領域を有し、ヒト生殖系の免疫グロブリン配列の由来の定常領域も含有できる（Ｋａｂａｔ，Ｅ．Ａ．ら、（１９９１）Ｓｅｑｕｅｎｃ

ｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、第５版、Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ．ＮＩＨ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ Ｎｏ．９１－３２４２を参照されたい。）。しかし詳細な実施形態によれば、そのような組換えヒト抗体はインビトロ変異導入に（またはヒトＩｇ配列により遺伝子導入された動物が使用される場合は、体細胞インビボ変異導入に）供され、それにより組換え抗体のＶＨおよびＶＬ領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖系のＶＨおよびＶＬ配列に関連するまたは由来するが、ヒト抗体生殖系レパートリー中にインビボでは天然に存在しない配列になる。詳細な実施形態によりこの種類の組換え抗体は、選択的変異導入もしくは逆変異またはこの両方の結果である。好ましくは変異導入は、親抗体の親和性よりも標的へのより大きい親和性および／または非標的構造へのより小さい親和性を生じる。

【０２７２】

用語「キメラ抗体」は、ヒト定常領域に結合しているマウス重鎖および軽鎖可変領域を有する抗体などの１つの種由来の重鎖および軽鎖の可変領域についての配列および他の種由来の定常領域配列を含有する抗体を意味する。

【０２７３】

用語「ＣＤＲグラフト抗体」は、１つの種由来の重鎖および軽鎖の可変領域配列を含むが、ＶＨおよび／またはＶＬの１つ以上のＣＤＲ領域の配列が他の種のＣＤＲ配列に置換されている抗体、１つ以上のマウスＣＤＲ（例えばＣＤＲ３）がヒトＣＤＲ配列に置換されているマウス重鎖および軽鎖可変領域を有する抗体などを意味する。

【０２７４】

用語「ヒト化抗体」は、非ヒト種（例えばマウス、ラット、ウサギ、ニワトリ、ラクダ、ヒツジまたはヤギ）由来の重鎖および軽鎖の可変領域の配列を含むが、ＶＨおよび／またはＶＬ配列の少なくとも一部がより「ヒトらしく」なるように、すなわちヒト生殖系の可変配列により類似するように、改変されている抗体を意味する。ある種のヒト化抗体は、ヒトＣＤＲ配列が相当する非ヒトＣＤＲ配列を置換するように非ヒトＶＨおよびＶＬ配列中に挿入されているＣＤＲグラフト抗体である。

【０２７５】

本発明の抗体を産生する方法は、以下に記載されている。本明細書においてインビボ手法、インビトロ手法または両方の組合せは区別されている。

【０２７６】

本発明の抗体を産生するためのいくつかの方法は、以下に記載されている。インビボ手法インビトロ手法または両方の組合せは区別される。

【０２７７】

インビボ手法

所望の抗体の種類に応じて種々の宿主動物がインビボ免疫化のために使用され得る。それ自体が目的の抗原の内在性バージョンを発現している宿主が使用され得る。別法として、目的の抗原の内在性バージョンに欠損を作られている宿主を使用できる。例えば、具体的な内在性タンパク質に相当する内在性遺伝子での相同組換えを介して欠損を作られているマウス（すなわちノックアウトマウス）は、これらが免疫化されたタンパク質に対して液性応答を生じることが示されており、したがってタンパク質に対する高親和性モノクローナル抗体の産生のために使用され得る（例えばＲｏｅｓ，Ｊ．ら、（１９９５）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ １８３：２３１－２３７頁；Ｌｕｎｎ，Ｍ．Ｐ．ら、（２０００）Ｊ．Ｎｅｕｒｏｃｈｅｍ．７５：４０４－４１２頁を参照されたい。）。

【０２７８】

多数の非ヒト哺乳動物が、本発明の非ヒト抗体を産生するための抗体産生に適する宿主である。これらとして、マウス、ラット、ニワトリ、ラクダ、ウサギ、ヒツジおよびヤギ（ならびにこれらのノックアウトバージョン）が挙げられるが融合細胞の産生のためにはマウスに優先権が与えられる。さらにヒト抗体レパートリーを発現している非ヒト宿主動物は、二重特異性を有し、ヒト抗原に対する本質的にはヒトの抗体を産生するために使用

され得る。この種の非ヒト動物は、ヒト免疫グロブリン導入遺伝子を保持している遺伝子導入動物（例えばマウス）（キメラｈｕ－ＰＢＭＣ　ＳＣＩＤマウス）および以下により詳細に記載されるヒト／マウス放射線キメラを含む。

【０２７９】

一実施形態によれば、アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーで免疫化された動物は、非ヒト哺乳動物、好ましくはマウスであり、抗原刺激で前記非ヒト哺乳動物がヒト抗体を作るようにヒト免疫グロブリン遺伝子により遺伝子導入されている。典型的にはヒト生殖系立体配置を有する重鎖および軽鎖についての免疫グロブリン導入遺伝子は、内在性重鎖および軽鎖遺伝子座が不活性になるように改変されているそのような動物に導入される。そのような動物が抗原で（例えばヒト抗原で）刺激される場合、ヒト免疫グロブリン配列（ヒト抗体）由来の抗体が産生される。標準的融合細胞技術を用いて、そのような動物のリンパ球からヒトモノクローナル抗体を作製することができる。ヒト免疫グロブリンを有する遺伝子導入マウスおよびヒト抗体の産生におけるこれらの使用についてのさらなる記載について、例えばＵＳ　５，９３９，５９８、ＷＯ　９６／３３７３５、ＷＯ　９６／３４０９６、ＷＯ　９８／２４８９３およびＷＯ　９９／５３０４９（Ａｂｇｅｎｉｘ　Ｉｎｃ．）ならびにＵＳ　５，５４５，８０６、ＵＳ　５，５６９，８２５、ＵＳ　５，６２５，１２６、ＵＳ　５，６３３，４２５、ＵＳ　５，６６１，０１６、ＵＳ　５，７７０，４２９、ＵＳ　５，８１４，３１８、ＵＳ　５，８７７，３９７およびＷＯ　９９／４５９６２（Ｇｅｎｐｈａｒｍ　Ｉｎｃ．）を参照されたく、ＭａｃＱｕｉｔｔｙ，Ｊ．Ｊ．およびＫａｙ，Ｒ．Ｍ．（１９９２）Ｓｃｉｅｎｃｅ　２５７：１１８８；Ｔａｙｌｏｒ，Ｌ．Ｄ．ら、（１９９２）Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．２０：６２８７－６２９５頁；Ｌｏｎｂｅｒｇ，Ｎ．ら、（１９９４）Ｎａｔｕｒｅ　３６８：８５６－８５９頁；Ｌｏｎｂｅｒｇ，Ｎ．およびＨｕｓｚａｒ，Ｄ．（１９９５）Ｉｎｔ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１３：６５－９３頁；Ｈａｒｄｉｎｇ，Ｆ．Ａ．およびＬｏｎｂｅｒｇ，Ｎ．（１９９５）Ａｎｎ．Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．７６４：５３６－５４６頁；Ｆｉｓｈｗｉｌｄ，Ｄ．Ｍ．ら、（１９９６）Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　１４：８４５－８５１頁；Ｍｅｎｄｅｚ，Ｍ．Ｊ．ら、（１９９７）Ｎａｔｕｒｅ　Ｇｅｎｅｔｉｃｓ　１５：１４６－１５６頁；Ｇｒｅｅｎ，Ｌ．Ｌ．およびＪａｋｏｂｏｖｉｔｓ，Ａ．（１９９８）Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１８８：４８３－４９５頁；Ｇｒｅｅｎ，Ｌ．Ｌ．（１９９９）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ　２３１：１１－２３頁；Ｙａｎｇ，Ｘ．Ｄ．ら、（１９９９）Ｊ．Ｌｅｕｋｏｃ．Ｂｉｏｌ．６６：４０１－４１０頁；Ｇａｌｌｏ，Ｍ．Ｌ．ら、（２０００）Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．３０：５３４－５４０頁も参照されたい。

【０２８０】

他の実施形態によれば、アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーで免疫化された動物は、重症複合免疫不全（ＳＣＩＤ）を有するマウスであってよく、ヒト末梢血単核細胞もしくはリンパ球細胞またはこれらの前駆細胞で再構成されている。キメラｈｕ－ＰＢＭＣ　ＳＣＩＤマウスと称されるそのようなマウスは、証明されているとおり抗原刺激でヒト免疫グロブリン応答を生じる。これらのマウスおよび抗体生成のためのこれらの使用についてのさらなる記載について、例えばＬｅａｄｅｒ，Ｋ．Ａ．ら、（１９９２）Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　７６：２２９－２３４頁；Ｂｏｍｂｉｌ，Ｆ．ら、（１９９６）Ｉｍｍｕｎｏｂｉｏｌ．１９５：３６０－３７５頁；Ｍｕｒｐｈｙ，Ｗ．Ｊ．ら、（１９９６）Ｓｅｍｉｎ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．８：２３３－２４１頁；Ｈｅｒｚ，Ｕ．ら、（１９９７）Ｉｎｔ．Ａｒｃｈ．Ａｌｌｅｒｇｙ　Ｉｍｍｕｎｏｌ．１１３：１５０－１５２頁；Ａｌｂｅｒｔ，Ｓ．Ｅ．ら、（１９９７）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５９：１３９３－１４０３頁；Ｎｇｕｙｅｎ，Ｈ．ら、（１９９７）Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．４１：９０１－９０７頁；Ａｒａｉ，Ｋ．ら、（１９９８）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ　２１７：７９－８５頁；Ｙｏｓｈｉｎａｒｉ，Ｋ．およびＡｒａｉ，Ｋ．（１９９８）Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ　１７：４１－４５頁；Ｈｕｔｃｈｉｎｓ，Ｗ．Ａ．ら、（１９９９）Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ　１８：１２１－１２９頁；Ｍｕｒｐｈｙ，Ｗ．Ｊ．ら、（１

９９９）Ｃｌｉｎ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．９０：２２－２７頁；Ｓｍｉｔｈｓｏｎ，Ｓ．Ｌ．ら、（１９９９）Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．３６：１１３－１２４頁；Ｃｈａｍａｔ，Ｓ．ら、（１９９９）Ｊ．Ｉｎｆｅｃｔ．Ｄｉｓｅａｓｅｓ １８０：２６８－２７７頁；およびＨｅａｒｄ，Ｃ．ら、（１９９９）Ｍｏｌｅｃ．Ｍｅｄ、５：３５－４５頁を参照されたい。

【０２８１】

他の実施形態によれば、アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーで免疫化された動物は、致死量の全身照射で処置され、次いで重症複合免疫不全（ＳＣＩＤ）を有するマウス由来の骨髄細胞で照射から保護され、次に機能性のヒトリンパ球を移植されているマウスである。この種類のキメラ（トリメラ系と称される）は、目的の抗原で前記マウスを免疫化し、次いで標準的融合細胞技術を使用してモノクローナル抗体を産生することによってヒトモノクローナル抗体を産生するために使用される。これらのマウスおよび抗体を生成するためのこれらの使用についてのさらなる記載について、例えばＥｒｅｎ，Ｒ．ら、（１９９８）Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ９３：１５４－１６１頁；Ｒｅｉｓｎｅｒ．ＹおよびＤａｇａｎ，Ｓ．（１９９８）Ｔｒｅｎｄｓ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１６：２４２－２４６頁；Ｉｌａｎ，Ｅ．ら、（１９９９）Ｈｅｐａｔｏｌｏｇｙ ２９：５５３－５６２頁；およびＢｏｃｈｅｒ，Ｗ．Ｏ．ら、（１９９９）Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ９６：６３４－６４１頁を参照されたい。

【０２８２】

インビボで生成された抗体産生細胞から開始して、モノクローナル抗体は、ＫｏｈｌｅｒおよびＭｉｌｓｔｅｉｎ（１９７５，Ｎａｔｕｒｅ ２５６：４９５－４９７頁）によって最初に記載された融合細胞技術などの標準的技術を用いて産生され得る（Ｂｒｏｗｎら、（１９８１）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ １２７：５３９－４６頁；Ｂｒｏｗｎら、（１９８０）Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ ２５５：４９８９－８３頁；Ｙｅｈら、（１９７６）ＰＮＡＳ ７６：２９２７－３１頁；およびＹｅｈら、（１９８２）Ｉｎｔ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ ２９：２６９－７５頁も参照されたい。）。モノクローナル抗体融合細胞の産生技術は十分に周知である（一般にＭｏｎｏｃｌｏｎａｌ ＡｎｔｉｂｏｄｉｅｓにおけるＲ．Ｈ．Ｋｅｎｎｅｔｈ：Ａ Ｎｅｗ Ｄｉｍｅｎｓｉｏｎ Ｉｎ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ Ａｎａｌｙｓｅｓ、Ｐｌｅｎｕｍ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏｒｐ．、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８０）；Ｅ．Ａ．Ｌｅｒｎｅｒ（１９８１）Ｙａｌｅ Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｍｅｄ．、５４：３８７－４０２頁；Ｍ．Ｌ．Ｇｅｆｔｅｒら、（１９７７）Ｓｏｍａｔｉｃ Ｃｅｌｌ Ｇｅｎｅｔ．、３：２３１－３６頁を参照されたい。）。簡潔には不死化細胞系（典型的には骨髄腫）は、本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーで免疫化された哺乳動物のリンパ球（典型的には脾細胞またはリンパ節細胞または末梢血リンパ球）と融合され、得られた融合細胞の培養上清は本発明のモノクローナル抗体を産生している融合細胞を同定するためにスクリーニングされる。リンパ球と免疫化された細胞系とを融合するための多数の十分に周知な手順のいずれでも、この目的のために適用され得る（Ｇ．Ｇａｌｆｒｅら、（１９７７）Ｎａｔｕｒｅ ２６６：５５０－５２頁；Ｇｅｆｔｅｒら、Ｓｏｍａｔｉｃ Ｃｅｌｌ Ｇｅｎｅｔ．、上記に引用；Ｌｅｒｎｅｒ、Ｙａｌｅ Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｍｅｄ．、上記に引用；Ｋｅｎｎｅｔｈ、Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ、上記に引用も参照されたい。）。さらに当業者は、同様に有用であるそのような方法のさまざまな変法があることを理解する。典型的には不死化細胞系（例えば骨髄腫細胞系）は、リンパ球と同じ哺乳動物種由来である。例えばマウス融合細胞は、本発明の免疫原性製剤で免疫化されたマウス由来のリンパ球と不死化マウス細胞系とを融合することによって確立され得る。好ましい不死化細胞系は、ヒポキサンチン、アミノプテリンおよびチミジン（ＨＡＴ培地）を含有する培養培地に感受性のマウス骨髄腫細胞系である。多数の骨髄腫細胞系のいずれでも初期状態で融合パートナーとして使用され得る、例えばＰ３－ＮＳ１／１－Ａｇ４－１、Ｐ３－ｘ６３－Ａｇ８．６５３またはＳｐ２／Ｏ－Ａｇ１４骨髄腫細胞系。これらの骨髄腫細胞系は、Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ（ＡＴＣＣ）、Ｒｏｃｋｖ

ｉｌｌｅ、ＭＤから入手可能である。典型的にはＨＡＴ感受性マウス骨髄腫細胞は、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）を使用してマウス脾臓細胞に融合される。融合から生じた融合細胞は、次いでＨＡＴ培地を使用して選択され、それにより未融合細胞および非生産的に融合された骨髄腫細胞（未融合脾臓細胞は、それらが形質転換されていないことから数日後に死ぬ。）は殺される。本発明のモノクローナル抗体を産生する融合細胞は、融合細胞培養上清をそのような抗体についてスクリーニングすることによって、例えば本明細書において定義の結合親和性を有する抗体を選択するためにドットブロットアッセイを使用することによって、同定される。

【０２８３】

同様に前記融合細胞は、下にさらに詳細に記載されるとおり、本発明の抗体を組換え的に産生するための軽鎖および／または重鎖をコードする核酸の供給源として使用され得る。

【０２８４】

インビトロ手法

免疫化および選択により本発明の抗体を産生するための別法として、本発明の抗体は、所要の結合親和性を有する免疫グロブリンライブラリーメンバーを単離するためにアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーで組換えコンビナトリアル免疫グロブリンライブラリーをスクリーニングすることによって同定および単離され得る。ディスプレイライブラリーを生成およびスクリーニングするためのキットは、商業的に入手できる（例えばｔｈｅ Ｐｈａｒｍａｃｉａ Ｒｅｃｏｍｂｉｎａｎｔ Ｐｈａｇｅ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｓｙｓｔｅｍ、カタログ番号２７－９４００－０１；およびｔｈｅ Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ ＳｕｒｆＺＡＰ（登録商標） Ｐｈａｇｅ Ｄｉｓｐｌａｙ Ｋｉｔ、カタログ番号２４０６１２）。多数の実施形態においてディスプレイライブラリーは、ｓｃＦｖライブラリーまたはＦａｂライブラリーである。組換え抗体ライブラリーをスクリーニングするためのファージディスプレイ技術は、的確に記載されている。抗体ディスプレイライブラリーを生成およびスクリーニングするために特に有利に使用され得る方法および化合物の例は、例えばＭｃＣａｆｆｅｒｔｙら、ＷＯ ９２／０１０４７、ＵＳ ５，９６９，１０８およびＥＰ ５８９ ８７７（特にｓｃＦｖディスプレイを記載。）、Ｌａｄｎｅｒら、ＵＳ ５，２２３，４０９、ＵＳ ５，４０３，４８４、ＵＳ ５，５７１，６９８、ＵＳ ５，８３７，５００およびＥＰ ４３６ ５９７（例えばｐＩＩＩ融合を記載。）、Ｄｏｗｅｒら、ＷＯ ９１／１７２７１、ＵＳ ５，４２７，９０８、ＵＳ ５，５８０，７１７およびＥＰ ５２７ ８３９（特にＦａｂディスプレイを記載。）、Ｗｉｎｔｅｒら、国際公開ＷＯ ９２／２０７９１およびＥＰ ３６８，６８４（特に可変性免疫グロブリンドメインについての配列のクローニングを記載。）、Ｇｒｉｆｆｉｔｈｓら、ＵＳ５，８８５，７９３およびＥＰ ５８９ ８７７（特に組換えライブラリーを使用するヒト抗原に対するヒト抗体の単離を詳細に記載。）、Ｇａｒｒａｒｄら、ＷＯ ９２／０９６９０（特にファージ発現技術を詳細に記載。）、Ｋｎａｐｐｉｋら、ＷＯ ９７／０８３２０（ヒト組換え抗体ライブラリーＨｕＣａｌを記載。）、Ｓａｌｆｅｌｄら、ＷＯ ９７／２９１３１、（ヒト抗原（ヒト腫瘍壊死因子アルファ）に対する組換えヒト抗体の産生および組換え抗体のインビトロ親和性成熟を記載。）ならびにＳａｌｆｅｌｄら、米国仮特許出願第６０／１２６，６０３号およびこれに基づく特許出願（同様にヒト抗原（ヒトインターロイキン－１２）に対する組換えヒト抗体の産生を記載。）において見出され得る。

【０２８５】

組換え抗体ライブラリーのスクリーニングのさらなる記載は、Ｆｕｃｈｓら、（１９９１）Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ９：１３７０－１３７２頁；Ｈａｙら、（１９９２）Ｈｕｍ Ａｎｔｉｂｏｄ Ｈｙｂｒｉｄｏｍａｓ ３：８１－８５頁；Ｈｕｓｅら、（１９８９）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４６：１２７５－１２８１頁；Ｇｒｉｆｆｉｔｈｓら、（１９９３）ＥＭＢＯ Ｊ １２：７２５－７３４頁；Ｈａｗｋｉｎｓら、（１９９２）Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ ２２６：８８９－８９６頁；Ｃｌａｒｋｓｏｎら、（１９９１）Ｎ

ａｔｕｒｅ　３５２：６２４－６２８頁；Ｇｒａｍら、（１９９２）ＰＮＡＳ　８９：３５７６－３５８０頁；Ｇａｒｒａｒｄら、（１９９１）Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　９：１３７３－１３７７頁；Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍら、（１９９１）Ｎｕｃ　Ａｃｉｄ　Ｒｅｓ　１９：４１３３－４１３７頁；Ｂａｒｂａｓら、（１９９１）ＰＮＡＳ　８８：７９７８－７９８２頁；ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙら、Ｎａｔｕｒｅ（１９９０）３４８：５５２－５５４頁；およびＫｎａｐｐｉｋら、（２０００）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２９６：５７－８６頁などの科学刊行物において見出され得る。

【０２８６】

バクテリオファージディスプレイ系を使用する別法として、組換え抗体ライブラリーは酵母細胞または細菌細胞の表面上に発現され得る。ＷＯ　９９／３６５６９は、酵母細胞の表面上に発現されたライブラリーの調製およびスクリーニングの方法を記載している。ＷＯ　９８／４９２８６は、細菌細胞の表面上に発現されたライブラリーの調製およびスクリーニングのより詳細な方法を記載している。

【０２８７】

全てのインビトロ手法において、所望の特性を有する組換え抗体を濃縮するための選択プロセスは、プロセスの不可欠な部分を形成しており、一般に「パニング」と称され、マトリックスに標的構造が付着しているカラムでの親和性クロマトグラフィーの形態をしばしばとる。有望な候補分子は、次いでそれらの絶対的および／または相対的親和性の個別測定に（好ましくは標準的ドットブロットアッセイを用いて）上に記載のとおり供される。

【０２８８】

当業者に理解されるとおり、選択および濃縮のためのそのようなインビトロ法は、非免疫グロブリン関連抗原結合成分を得るためにも適用され得る。

【０２８９】

ひとたびコンビナトリアルライブラリーの目的の抗体が、同定され、十分に特徴付けられると、前記抗体の軽鎖および重鎖をコードするＤＮＡ配列は標準的分子生物学的技術を用いて、例えばライブラリースクリーニング中に単離されるディスプレイパッケージ（例えばファージ）由来のＤＮＡのＰＣＲ増幅を用いて単離される。ＰＣＲプライマーを調製するために使用され得る抗体軽鎖および重鎖についての遺伝子のヌクレオチド配列は、当業者に周知である。多数のそのような配列は、例えばＫａｂａｔ，Ｅ．Ａら、（１９９１）Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、第５版、Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ　ａｎｄ　Ｈｕｍａｎ　Ｓｅｒｖｉｃｅｓ、ＮＩＨ　Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ　Ｎｏ．９１－３２４２およびヒト生殖系ＶＢＡＳＥの配列データベースに記載されている。

【０２９０】

本発明の抗体または抗体結合成分は、宿主細胞中で免疫グロブリン軽鎖および重鎖についての遺伝子を組換え的に発現することによって産生され得る。抗体を組換え的に発現するために宿主細胞は、前記抗体の免疫グロブリン軽鎖および重鎖をコードするＤＮＡ断片を保有している１つ以上の組換え発現ベクターで形質移入され、それにより宿主細胞中で軽鎖および重鎖を発現し、それらを好ましくは前記宿主細胞が培養されている培地中に分泌する。抗体はこの培地から単離され得る。標準的組換えＤＮＡ法は、抗体軽鎖および重鎖についての遺伝子を得るため、前記遺伝子を組換え発現ベクターに挿入するためおよび前記ベクターを宿主細胞に導入するために使用される。この種の方法は、例えばＳａｍｂｒｏｏｋ、ＦｒｉｔｓｃｈおよびＭａｎｉａｔｉｓ（編）、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｌｏｎｉｎｇ；Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ、第２版、Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ、Ｎ．Ｙ．、（１９８９）、Ａｕｓｕｂｅｌ，Ｆ．Ｍ．ら、（編）Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｇｒｅｅｎｅ　Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ　Ａｓｓｏｃｉａｔｅｓ、（１９８９）およびＢｏｓｓらによるＵＳ４，８１６，３９７に記載されている。

【０２９１】

ひとたび目的の抗体のＶＨおよびＶＬセグメントをコードするＤＮＡ断片が得られると、前記ＤＮＡ断片は、標準的組換えＤＮＡ技術を使用して、例えば可変領域についての遺伝子を全長抗体鎖についての遺伝子に転換するため、Ｆａｂ断片についての遺伝子に転換するためまたはｓｃＦｖ遺伝子に転換するためにさらに操作され得る。これらの操作は、ＶＬ－またはＶＨ－をコードするＤＮＡ断片を他のタンパク質、例えば抗体定常領域または可動性リンカーをコードする他のＤＮＡ断片に機能的に結合させることを含む。用語「機能的に結合する」は、本明細書において２つのＤＮＡ断片が、前記２つのＤＮＡ断片によってコードされるアミノ酸配列がインフレームのままであるように結合されているとの意味で理解される。

【０２９２】

ＶＨ領域をコードする単離されたＤＮＡ断片は、ＶＨ領域をコードするＤＮＡを重鎖定常領域（ＣＨ１、ＣＨ２およびＣＨ３）をコードする他のＤＮＡ分子と機能的に結合することによって全長重鎖についての遺伝子に転換され得る。ヒト重鎖定常領域遺伝子の配列は周知であり（例えばＫａｂａｔ，Ｅ．Ａ．ら、（１９９１）Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、第５版、Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ、ＮＩＨ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ Ｎｏ．９１－３２４２を参照されたい。）、前記領域に及ぶＤＮＡ断片は、標準的ＰＣＲ増幅を用いて得ることができる。重鎖定常領域は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＭ、ＩｇＡ、ＩｇＥまたはＩｇＤ由来の定常領域であり、ＩｇＧ詳細にはＩｇＧ１またはＩｇＧ４由来の定常領域に優先権が与えられる。重鎖Ｆａｂ断片についての遺伝子を得るためにＶＨをコードするＤＮＡは、重鎖定常領域ＣＨ１だけをコードする他のＤＮＡ分子に機能的に結合され得る。

【０２９３】

ＶＬ領域をコードする単離されたＤＮＡ断片は、ＶＬをコードするＤＮＡを軽鎖定常領域ＣＬをコードする他のＤＮＡ分子に機能的に結合することによって全長軽鎖についての遺伝子（およびＦａｂ軽鎖についての遺伝子）に転換され得る。ヒト軽鎖の定常領域の遺伝子の配列は周知であり（Ｋａｂａｔ，Ｅ．Ａ．ら、（１９９１）Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、第５版、Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ、ＮＩＨ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ Ｎｏ．９１－３２４２を参照されたい。）、前記領域に及ぶＤＮＡ断片は、標準的ＰＣＲ増幅を用いて得ることができる。軽鎖定常領域は、定常カッパまたはラムダ領域であってよく、定常カッパ領域が好ましい。

【０２９４】

ｓｃＦｖ遺伝子を生成するためにＶＨ－およびＶＬ－をコードするＤＮＡ断片は、可動性リンカー、例えばアミノ酸配列（$Ｇｌｙ_{4}$－$Ｓｅｒ）_{3}$をコードする他の断片に、ＶＨおよびＶＬ配列がＶＬ領域とＶＨ領域とが前記可動性リンカーを介して相互に結合している連続した単一鎖タンパク質として発現されるように機能的に結合され得る（Ｂｉｒｄら、（１９８８）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４２：４２３－４２６頁；Ｈｕｓｔｏｎら、（１９８８）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８５：５８７９－５８８３頁；ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙら、Ｎａｔｕｒｅ（１９９０）３４８：５５２－５５４頁を参照されたい。）。

【０２９５】

上に記載の結合親和性を有する単一ドメインＶＨおよびＶＬは、単一ドメインライブラリーから上に記載の方法によって単離され得る。所望の結合親和性を有する２つのＶＨ単一ドメイン鎖（ＣＨ１を有するもしくは有さない）もしくは２つのＶＬ鎖または１つのＶＨ鎖と１つのＶＬ鎖との対は、本発明の抗体について本明細書において記載のとおり有用であり得る。

【０２９６】

本発明の組換え抗体または抗体成分を発現するために、部分的または全長の軽鎖および重鎖をコードするＤＮＡは、遺伝子を適切な転写および翻訳調節配列に機能的に結合する

ように発現ベクターに挿入され得る。これに関連して用語「機能的に結合」は、ベクター中の転写および翻訳調節配列が前記抗体遺伝子の転写および翻訳を制御するそれらの目的の機能を全うするように抗体遺伝子がベクター中に連結されているとの意味で理解される。

【０２９７】

好都合には発現ベクターおよび発現調節配列は、使用される発現宿主細胞に適合するように選択される。抗体軽鎖についての遺伝子および抗体重鎖についての遺伝子は別々のベクターに挿入されることができ、または両遺伝子は同じ発現ベクターに挿入され、これが通常の場合である。抗体遺伝子は、標準的方法を用いて（例えば抗体遺伝子断片およびベクター上の相補的制限酵素切断部位の連結によってまたは制限酵素部位が存在しない場合は平滑末端の連結によって）発現ベクターに挿入される。発現ベクターは、軽鎖および重鎖についての配列の挿入より先に抗体定常領域についての配列をすでに保有していてもよい。例えば１つの手法はＶＨおよびＶＬ配列を、重鎖および軽鎖定常領域それぞれをすでにコードしている発現ベクター中にそれらを挿入し、それによりＶＨセグメントをベクター中の１つまたは複数のＣＨセグメントに機能的に結合し、ＶＬセグメントもベクター中のＣＬセグメントに機能的に結合することによって全長抗体遺伝子に転換することである。

【０２９８】

追加的にまたは別法として組換え発現ベクターは、宿主細胞からの抗体鎖の分泌を促進するシグナルペプチドをコードできる。前記抗体鎖についての遺伝子はベクター中にクローン化されることができ、それによりシグナルペプチドを抗体鎖についての遺伝子のＮ末端にインフレームで結合する。シグナルペプチドは免疫グロブリンシグナルペプチドまたは異種のシグナルペプチド（例えば免疫グロブリンではないタンパク質由来のシグナルペプチド）であり得る。抗体鎖についての遺伝子に加えて本発明の発現ベクターは、宿主細胞中の抗体鎖についての遺伝子の発現を調節する制御配列も有し得る。

【０２９９】

用語「制御配列」は、プロモーター、エンハンサーおよび抗体鎖についての遺伝子の転写または翻訳を調節するさらなる発現調節要素（例えばポリアデニル化シグナル）を含んでいる。この種の制御配列は、例えばＧｏｅｄｄｅｌ；Ｇｅｎｅ Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ：Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ １８５、Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ、Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ（１９９０）において記載されている。当業者は、制御配列の選択を含む発現ベクター設計が形質転換される宿主細胞の選択、タンパク質の発現の所望の強さなどの要因に依存し得ることを理解する。哺乳動物宿主細胞における発現のために好ましい制御配列として、サイトメガロウイルス（ｃｙｔｏｍｅｇａｌｏｖｉｒｕｓ）（ＣＭＶ）由来のプロモーターおよび／またはエンハンサー（ＣＭＶプロモーター／エンハンサーなど）、シミアンウイルス４０（ｓｉｍｉａｎ ｖｉｒｕｓ４０）（ＳＶ４０）（ＳＶ４０プロモーター／エンハンサーなど）、アデノウイルス（ａｄｅｎｏｖｉｒｕｓ）（例えばアデノウイルス主要後期プロモーター（ＡｄＭＬＰ））およびポリオーマ（ｐｏｌｙｏｍａ）などの哺乳動物細胞において強く恒常的なタンパク質発現をもたらすウイルス性因子が挙げられる。ウイルス性制御因子およびこれらの配列のさらなる記載については、例えばＳｔｉｎｓｋｉへのＵＳ ５，１６８，０６２、ＢｅｌｌらへのＵＳ ４，５１０，２４５およびＳｃｈａｆｆｎｅｒらへのＵＳ ４，９６８，６１５を参照されたい。

【０３００】

抗体鎖についての遺伝子および制御配列とは別に、本発明の組換え発現ベクターは、宿主細胞中のベクター複製を制御する配列（例えば複製開始点）および選択マーカー遺伝子などの追加的配列を有し得る。選択マーカー遺伝子は、ベクターが導入されている宿主細胞の選択を促進する（例えば、全てＡｘｅｌらへの米国特許第４，３９９，２１６号、米国特許第４，６３４，６６５号および米国特許第５，１７９，０１７号を参照されたい。）。例えば選択マーカー遺伝子がベクターが挿入されている宿主細胞に、Ｇ４１８、ハイ

グロマイシンまたはメトトレキサートなどの細胞障害性薬物への耐性を与えることは一般的である。好ましい選択マーカー遺伝子として、ジヒドロ葉酸還元酵素（ＤＨＦＲ）（メトトレキサート選択／増幅でのｄｈｆｒ－宿主細胞における使用のため）およびｎｅｏ遺伝子（Ｇ４１８選択）が挙げられる。

【０３０１】

軽鎖および重鎖の発現のために、前記重鎖および軽鎖をコードする１つまたは複数の発現ベクターは、標準的技術を用いて宿主細胞に形質移入される。種々の形態の用語「形質移入」は、外来性ＤＮＡを原核性または真核性宿主細胞中に導入するために習慣的に使用される多数の技術、例えば電気穿孔、リン酸カルシウム沈殿、ＤＥＡＥ－デキストラン形質移入などを含んでいる。原核性および真核性宿主細胞のいずれにおいても本発明の抗体を発現することは理論的に可能であるが、正しく折りたたまれ、免疫学的に活性な抗体が会合し、分泌される可能性は、真核細胞、特に哺乳動物細胞中においてが原核細胞においてよりも高いことから、優先権は真核細胞詳細には哺乳動物宿主細胞中で抗体を発現することに与えられる。抗体遺伝子の原核生物発現は、活性な抗体の高収率での産生のためには効果的でないことが報告されている（Ｂｏｓｓ，Ｍ．ＡおよびＷｏｏｄ，Ｃ．Ｒ．（１９８５）Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　Ｔｏｄａｙ　６：１２－１３頁）。

【０３０２】

本発明の組換え抗体を発現するために好ましい哺乳動物宿主細胞として、ＣＨＯ細胞（例えばＲ．Ｊ．ＫａｕｆｍａｎおよびＰ．Ａ．Ｓｈａｒｐ（１９８２）Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１５９：６０１－６２１頁に記載のＤＨＦＲ－選択マーカーとともに使用されるＵｒｌａｕｂおよびＣｈａｓｉｎ（１９８０）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ７７：４２１６－４２２０頁に記載のｄｈｆｒ－ＣＨＯ細胞を含む。）、ＮＳ０骨髄腫細胞、ＣＯＳ細胞およびＳＰ２細胞が挙げられる。抗体遺伝子をコードする組換え発現ベクターを哺乳動物宿主細胞に導入する場合、抗体は宿主細胞を前記宿主細胞中で抗体が発現されるまで培養することによって産生される、または好ましくは抗体は宿主細胞が増殖している培養培地中に分泌される。次いで抗体は、培養培地から標準的タンパク質精製法を使用して単離され得る。

【０３０３】

例えばＦａｂ断片またはｓｃＦｖ分子などの無処理の抗体の成分を産生するために宿主細胞を使用することも同様に可能である。上に記載の手順の変法は本発明にもちろん含まれる。例えば本発明の抗体の軽鎖または重鎖のいずれか（しかし両方ではなく）をコードするＤＮＡで宿主細胞を形質移入することも望ましい場合がある。目的の抗原の結合のために必要でない軽鎖または重鎖のいずれかが存在する場合、次いでそのような軽鎖もしくはそのような重鎖のいずれかまたは両方をコードするＤＮＡは、組換えＤＮＡ技術を用いて部分的にまたは完全に除去され得る。そのような切断ＤＮＡ分子によって発現される分子も同様に本発明の抗体に含まれる。追加的に、１つの重鎖および１つの軽鎖が本発明の抗体であり、他方の重鎖および他方の軽鎖が目的の抗原とは異なる抗原に対する特異性を有する二機能性抗体を、本発明の抗体を第２の抗体に標準的化学的方法を用いて架橋結合することによって産生することは可能である。

【０３０４】

本発明の抗体またはこの抗原結合成分の組換え発現のための好ましい系において、抗体重鎖および抗体軽鎖の両方をコードする組換え発現ベクターは、ｄｈｆｒ－ＣＨＯ細胞にリン酸カルシウム介在形質移入を用いて導入される。組換え発現ベクター中で、重鎖および軽鎖抗体についての遺伝子は、それぞれが前記遺伝子の強い転写をもたらすために制御用ＣＭＶエンハンサー／ＡｄＭＬＰ－プロモーター要素に機能的に結合されている。組換え発現ベクターは、ベクターで形質移入されたｄｈｆｒ－ＣＨＯ細胞をメトトレキサート選択／増幅を使用して選択するために使用され得るＤＨＦＲ遺伝子も保有する。選択された形質転換宿主細胞は、抗体重鎖および軽鎖が発現されるように培養され、未処理の抗体が培養培地から単離される。標準的分子生物学的技術は、組換え発現ベクターを調製するため、宿主細胞を形質移入するため、形質転換体を選択するため、前記宿主細胞を培養す

るためおよび培養培地から抗体を得るために使用される。したがって本発明は、本発明の宿主細胞を適切な培養培地中で本発明の組換え抗体が合成されるまで培養することによる本発明の組換え抗体の合成方法も提供する。方法は、前記組換え抗体を前記培養培地から単離することもさらに含み得る。

【０３０５】

ファージディスプレイによって組換え抗体ライブラリーをスクリーニングする別法として、当業者に周知の他の方法も本発明の抗体を同定するための大きなコンビナトリアルライブラリーをスクリーニングのために使用され得る。基本的に、核酸とこれによりコードされている抗体との間に密接な物理的つながりが確立されており、適切な核酸配列をこれがコードする抗体の特性によって選択するために使用され得る任意の発現系が採用され得る。

【０３０６】

別法の発現系の１種において組換え抗体ライブラリーは、ＳｚｏｓｔａｋおよびＲｏｂｅｒｔｓへのＷＯ　９８／３１７００ならびにＲｏｂｅｒｔｓ，Ｒ．Ｗ．およびＳｚｏｓｔａｋ，Ｊ．Ｗ．（１９９７）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９４：１２２９７－１２３０２頁に記載のとおりＲＮＡ－タンパク質融合体の形態で発現される。この系において、３’末端にピューロマイシン（ペプチジル受容体抗生物質）を保有している合成ｍＲＮＡｓのインビトロ翻訳は、ｍＲＮＡとそれによってコードされるペプチドまたはタンパク質との共有結合融合体を生成する。したがってｍＲＮＡｓの複合混合物（例えばコンビナトリアルライブラリー）の特定のｍＲＮＡは、コードされているペプチドまたはタンパク質（例えば抗体またはこの成分）の特性（前記抗体またはこの前記成分のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーへの結合など）に基づいて濃縮され得る。抗体またはこの成分をコードし、そのようなライブラリーのスクリーニングによって得られる核酸配列は、上に記載のやり方で（例えば哺乳動物宿主細胞において）組換え手段によって発現されることができ、加えてさらなるラウンドのｍＲＮＡ－ペプチド融合体のスクリーニング、最初に選択された１つまたは複数の配列への変異の導入または上に記載のやり方での組換え抗体のインビトロ親和性成熟の他の方法を使用することのいずれかによりさらなる親和性成熟に供され得る。

【０３０７】

インビボおよびインビトロ手法の組合せ

本発明の抗体は、アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーがアミロイドβペプチド類似体結合抗体またはオリゴマー結合抗体の産生を刺激するためにインビボで宿主動物中の抗体レパートリーに最初に作用できるようにし、次いでさらなる抗体選択および／または抗体成熟（すなわち最適化）が１つ以上のインビトロ技術の助力で達成される方法などのインビボおよびインビトロ手法の組合せを使用することによっても同様に産生され得る。一実施形態によれば、この種の組合せ法は、非ヒト動物（例えばマウス、ラット、ウサギ、ニワトリ、ラクダ、ヒツジもしくはヤギまたはこれらの遺伝子導入バージョンまたはキメラマウス）を前記オリゴマーまたは誘導体で抗原への抗体応答を刺激するために最初に免疫化すること、次いで前記オリゴマーまたは誘導体の作用によりインビボで刺激されているリンパ球の免疫グロブリン配列を使用することによるファージディスプレイ抗体ライブラリーの調製およびスクリーニングを含み得る。この組合せ手順の最初のステップは、インビボ手法と関連して上に記載されたやり方で実施されることができ、この手法の第２ステップはインビトロ手法と関連して上に記載されたやり方で実施され得る。前記の刺激されたリンパ球から調製されたファージディスプレイライブラリーのインビトロスクリーニングが続く非ヒト動物の過免疫化の好ましい方法は、ＢｉｏＳｉｔｅ　Ｉｎｃ．によって記載された方法を含み、例えばＷＯ　９８／４７３４３、ＷＯ　９１／１７２７１、ＵＳ　５，４２７，９０８およびＵＳ　５，５８０，７１７を参照されたい。

【０３０８】

他の実施形態によれば、組合せ方法は、本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーで非ヒト動物（例えばマウス、ラット、ウサギ、ニワトリ、ラクダ、ヒツジ、ヤ

ギまたはこれらのノックアウトおよび／または遺伝子導入バージョン、またはキメラマウス）を前記アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーへの抗体応答を刺激するために最初に免疫化することおよび融合細胞（例えば免疫化された動物から調製）をスクリーニングすることにより所望の特異性を有する抗体を産生するリンパ球を選択することを含む。抗体または単一ドメイン抗体についての遺伝子は、（逆転写ポリメラーゼ連鎖反応などの標準的クローニング法を用いて）選択されたクローンから単離され、１つ以上の選択された抗体の結合特性を改善するためにインビトロ親和性成熟に供される。この手順の最初のステップは、インビボ手法との関連で上に記載されたやり方で実行され得る一方で、この手順の第２ステップはインビトロ手法との関連で上に記載のやり方で、詳細にはＷＯ９７／２９１３１およびＷＯ　００／５６７７２に記載などのインビトロ親和性成熟の方法を使用することによって実行され得る。

【０３０９】

さらなる組合せ方法において組換え抗体は、個々に単離されたリンパ球から選択リンパ球抗体法（ＳＬＡＭ）として当業者に周知の手順およびＵＳ　５，６２７，０５２、ＷＯ　９２／０２５５１およびＢａｂｃｏｃｋ，Ｊ．Ｓ．ら、（１９９６）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９３：７８４３－７８４８頁に記載の手順を使用することによって生成される。この方法において非ヒト動物（例えばマウス、ラット、ウサギ、ニワトリ、ラクダ、ヒツジ、ヤギもしくはこれらの遺伝子導入バージョンまたはキメラマウス）は、最初にインビボにおいてアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーで、前記アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーへの免疫応答を刺激するために免疫化され、次いで目的の抗体を分泌している個々の細胞は抗原特異的溶血プラークアッセイを使用することによって選択される。このために球状体もしくはこの誘導体または構造的に関連する目的の分子は、ビオチンなどのリンカーを使用してヒツジ赤血球にカップリングされることができ、それにより溶血プラークアッセイを使用することによって適切な特異性を有する抗体を分泌している個々の細胞を同定することを可能にする。目的の抗体を分泌している細胞の同定に続いて、軽鎖および重鎖の可変領域についてのｃＤＮＡは、逆転写ＰＣＲによって細胞から得られ、前記可変領域は次いで適切な免疫グロブリン定常領域（例えばヒト定常領域）とともにＣＯＳまたはＣＨＯ細胞などの哺乳動物宿主細胞において発現され得る。インビボで選択されたリンパ球由来の増幅された免疫グロブリン配列で形質移入された宿主細胞は、次いで、例えば結合親和性を有する抗体を発現している細胞を単離するために、形質移入細胞を広げることによりさらなるインビトロ分析およびインビトロ選択に供され得る。増幅された免疫グロブリン配列は、さらにインビトロで操作され得る。

【０３１０】

本明細書において定義の所要の親和性を有する抗体は、本質的に上に記載されたとおりのドットブロットを実施することによって選択され得る。簡潔には抗原は、固相マトリックスに付着しており、好ましくはニトロセルロース膜に系列希釈で点を打たれている。固定化した抗原は、次いで目的の抗体に接触させられ、酵素抱合２次抗体および発色反応を用いる後者の検出が続く、明確な抗体および抗原の濃度において抗体結合の量が親和性決定を可能にする。したがって２つの異なる抗体の１つの標的に対する、または１つの抗体の２つの異なる標的に対する相対的親和性は、本明細書において、他は同一のドットブロット条件下で２つの抗体－標的組合せについて観察された標的結合抗体のそれぞれの量の関係であると定義される。

【０３１１】

ＦａｂおよびＦ（ａｂ’）$_2$断片などの抗体成分は、抗体全体からパパインまたはペプシンでの消化などの従来技術を使用して産生され得る。加えて抗体、抗体成分および免疫付着分子は、標準的組換えＤＮＡ技術を使用することによっても得られる。

【０３１２】

さらなる態様において本発明は、アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合するアプタマー（本明細書以下で抗アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーアプタ

マーとも称する。）を提供するための本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーの使用にも関する。したがって本発明は、本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに対する特異性を有するアプタマーを提供するための方法にも関し、方法は少なくとも
ａ）アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーを含む結合標的を提供するステップ、
ｂ）アプタマーレパートリーまたは潜在的アプタマーレパートリーを前記結合標的にさらすステップおよび
ｃ）前記レパートリーから前記アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに特異的に結合するアプタマーを選択するステップ
を含む。

【０３１３】
本明細書において「アプタマー」は、その標的に特異的な非共有結合できるオリゴ核酸またはペプチド分子を意味する。好ましくはアプタマーは、一端または両端がより大きな分子に付着し得る、好ましくは生化学的機能を介在しているより大きな分子に付着し得る、より好ましくは不活性化および／または分解を誘導するより大きな分子に付着し得る、最も好ましくはユビキチンに付着し得る、または好ましくは破壊を促進するより大きな分子に付着し得る、より好ましくは酵素もしくは蛍光タンパク質に付着し得る、ペプチド、ＤＮＡまたはＲＮＡ配列を含み、より好ましくは単量体約３から１００個のペプチド、ＤＮＡまたはＲＮＡ配列を含む。

【０３１４】
ここで「潜在的アプタマーレパートリー」が、任意のアミノ酸配列もしくは核酸配列のライブラリー、収集物、会合体またはセット、またはインビボもしくはインビトロでアプタマーレパートリーを産生するために使用され得るアミノ酸配列のそのようなライブラリー、収集物、会合体またはセットの任意の発生元を意味することは理解される。

【０３１５】
他の態様において本発明は、本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合するアプタマーも提供する。

【０３１６】
本発明の好ましい実施形態においてアプタマーは、本明細書において記載のレパートリーまたは潜在的レパートリーからアプタマーを選択するステップを含む方法によって得られる。

【０３１７】
詳細な好ましい実施形態によれば、本発明は、アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに特異的なアプタマーを提供する。これらは、詳細には本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに対してよりもＡβペプチドの単量体および原線維形態の両方に対して比較的小さい親和性を有するアプタマーを含む。

【０３１８】
本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質は多くの潜在的用途も有し、そのいくつかは以下に記載されている。これらは治療目的および診断目的で特に有用である。

【０３１９】
球状体抗原決定基に特異的に結合する抗体は、治療用途および診断用途において有用な作用物質であることが示されている。本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーが前記抗体と反応することから、アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーは、同じまたは非常によく似た抗原決定基を提示すると考えられている。

【０３２０】
したがって本発明は、本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる治療的使用のための作用物質も提供する。

【０３２１】
一態様において本発明は、本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結

合できる作用物質を含む治療用組成物も提供する。詳細な実施形態によれば、前記組成物は、薬学的に許容される担体をさらに含む医薬組成物である。

【０３２２】

本発明の前記医薬組成物は、少なくとも１つの追加的治療剤、例えば本発明の作用物質が軽減のために有用である疾患の治療のための１つ以上の追加的治療剤をさらに含有できる。例えば本発明の作用物質が本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合する場合、医薬組成物は、前記アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーの活性が重要である障害の治療のために有用である１つ以上の追加的治療剤をさらに含み得る。

【０３２３】

薬学的に適切な担体として、任意の溶媒、分散媒体、コーティング剤、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤などがこれらが生理学的に適合性である限り挙げられる。薬学的に許容される担体として、例えば水、食塩水、リン酸緩衝食塩水、デキストロース、グリセロール、エタノールなどおよびこれらの組合せが挙げられる。多くの場合等張剤、例えば糖類、マンニトールもしくはソルビトールなどのポリアルコールまたは追加的に塩化ナトリウムを使用することに優先権が与えられる。薬学的に適切な担体は、抗体の半減期または有効性を増加させる湿潤剤または乳化剤、保存剤または緩衝剤などの比較的少量の補助的物質をさらに含有できる。

【０３２４】

医薬組成物は、例えば非経口投与に適している場合がある。ここで作用物質は好ましくは、作用物質、例えば抗体、含有量０．１－２５０ｍｇ／ｍｌを含む注射可能な溶液として調製される。注射可能な溶液は、剤形がフリントグラスもしくはバイアル、アンプルまたは充填シリンジである液体または凍結乾燥形態に調製され得る。緩衝剤は、Ｌ－ヒスチジン（１－５０ｍＭ、好ましくは５－１０ｍＭ）を含み、ｐＨは５．０－７．０好ましくは６．０であり得る。さらなる適切な緩衝剤として、これらに限定されることなく、コハク酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、リン酸ナトリウムまたはリン酸カリウム緩衝剤が挙げられる。塩化ナトリウムは、溶液の浸透圧を０－３００ｍＭの濃度（液体剤形用には好ましくは１５０ｍＭ）に調整するために使用され得る。凍結保護剤、例えばスクロース（例えば０－１０％、好ましくは０．５－１．０％）も凍結乾燥剤形に含まれ得る。他の適切な凍結保護剤はトレハロースおよびラクトースである。賦形剤、例えばマンニトール（例えば１－１０％、好ましくは２－４％）も凍結乾燥剤形に含まれ得る。安定化剤、例えばＬ－メチオニン（例えば５１－５０ｍＭ、好ましくは５－１０ｍＭ）も液体および凍結乾燥の両方の剤形において使用され得る。さらなる適切な賦形剤は、グリシンおよびアルギニンである。界面活性剤、例えばポルソルベート８０（例えば０－０．０５％、好ましくは０．００５－０．０１％）も使用され得る。さらなる界面活性剤は、ポリソルベート２０およびＢＲＩＪ界面活性剤である。

【０３２５】

本発明の組成物は、多数の形態を有する。これらとして液体溶液（例えば注射可能なおよび注入可能な溶液）、分散剤もしくは懸濁剤、錠剤、丸剤、粉剤、リポソームおよび坐薬などの液体、半流動体および固体剤形が挙げられる。好ましい形態は、目的とする投与の種類および治療用途に依存する。典型的には、注射可能なまたは注入可能な溶液の形態での組成物、例えばヒトの受動免疫法用の抗体に類似している組成物に優先権が与えられる。投与の好ましい経路は、非経口（例えば静脈内、皮下、腹腔内または筋肉内）である。好ましい実施形態によれば、作用物質は、静脈内注入または注射によって投与される。他の好ましい実施形態によれば、作用物質は、筋肉内または皮下注射によって投与される。

【０３２６】

治療用組成物は、典型的には滅菌されなければならず、調製および保存条件下で安定でなければならない。組成物は、溶液、マイクロエマルジョン、分散剤、リポソームまたは高濃度の活性物質に適する他の秩序構造として処方され得る。滅菌済の注射可能溶液は、活性化合物（すなわち抗体などの作用物質）の所要量を適切な場合は必要に応じて上に記

載の成分の１つまたは組合せとともに適切な溶媒に入れ、次いで前記溶液を滅菌濾過することによって調製され得る。分散剤は、活性化合物を基礎分散媒および適切な場合は他の所要成分を含有する滅菌ビヒクル中に入れることによって通例調製される。滅菌注射用溶液を調製するための滅菌凍結乾燥粉末の場合は、真空乾燥および噴霧乾燥が好ましい調製法であり、活性成分と適切な場合はあらかじめ滅菌濾過した溶液からのさらなる所望成分との粉剤を産生する。溶液の正確な流動性は、例えばレクチンなどのコート剤を使用することによって維持され、分散剤の場合は所要の粒子サイズを維持することによって維持され、または界面活性剤を使用することによって維持され得る。注射用組成物の持続性の吸収は、吸収を遅らせる作用物質、例えばモノステアリン酸塩およびゼラチンを組成物に追加的に入れることによって達成され得る。

【０３２７】

本発明の作用物質は、当業者に周知の多数の方法によって投与され得るが、多くの治療用途について好ましい投与の種類は皮下注射、静脈注射または注入である。当業者は、投与の経路および／または種類は所望の結果に依存することを理解している。詳細な実施形態により活性化合物は、例えば放出が維持されるまたは制御される製剤（埋め込み型、経皮プラスターおよびマイクロカプセル化放出製剤を含む。）など急速な放出から化合物を保護する担体とともに調製され得る。エチレン酢酸ビニル、ポリ酸無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステルおよびポリ乳酸などの生物学的に分解性の生体適合性ポリマーが、使用され得る。そのような製剤の調製方法は、当業者に十分に周知であり、例えばＳｕｓｔａｉｎｅｄ ａｎｄ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ、Ｊ．Ｒ．Ｒｏｂｉｎｓｏｎ編、Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、１９７８を参照されたい。

【０３２８】

詳細な実施形態によれば、本発明の作用物質は、経口で、例えば不活性希釈剤または代謝可能な食用担体中で投与され得る。作用物質（および所望によりさらなる成分）はハードまたはソフトゼラチンカプセル中に封入されることもでき、錠剤に圧縮されることもできまたは食物に直接添加され得る。経口治療用投与のために作用物質は、賦形剤と混合されることができ、経口錠剤、バッカル錠、カプセル、エリキシル剤、懸濁剤、シロップ剤などの形態で使用され得る。本発明の作用物質を非経口ではない経路を介して投与しようとする場合、不活性化を予防する物質からコート剤を選択する必要がある場合がある。

【０３２９】

さらなる態様において本発明は、アミロイドーシスを治療または予防するための医薬組成物を調製するための本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質の使用を提供する。

【０３３０】

本発明の好ましい実施形態において医薬組成物は、受動免疫法用である。

【０３３１】

したがって本発明は、本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質を対象に投与することを含む、それを必要とする対象においてアミロイドーシスを治療または予防するための方法も提供する。

【０３３２】

本発明の好ましい実施形態において、Ａβ（本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質を投与することはアミロイドーシスに対して対象を受動免疫化するためである。

【０３３３】

生体試料のスクリーニングは、そのような試料が本発明の抗アミロイドβペプチド類似体抗体または抗オリゴマー抗体などのような、アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質と反応する物質を含み得ることを明らかにした。前記作用物質に一定の結合活性を有するが、本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに相当するとは言えないそのような物質は、本明細書以下においてアミロイドβペプチド類

似体またはオリゴマー抗原決定基を含む抗原と称される。

【０３３４】

したがって本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質は、インビトロおよびインビボの両方において、それらが結合するアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマー抗原決定基を含む抗原を検出することもできる。前記作用物質は、したがって前記抗原を、例えばアミロイドーシスを有することが疑われる対象由来の試料またはアミロイドーシスを有することが疑われる対象例えばヒト個体もしくは他の哺乳動物において検出するために使用され得る。

【０３３５】

したがって本発明は、本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質も診断的使用のために提供する。

【０３３６】

一態様において本発明は、本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質を含む診断用組成物を提供する。詳細な実施形態によれば、前記組成物は、薬学的に許容される担体をさらに含む医薬組成物である。

【０３３７】

さらなる態様において本発明は、アミロイドーシスを診断するための組成物を調製するための本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質の使用を提供する。

【０３３８】

したがって本発明は、アミロイドーシスを有することが疑われる対象由来の試料を提供するステップ、試料を本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質に、本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質およびアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマー抗原決定基を含む抗原を含む複合体の形成に十分な時間および条件下で接触させるステップを含み、複合体の存在が対象がアミロイドーシスを有することを示すアミロイドーシスを診断する方法も提供する。詳細な実施形態によれば、少なくとも試料を接触させるステップは、エクスビボ、詳細にはインビトロで実施される。

【０３３９】

したがって本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質は、種々の診断法およびアッセイにおいて使用され得る。

【０３４０】

一実施形態によれば、アミロイドーシスをこの疾患を有することが疑われる対象において診断する方法は、１）患者から生体試料を分離するステップ、２）生体試料を本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる少なくとも１つの作用物質に、抗原／作用物質複合体の形成に十分な時間および条件下で接触させるステップ、３）前記試料中で抗原／作用物質複合体の存在を検出するステップ、を含み、複合体の存在は患者でのアミロイドーシス、例えばアルツハイマー病の診断を示す。抗原は、アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマー抗原決定基を含むものである。詳細な実施形態によれば、前記ステップ２）および３）の内の少なくとも１つは、エクスビボ、詳細にはインビトロで実施される。さらなる詳細な実施形態によれば、方法は、ステップ１）を含まない。

【０３４１】

さらなる実施形態によれば、アミロイドーシスをこの疾患を有することが疑われる対象において診断する方法は、１）患者から生体試料を分離するステップ、２）生体試料を抗原に、抗体／抗原複合体の形成に十分な時間および条件下で接触させるステップ、３）抱合体を得られた抗体／抗原複合体に、抱合体が結合抗体に結合できる十分な時間および条件下で添加するステップ（ここで抱合体は、本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合でき、検出可能なシグナルを生じ得るシグナル生成化合物に付着している作用物質の１つを含む。）、４）シグナル生成化合物によって生じるシグナルを検出することによって生体試料中に存在する可能性がある抗体存在を検出し、シグナルが患者に

おけるアミロイドーシス、例えばアルツハイマー病の診断を示すステップ、を含む。抗原は、アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマー抗原決定基を含むものである。詳細な実施形態によれば、前記ステップ２）、３）および４）の内の少なくとも１つは、エクスビボ、詳細にはインビトロで実施される。さらなる詳細な実施形態によれば、方法は、ステップ１）を含まない。

【０３４２】

さらなる実施形態によれば、アミロイドーシスをこの疾患を有することが疑われる対象において診断する方法は、１）前記患者から生体試料を分離するステップ、２）生体試料を抗抗体（抗抗体は本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質の１つに特異的である。）に、抗抗体／作用物質複合体の形成を可能にする十分な時間および条件下で接触させるステップ（作用物質を含有する複合体は生体試料中に存在している。）、３）抱合体を得られた抗抗体／作用物質複合体に抱合体が結合作用物質に結合できる十分な時間および条件下で添加するステップ（抱合体は、検出可能なシグナルを生じることができるシグナル生成化合物に結合しており、アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマー抗原決定基を含む作用物質を含む。）、４）シグナル生成化合物によって生じるシグナルを検出するステップを含み、シグナルは患者におけるアミロイドーシス、例えばアルツハイマー病の診断を示す。詳細な実施形態によれば、前記ステップ２）、３）および４）の内の少なくとも１つは、エクスビボ、詳細にはインビトロで実施される。さらなる詳細な実施形態により方法は、ステップ１）を含まない。

【０３４３】

本発明の診断的一実施形態において、本発明のアミロイドβペプチド類似体もしくはオリゴマーまたはこれらの一部に結合できる作用物質は、固相にコーティングされる（または液相に存在する）。検査試料または生体試料（例えば全血、脳脊髄液、血清など）は、次いで固相と接触させられる。抗原（例えば球状体）が試料中に存在する場合、そのような抗原は固相上で本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質に結合し、次いで直接法または間接法によって検出される。直接法は、複合体それ自体、したがって抗原の存在を単純に検出することを含む。間接法においては、抱合体が結合作用物質に添加される。抱合体は、結合抗原に結合し、シグナル生成化合物または標識に付着している２次抗体を含む。２次抗体は結合抗原に結合し、シグナル生成化合物は測定可能なシグナルを生じる。それによりそのようなシグナルは、検査試料中の抗原の存在を示す。

【０３４４】

診断用免疫測定において使用される固相の例は、多孔性および非多孔性材料、ラテックス粒子、磁性粒子、微小粒子（米国特許第５，７０５，３３０号を参照されたい。）、ビーズ、膜、マイクロタイターウェルおよびプラスチックチューブである。固相材料および所望により抱合体中に存在する抗原または抗体を標識する方法の選択は、所望のアッセイ形式実施特徴に基づいて決定される。

【０３４５】

上に記載のとおり抱合体（または指示試薬）は、シグナル生成化合物または標識に付着している抗体（またはアッセイに応じて抗抗体）を含む。このシグナル生成化合物または「標識」は、それ自体が検出可能であるまたは検出可能な産物を生成するために１つ以上の追加的化合物と反応できる。シグナル生成化合物の例として、発色団、放射性同位元素（例えば、１２５Ｉ、１３１Ｉ、３２Ｐ、３Ｈ、３５Ｓおよび１４Ｃ）、化学発光化合物（例えばアクリジニウム）、粒子（可視または蛍光）、核酸、錯化剤または酵素（例えばアルカリホスファターゼ、酸性ホスファターゼ、西洋わさびペルオキシダーゼ、ベータガラクトシダーゼおよびリボヌクレアーゼ）などの触媒が挙げられる。酵素使用（例えばアルカリホスファターゼまたは西洋わさびペルオキシダーゼ）の場合は、発色性基質、蛍光発生基質または発光性基質の添加が検出可能なシグナルの発生をもたらす。時間分解蛍光、内部反射蛍光、増幅（例えばポリメラーゼ連鎖反応）およびラマン分光法などの他の検出可能な系も有用である。

【０３４６】
上記の免疫測定によって検査され得る生体液の例として、血漿、全血、乾燥全血、血清、脳脊髄液または組織および細胞の水性もしくは有機－水性抽出物が挙げられる。
【０３４７】
キットも本発明の範囲に含まれる。より詳細には本発明は、対象におけるアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマー抗原決定基を含む抗原の存在を測定するためのキットを含む。詳細には試料中の前記抗原の存在を測定するためのキットは、ａ）本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質、および任意選択によってｂ）作用物質に結合し、検出可能なシグナルを生じ得るシグナル生成化合物に付着している抗体を含む抱合体を含む。キットは、抗原に結合する試薬を含む対照物質または標準物質も含有できる。
【０３４８】
本発明は、試料中の自己抗体などの抗体を検出するための他の種類のキットも含む。キットは、ａ）本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質に対して特異的な抗体（例えば抗抗体）およびｂ）本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマー抗原決定基を含む抗原、を含み得る。抗原に結合する試薬を含む対照物質または標準物質も含まれ得る。より詳細にはキットは、ａ）自己抗体に特異的な抗抗体およびｂ）本明細書において定義のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマー抗原決定基を含む抗原を含む抱合体（抱合体は検出可能なシグナルを生じ得るシグナル生成化合物に付着している。）を含み得る。再びキットは、抗原に結合する試薬を含む対照物質または標準物質も含み得る。
【０３４９】
キットは、バイアル、ビンまたは条片などの１つの容器（各容器はあらかじめ定めた固相を有する。）およびそれぞれの抱合体を含んでいる他の容器も含み得る。これらのキットは、洗浄、処理および指示試薬などアッセイを実施するために必要な他の試薬のバイアルまたは容器も含み得る。
【０３５０】
本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに結合できる作用物質へのそれらの結合親和性により、アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマー抗原決定基を含む前記抗原は、そのような抗原決定基を含有することが疑われる調製物で検出されることができ、それらの量は前記調製物中で測定されることができ、それらは濃縮され得る。したがって本発明は、アミロイドβペプチド類似体またはオリゴマー抗原決定基をそのような抗原決定基を含むことが疑われるまたは知られている調製物中において検出するため、その量を測定するためおよび／または濃縮するための方法も提供する。ひとたび検出され、濃縮されると前記物質は、本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーに関して本明細書において記載されたものに似た潜在的用途を有し得る。
【０３５１】
さらに本発明は、患者におけるアミロイドーシスの治療または予防において有用な抗体、非抗体性生物学的作用物質または小分子などの作用物質の設計方法を含む。この方法は、ａ）本明細書において記載のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーの３次元構造を分析するステップ、ｂ）ステップａ）のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーの表面上の１つ以上の抗原決定基を同定するステップおよびｃ）ステップｂ）で同定された１つ以上の抗原決定基に結合する抗体、非抗体性生物学的作用物質または小分子などの作用物質を設計するステップを含み、抗体、非抗体性生物学的作用物質または小分子はアミロイドーシスの治療または予防において使用される。
【０３５２】
本発明の有利点
本発明のアミロイドβペプチド類似体およびオリゴマーのアミノ酸組成は、十分に明確であり、再現可能である。
【０３５３】

本発明のアミロイドβペプチド類似体およびオリゴマーは、安定な高次構造を提示する。

【０３５４】

本発明のアミロイドβペプチド類似体およびオリゴマーは、よりよい水力学的特性を提示する。

【０３５５】

本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーでの能動免疫法は、Ａβ球状体に対して高度に選択的な免疫応答を誘発することが予測される。本発明のアミロイドβペプチド類似体およびオリゴマーがＮ末端配列を欠くように容易に設計され得ることから、非特異的Ｎ末端Ａβペプチドに向けられた免疫応答を誘発する危険性は削減され得る。本発明のアミロイドβペプチド類似体およびオリゴマーは、したがってＡβペプチドの他の形態を、詳細には単量体および原線維を区別する免疫応答を誘発できる。

【０３５６】

さらに本発明のアミロイドβペプチド類似体またはオリゴマーでの能動免疫法が、誘発される抗体応答がＡβ（２０－４２）トランケート型球状体での能動免疫法に匹敵することから、ＡＤ遺伝子導入マウスモデルにおける認知障害を戻すことに効果的であることが予測される。後者は、新規物認識タスクにおける障害を戻すことが証明されている。

【０３５７】

本明細書に参照する全ての特許、特許出願および刊行物は、参照により本明細書にその全体を組み込む。

【０３５８】

寄託情報：モノクローナル抗体５Ｆ７を産生する融合細胞は、American Type Culture Collection、10801 University Boulevard、Manassas、Virginia 20110へ2005年12月1日にブダペスト条約の下で寄託され、名称ＰＴＡ－７２４１を与えられた。さらに、モノクローナル抗体１０Ｆ１１を産生する融合細胞は、American Type Culture Collection、10801 University Boulevard、Manassas、Virginia 10801へ2005年12月1日にブダペスト条約の下で寄託され、名称ＰＴＡ－７２３９を与えられた。追加的に、モノクローナル抗体４Ｂ７を産生する融合細胞は、American Type Culture Collection、10801 University Boulevard、Manassas、Virginia 10801へ2005年12月1日にブダペスト条約の下で寄託され、名称ＰＴＡ－７２４２を与えられ、モノクローナル抗体７Ｃ６を産生する融合細胞は、American Type Culture Collection、10801 University Boulevard、Manassas、Virginia 10801へ2005年12月1日にブダペスト条約の下で寄託され、名称ＰＴＡ－７２４０を与えられた。追加的に、モノクローナル抗体６Ａ２を産生する融合細胞は、American Type Culture Collection、10801 University Boulevard、Manassas、Virginia 10801へ2006年2月28日にブダペスト条約の下で寄託され、名称ＰＴＡ－７４０９を与えられ、モノクローナル抗体２Ｆ２を産生する融合細胞は、American Type Culture Collection、10801 University Boulevard、Manassas、Virginia 10801へ2006年2月28日にブダペスト条約の下で寄託され、名称ＰＴＡ－７４０８を与えられた。モノクローナル抗体４Ｄ１０を産生する融合細胞は、American Type Culture Collection、10801 University Boulevard、Manassas、Virginia 10801へ2006年2月28日にブダペスト条約の下で寄託され、名称ＰＴＡ－７４０５を与えられた。モノクローナル抗体７Ｅ５を産生する融合細胞は、American Type Culture Collection、10801 University Boulevard、Manass

ａｓ、Ｖｉｒｇｉｎｉａ　１０８０１へ２００６年８月１６日にブダペスト条約の下で寄託され、名称ＰＴＡ－７８０９を与えられた。モノクローナル抗体１０Ｃ１を産生する融合細胞は、Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ、１０８０１　Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　Ｂｏｕｌｅｖａｒｄ、Ｍａｎａｓｓａｓ、Ｖｉｒｇｉｎｉａ　１０８０１へ２００６年８月１６日にブダペスト条約の下で寄託され、名称ＰＴＡ－７８１０を与えられた。モノクローナル抗体３Ｂ１０を産生する融合細胞は、Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ、１０８０１　Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　Ｂｏｕｌｅｖａｒｄ、Ｍａｎａｓｓａｓ、Ｖｉｒｇｉｎｉａ　１０８０１へ２００６年９月１日にブダペスト条約の下で寄託され、名称ＰＴＡ－７８５１を与えられた。全ての寄託物はＡｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、１００　Ａｂｂｏｔｔ　Ｐａｒｋ　Ｒｏａｄ、Ａｂｂｏｔｔ　Ｐａｒｋ、Ｉｌｌｉｏｎｏｉｓ　６００６４（ＵＳ）を代表して行われた。

これら全てのモノクローナル抗体はマウスモノクローナル抗体である。

【０３５９】

以下の実施例は、本発明をその範囲を限定することなく例示するものである。

【実施例】

【０３６０】

[実施例１]

ペプチド合成

全ての試薬は、特に明記しない限り、業者から入手して使用した。ジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＥＡ）、Ｎ－メチルピロリドン（ＮＭＰ）、ジクロロメタン（ＤＣＭ）、（２－（７－アザ－１Ｈ－ベンゾトリアゾール－１－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート）（ＨＡＴＵ）、２－（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－１－イル）－１，１，３，３－テトラメチル－ウロニウムヘキサフルオロホスフェート（ＨＢＴＵ）、１－ヒドロベンゾトリアゾール（ＨＯＢｔ）およびピペリジンを含むペプチド合成試薬は、Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ，Ｉｎｃ．（ＡＢＩ）、Ｆｏｓｔｅｒ　Ｃｉｔｙ、ＣＡまたはＡｍｅｒｉｃａｎ　Ｂｉｏａｎａｌｙｔｉｃａｌ、Ｎａｔｉｃｋ、ＭＡから入手した。標準的な９－フルオレニルメチルオキシカルボニル（Ｆｍｏｃ）アミノ酸誘導体（Ｆｍｏｃ－Ａｌａ－ＯＨ、Ｆｍｏｃ－Ｃｙｓ（Ｔｒｔ）－ＯＨ、Ｆｍｏｃ－Ｃｙｓ（ＡＣＭ）－ＯＨ、Ｆｍｏｃ－Ａｓｐ（ｔＢｕ）－ＯＨ、Ｆｍｏｃ－Ｇｌｕ（ｔＢｕ）－ＯＨ、Ｆｍｏｃ－Ｐｈｅ－ＯＨ、Ｆｍｏｃ－Ｇｌｙ－ＯＨ、Ｆｍｏｃ－Ｈｉｓ（Ｔｒｔ）－ＯＨ、Ｆｍｏｃ－Ｉｌｅ－ＯＨ、Ｆｍｏｃ－Ｌｙｓ（Ｂｏｃ）－ＯＨ、Ｆｍｏｃ－Ｌｅｕ－ＯＨ、Ｆｍｏｃ－Ｍｅｔ－ＯＨ、Ｆｍｏｃ－Ａｓｎ（Ｔｒｔ）－ＯＨ、Ｆｍｏｃ－Ｐｒｏ－ＯＨ、Ｆｍｏｃ－Ｇｌｎ（Ｔｒｔ）－ＯＨ、Ｆｍｏｃ－Ａｒｇ（Ｐｂｆ）－ＯＨ、Ｆｍｏｃ－Ｓｅｒ（ｔＢｕ）－ＯＨ、Ｆｍｏｃ－Ｔｈｒ（ｔＢｕ）－ＯＨ、Ｆｍｏｃ－Ｖａｌ－ＯＨ、Ｆｍｏｃ－Ｔｒｐ（Ｂｏｃ）－ＯＨ、Ｆｍｏｃ－Ｔｙｒ（ｔＢｕ）－ＯＨ）は、Ａｎａｓｐｅｃ、Ｓａｎ　Ｊｏｓｅ、ＣＡまたはＡＢＩから入手した。Ｆｍｏｃ－３－アミノ－１－カルボキシメチル－ピリジン－２－オンおよびＦｍｏｃ－シス－３－フェニル－ピロリジン－２－カルボン酸は、ＮｅｏＳｙｓｔｅｍ、Ｓｔｒａｓｂｏｕｒｇ、フランスから入手した。ペプチド合成樹脂（Ｆｍｏｃ－Ａｌａ－ＰＥＧポリスチレン樹脂、Ｆｍｏｃ－Ａｌａ－ワング樹脂、リンクアミドＭＢＨＡ樹脂）は、ＡＢＩ、ＣＳ－Ｂｉｏ、Ｍｅｎｌｏ　Ｐａｒｋ、ＣＡまたはＮｏｖａｂｉｏｃｈｅｍ、Ｈｏｈｅｎｂｒｕｎｎ、ドイツから入手した。トリフルオロ酢酸（ＴＦＡ）は、Ｏａｋｗｏｏｄ　Ｐｒｏｄｕｃｔｓ、Ｗｅｓｔ　Ｃｏｌｕｍｂｉａ、ＳＣから入手した。チオアニソール、フェノール、トリイソプロピルシラン（ＴＩＳ）、３，６－ジオキサ－１，８－オクタンジチオール（ＤＯＤＴ）、フェリシアン化カリウムおよびイソプロパノールは、Ａｌｄｒｉｃｈ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｃｏ．、Ｍｉｌｗａｕｋｅｅ、ＷＩから入手した。マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析（ＭＡＬＤＩ－ＭＳ）は、Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ　Ｖｏｙａｇｅｒ　ＤＥ－ＰＲＯ　ＭＳに記録した。エレクトロスプレー質量分析（ＥＳＩ－ＭＳ）を、Ｆｉｎｎｉｇａｎ　ＳＳＱ７０００（Ｆｉｎｎｉ

ｇａｎ　Ｃｏｒｐ．、Ｓａｎ　Ｊｏｓｅ、ＣＡ）は、陽および陰イオンの両モードで記録した。

【０３６１】

固相ペプチド合成の一般的な手順：

標準的なカップリングサイクル０．１ｍＭを用いて、ＡＢＩ　Ｐｉｏｎｅｅｒペプチドシンセサイザーにおいて１００μｍｏｌの前処理した樹脂／管、またはＡＢＩ４３３ペプチドシンセサイザーにおいて２５０μｍｏｌの樹脂／管のいずれかによって、ペプチドを合成した。ＡＢＩ　Ｐｉｏｎｅｅｒシンセサイザーのカップリングの標準的なＦｍｏｃ－アミノ酸において、試薬０．４ｍｍｏｌを含む前処理したチューブを、４：４：８のＦｍｏｃ－アミノ酸：ＨＡＴＵ：ＤＩＥＡでシングルカップリングにより使用した。ＡＢＩ４３３シンセサイザーにおいて、Ｆｍｏｃ－アミノ酸１ｍＭを含む前処理したカートリッジを、４：４：４：８のＦｍｏｃ－アミノ酸：ＨＢＴＵ：ＨＯＢｔ：ＤＩＥＡとして事前に活性化したシングルカップリングにより使用した。各シンセサイザーにおいてカップリング後、Ｆｍｏｃ保護基を、ピペルジンを用いる処理によって除去した。合成が完了したとき、樹脂を３×ＤＣＭおよび３×イソプロパノールで洗浄し、真空で乾燥させて保護ペプチド樹脂を得た。

【０３６２】

樹脂結合ペプチドを切断および脱保護するための一般的な手順：

ＴＦＡ８０％、水５％、チオアニソール５％、フェノール５％、ＴＩＳ２．５％およびＤＯＤＴ２．５％からなる切断カクテル中で、周囲温度で３時間、樹脂を振盪させることによって、ペプチドを樹脂から切断した（１ｍＬ／０．１ｇ樹脂）。樹脂を濾過によって除去し、２×ＴＦＡでリンスし、ＴＦＡを濾液から蒸発させ、残留物をエーテルで沈殿させ（１０ｍＬ／０．１ｇ樹脂）、遠心分離によって回収し、２×エーテル（１０ｍＬ／０．１ｇ樹脂）で洗浄し、乾燥させて粗ペプチドを得た。

【０３６３】

ペプチドを精製するための一般的な手順：

粗ペプチドを、Ｚｏｒｂａｘ（登録商標）－Ｃ３（７μｍ粒子、３００Å孔径）で充填したＡｇｉｌｅｎｔの２１．２×２５０ｍｍカラムにおいて、Ｕｎｉｐｏｉｎｔ（登録商標）解析ソフトウェアを実行するＧｉｌｓｏｎの調製用ＨＰＬＣシステム（Ｇｉｌｓｏｎ、Ｉｎｃ．、Ｍｉｄｄｌｅｔｏｎ、ＷＩ）で精製した。カラムの温度は、精製を通して６０℃未満で維持した。３ミリリットルの粗ペプチド溶液（７５：２５のギ酸：水中５ｍｇ／ｍｌ）を、注入ごとに精製した。各実行からの生成物（複数可）を含むピークをプールして凍結乾燥させた。全ての調製用の実行を、緩衝液Ａ：０．１％ＴＦＡ水および緩衝液Ｂ：アセトニトリルの溶出液により、生成物が溶出されるまで１％／分のＢの勾配を用いて、２０ｍＬ／分で実行した。

【０３６４】

解析用ＨＰＬＣのための一般的な手順：

Ｚｏｒｂａｘ（登録商標）－Ｃ３、７μｍ粒子、３００Å孔径により充填して、７分間、開始の条件で事前に平衡化した後、以下に載せた勾配法の１つにより溶出した、Ａｇｉｌｅｎｔの０．４６×２５０ｍｍカラムにおいて、Ｄ－７０００ソフトウェアを実行する二波長検出器により、Ｈｉｔａｃｈｉ　Ｄ－７０００解析用ＨＰＬＣシステムで、解析用ＨＰＬＣを行った。全ての解析の実行を、緩衝液Ａ：０．１％ＴＦＡ水および緩衝液Ｂ：アセトニトリルの溶出液により、７５℃で４５分間、２％／分のＢの勾配を用いて、１ｍＬ／分で実行した。

【０３６５】

以下では、Ａβペプチドおよびオリゴマーは、（ｘＸａａ１、ｙＸａａ２）Ａβ（Ｘ－Ｙ）ペプチドおよびオリゴマーと称し、Ａβ（Ｘ－Ｙ）は、配列番号１（アミノ酸位置１から４３に対応する。）に示されるヒトアミロイドβタンパク質のアミノ酸位置Ｘからアミノ酸位置Ｙまでのアミノ酸配列（ＸおよびＹの両方を含む）を指し、Ｘａａ１およびＸａａ２は、配列番号１におけるそれぞれ位置ｘおよびｙのアミノ酸を置換するアミノ酸を

示す。用語「（ｘＸａａ１／ｙＸａａ２）Ａβ（Ｘ－Ｙ）」は、用語「Ａβ（Ｘ－Ｙ）（ｘＸａａ１／ｙＸａａ２）」と同義である。

【０３６６】

ａ）（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）（１ａ）

アミノ酸配列ＭＤＡＥＦＲＨＤＳＧＹＥＶＨＨＱＫＣＶＦＦＡＥＤＶＧＳＮＫＧＡＩＩＧＣＭＶＧＧＶＶＩＡ（配列番号９６１）を有するアミロイドβペプチド類似体を、以下のように調製した。

【０３６７】

前処理した樹脂（０．５９ｇ、１００μｍｏｌ）を、一般的なペプチド合成手順を用いて伸長させ、保護された樹脂結合ペプチドを得た（０．９８９ｇ、５７％）。樹脂を、一般的な手順を用いて切断および脱保護し、白色固体として粗ペプチド１ａを得た（０．３１９ｇ、６２．６％）。粗ペプチド１ａを、適切なギ酸（６．７ｍｇ／ｍＬ）に溶解し、２６０ｎｍでの吸光度に基づく採取によるＨＰＬＣ精製の直前に、水で（５ｍｇ／ｍＬまで）希釈した。主要なピークを単離し、凍結乾燥させて、白色固体として１ａを得た（０．０２７４ｇ、８．５％）；デコンボルーションＥＳＩ－ＭＳｍ／ｚ＝４６２５．４［（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$］。

【０３６８】

以下のペプチド（１ｂ）から（１ｊ）を、Ｃ末端からＮ末端まで、標準的なＦｍｏｃ固相合成によって合成した。合成に続き、ペプチドを逆相ＨＰＬＣによって精製した。システインにおいて遊離のスルフヒドリル基を維持する（酸化を避ける）ため、生成の間、酸性ｐＨを維持した（通常の手順）。簡潔には、ＦＭＯＣ保護基を、樹脂上にあるアミノ酸から除去した。配列における次のアミノ酸を添加し、ＨＢＴＵを用いて最初のアミノ酸とカップリングした。ＦＭＯＣ保護基を、第２アミノ酸から除去した。配列における次のアミノ酸を添加し、ＨＢＴＵを用いて前のアミノ酸とカップリングした。配列が完成するまで、ステップ４および５を繰り返した。ＴＦＡを用いて、ペプチドを樹脂から切断した。ＴＦＡ／アセトニトリル緩衝液系（酸性緩衝液系）を用いて、逆相ＨＰＬＣにより、ペプチドを精製した。質量および純度のスペックを満たす精製画分を保存し、凍結乾燥させた。質量スペック解析およびＲＰ－ＨＰＬＣにより、ペプチドの種類を確認した。

【０３６９】

ｂ）（１４Ｃ、３７Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）（１ｂ）

アミノ酸配列ＭＤＡＥＦＲＨＤＳＧＹＥＶＨＣＱＫＬＶＦＦＡＥＤＶＧＳＮＫＧＡＩＩＧＬＭＶＣＧＶＶＩＡ（配列番号９６２）を有するアミロイドβペプチド類似体を、標準的なペプチド化学法を用いて調製した。

【０３７０】

ｃ）（１５Ｃ、３６Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）（１ｃ）

アミノ酸配列ＭＤＡＥＦＲＨＤＳＧＹＥＶＨＨＣＫＬＶＦＦＡＥＤＶＧＳＮＫＧＡＩＩＧＬＭＣＧＧＶＶＩＡ（配列番号９６３）を有するアミロイドβペプチド類似体を、標準的なペプチド化学法を用いて調製した。

【０３７１】

ｄ）（１６Ｃ、３５Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）（１ｄ）

アミノ酸配列ＭＤＡＥＦＲＨＤＳＧＹＥＶＨＨＱＣＬＶＦＦＡＥＤＶＧＳＮＫＧＡＩＩＧＬＣＶＧＧＶＶＩＡ（配列番号９６４）を有するアミロイドβペプチド類似体を、標準的なペプチド化学法を用いて調製した。

【０３７２】

ｅ）（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）（１ｅ）

アミノ酸配列ＭＤＡＥＦＲＨＤＳＧＹＥＶＨＨＱＫＣＶＦＦＡＥＤＶＧＳＮＫＧＡＩＩＧＣＭＶＧＧＶＶＩＡ（配列番号９６５）を有するアミロイドβペプチド類似体を、標準的なペプチド化学法を用いて調製した。

【０３７３】

ｆ）（１８Ｃ、３３Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）（１ｆ）

アミノ酸配列ＭＤＡＥＦＲＨＤＳＧＹＥＶＨＨＱＫＬＣＦＦＡＥＤＶＧＳＮＫＧＡＩＩＣＬＭＶＧＧＶＶＩＡ（配列番号９６６）を有するアミロイドβペプチド類似体を、標準的なペプチド化学法を用いて調製した。

【０３７４】

ｇ）（１９Ｃ、３２Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）（１ｇ）

アミノ酸配列ＭＤＡＥＦＲＨＤＳＧＹＥＶＨＨＱＫＬＶＣＦＡＥＤＶＧＳＮＫＧＡＩＣＧＬＭＶＧＧＶＶＩＡ（配列番号９６７）を有するアミロイドβペプチド類似体を、標準的なペプチド化学法を用いて調製した。

【０３７５】

ｈ）（２０Ｃ、３１Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）（１ｈ）

アミノ酸配列ＭＤＡＥＦＲＨＤＳＧＹＥＶＨＨＱＫＬＶＦＣＡＥＤＶＧＳＮＫＧＡＣＩＧＬＭＶＧＧＶＶＩＡ（配列番号９６８）を有するアミロイドβペプチド類似体を、標準的なペプチド化学法を用いて調製した。

【０３７６】

ｉ）（２１Ｃ、３０Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）（１ｉ）

アミノ酸配列ＭＤＡＥＦＲＨＤＳＧＹＥＶＨＨＱＫＬＶＦＦＣＥＤＶＧＳＮＫＧＣＩＩＧＬＭＶＧＧＶＶＩＡ（配列番号９６９）を有するアミロイドβペプチド類似体を、標準的なペプチド化学法を用いて調製した。

【０３７７】

ｊ）（２２Ｃ、２９Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）（１ｊ）

アミノ酸配列ＭＤＡＥＦＲＨＤＳＧＹＥＶＨＨＱＫＬＶＦＦＡＣＤＶＧＳＮＫＣＡＩＩＧＬＭＶＧＧＶＶＩＡ（配列番号９７０）を有するアミロイドβペプチド類似体を、標準的なペプチド化学法を用いて調製した。

【０３７８】

ｋ）（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１２－４２）（１ｋ）

アミノ酸配列ＶＨＨＱＫＣＶＦＦＡＥＤＶＧＳＮＫＧＡＩＩＧＣＭＶＧＧＶＶＩＡ（配列番号９７１）を有するアミロイドβペプチド類似体を、Ｆｍｏｃ－Ａｌａ－ワング樹脂を用いて、上記に概説した一般的な手順によって調製した。計算値ＭＷ［ｇ／ｍｏｌ］：３１８６．７３；ＭＡＬＤＩ－ＭＳ：実測値３１８６．７［（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$］。

【０３７９】

ｌ）（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ））Ａβ（１６－３５）－アミド（１ｌ）

アミノ酸配列ＫＣ（ＡＣＭ）ＶＦＦＡＥＤＶＧＳＮＫＧＡＩＩＧＣ（ＡＣＭ）Ｍ－アミド（配列番号９７２）を有するアミロイドβペプチド類似体を、リンカーアミド－ＭＢＨＡ樹脂を用いて、上記に概説した一般的な手順によって調製した。計算値ＭＷ［ｇ／ｍｏｌ］：２２３０．６７；ＭＡＬＤＩ－ＭＳ：実測値２２３１．４、２２２８．９［（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$］。

【０３８０】

ｍ）Ａβ（１６－３５）－アミド（１ｍ）

アミノ酸配列ＫＬＶＦＦＡＥＤＶＧＳＮＫＧＡＩＩＧＬＭ－アミド（配列番号９７３）を有するアミロイドβペプチド類似体を、リンカーアミド－ＭＢＨＡ樹脂を用いて、上記に概説した一般的な手順によって調製した。計算値ＭＷ［ｇ／ｍｏｌ］：２１０８．５；ＭＡＬＤＩ－ＭＳ：実測値２１０８．１［（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$］、２１３０［（Ｍ＋Ｎａ）$^{+}$］。

【０３８１】

ｎ）（１７Ｋ、３４Ｋ）Ａβ（１６－３５）－アミド（１ｎ）

アミノ酸配列ＫＫＶＦＦＡＥＤＶＧＳＮＫＧＡＩＩＧＫＭ－アミド（配列番号９７４）を有するアミロイドβペプチド類似体を、リンカーアミド－ＭＢＨＡ樹脂を用いて、上記に概説した一般的な手順によって調製した。計算値ＭＷ［ｇ／ｍｏｌ］：２１３５．５３；ＭＡＬＤＩ－ＭＳ：実測値２１３７．９６　２１３７．９１［（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$］。

【０３８２】

ｏ）（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）－アミド、環状（１ｏ）
アミノ酸配列ＫＣ＊ＶＦＦＡＥＤＶＧＳＮＫＧＡＩＩＧＣ＊Ｍ－アミド（配列番号９７５）を有するアミロイドβペプチド類似体を、上記に概説した一般的な手順によって調製した。ジメチルスルホキシド中１８ｍｇ／ｍＬで、直鎖前駆体ペプチド（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）－アミド（１ｐ）を溶解することによって、ジスルフィド環化を成し遂げ、真空脱ガスした３：２の重炭酸アンモニウム：アセトニトリル１００ｍＭ（２００ｍＬ、ｖ：ｖ）に、１アリコートで添加した。フェリシアン化カリウム溶液（水中０．０５％ｗ／ｖ、４４．３ｍＬ）を一度に添加し、反応液を周囲温度で２時間撹拌した。上記に概説した一般的な手順を用いる精製および解析の前に、黄色溶液を凍結乾燥させて乾かし、環化した（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）－アミドを得た。計算値ＭＷ［ｇ／ｍｏｌ］：２１８６．４６；ＭＡＬＤＩ－ＭＳ：実測値２０８６．６［（Ｍ＋Ｈ）＋］、２１０８．６［（Ｍ＋Ｎａ）＋］。

【０３８３】
ｐ）（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）－アミド（１ｐ）
アミノ酸配列ＫＣＶＦＦＡＥＤＶＧＳＮＫＧＡＩＩＧＣＭ－アミド（配列番号９７６）を有するアミロイドβペプチド類似体を、リンク－アミド－ＭＢＨＡ樹脂を用いて、上記に概説した一般的な手順によって調製した。計算値ＭＷ［ｇ／ｍｏｌ］：２０８８．４７；ＭＡＬＤＩ－ＭＳ：実測値２０８７．９９［（Ｍ＋Ｈ）＋］、２１０９．９８［（Ｍ＋Ｎａ）＋］。

【０３８４】
ｑ）（１７Ｋ、３４Ｋ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）（１ｑ）
アミノ酸配列ＭＤＡＥＦＲＨＤＳＧＹＥＶＨＨＱＫＫＶＦＦＡＥＤＶＧＳＮＫＧＡＩＩＧＫＭＶＧＧＶＶＩＡ（配列番号９７７）を有するアミロイドβペプチド類似体を、Ｈ－Ａｌａ－ＨＭＰＢ　ＮｏｖａＰＥＧ樹脂を用いて、上記に概説した一般的な方法によって調製した。計算値ＭＷ［ｇ／ｍｏｌ］：４６７５．２６；ＭＡＬＤＩ－ＭＳ：実測値４６８０．１６［（Ｍ＋Ｈ）＋］。

【０３８５】
ｒ）（１７ＫＣ、３４Ｃ）Ａβ（１３－４２）（１ｒ）
アミノ酸配列ＨＨＱＫＫＣＶＦＦＡＥＤＶＧＳＮＫＧＡＩＩＧＣＭＶＧＧＶＶＩＡ（配列番号９７８）を有するアミロイドβペプチド類似体を、Ｆｍｏｃ－Ａｌａ－ワング樹脂を用いて、上記に概説した一般的な手順によって調製した。計算値ＭＷ［ｇ／ｍｏｌ］：３２１５．７７；ＭＡＬＤＩ－ＭＳ：実測値３２１４．７２［（Ｍ＋Ｈ）＋］。

【０３８６】
ｓ）（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－４２）（１ｓ）
アミノ酸配列ＫＣＶＦＦＡＥＤＶＧＳＮＫＧＡＩＩＧＣＭＶＧＧＶＶＩＡ（配列番号９７９）を有するアミロイドβペプチド類似体を、Ｆｍｏｃ－Ａｌａ－ワング樹脂を用いて、上記に概説した一般的な手順によって調製した。計算値ＭＷ［ｇ／ｍｏｌ］：２６８５．１９；ＭＡＬＤＩ－ＭＳ：実測値２６８３．８２［（Ｍ＋Ｈ）＋］、２７０５．８４［（Ｍ＋Ｎａ）＋］。

【０３８７】
ｔ）（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ）、３５Ｍ（Ｓ－オキシド））Ａβ（１６－３５）－アミド（１ｔ）
アミノ酸配列ＫＣ（ＡＣＭ）ＶＦＦＡＥＤＶＧＳＮＫＧＡＩＩＧＣ（ＡＣＭ）Ｍ（Ｓ－オキシド）－アミド（配列番号９８０）を有するアミロイドβペプチド類似体を、Ｆｍｏｃ－Ａｌａ－ワング樹脂を用いて、上記に概説した一般的な手順によって調製した。計算値ＭＷ［ｇ／ｍｏｌ］：２２４６．６７；ＭＡＬＤＩ－ＭＳ：実測値２２４５．４８［（Ｍ＋Ｈ）＋］。

【０３８８】
ｕ）（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ））Ａβ（１６－３５）－アミド（１ｕ）
アミノ酸配列ＫＣ（ＡＣＭ）ＶＦＦＡＥＤＶＧＳＮＫＧＡＩＩＧＣ（ＡＣＭ）Ｍ－アミ

ド（配列番号９８１）を有するアミロイドβペプチド類似体を、リンクアミドＭＢＨＡ樹脂を用いて、上記に概説した一般的な手順によって調製した。計算値ＭＷ［ｇ／ｍｏｌ］：２２３０．６７；ＭＡＬＤＩ－ＭＳ：実測値２２２９．４５［（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$］。

【０３８９】

ｖ）（１７Ｋ、３４Ｅ）Ａβ（１６－３５）－アミド（１ｖ）

アミノ酸配列ＫＫＶＦＦＡＥＤＶＧＳＮＫＧＡＩＩＧＥＭ－アミド（配列番号９８２）を有するアミロイドβペプチド類似体を、ＰＥＧＡ－Ｎｏｖａｂｉｏｃｈｅｍ樹脂を用いて、上記に概説した一般的な手順によって調製した。計算値ＭＷ［ｇ／ｍｏｌ］：２１３９．４７；ＭＡＬＤＩ－ＭＳ：実測値２１６１．１［（Ｍ＋Ｎａ）$^{+}$］。

【０３９０】

ｗ）（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）（１ｗ）

アミノ酸配列ＭＤＡＥＦＲＨＤＳＧＹＥＶＨＨＱＫＫＶＦＦＡＥＤＶＧＳＮＫＧＡＩＩＧＣＭＶＧＧＶＶＩＡ（配列番号９８３）を有するアミロイドβペプチド類似体を、Ｆｍｏｃ－Ａｌａ－ワング樹脂を用いて上記に概説した一般的な手順によって調製した。計算値ＭＷ［ｇ／ｍｏｌ］：４６５０．２３；ＭＡＬＤＩ－ＭＳ：実測値４６５１．０７［（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$］。

【０３９１】

ｘ）（１７Ｋ、３４Ｅ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）（１ｘ）

アミノ酸配列ＭＤＡＥＦＲＨＤＳＧＹＥＶＨＨＱＫＫＶＦＦＡＥＤＶＧＳＮＫＧＡＩＩＧＥＭＶＧＧＶＶＩＡ（配列番号９８４）を有するアミロイドβペプチド類似体を、Ｆｍｏｃ－Ａｌａ－ワング樹脂を用いて、上記に概説した一般的な手順によって調製した。計算値ＭＷ［ｇ／ｍｏｌ］：４６７６．２１；ＭＡＬＤＩ－ＭＳ：実測値４６７６．２［（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$］。

【０３９２】

ｙ）（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）（１ｙ）

アミノ酸配列ＭＤＡＥＦＲＨＤＳＧＹＥＶＨＨＱＫＣＶＦＦＡＥＤＶＧＳＮＫＧＡＩＩＧＣＭＶＧＧＶＶＩＡ（配列番号９８５）を有するアミロイドβペプチド類似体を、Ｆｍｏｃ－Ａｌａ－ワング樹脂を用いて、上記に概説した一般的な手順によって調製した。計算値ＭＷ［ｇ／ｍｏｌ］：４６２５．２１；ＭＡＬＤＩ－ＭＳ：実測値４６２５．５２［（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$］。

【０３９３】

ｚ）（２２Ｃ*、２９Ｃ*）Ａβ（１６－３５）－アミド、環化（１ｚ）

アミノ酸配列ＫＫＶＦＦＡＣ*ＤＶＧＳＮＫＣ*ＡＩＩＧＫＭ－アミド（配列番号９８６）を有するアミロイドβペプチド類似体を、上記に概説した一般的な手順、およびペプチド（１ｏ）に関して記載した環化方法を用いることによって、調製することができる。

【０３９４】

ａａ）（２２Ｃ、２９Ｃ）Ａβ（１６－３５）－アミド（１ａａ）

アミノ酸配列ＫＫＶＦＦＡＣＤＶＧＳＮＫＣＡＩＩＧＫＭ－アミド（配列番号９８７）を有するアミロイドβペプチド類似体を、上記に概説した一般的な手順によって調製することができる。

【０３９５】

ａｂ）（Ｆ２０－＞ＦＡ１９５０１、Ｌ１７Ｃ、Ｌ３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）（１ａｂ）

アミノ酸配列ＭＤＡＥＦＲＨＤＳＧＹＥＶＨＨＱＫＣＶＦ－ＦＡ１９５０１－ＡＥＤＶＧＳＮＫＧＡＩＩＧＣＭＶＧＧＶＶＩＡ（配列番号９８８）を有するアミロイドβペプチド類似体を、Ｆｍｏｃ－Ａｌａ－ワング樹脂を用いて、上記に概説した一般的な手順によって調製することができる。ＦＡ１９５０１は、ペプチド中の普通のアミノ酸に関して組み込むことができるＦｍｏｃ－ｃｉｓ－３－フェニル－ピロリジン－２－カルボン酸に関するカタログ番号である。

【０３９６】

ａｃ）（２２Ｃ、２９Ｃ）Ａβ（２０－３５）（１ａｃ）
アミノ酸配列ＦＡＣＤＶＧＳＮＫＣＡＩＩＧＬＭ（配列番号９８９）を有するアミロイドβペプチド類似体を、Ｆｍｏｃ－Ａｌａ－ワング樹脂を用いて、上記に概説した一般的な手順によって調製することができる。
【０３９７】
ａｄ）（２２Ｃ、２９Ｃ）Ａβ（２０－４２）（１ａｄ）
アミノ酸配列ＦＡＣＤＶＧＳＮＫＣＡＩＩＧＬＭＶＧＧＶＶＩＡ（配列番号９９０）を有するアミロイドβペプチド類似体を、Ｆｍｏｃ－Ａｌａ－ワング樹脂を用いて、上記に概説した一般的な手順によって調製することができる。
【０３９８】
ａｅ）（１７Ｃ、２２Ｃ、２９Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（２０－４２）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）（１ａｅ）
アミノ酸配列ＭＤＡＥＦＲＨＤＳＧＹＥＶＨＨＱＫＣＶＦＦＡＣＤＶＧＳＮＫＣＡＩＩＧＣＭＶＧＧＶＶＩＡ（配列番号９９１）を有するアミロイドβペプチド類似体を、Ｆｍｏｃ－Ａｌａ－ワング樹脂を用いて、上記に概説した一般的な手順によって調製することができる。
【０３９９】
ａｆ）（Ｋ２８Ｇ２９－＞ＦＡ１２４０１、Ｌ１７Ｃ、Ｌ３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）（１ａｆ）
アミノ酸配列ＭＤＡＥＦＲＨＤＳＧＹＥＶＨＨＱＫＣＶＦＦＡＥＤＶＧＳＮ－ＦＡ１２４０１－ＡＩＩＧＣＭＶＧＧＶＶＩＡ（配列番号９９２）を有するアミロイドβペプチド類似体を、Ｆｍｏｃ－Ａｌａ－ワング樹脂を用いて、上記に概説した一般的な手順によって調製することができる。ＦＡ１２４０１は、ペプチド中の普通のアミノ酸に関して組み込むことができるＦｍｏｃ－３－アミノ－１－カルボキシメチル－ピリジン－２－オンに関するカタログ番号である。
【０４００】
[実施例２]
オリゴマーの調製
【０４０１】
ａ）ジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（２ａ）
実施例１ａの合成（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）（１ａ）８３．１ｍｇ、ＴＦＡ塩を、ＨＦＩＰ（ペプチド６ｍｇごとに１ｍｌ）で処理し、溶媒を凍結乾燥によって除去した。これを、４．０ｍｌのＤＭＳＯに溶解した。次いで、ペプチドのこのＤＭＳＯ溶液を撹拌しながら、０．２％ＳＤＳ（ドデシル硫酸ナトリウム）を含む２０ｍＭのＰＢＳ（２０ｍＭのNaH_2PO_4、１４０ｍＭのＮａＣｌ、ｐＨ７．４）４５ｍＬにゆっくり添加した。次いで、この溶液をＤＴＴ（ジチオスレイトール）中で５ｍＭにし、３７℃で６時間温置した。
【０４０２】
次いで、試料を３倍の水で希釈し、３５００ＭＷＣＯ透析膜を使用して、０．０５％ＳＤＳを用いて１／４強度のＰＢＳに対して、室温で一晩、透析した。透析を翌朝４℃で２時間、１Ｌの新鮮な緩衝液に対して続けた。
【０４０３】
次いで、試料をＡｍｉｃｏｎ撹拌セル中で、ＹＭ１０膜を用いて濃縮した。０．５ｍｌアリコートを、Ｐｉｅｒｃｅ　１０Ｋ　ｓｌｉｄｅｌｙｚｅｒを用いて、ＳＤＳなしで、／４強度のＰＢＳに対して、４℃で一晩、透析した。
【０４０４】
[実施例３]
オリゴマーの調製
【０４０５】

ａ）（１４Ｃ、３７Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ａ）
　実施例１ｂの（１４Ｃ、３７Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）ペプチド（１ｂ）を、１００％１，１，１，３，３，３－ヘキサフルオロ－２－プロパノール（ＨＦＩＰ）４ｍｇ／ｍＬに懸濁し、３７℃で２時間、振盪下で、完全な可溶化のために温置した。ＨＦＩＰは、水素結合ブレーカーとして働き、Ａβペプチドにおいて事前に存在する構造的不均一性を排除するために使用する。ＨＦＩＰを、ＳｐｅｅｄＶａｃ中で蒸発によって除去し、Ａβペプチドを、ジメチルスルホキシドに５ｍＭの濃度で溶解または懸濁し、２０秒間、超音波処理した。ＨＦＩＰで前処理したＤＭＳＯ中のＡβペプチド２０μｌを、リン酸緩衝食塩水（ＰＢＳ）２３０μｌ＋０．２％ＳＤＳ＋２ｍＭのＤＴＴ（ヘリウムを通気した２０ｍＭの$NaH_2PO_4$９．８ｍｌ、１４０ｍＭのＮａＣｌ、ｐＨ７．４＋H_2Oに溶解した１０％ＳＤＳ溶液０．２ｍｌ＋ＤＴＴ３ｍｇ、Ｓｅｒｖａ、Ｃａｔ．ｎｏ．：２０７１０）により４００μＭのペプチド濃度に希釈した。３７℃で６時間の温置により、１６／２０－ｋＤａ（ｘＣ、ｙＣ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）中間体およびＡβ（１－４２）中間体が生じた。ヘリウムを通気したH_2Oにより３倍にさらに希釈し、３７℃で１８時間温置することによって、３８／４８－ｋＤａ（ｘＣ、ｙＣ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーを生成した。１０，０００ｇで１０分間、遠心分離した後、上澄みを除去し、さらに使用するまで－３０℃で保存した。

【０４０６】

ｂ）（１５Ｃ、３６Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ｂ）
　実施例１ｃの（１５Ｃ、３６Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）ペプチド（１ｃ）を、実施例３ａに記載の手順を用いて、オリゴマー化に供した。

【０４０７】

ｃ）（１６Ｃ、３５Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ｃ）
　実施例１ｄの（１６Ｃ、３５Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）ペプチド（１ｄ）を、実施例３ａに記載の手順を用いて、オリゴマー化に供した。

【０４０８】

ｄ）（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ｄ）
　実施例１ｅの（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）ペプチド（１ｅ）を、実施例３ａに記載の手順を用いて、オリゴマー化に供した。

【０４０９】

ｅ）（１８Ｃ、３３Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ｅ）
　実施例１ｆの（１８Ｃ、３３Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）ペプチド（１ｆ）を、実施例３ａに記載の手順を用いて、オリゴマー化に供した。

【０４１０】

ｆ）（１９Ｃ、３２Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ｆ）
　実施例１ｇの（１９Ｃ、３２Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）ペプチド（１ｇ）を、実施例３ａに記載の手順を用いて、オリゴマー化に供した。

【０４１１】

ｇ）（２０Ｃ、３１Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ｇ）
　実施例１ｈの（２０Ｃ、３１Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）ペプチド（１ｈ）を、実施例３ａに記載の手順を用いて、オリゴマー化に供した。

【０４１２】

ｈ）（２１Ｃ、３０Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ｈ）
　実施例１ｉの（２１Ｃ、３０Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）ペプチド（１ｉ）を、実施例３ａに記載の手順を用いて、オリゴマー化に供した。

【０４１３】

ｉ）（２２Ｃ、２９Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ｉ）
　実施例１ｊの（２２Ｃ、２９Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）ペプチド（１ｊ）を、実施例３ａに記載の手順を用いて、オリゴマー化に供した。

【０４１４】

ｊ）Ａβ（１－４２）グロブロマー（３ｊ）
Ａβ（１－４２）野生型ペプチド（Ｂａｃｈｅｍ　Ｈ－１３６８）を、実施例３ａに記載の手順を用いて、オリゴマー化に供した。
【０４１５】
ｋ）（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１２－４２）オリゴマー（３ｋ）
実施例１ｋの（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１２－４２）ペプチド（１ｋ）を、以下の修正により、実施例２ａに記載の手順を用いて、オリゴマー化に供した。ＨＦＩＰ処理に続き、ペプチドを、３５％アセトニトリル／６５％水中の１％アンモニアに溶解し、ＲＴで約３０分間温置し、アンモニウム塩を形成した。次いで、この塩をシェルフローズンし、凍結乾燥して一晩乾かした。次いで、オリゴマー化を実施例２ａに記載の０．０５％ＳＤＳのステップまで完了させた。
【０４１６】
実施例１ｋの（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１２－４２）ペプチド（１ｋ）を、ＨＦＩＰで処理し（ペプチド６ｍｇごとに１ｍｌ）、溶媒を凍結乾燥によって除去した。ＨＦＩＰ処理に続き、ペプチドを、３５％アセトニトリル／６５％水中の１％アンモニア中で溶解し、ＲＴで約３０分間温置し、アンモニウム塩を形成した。次いで、この塩をシェルフローズンし、凍結乾燥して一晩乾かした。次いで、これを４．０ｍｌのＤＭＳＯに溶解した。ペプチドのこのＤＭＳＯ溶液を、次いで撹拌しながら、０．２％ＳＤＳ（ドデシル硫酸ナトリウム）を含む２０ｍＭのＰＢＳ（２０ｍＭのNaH_2PO_4、１４０ｍＭのＮａＣｌ、ｐＨ７．４）４５ｍＬにゆっくり添加した。次いで、この溶液をＤＴＴ（ジチオスレイトール）中で５ｍＭにし、３７℃で６時間温置した。
【０４１７】
ｌ）（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ））Ａβ（１６－３５）オリゴマー（３ｌ）
（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ））Ａβ（１６－３５）ペプチド（１ｌ）を、ＤＴＴを使わなかったことを除き、実施例３ｋに記載の手順を用いて、オリゴマー化に供した。
【０４１８】
ｍ）Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマー（３ｍ）
Ａβ（１６－３５）－アミドペプチド（１ｍ）を、ＤＴＴを使わなかったことを除き、実施例３ｋに記載の手順を用いて、オリゴマー化に供した。
【０４１９】
ｎ）（１７Ｋ、３４Ｋ）Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマー（３ｎ）
（ＤＴＴを使用することなしに）実施例３ｋに記載の手順を用いて、（１７Ｋ、３４Ｋ）Ａβ（１６－３５）－アミドペプチド（１ｎ）をオリゴマー化に供することにより、オリゴマーが得られる。
【０４２０】
ｏ）［（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）－アミド、環状］オリゴマー（３ｏ）
［（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）－アミド、環状］ペプチド（１ｏ）を、ＤＴＴを使用しなかったことを除き、実施例３ｋに記載の手順を用いて、オリゴマー化に供した。
【０４２１】
ｐ）（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマー（３ｐ）
（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）－アミドペプチド（１ｐ）を、実施例３ｋに記載の手順を用いて、オリゴマー化に供した。
【０４２２】
ｑ）（１７Ｋ、３４Ｋ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ｑ）
（ＤＴＴを使用することなく）実施例３ｋに記載の手順を用いて、（１７Ｋ、３４Ｋ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）ペプチド（１ｑ）をオリゴマー化に供することにより、オリゴマーが得られる。
【０４２３】

ｒ）（１７ＫＣ、３４Ｃ）Ａβ（１３－４２）オリゴマー（３ｒ）
（１７ＫＣ、３４Ｃ）Ａβ（１３－４２）ペプチド（１ｒ）を、実施例３ｋに記載の手順を用いて、オリゴマー化に供した。
【０４２４】
ｓ）（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－４２）オリゴマー（３ｓ）
（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－４２）ペプチド（１ｓ）を、実施例３ｋに記載の手順を用いて、オリゴマー化に供した。
【０４２５】
ｔ）（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ）、３５Ｍ（Ｓ－オキシド））Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマー（３ｔ）
（ＤＴＴを使用することなく）実施例３ｋに記載の手順を用いて、（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ）、３５Ｍ（Ｓ－オキシド））Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマー（３ｔ）をオリゴマー化に供することにより、オリゴマーが得られる。
【０４２６】
ｕ）（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ））Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマー（３ｕ）
（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ））ペプチド（１ｕ）を、ＤＴＴを使用しなかったことを除き、実施例３ｋに記載の手順を用いて、オリゴマー化に供した。
【０４２７】
ｖ）（１７Ｋ、３４Ｅ）Ａβ（１６－３５）オリゴマー（３ｖ）
（１７Ｋ、３４Ｅ）Ａβ（１６－３５）ペプチド（１ｖ）を、ＤＴＴを使用しなかったことを除き、実施例３ｋに記載の手順を用いて、オリゴマー化に供した。
【０４２８】
ｗ）（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ｗ）
（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）ペプチド（１ｗ）を、ＤＴＴを使用しなかったことを除き、実施例３ｋに記載の手順を用いて、オリゴマー化に供した。
【０４２９】
ｘ）（１７Ｋ、３４Ｅ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ｘ）
（１７Ｋ、３４Ｅ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）ペプチド（１ｘ）を、ＤＴＴを使用しなかったことを除き、実施例３ｋに記載の手順を用いて、オリゴマー化に供した。
【０４３０】
ｙ）（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ｙ）
（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）ペプチド（１ｙ）を、実施例３ｋに記載の手順を用いて、オリゴマー化に供した。
【０４３１】
ｚ）［（２２Ｃ＊、２９Ｃ＊）Ａβ（１６－３５）－アミド、環化］オリゴマー（３ｚ）
実施例３ｋに記載の手順を用いて、［（Ｅ２２Ｃ＊、Ｇ２９Ｃ＊）Ａβ（１６－３５）－アミド、環化］ペプチド（１ｚ）をオリゴマー化に供することにより、オリゴマーが得られる。
【０４３２】
ａａ）（２２Ｃ、２９Ｃ）Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマー（３ａａ）
実施例３ｋに記載の手順を用いて、（２２Ｃ、２９Ｃ）Ａβ（１６－３５）－アミドペプチド（１ａａ）をオリゴマー化に供することにより、オリゴマーが得られる。
【０４３３】
ａｂ）（Ｆ２０－＞ＦＡ１９５０１、Ｌ１７Ｃ、Ｌ３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ａｂ）
実施例３ｋに記載の手順を用いて、（Ｆ２０－＞ＦＡ１９５０１、Ｌ１７Ｃ、Ｌ３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）ペプチド（１ａｂ）をオリゴマー化に供することにより、オリゴマーが得られる。
【０４３４】

ａｃ）（２２Ｃ、２９Ｃ）Ａβ（２０－３５）オリゴマー（３ａｃ）
実施例３ｋに記載の手順を用いて、（２２Ｃ、２９Ｃ）Ａβ（２０－３５）ペプチド（１ａｃ）をオリゴマー化に供することにより、オリゴマーが得られる。
【０４３５】
ａｄ）（２２Ｃ、２９Ｃ）Ａβ（２０－４２）オリゴマー（３ａｄ）
実施例３ｋに記載の手順を用いて、（２２Ｃ、２９Ｃ）Ａβ（２０－４２）ペプチド（１ａｄ）をオリゴマー化に供することにより、オリゴマーが得られる。
【０４３６】
ａｅ）（１７Ｃ、２２Ｃ、２９Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（２０－４２）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ａｅ）
実施例３ｋに記載の手順を用いて、（１７Ｃ、２２Ｃ、２９Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（２０－４２）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）ペプチド（１ａｅ）をオリゴマー化に供することにより、オリゴマーが得られる。
【０４３７】
ａｆ）（Ｋ２８Ｇ２９－＞ＦＡ１２４０１、Ｌ１７Ｃ、Ｌ３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ａｆ）
実施例３ｋに記載の手順を用いて、（Ｋ２８Ｇ２９－＞ＦＡ１２４０１、Ｌ１７Ｃ、Ｌ３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）ペプチド（１ａｆ）をオリゴマー化に供することにより、オリゴマーが得られる。
【０４３８】
[実施例４]
リンケージ形成
【０４３９】
ａ）ジスルフィド安定化（１４Ｃ、３７Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ａ）
実施例３ａの（１４Ｃ、３７Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ａ）１ｍｌを解凍し、２Ｌの５ｍＭのNaH_2PO_4、３５ｍＭのＮａＣｌ、ｐＨ７．４に対して、室温で２時間、２回、透析管中で透析した。続いて、透析液を除去し、タンパク質濃度を、Ｂｉｏ－Ｒａｄタンパク質アッセイ、ＢｉｏＲａｄ、Ｃａｔ．ｎｏ．：５００－０００６によって決定した。
【０４４０】
ｂ）ジスルフィド安定化（１５Ｃ、３６Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ｂ）
実施例３ｂの（１５Ｃ、３６Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ｂ）を、実施例４ａに記載の手順を用いて、酸化に供した。
【０４４１】
ｃ）ジスルフィド安定化（１６Ｃ、３５Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ｃ）
実施例３ｃの（１６Ｃ、３５Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ｃ）を、実施例４ａに記載の手順を用いて、酸化に供した。
【０４４２】
ｄ）ジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ｄ）
実施例３ｄの（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ｄ）を、実施例４ａに記載の手順を用いて、酸化に供した。
【０４４３】
ｅ）ジスルフィド安定化（１８Ｃ、３３Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ｅ）
実施例３ｅの（１８Ｃ、３３Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ｅ）を、実施例４ａに記載の手順を用いて、酸化に供した。

【０４４４】
ｆ）ジスルフィド安定化（１９Ｃ、３２Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ｆ）
実施例３ｆの（１９Ｃ、３２Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ｆ）を、実施例４ａに記載の手順を用いて、酸化に供した。
【０４４５】
ｇ）ジスルフィド安定化（２０Ｃ、３１Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ｇ）
実施例３ｇの（２０Ｃ、３１Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ｇ）を、実施例４ａに記載の手順を用いて、酸化に供した。
【０４４６】
ｈ）ジスルフィド安定化（２１Ｃ、３０Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ｈ）
実施例３ｈの（２１Ｃ、３０Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ｈ）を、実施例４ａに記載の手順を用いて、酸化に供した。
【０４４７】
ｉ）ジスルフィド安定化（２２Ｃ、２９Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ｉ）
実施例３ｉの（２２Ｃ、２９Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ｉ）を、実施例４ａに記載の手順を用いて、酸化に供した。
【０４４８】
ｊ）Ａβ（１－４２）グロブロマー（４ｊ）
実施例３ｊのＡβ（１－４２）野生型グロブロマー（Ｂａｃｈｅｍ　Ｈ－１３６８）（３ｊ）を、実施例４ａに記載の手順を用いて、酸化に供した。
【０４４９】
ｋ）ジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１２－４２）オリゴマー（４ｋ）
（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１２－４２）オリゴマー（３ｋ）を、３倍の水で希釈し、３５００ＭＷＣＯ透析膜を使用して、０．０５％ＳＤＳを用いて１／４強度のＰＢＳに対して、室温で一晩、透析した。透析を、翌朝、４℃で２時間、１Ｌの新鮮な緩衝液に対して続けた。
【０４５０】
次いで、試料をＡｍｉｃｏｎ撹拌セル中で、ＹＭ１０膜を用いて濃縮した。試料は、１０ｋＤａのカットオフした膜により、Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ　ＵｌｔｒａＭａｘ遠心濃縮器を用いて、濃縮することもできる。
【０４５１】
ｌ）（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ））Ａβ（１６－３５）オリゴマー（４ｌ）
（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ））Ａβ（１６－３５）オリゴマー（３ｌ）は、システイン架橋を形成しない。
【０４５２】
ｍ）Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマー（４ｍ）
Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマー（３ｍ）は、架橋結合を形成しない。
【０４５３】
ｎ）架橋結合した（１７Ｋ、３４Ｋ）Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマー（４ｎ）
２つのアミノ基を架橋結合させるための適した状態に、（１７Ｋ、３４Ｋ）Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマー（３ｎ）を供することにより、生成物が得られる。
【０４５４】
ｏ）［（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）－アミド、環状］オリゴマー（４ｏ）
［（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）－アミド、環状］オリゴマー（３ｏ）は、すでにリンケージを含む。
【０４５５】

ｐ）ジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマー（４ｐ）

ＤＴＴを除去し、実施例４ｋに記載のように、ジスルフィド形成をもたらすために、（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマー（３ｐ）を、透析に供した。

【０４５６】

ｑ）架橋結合した（１７Ｋ、３４Ｋ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ｑ）

２つのアミノ基を架橋結合させるための適した状態に、（１７Ｋ、３４Ｋ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ｑ）を供することにより、生成物が得られる。

【０４５７】

ｒ）ジスルフィド安定化（１７ＫＣ、３４Ｃ）Ａβ（１３－４２）オリゴマー（４ｒ）

ＤＴＴを除去し、実施例４ｋに記載のように、ジスルフィド形成をもたらすために、（１７ＫＣ、３４Ｃ）Ａβ（１３－４２）オリゴマー（３ｒ）を、透析に供した。

【０４５８】

ｓ）ジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－４２）オリゴマー（４ｓ）

ＤＴＴを除去し、実施例４ｋに記載のように、ジスルフィド形成をもたらすために、（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－４２）オリゴマー（３ｓ）を、透析に供した。

【０４５９】

ｔ）（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ）、３５Ｍ（Ｓ－オキシド））Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマー（４ｔ）

（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ）、３５Ｍ（Ｓ－オキシド））Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマー（３ｔ）は、システイン架橋を形成しない。

【０４６０】

ｕ）（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ））Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマー（４ｕ）

（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ））Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマー（３ｕ）は、システイン架橋を形成しない。

【０４６１】

ｖ）ＥＤＣ／ＮＨＳ結合型（１７Ｋ、３４Ｅ）Ａβ（１６－３５）オリゴマー（４ｖ）

実施例４ｘの手順に、（１７Ｋ、３４Ｅ）Ａβ（１６－３５）オリゴマー（３ｖ）を供することにより、生成物が得られる。

【０４６２】

ｗ１）ＳＭＣＣ結合型（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ｗ１）

０．０５％ＳＤＳ（２．３７ｍＭのペプチド）中の実施例３ｗの（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ｗ）を、１１ｍＭのスルホＳＭＣＣ（Ｐｉｅｒｃｅ　ｃａｔ＃２２６２２、無水ＤＭＳＯ中の１００ｍＭの保存物から供給された。）と、室温で１時間、架橋結合した。１００ｍＭ、ｐＨ８の無水保存液由来の１０ｍＭのエタノールアミンを添加することによって、反応を終了させた。２０００Ｄａ　ｍｗのカットオフした膜により、Ｓｌｉｄｅ－Ａ－Ｌｙｚｅｒを用いて、５ｍＭの$NaPO_4$、３５ｍＭのＮａＣｌ、０．０５％ＳＤＳ、ｐＨ７．４に対する透析によって、過剰な試薬および反応生成物を除去した。最終濃度を、ＢＣＡタンパク質アッセイ（Ｐｉｅｒｃｅ）を用いて決定した。

【０４６３】

ｗ２）ＭＢＳ結合型（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ｗ２）

０．０５％ＳＤＳ（２．４７ｍＭのペプチド）中の実施例３ｗの（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ｗ）を、１２ｍＭのスルホＭＢＳ（Ｐｉｅｒｃｅ　ｃａｔ＃２２３１２、無水ＤＭＳＯ中の１００ｍＭの保存物から供給された。）と、室温で１時間、架橋結合した。１００ｍＭ、ｐＨ８の保存水溶液由来の１０ｍＭのエタノールアミンを添加することによって、反応を終了させた。２０００Ｄａ　ＭＷのカット

オフした膜により、Ｓｌｉｄｅ－Ａ－Ｌｙｚｅｒを用いて、５ｍＭのＮａＰＯ$_4$、３５ｍＭのＮａＣｌ、０．０５％ＳＤＳ、ｐＨ７．４に対する透析によって、過剰な試薬および反応生成物を除去した。最終濃度を、ＢＣＡタンパク質アッセイ（Ｐｉｅｒｃｅ）を用いて決定した。

【０４６４】

ｗ３）ＳＩＡＢ結合型（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ｗ３）

０．０５％ＳＤＳ（２．４７ｍＭのペプチド）中の実施例３ｗの（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ｗ）を、１２ｍＭのスルホＳＩＡＢ（Ｐｉｅｒｃｅ　ｃａｔ＃２２３２７、無水ＤＭＳＯ中の１００ｍＭの保存物から供給された。）と、室温で１時間、架橋結合した。１００ｍＭ、ｐＨ８の無水保存液由来の１０ｍＭのエタノールアミンを添加することによって、反応を終了させた。２０００Ｄａ　ＭＷのカットオフした膜により、Ｓｌｉｄｅ－Ａ－Ｌｙｚｅｒを用いて、５ｍＭのＮａＰＯ$_4$、３５ｍＭのＮａＣｌ、０．０５％ＳＤＳ、ｐＨ７．４に対する透析によって、過剰な試薬および反応生成物を除去した。最終濃度を、ＢＣＡタンパク質アッセイ（Ｐｉｅｒｃｅ）を用いて決定した。

【０４６５】

ｘ）ＥＤＣ／ＮＨＳ結合型（１７Ｋ、３４Ｅ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ｘ）

０．０５％ＳＤＳ（２．１４ｍＭのペプチド）中の実施例３ｘの（１７Ｋ、３４Ｅ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ｘ）を、２０ｍＭのＥＤＣ（Ｐｉｅｒｃｅ　ｃａｔ＃２２９８０、１００ｍＭの無水保存物から供給された。）および５０ｍＭのスルホＮＨＳ（Ｐｉｅｒｃｅ　ｃａｔ＃２４５２０、１００ｍＭの無水保存物から供給された。）を用いて、室温で１時間、架橋結合した。２０００Ｄａ　ＭＷのカットオフした膜により、Ｓｌｉｄｅ－Ａ－Ｌｙｚｅｒを用いて、５ｍＭのＮａＰＯ$_4$、３５ｍＭのＮａＣｌ、０．０５％ＳＤＳ、ｐＨ７．４に対する透析によって、過剰な試薬および反応生成物を除去した。最終濃度を、ＢＣＡタンパク質アッセイ（Ｐｉｅｒｃｅ）を用いて決定した。

【０４６６】

ｙ）ジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ｙ）

ＤＴＴを除去し、実施例４ｋに記載のように、ジスルフィド形成をもたらすために、（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ｙ）を、透析に供した。

【０４６７】

ｚ）［（Ｅ２２Ｃ＊、Ｇ２９Ｃ＊）Ａβ（１６－３５）－アミド、環化］オリゴマー（４ｚ）

［（２２Ｃ＊、２９Ｃ＊）Ａβ（１６－３５）－アミド、環化］オリゴマー（３ｚ）は、すでにリンケージを含む。

【０４６８】

ａａ）ジスルフィド安定化（２２Ｃ、２９Ｃ）Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマー（４ａａ）

ＤＴＴを除去し、実施例４ｋに記載のように、ジスルフィド形成をもたらすために、（２２Ｃ、２９Ｃ）Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマー（３ａａ）を透析に供することにより、生成物が得られる。

【０４６９】

ａｂ）ジスルフィド安定化（Ｆ２０－＞ＦＡ１９５０１、１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ａｂ）

ＤＴＴを除去し、実施例４ｋに記載のように、ジスルフィド形成をもたらすために、（Ｆ２０－＞ＦＡ１９５０１、Ｌ１７Ｃ、Ｌ３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ａｂ）を透析に供することにより、生成物が得られる。

【０４７０】

ａｃ）ジスルフィド安定化（２２Ｃ、２９Ｃ）Ａβ（２０－３５）オリゴマー（４ａｃ）
ＤＴＴを除去し、実施例４ｋに記載のように、ジスルフィド形成をもたらすために、（２２Ｃ、２９Ｃ）Ａβ（２０－３５）オリゴマー（３ａｃ）を透析に供することにより、生成物が得られる。

【０４７１】

ａｄ）ジスルフィド安定化（２２Ｃ、２９Ｃ）Ａβ（２０－４２）オリゴマー（３ａｄ）
ＤＴＴを除去し、実施例４ｋに記載のように、ジスルフィド形成をもたらすために、（２２Ｃ、２９Ｃ）Ａβ（２０－４２）オリゴマー（３ａｄ）を透析に供することにより、生成物が得られる。

【０４７２】

ａｅ）ジスルフィド安定化（１７Ｃ、２２Ｃ、２９Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（２０－４２）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ａｅ）
ＤＴＴを除去し、実施例４ｋに記載のように、ジスルフィド形成をもたらすために、１７Ｃ、２２Ｃ、２９Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（２０－４２）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ａｅ）を透析に供することにより、生成物が得られる。
ａｆ）ジスルフィド安定化（Ｋ２８Ｇ２９－＞ＦＡ１２４０１、１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ａｆ）
ＤＴＴを除去し、実施例４ｋに記載のように、ジスルフィド形成をもたらすために、（Ｋ２８Ｇ２９－＞ＦＡ１２４０１、１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ａｆ）を透析に供することにより、生成物が得られる。

【０４７３】

[実施例５]
サーモリシントランケーション

【０４７４】

ａ）ジスルフィド安定化（１４Ｃ、３７Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシントランケーション（５ａ）
実施例４ａのジスルフィド安定化（１４Ｃ、３７Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ａ）０．５ｍｌを、１／９１サーモリシンｗ／ｗ（Ｒｏｃｈｅ、Ｃａｔ．ｎｏ．：１６１５８６）で添加した。サーモリシンを、（新鮮に調製した）H_2O中で１ｍｇ／ｍｌの濃度で溶解した。試料を、３０℃で２０時間、振盪下で温置した。次いで、水中のｐＨ７．４の１０ｍＭのＥＤＴＡ溶液２．５μｌを添加し、試料を室温で５分間振盪した。試料を、続いて１０％強度ＳＤＳ溶液５μｌで０．１％のＳＤＳ含有量に調整した。試料を室温で１０分間振盪した。続いて、試料を、０．４ｍｌの３０ｋＤａのＵｌｔｒａｆｒｅｅ－ＭＣチューブ（Ａｍｉｃｏｎ、Ｃａｔ．ｎｏ．：ＵＦＣ３ＬＴＫ００）により、およそ２０μｌに濃縮した。濃縮物を、０．２ｍｌの緩衝液（５ｍＭのNaH_2PO_4、３５ｍＭのＮａＣｌ、ｐＨ７．４）と混合し、再び３０ｋＤａのＵｌｔｒａｆｒｅｅ－ＭＣチューブ（Ａｍｉｃｏｎ、Ｃａｔ．ｎｏ．：ＵＦＣ３ＬＴＫ００）を用いて２０μｌに濃縮した。次いで濃縮物を、０．３８ｍｌの緩衝液（５ｍＭのNaH_2PO_4、３５ｍＭのＮａＣｌ、ｐＨ７．４）で最終体積０．４ｍｌに調整した。続いて試料を、１０％強度ＳＤＳ溶液２μｌで０．０５％のＳＤＳ含有量に調整し、さらに使用するまで－３０℃で保存した。

【０４７５】

ｂ）ジスルフィド安定化（１５Ｃ、３６Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシントランケーション（５ｂ）
実施例４ｂのジスルフィド安定化（１５Ｃ、３６Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ｂ）を、実施例５ａに記載の手順を用いて、サーモリシントランケーションに供した。

【０４７６】

ｃ）ジスルフィド安定化（１６Ｃ、３５Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシントランケーション（５ｃ）

実施例４ｃのジスルフィド安定化（１６Ｃ、３５Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ｃ）を、実施例５ａに記載の手順を用いて、サーモリシントランケーションに供した。

【０４７７】

ｄ）ジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシントランケーション（５ｄ）

実施例４ｄのジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ｄ）を、実施例５ａに記載の手順を用いて、サーモリシントランケーションに供した。

【０４７８】

ｅ）ジスルフィド安定化（１８Ｃ、３３Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシントランケーション（５ｅ）

実施例４ｅのジスルフィド安定化（１８Ｃ、３３Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ｅ）を、実施例５ａに記載の手順を用いて、サーモリシントランケーションに供した。

【０４７９】

ｆ）ジスルフィド安定化（１９Ｃ、３２Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシントランケーション（５ｆ）

実施例４ｆのジスルフィド安定化（１９Ｃ、３２Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ｆ）を、実施例５ａに記載の手順を用いて、サーモリシントランケーションに供した。

【０４８０】

ｇ）ジスルフィド安定化（２０Ｃ、３１Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシントランケーション（５ｇ）

実施例４ｇのジスルフィド安定化（２０Ｃ、３１Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ｇ）を、実施例５ａに記載の手順を用いて、サーモリシントランケーションに供した。

【０４８１】

ｈ）ジスルフィド安定化（２１Ｃ、３０Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシントランケーション（５ｈ）

実施例４ｈのジスルフィド安定化（２１Ｃ、３０Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ｈ）を、実施例５ａに記載の手順を用いて、サーモリシントランケーションに供した。

【０４８２】

ｉ）ジスルフィド安定化（２２Ｃ、２９Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシントランケーション（５ｉ）

実施例４ｉのジスルフィド安定化（２２Ｃ、２９Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ｉ）を、実施例５ａに記載の手順を用いて、サーモリシントランケーションに供した。

【０４８３】

ｊ）Ａβ（１－４２）グロブロマーのサーモリシントランケーション（５ｊ）

実施例４ｊのＡβ（１－４２）野生型グロブロマー（Ｂａｃｈｅｍ　Ｈ－１３６８）（４ｊ）を、実施例５ａに記載の手順を用いて、サーモリシントランケーションに供した。

【０４８４】

ｋ）ジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１２－４２）オリゴマーのサーモリシントランケーション（５ｋ）

実施例４ｋのジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１２－４２）オリゴマー（４ｋ）を、実施例５ａに記載の手順を用いて、サーモリシントランケーションに供した。

【０４８５】

ｌ）（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ））Ａβ（１６－３５）オリゴマーのサーモリ

シントランケーション（５ｌ）
（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ））Ａβ（１６－３５）オリゴマー（３ｌ）を、実施例５ａに記載の手順を用いて、サーモリシントランケーションに供した。
【０４８６】
ｍ）Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマーのサーモリシントランケーション（５ｍ）
実施例３ｍのＡβ（１６－３５）－アミドオリゴマー（３ｍ）を実施例５ａに記載の手順を用いて、サーモリシントランケーションに供した。
【０４８７】
ｎ）（１７Ｋ、３４Ｋ）Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマーのサーモリシントランケーション（５ｎ）
実施例５ａに記載の手順を用いて、（１７Ｋ、３４Ｋ）Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマー（３ｎ）をサーモリシントランケーションに供することにより、生成物が得られる。
【０４８８】
ｏ）［（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）－アミド、環状］オリゴマーのサーモリシントランケーション（５ｏ）
実施例３ｏの［（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）－アミド、環状］オリゴマー（３ｏ）を、実施例５ａに記載の手順を用いて、サーモリシントランケーションに供した。
【０４８９】
ｐ）ジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマーのサーモリシントランケーション（５ｐ）
実施例４ｐのジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマー（４ｐ）を、実施例５ａに記載の手順を用いて、サーモリシントランケーションに供した。
【０４９０】
ｑ）（１７Ｋ、３４Ｋ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシントランケーション（５ｑ）
実施例５ａに記載の手順を用いて、（１７Ｋ、３４Ｋ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（３ｑ）をサーモリシントランケーションに供することにより、生成物が得られる。
【０４９１】
ｒ）ジスルフィド安定化（１７ＫＣ、３４Ｃ）Ａβ（１３－４２）オリゴマーのサーモリシントランケーション（５ｒ）
実施例５ａに記載の手順を用いて、実施例４ｒのジスルフィド安定化（１７ＫＣ、３４Ｃ）Ａβ（１３－４２）オリゴマー（４ｒ）をサーモリシントランケーションに供することにより、生成物が得られる。
【０４９２】
ｓ）ジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－４２）オリゴマーのサーモリシントランケーション（５ｓ）
実施例４ｓのジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－４２）オリゴマー（４ｓ）を、実施例５ａに記載の手順を用いて、サーモリシントランケーションに供した。
【０４９３】
ｔ）（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ）、３５Ｍ（Ｓ－オキシド））Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマーのサーモリシントランケーション（５３ｔ）
実施例５ａに記載の手順を用いて、（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ）、３５Ｍ（Ｓ－オキシド））Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマー（３ｔ）をサーモリシントランケーションに供することにより、生成物が得られる。
【０４９４】
ｕ）（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ））Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマーのサーモリシントランケーション（５ｕ）

実施例５ａに記載の手順を用いて、（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ））Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマー（３ｕ）をサーモリシントランケーションに供することにより、生成物が得られる。

【０４９５】

ｖ）（１７Ｋ、３４Ｅ）Ａβ（１６－３５）オリゴマーのサーモリシントランケーション（５ｖ）

実施例５ａに記載の手順を用いて、（１７Ｋ、３４Ｅ）Ａβ（１６－３５）オリゴマー（３ｖ）をサーモリシントランケーションに供することにより、生成物が得られる。

【０４９６】

ｗ１）ＳＭＣＣ結合型（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシントランケーション（５ｗ）

実施例５ａに記載の手順を用いて、ＳＭＣＣ結合型（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ｗ１）をサーモリシントランケーションに供することにより、生成物が得られる。

【０４９７】

ｗ２）ＭＢＳ結合型（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシントランケーション（５ｗ）

実施例５ａに記載の手順を用いて、ＭＢＳ結合型（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ｗ２）にサーモリシントランケーションを供することにより、生成物が得られる。

【０４９８】

ｗ３）ＳＴＡＢ結合型（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシントランケーション（５ｗ）

実施例５ａに記載の手順を用いて、ＳＴＡＢ結合型（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ｗ３）にサーモリシントランケーションを供することにより、生成物が得られる。

【０４９９】

ｘ）ＥＤＣ／ＮＨＳ結合型（１７Ｋ、３４Ｅ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシントランケーション（５ｘ）

実施例５ａに記載の手順を用いて、ＥＤＣ／ＮＨＳ結合型（１７Ｋ、３４Ｅ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ｘ）にサーモリシントランケーションに供することにより、生成物が得られる。

【０５００】

ｙ）ジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシントランケーション（５ｙ）

実施例４ｙのジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ｙ）を、実施例５ａに記載の手順を用いて、サーモリシントランケーションに供した。

【０５０１】

ｚ）［（２２Ｃ＊、２９Ｃ＊）Ａβ（１６－３５）－アミド、環化］オリゴマーのサーモリシントランケーション（５ｚ）

実施例５ａに記載の手順を用いて、［（２２Ｃ＊、２９Ｃ＊）Ａβ（１６－３５）－アミド、環化］オリゴマー（３ｚ）をサーモリシントランケーションに供することにより、生成物が得られる。

【０５０２】

ａａ）ジスルフィド安定化（２２Ｃ、２９Ｃ）Ａβ（１６－３５）アミドオリゴマーのサーモリシントランケーション（５ａａ）

実施例５ａに記載の手順を用いて、ジスルフィド安定化（２２Ｃ、２９Ｃ）Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマー２２Ｃ、２９Ｃ）Ａβ（１６－３５）－アミドオリゴマー（４ａａ）をサーモリシントランケーションに供することにより、生成物が得られる。

【０５０３】
ａｂ）ジスルフィド安定化（Ｆ２０－＞ＦＡ１９５０１、１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシントランケーション（５ａｂ）
実施例５ａに記載の手順を用いて、ジスルフィド安定化（Ｆ２０－＞ＦＡ１９５０１、１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ａｂ）をサーモリシントランケーションに供することにより、生成物が得られる。
【０５０４】
ａｃ）ジスルフィド安定化（２２Ｃ、２９Ｃ）Ａβ（２０－３５）オリゴマーのサーモリシントランケーション（５ａｃ）
実施例５ａに記載の手順を用いて、ジスルフィド安定化（２２Ｃ、２９Ｃ）Ａβ（２０－３５）オリゴマー（４ａｃ）をサーモリシントランケーションに供することにより、生成物が得られる。
【０５０５】
ａｄ）ジスルフィド安定化（２２Ｃ、２９Ｃ）Ａβ（２０－４２）オリゴマーのサーモリシントランケーション（５ａｄ）
実施例５ａに記載の手順を用いて、ジスルフィド安定化（２２Ｃ、２９Ｃ）Ａβ（２０－４２）オリゴマー（４ａｄ）をサーモリシントランケーションに供することにより、生成物が得られる。
【０５０６】
ａｅ）ジスルフィド安定化（１７Ｃ、２２Ｃ、２９Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（２０－４２）Ｎ－Ｍｅｔ Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシントランケーション（５ａｅ）
実施例５ａに記載の手順を用いて、ジスルフィド安定化（１７Ｃ、２２Ｃ、２９Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（２０－４２）Ｎ－Ｍｅｔ Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ａｅ）をサーモリシントランケーションに供することにより、生成物が得られる。
【０５０７】
ａｆ）ジスルフィド安定化（Ｋ２８Ｇ２９－＞ＦＡ１２４０１、１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシントランケーション（５ａｆ）
実施例５ａに記載の手順を用いて、ジスルフィド安定化（Ｋ２８Ｇ２９－＞ＦＡ１２４０１、１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ Ａβ（１－４２）オリゴマー（４ａｆ）をサーモリシントランケーションに供することにより、生成物が得られる。
【０５０８】
生物物理的および生化学的特性評価
【０５０９】
[実施例７]
ＳＤＳ ＰＡＧＥ解析
【０５１０】
ａ）（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ Ａβ（１－４２）オリゴマーのＳＤＳ－ＰＡＧＥ（１０－２０％トリシンゲル）
２×トリシンサンプル緩衝液（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｃａｔ＃ＬＣ１６７６）およびトリシンランニング緩衝液（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｃａｔ＃ＬＣ１６７５）を採用して、ＳＤＳ－ＰＡＧＥを、１０－２０％トリシンゲル、１．０ｍｍ、１５穴（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｃａｔ＃ＥＣ６６２５５）を用いて実行した。試料を、等量のサンプル緩衝液と混合し、加熱なしにロードした。一定の電位１２５Ｖを用いて、１００分間周囲温度でゲルを展開した。展開後、メタノール酢酸ベースのＣｏｏｍａｓｓｉｅＲ－２５０染色（水中、０．１％Ｃｏｏｍａｓｓｉｅ Ｂｒｉｌｌｉａｎｔ ＢｌｕｅＲ２５０、３０％メタノール、１０％酢酸）を用いて、ゲルを染色し、３０％メタノール／１０％酢酸／水を用いて脱染した。使用した標準物質：ミオシン（２１０ｋＤａ）、ホスホリラーゼ（９８ｋＤａ）、ＢＳＡ（７８ｋＤａ）、グルタミン酸脱水素酵素（５５ｋＤａ）、アルコール脱水素酵素（４５ｋＤａ）、炭酸脱水酵素（３４ｋＤａ）、ミオグロビンレッド（１７ｋＤａ）、リゾチーム（１６ｋＤａ）、アプロチニン（７ｋＤａ）およびインスリン（４ｋ

Ｄａ）からなるＳｅｅＢｌｕｅ　Ｐｌｕｓ２　Ｐｒｅ－Ｓｔａｉｎｅｄ　Ｓｔａｎｄａｒｄｓ（Ｉｎｖｉｔｏｒｇｅｎ、Ｃａｔ＃ＬＣ５９２５）。

【０５１１】

実施例２ａからの（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（２ａ）は、典型的なＡβグロブロマーのバンドパターンを示した（図２Ａ）。

【０５１２】

ｂ）（ｘＣ、ｙＣ）Ｎ－Ｍｅｔ－Ａβ（１－４２）オリゴマーのＳＤＳ－ＰＡＧＥ（４－２０％トリス／グリシンゲル）

ＳＤＳ－ＰＡＧＥを、以下のパラメータを用いて実行した。

ＳＤＳサンプル緩衝液：

－ＳＤＳ０．３ｇ
－４ｍＬの１Ｍのトリス／ＨＣｌ　ｐＨ６．８
－グリセロール８ｍＬ
－エタノール中の１％ブロムフェノルブルー７０μＬ
－$Ｈ_2$Ｏを５０ｍＬまで添加

ランニング緩衝液：

－トリス７．５ｇ
－グリシン３６ｇ
－ＳＤＳ２．５ｇ
－$Ｈ_2$Ｏを２．５Ｌまで添加

ＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルシステム：

－４－２０％トリス／グリシンゲル：（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ　Ｉｎｃ．、Ｃａｔ．ｎｏ．：ＥＣ６０２５５ＢＯＸ）

サーモリシン消化の前および後に、（ｘＣ、ｙＣ）Ｎ－Ｍｅｔ－Ａβ（１－４２）オリゴマー１０μＬまたはＡβ（１－４２）グロブロマー調製物を、ＳＤＳサンプル緩衝液１０μＬに添加した。生じた試料２０μＬを、４－２０％トリス／グリシンゲル上にロードした（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ　Ｉｎｃ．、Ｃａｔ．ｎｏ．：ＥＣ６０２５５ＢＯＸ）。ＳＤＳ－ＰＡＧＥを、一定の電流２５ｍＡで伝導した。

【０５１３】

Ｃｏｏｍａｓｓｉｅ染色：

染色溶液：

－メタノール２５００ｍｌ
－酢酸５００ｍｌ
－５ｇのＣｏｏｍａｓｓｉｅ　Ｂｒｉｌｌａｎｔ　Ｂｌｕｅ　Ｒ２５０、Ｆａ．Ｂｉｏ－Ｒａｄ、Ｃａｔ．ｎｏ．１６１－０４００
－$Ｈ_2$Ｏ２０００ｍｌ

脱染溶液：

－メタノール８７５ｍｌ
－酢酸２５０ｍｌ
－$Ｈ_2$Ｏ３９２５ｍｌ

電気泳動に続いて、ゲルを、ロッキングプラットホーム上の振盪下で、室温で３０分間、染色溶液中で温置した。染色後、ゲルのバックグラウンドを、脱染溶液中、室温で一晩、脱染した。

【０５１４】

実施例４ａからの（１４Ｃ、３７Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、実施例５ａからのサーモリシントランケートした（１４Ｃ、３７Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、実施例４ｂからの（１５Ｃ、３６Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、実施例５ｂからのサーモリシントランケートした（１５Ｃ、３６Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、実施例４ｃからの（１６Ｃ、３５Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、実施例５ｃからのサーモリシントランケートした（１６Ｃ

、３５Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、実施例４ｄからの（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、実施例５ｄからのサーモリシントランケートした（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、実施例４ｅからの（１８Ｃ、３３Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーおよび実施例５ｅからのサーモリシントランケートした（１８Ｃ、３３Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（図２Ｂ）ならびに実施例４ｆからの（１９Ｃ、３２Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、実施例５ｆからのサーモリシントランケートした（１９Ｃ、３２Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、実施例４ｇからの（２０Ｃ、３１Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、実施例５ｇからのサーモリシントランケートした（２０Ｃ、３１Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、実施例４ｈからの（２１Ｃ、３０Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、実施例５ｈからのサーモリシントランケートした（２１Ｃ、３０Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、実施例３ｉからの（２２Ｃ、２９Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー、実施例５ｈからのサーモリシントランケートした（２２Ｃ、２９Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（図２Ｃ）は、Ａβ（１－４２）グロブロマーまたはＡβ（１－４２）サーモリシントランケートしたグロブロマーの典型的なＡβグロブロマーのバンドパターンを示した（（ＹＣ、ＹＣ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーおよびサーモリシントランケートした（ＹＣ、ＹＣ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーの実行で、バンドの高さのいくつかの明確なシフトがあるが。）。

【０５１５】

さらに、実施例３ｘからの（１７Ｋ、３４Ｅ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（０．２％ＳＤＳ）、実施例３ｘからの（１７Ｋ、３４Ｅ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（０．０５％ＳＤＳ）、実施例３ｕからの（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ））Ａβ（１６－３５）オリゴマー（０．２％ＳＤＳ）、実施例３ｕからの（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ））Ａβ（１６－３５）オリゴマー（０．０５％ＳＤＳ）、実施例３ｗからの（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（０．２％ＳＤＳ）、実施例３ｗからの（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（０．０５％ＳＤＳ）、実施例３ｓからの（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－４２）オリゴマー（０．２％ＳＤＳ）、実施例３ｓからの（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－４２）オリゴマー（０．０５％ＳＤＳ）、実施例３ｒからの（１７ＫＣ、３４Ｃ）Ａβ（１３－４２）オリゴマー（０．２％ＳＤＳ）および実施例３ｒからの（１７ＫＣ、３４Ｃ）Ａβ（１３－４２）オリゴマー（０．０５％ＳＤＳ）（図２Ｄ）は、Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）グロブロマーの典型的なＡβグロブロマーのバンドパターンを示した。

【０５１６】

[実施例８]

直接的ＥＬＩＳＡ

【０５１７】

原線維および遊離ペプチドよりＡβ（１－４２）グロブロマー形態に対して＞１０００倍の選択性である抗体を用いることによって、実施例２ａからの（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（２ａ）の免疫応答性を、さらに特性評価した（モノクローナル抗体５Ｆ７）。

【０５１８】

材料：マイクロタイタープレートは、Ｎｕｎｃ　Ｉｍｍｕｎｏ　Ｐｌａｔｅ、Ｍａｘｉ－Ｓｏｒｂ　Ｓｕｒｆａｃｅ、平底、（カタログ＃４３９４５４）であった。コンジュゲート（２次抗体）は、Ｄｏｎｋｅｙ抗マウスＨＲＰＯコンジュゲート、Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｉｍｍｕｎｏ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ、（カタログ＃７１５－０３５－１５０）であった。ＨＲＰＯ基質は、３，３’，５’５’－テトラメチルベンジジン液体基質（ＴＭＢ）、Ｓｉｇｍａ、（カタログ＃Ｔ４４４４）であった。Ｎｏｎ－ｆａｔ　Ｄｒｙ　Ｍｉｌｋ（ＮＦＤＭ）は、ＢｉｏＲａｄから得た（カタログ＃１７０－６４０４）。全ての他の化学薬品は、従来の供給源から得た。

【０５１９】
緩衝液および溶液：ＰＢＳＴ緩衝液：ＳｉｇｍａＰＢＳは、０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０を用いて作製した。０．５％ＢＳＡによるＰＢＳＴは、ＰＢＳＴ１００ｍＬ中でＢＳＡ０．５ｍｇを溶解することによって作製した。ブロッキング溶液は、ＰＢＳＴ中で３％ＮＦＤＭであった。コンジュゲート希釈液は、ＰＢＳＴ中で１％ＮＦＤＭであった。コーティング緩衝液は、１００ｍＭのＮａＨＣＯ$_3$　ｐＨ８．２であった。ＨＲＰＯ停止溶液は、２ＭのＨ$_2$ＳＯ$_4$であった。
【０５２０】
プレートのコーティング：試験するＡβグロブロマーを、コーティング緩衝液中で１．０μｇ／ｍＬに希釈した。１００μＬを、コートする各穴に添加した。プレートをシーリングフィルムで密封し、４℃で一晩放置した。
【０５２１】
プレートのブロッキング：コーティング溶液を、穴から除去した。各々の穴を、必要応じてＰＢＳＴ１５０μＬで２－３Ｘ洗浄した。ブロッキング溶液３００μＬを添加した（ＰＢＳＴ中で３％ＮＦＤＭ）。プレートを、プレートシーリングフィルムで覆い、撹拌しながら室温で約２時間温置した。
【０５２２】
１次抗体：ブロッキング溶液を、穴から除去した。各々の穴を、必要に応じてＰＢＳＴ１５０μＬで２－３Ｘ洗浄した。１次抗体溶液１００μＬを添加した。完全長Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）グロブロマーに関して、０．０４から１００μｇ／ｍＬの抗体５Ｆ７の溶液を使用した。抗体を、０．５％ＢＳＡによるＰＢＳＴを用いて希釈した。プレートを、プレートシーリングフィルムで覆い、撹拌しながら室温で約２から３時間温置した。
【０５２３】
２次抗体（ＨＲＰＯコンジュゲート）：１次抗体溶液を穴から除去した。各々の穴を、ＰＥＳＴ１５０μＬで２－３Ｘ洗浄した。１％ＮＦＤＭによりＰＢＳＴ中で１：５０００に希釈した２次抗体（ＨＲＰＯコンジュゲート）溶液２００μＬを添加した。プレートを、プレートシーリングフィルムで覆い、撹拌しながら室温で約１時間温置した。
【０５２４】
基質の発現：コンジュゲート溶液を穴から除去した。各々の穴を、ＰＥＳＴ２００μＬで２－３Ｘ洗浄した。ＨＲＰＯ基質溶液１００μＬを、各穴に添加した。色を観察下で発現できるようにした。色は青に変わった。反応は通常、室温で５－１０分中に終わった。停止溶液５０μＬを、各穴に添加した。青色は黄色に変わった。停止溶液を添加して３０分以内に、マイクロタイタープレートリーダーを用いて、４５０ｎｍでの吸光度を読み取った。
【０５２５】
グロブロマー特異的モノクローナル抗体５Ｆ７とＮ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）グロブロマー、および（Ｌ１７Ｃ、Ｌ３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）変異オリゴマーと５Ｆ７との結合は、ほとんど同一であり（図３Ａ）、（Ｌ１７Ｃ、Ｌ３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）変異オリゴマーは、グロブロマー特異的エピトープをさらに表すことが示された。
【０５２６】
グロブロマー特異的ｍＡｂ　５Ｆ７と、実施例４ｙからのジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーｖｓ．実施例５ｙからのサーモリシンによる酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーとの見かけの結合親和性を比較する、直接的ＥＬＩＳＡの比較結果を図３Ｂに示す。
【０５２７】
グロブロマー特異的ｍＡｂ　７Ｃ６と、実施例４ｙからのジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーｖｓ．実施例５ｙからのサーモリシンによる酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーとの見かけの結合親和性を比較する、直接的ＥＬＩＳＡの比較結果を図３Ｃに示す。

【０５２８】
グロブロマー特異的ウサギポリクローナル抗血清５５９９と、実施例４ｙからのジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーｖｓ．実施例５ｙからのサーモリシンによる酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーとの見かけの結合親和性を比較する、直接的ＥＬＩＳＡの比較結果を図３Ｄに示す。
【０５２９】
グロブロマー特異的ｍＡｂ　５Ｆ７と、実施例４ｐからのジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマーｖｓ．実施例５ｐからのサーモリシンによる酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーとの見かけの結合親和性を比較する、直接的ＥＬＩＳＡの比較結果を図３Ｅに示す。
【０５３０】
グロブロマー特異的ｍＡｂ　７Ｃ６と、実施例４ｐからのジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマーｖｓ．実施例５ｐからのサーモリシンによる酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーとの見かけの結合親和性を比較する、直接的ＥＬＩＳＡの比較結果を図３Ｆに示す。
【０５３１】
グロブロマー特異的ウサギポリクローナル抗血清５５９９と、実施例４ｐからのジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマーｖｓ．実施例５ｐからのサーモリシンによる酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーとの見かけの結合親和性を比較する、直接的ＥＬＩＳＡの比較結果を図３Ｇに示す。
【０５３２】
グロブロマー特異的ｍＡｂ　５Ｆ７と、実施例４ｍからのＡβ（１６－３５）オリゴマーｖｓ．実施例５ｍからのサーモリシンによる酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーとの見かけの結合親和性を比較する、直接的ＥＬＩＳＡの比較結果を図３Ｈに示す。
【０５３３】
グロブロマー特異的ｍＡｂ　７Ｃ６と、実施例４ｍからのＡβ（１６－３５）オリゴマーｖｓ．実施例５ｍからのサーモリシンによる酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーとの見かけの結合親和性を比較する、直接的ＥＬＩＳＡの比較結果を図３Ｉに示す。
【０５３４】
グロブロマー特異的ウサギポリクローナル抗血清５５９９と、実施例４ｍからのＡβ（１６－３５）オリゴマーｖｓ．実施例５ｍからのサーモリシンによる酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーとの見かけの結合親和性を比較する、直接的ＥＬＩＳＡの比較結果を図３Ｊに示す。
【０５３５】
グロブロマー特異的ｍＡｂ　５Ｆ７と、実施例４ｌからの（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ））Ａβ（１６－３５）オリゴマーｖｓ．実施例５ｌからのサーモリシンによる酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーとの見かけの結合親和性を比較する、直接的ＥＬＩＳＡの比較結果を図３Ｋに示す。
【０５３６】
グロブロマー特異的ｍＡｂ　７Ｃ６と、実施例４ｌからの（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ））Ａβ（１６－３５）オリゴマーｖｓ．実施例５ｌからのサーモリシンによる酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーとの見かけの結合親和性を比較する、直接的ＥＬＩＳＡの比較結果を図３Ｌに示す。
【０５３７】
グロブロマー特異的ウサギポリクローナル抗血清５５９９と、実施例４ｌからの（１７Ｃ（ＡＣＭ）、３４Ｃ（ＡＣＭ））Ａβ（１６－３５）オリゴマーｖｓ．実施例５ｌからのサーモリシンによる酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーと

の見かけの結合親和性を比較する、直接的ＥＬＩＳＡの比較結果を図３Ｍに示す。

【０５３８】

グロブロマー特異的ｍＡｂ　５Ｆ７と、実施例４ｏからの（オリゴマー形成前に環化した）ジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマーｖｓ．実施例５ｏからのサーモリシンによる酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーとの見かけの結合親和性を比較する、直接的ＥＬＩＳＡの比較結果を図３Ｎに示す。

【０５３９】

グロブロマー特異的ｍＡｂ　７Ｃ６と、実施例４ｏからの（オリゴマー形成前に環化した）ジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマーｖｓ．実施例５ｏからのサーモリシンによる酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーとの見かけの結合親和性を比較する、直接的ＥＬＩＳＡの比較結果を図３Ｏに示す。

【０５４０】

グロブロマー特異的ウサギポリクローナル抗血清５５９９と、実施例４ｏからの（オリゴマー形成前に環化した）ジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマーｖｓ．実施例５ｏからのサーモリシンによる酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーとの見かけの結合親和性を比較する、直接的ＥＬＩＳＡの比較結果を図３Ｐに示す。

【０５４１】

グロブロマー特異的ｍＡｂ　５Ｆ７と、実施例４ｏからの（オリゴマー形成前に環化した）ジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマーｖｓ．実施例４ｓ、４ｐおよび４ｙからの（全てオリゴマー形成後に環化した）ジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－４２）、（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）および（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーとの見かけの結合親和性を比較する、直接的ＥＬＩＳＡの比較結果を図３Ｑに示す。

【０５４２】

グロブロマー特異的ｍＡｂ　５Ｆ７と、実施例５ｏからの（オリゴマー形成前に環化した）サーモリシントランケートしたジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマーｖｓ．実施例５ｓ、５ｐおよび５ｙからの（全てオリゴマー形成後に環化した）サーモリシントランケートしたジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－４２）、（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）および（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーとの見かけの結合親和性を比較する、直接的ＥＬＩＳＡの比較結果を図３Ｒに示す。

【０５４３】

グロブロマー特異的ｍＡｂ　５Ｆ７と、実施例４ｓからのジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－４２）オリゴマーｖｓ．実施例５ｓからのサーモリシンによる酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーとの見かけの結合親和性を比較する、直接的ＥＬＩＳＡの比較結果を図３Ｓに示す。

【０５４４】

グロブロマー特異的ｍＡｂ　７Ｃ６と、実施例４ｓからのジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－４２）オリゴマーｖｓ．実施例５ｓからのサーモリシンによる酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーとの見かけの結合親和性を比較する、直接的ＥＬＩＳＡの比較結果を図３Ｔに示す。

【０５４５】

グロブロマー特異的ウサギポリクローナル抗血清５５９９と、実施例４ｓからのジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－４２）オリゴマーｖｓ．実施例５ｓからのサーモリシンによる酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーとの見かけの結合親和性を比較する、直接的ＥＬＩＳＡの比較結果を図３Ｕに示す。

【０５４６】

グロブロマー特異的ｍＡｂ　５Ｆ７と、実施例４ｋからのジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１２－４２）オリゴマーｖｓ．実施例５ｋからのサーモリシンによる酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーとの見かけの結合親和性を比較する、直接的ＥＬＩＳＡの比較結果を図３Ｖに示す。

【０５４７】

グロブロマー特異的ｍＡｂ　７Ｃ６と、実施例４ｋからのジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１２－４２）オリゴマーｖｓ．実施例５ｋからのサーモリシンによる酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーとの見かけの結合親和性を比較する、直接的ＥＬＩＳＡの比較結果を図３Ｗに示す。

【０５４８】

グロブロマー特異的ウサギポリクローナル抗血清５５９９と、実施例４ｋからのジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１２－４２）オリゴマーｖｓ．実施例５ｋからのサーモリシンによる酵素的切断によって残基２０でトランケートした同じオリゴマーとの見かけの結合親和性を比較する、直接的ＥＬＩＳＡの比較結果を図３Ｘに示す。

【０５４９】

グロブロマー特異的ｍＡｂ　５Ｆ７と、実施例４ｒからのジスルフィド安定化（１７ＫＣ、３４Ｃ）Ａβ（１３－４２）オリゴマーとの見かけの結合親和性の直接的ＥＬＩＳＡ結果を、図３Ｙに示す。

【０５５０】

グロブロマー特異的ｍＡｂ　７Ｃ６と、実施例４ｒからのジスルフィド安定化（１７ＫＣ、３４Ｃ）Ａβ（１３－４２）オリゴマーとの見かけの結合親和性の直接的ＥＬＩＳＡ結果を、図３Ｚに示す。

【０５５１】

グロブロマー特異的ウサギポリクローナル抗血清５５９９と、実施例４ｒからのジスルフィド安定化（１７ＫＣ、３４Ｃ）Ａβ（１３－４２）オリゴマーとの見かけの結合親和性の直接的ＥＬＩＳＡ結果を、図３ＡＡに示す。

【０５５２】

図１３は、（Ａ）グロブロマー特異的モノクローナル抗体５Ｆ７、（Ｂ）グロブロマー特異的モノクローナル抗体７Ｃ６および（Ｃ）グロブロマー特異的ウサギポリクローナル抗血清５５９９に対する、実施例３ｗからの架橋なしの（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーと、実施例４ｙからのジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーの、直接的Ｅｌｉｓａ応答の比較を示す。

【０５５３】

図１４は、（Ａ）グロブロマー特異的モノクローナル抗体５Ｆ７、（Ｂ）グロブロマー特異的モノクローナル抗体７Ｃ６および（Ｃ）グロブロマー特異的ウサギポリクローナル抗血清５５９９に対する、実施例３ｗからの架橋なしの（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーと、サーモリシントランケーションの前（実施例４ｗ１）および後（実施例５ｗ１）にＳＭＣＣで架橋した（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーの、直接的Ｅｌｉｓａ応答の比較（Ａ）を示す。

【０５５４】

図１５は、（Ａ）グロブロマー特異的モノクローナル抗体５Ｆ７、（Ｂ）グロブロマー特異的モノクローナル抗体７Ｃ６および（Ｃ）グロブロマー特異的ウサギポリクローナル抗血清５５９９に対する、実施例３ｗからの架橋なしの（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーと、サーモリシントランケーションの前（実施例４ｗ２）および後（実施例５ｗ２）にＭＢＳで架橋した（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーの、直接的Ｅｌｉｓａ応答の比較（Ａ）を示す。

【０５５５】

図１６は、（Ａ）グロブロマー特異的モノクローナル抗体５Ｆ７、（Ｂ）グロブロマー特異的モノクローナル抗体７Ｃ６および（Ｃ）グロブロマー特異的ウサギポリクローナル抗血清５５９９に対する、実施例３ｗからの架橋なしの（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ

Ａβ（１－４２）オリゴマーと、サーモリシントランケーションの前（実施例４ｗ３）および後（実施例５ｗ３）にＳＩＡＢで架橋した（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーの、直接的Ｅｌｉｓａ応答の比較（Ａ）を示す。

【０５５６】

図１７は、（Ａ）グロブロマー特異的モノクローナル抗体５Ｆ７、（Ｂ）グロブロマー特異的モノクローナル抗体７Ｃ６および（Ｃ）グロブロマー特異的ウサギポリクローナル抗血清５５９９に対する、架橋なしの実施例３ｘからの（１７Ｋ、３４Ｅ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーと、実施例３ｙからのジスルフィド安定化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーの、直接的Ｅｌｉｓａ応答の比較（Ａ）を示す。

【０５５７】

図１８は、（Ａ）グロブロマー特異的モノクローナル抗体５Ｆ７、（Ｂ）グロブロマー特異的モノクローナル抗体７Ｃ６および（Ｃ）グロブロマー特異的ウサギポリクローナル抗血清５５９９に対する、架橋なしの（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーと、サーモリシントランケーションの前および後にＥＤＣ／ＮＨＳで架橋した（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーの、直接的Ｅｌｉｓａ応答の比較（Ａ）を示す。

【０５５８】

いくつかの結果が得られた：

（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－４２）ペプチド（実施例３ｓ）は、期待したジスルフィド結合の両方を含み（図４Ｅ＆Ｆ）、グロブロマーエピトープを表す（図３Ｓ－３Ｕ）オリゴマー（実施例４ｓ）を形成することが示された。サーモリシンによるトランケーションにおいて（実施例５ｓ）、グロブロマー特異的抗体への親和性の期待した上昇が観察された（図３Ｓ－３Ｕ）。

【０５５９】

（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１２－４２）ペプチド（実施例３ｋ）は、期待したジスルフィド結合の両方を含み（図４Ｇ＆Ｈ）、グロブロマーエピトープを表す（図３Ｖ－３Ｘ）オリゴマー（実施例４ｋ）を形成することが示された。サーモリシンによるトランケーションにおいて（実施例５ｋ）、グロブロマー特異的抗体への親和性の期待した上昇が観察された（図３Ｖ－３Ｘ）。

【０５６０】

（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）ペプチド（実施例３ｏ）は、期待したジスルフィド結合の両方を含み（図４Ｃ＆Ｄ）、グロブロマーエピトープを表す（図３Ｅ－３Ｇ）オリゴマー（実施例４ｏ）を形成することが示された。サーモリシンによるトランケーションにおいて（実施例５ｏ）、グロブロマー特異的抗体への親和性の期待した上昇が観察された（図３Ｅ－３Ｇ）。しかし、ｃｙｓ残基の欠如（ｗｔ　Ａβ（１６－３５）、実施例３ｍ）またはｃｙｓ残基の－ＳＨのＡＣＭ保護（（１７Ｃ　ＡＣＭ／３４Ｃ　ＡＣＭ）Ａβ（１６－３５）、実施例３ｌ）のいずれかにより、ジスルフィドリンケージの形成を妨げられるＡβ（１６－３５）ペプチドは、グロブロマーエピトープを表すオリゴマーを形成できなかった（図３Ｈ－３Ｍ）。

【０５６１】

位置１７にリシンおよび位置３４にシステインを導入することによって、さまざまなヘテロ二官能性架橋結合試薬を、これらの２つの残基の側鎖間の架橋に採用でき、これには、スルホ－ＳＭＣＣ、スルホ－ＭＢＳおよびスルホ－ＳＩＡＢが挙げられる。例えば、（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）ペプチド（実施例３ｗ）は、グロブロマーエピトープを表すオリゴマーを形成することができる（図１３Ａ－１３Ｃ）。さらに、これらのオリゴマーは、スルホ－ＳＭＣＣ（実施例４ｗ１）、スルホ－ＭＢＳ（実施例４ｗ２）およびスルホＳＩＡＢ（実施例４ｗ３）を用いて架橋結合に供することができ、所望の分子内の共有結合性架橋結合を形成することができる（図１２Ａ－１２Ｃ）。これらの架橋結合したＡβオリゴマーは、さらに、グロブロマー特異的抗体に対する適切な反応

性を表す（それぞれ図１４Ａ－１４Ｃ、１５Ａ－１５Ｃおよび１６Ａ－１Ｃ）。その上、これらのＡβオリゴマーを、サーモリシントランケーションに供することができ（実施例４ｗ１、４ｗ２＆４ｗ３）、グロブロマー特異的抗体への親和性の期待した上昇が生じる（図１４Ａ－１４Ｃ、１５Ａ－１５Ｃおよび１６Ａ－１６Ｃ）。

【０５６２】

位置１７にリシンおよび位置３４にグルタミン酸を導入することによって、さまざまな架橋結合戦略を、これらの２つの残基の側鎖間の架橋に採用でき、これには、ＥＤＣに続きスルホ－ＮＨＳを用いた反応によるグルタミン酸側鎖の活性化が挙げられる。この活性化した側鎖は、続いて位置１７に導入したリシン残基の一級アミンと反応することができる。例えば、（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）ペプチド（実施例３ｗ）は、グロブロマーエピトープを表すオリゴマーを形成することができる（図１７Ａ－１７Ｃ）。さらに、これらのオリゴマーは、ＥＤＣおよびスルホ－ＮＨＳを用いて架橋結合に供することができ、分子内の共有結合性架橋結合が生じる（図１２Ｄ）。これらの架橋結合したＡβオリゴマーは、さらに、グロブロマー特異的抗体に対する適切な反応性を表す（図１８Ａ－１８Ｃ）。その上、これらのＡβオリゴマーを、サーモリシントランケーションに供することができ（実施例４ｘ）、グロブロマー特異的抗体への親和性の期待した上昇が生じる（図１８Ａ－１８Ｃ）。

【０５６３】

[実施例９]

質量分析

【０５６４】

実施例２ａからの（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　ＡＮ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（２ａ）の質量分析により、実施例１ａの（Ｌ１７Ｃ、Ｌ３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）変異ペプチド（１ａ）を有するオリゴマーの形成が、２つのＣｙｓ残基間のペプチド内ジスルフィド結合の効率的な形成を導くことが確認された（図４Ａ）。質量は、およそ４６２２Ｄａ、すなわち１つのジスルフィド結合を形成した（Ｌ１７Ｃ、Ｌ３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）変異ペプチドに関して期待した質量に集中した。共有結合の二量体ペプチドのサインは、質量スペクトルにおいて観察されなかった。ジチオスレイトール（ＤＴＴ）により還元した後、質量は、１つのジスルフィド結合をもたない（Ｌ１７Ｃ、Ｌ３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）変異ペプチドに関して期待したように、およそ４６２４Ｄａに集中し、アイソトピックデコンボリューションで観察された各質量は、ジスルフィド結合の還元から期待したように、２つのＤａを得る（図４Ｂ）。

【０５６５】

実施例３ｐからの（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマー（３ｐ）の質量分析により、実施例１ｐの（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）ペプチド（１ｐ）を有するオリゴマーの形成が、２つのＣｙｓ残基間のペプチド内ジスルフィド結合の効率的な形成を導くことが確認された（図４Ｃ）。質量は、およそ２０８５Ｄａ、すなわち１つのジスルフィド結合を形成した（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）ペプチドに関して期待した質量に集中した。共有結合の二量体ペプチドのサインは、質量スペクトルにおいて観察されなかった。ジチオスレイトール（ＤＴＴ）により還元した後、質量は、１つのジスルフィド結合をもたない（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）ペプチドに関して期待したように、およそ２０８６Ｄａに集中し、アイソトピックデコンボリューションで観察された各質量は、ジスルフィド結合の還元から期待したように、１つから２つのＤａを得る（図４Ｄ）。

【０５６６】

実施例３ｓからの（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－４２）オリゴマー（３ｓ）の質量分析により、実施例１ｓの（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－４２）ペプチド（１ｓ）を有するオリゴマーの形成が、２つのＣｙｓ残基間のペプチド内ジスルフィド結合の効率的な形成を導くことが確認された（図４Ｅ）。質量は、およそ２６８３Ｄａ、すなわち１つのジ

スルフィド結合を形成した（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）ペプチドに関して期待した質量に集中した。共有結合の二量体ペプチドのサインは、質量スペクトルにおいて観察されなかった。ジチオスレイトール（ＤＴＴ）により還元した後、質量は、１つのジスルフィド結合をもたない（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－４２）ペプチドに関して期待したように、およそ２６８４Ｄａに集中し、アイソトピックデコンボリューションで観察された各質量は、ジスルフィド結合の還元から期待したように、１つから２つのＤａを得る（図４Ｆ）。

【０５６７】

実施例３ｋからの（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１２－４２）オリゴマー（３ｋ）の質量分析により、実施例１ｋの（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１２－４２）ペプチド（１ｋ）を有するオリゴマーの形成が、２つのＣｙｓ残基間のペプチド内ジスルフィド結合の効率的な形成を導くことが確認された（図４Ｇ）。共有結合の二量体ペプチドのサインは、質量スペクトルにおいて観察されなかった。ジチオスレイトール（ＤＴＴ）により還元した後、質量は、１つのジスルフィド結合をもたない（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１２－４２）ペプチドに関して期待したように、およそ３１８６Ｄａに集中し、アイソトピックデコンボリューションで観察された各質量は、ジスルフィド結合の還元から期待したように、１つから２つのＤａを得る（図４Ｈ）。

【０５６８】

実施例３ｒからの（１７ＫＣ、３４Ｃ）Ａβ（１３－４２）オリゴマー（３ｒ）の質量分析（ＥＳＩ）により、実施例１ｒの（１７ＫＣ、３４Ｃ）Ａβ（１３－４２）ペプチド（１ｒ）を有するオリゴマーの形成が、２つのＣｙｓ残基間のペプチド内ジスルフィド結合の効率的な形成を導くことが確認された（図４Ｉ）。共有結合の二量体ペプチドの相当量が、質量スペクトルにおいて観察されたが（データは示さない）、所望の分子間ジスルフィド結合は明らかである。ジチオスレイトール（ＤＴＴ）により還元した後、質量は、１つのジスルフィド結合をもたない（１７ＫＣ、３４Ｃ）Ａβ（１３－４２）ペプチドに関して期待したように、およそ３２１５Ｄａに集中し、アイソトピックデコンボリューションで観察された各質量は、ジスルフィド結合の還元から期待したように、１つから２つのＤａを得る（図４Ｊ）。

【０５６９】

ＳＥＬＤＩ－ＭＳによって検出したような、サーモリシン消化の前（実施例４ａ－４ｊ）および後（実施例５ａ－５ｊ）の（ｘＣ、ｙＣ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのペプチド質量を、図６に示す。

【０５７０】

実施例４ｗ１からの、ヘテロ二官能性架橋結合試薬スルホ－ＳＭＣＣによる架橋結合反応後の（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）ペプチドで作製したオリゴマーの質量スペクトル（ＥＳＩ）を、図１２Ａに示す。優勢の種が、所望の生成物のようである。

【０５７１】

実施例４ｗ２からの、ヘテロ二官能性架橋結合試薬スルホ－ＭＢＳによる架橋結合反応後の（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）ペプチドで作製したグロブロマーの質量スペクトル（ＭＡＬＤＩ）を、図１２Ｂに示す。所望の架橋結合が形成された証拠があるが（４８５２Ｄａ）、ＭＢＳの添加に続くマレイミドの加水分解（４８６９Ｄａ）、２つのＭＢＳ付加物の添加に続く加水分解（５０８８Ｄａ）および反応しなかったペプチド（４６５２Ｄａ）に相当する質量も観察される。

【０５７２】

実施例４ｗ３からの、ヘテロ二官能性架橋結合試薬スルホ－ＳＩＡＢによる架橋結合反応後の（１７Ｋ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）ペプチドで作製したグロブロマーの質量スペクトル（ＥＳＩ）を、図１２Ｃに示す。矢印は、所望の架橋結合が形成した後の期待される質量を示す（ｍｗ＝４８１０Ｄａ）。

【０５７３】

実施例４ｘからの、ヘテロ二官能性架橋結合試薬ＥＤＣおよびＮＨＳによる架橋結合反応後の（１７Ｋ、３４Ｅ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）ペプチドで作製したグロブロマーの質量スペクトル（ＭＡＬＤＩ）を、図１２Ｄに示す。矢印は、２つの架橋結合（ｍｗ＝４６３７Ｄａ）および3つの架橋結合（ｍｗ＝４６２０Ｄａ）が形成されたことを示唆する質量を示す。

【０５７４】

[実施例１０]

流体力学的解析

【０５７５】

サファイアウィンドウを用いて、試料を標準的な２つのセクターのセルにロードした。全試料を、４孔または８孔のローターのいずれかを使用して試験した。

【０５７６】

条件は次のようにした：温度：２０℃、ローター速度：４２，０００ｒｐｍ、干渉データを集め、半径のステップサイズ０．００３ｃｍを用いて連続モードで２８０ｎｍでの吸光度データを集めた。１つのデータ点を、ステップごとに集めた（シグナルの平均化はない。）。典型的には、２００スキャン以下を、９時間以内の経過にわたって集めた。

【０５７７】

連続的Ｓ分布解析（Ｃ（ｓ）解析）を、Ｓｅｄｆｉｔ　ｖ８．９（Ｐ．Ｓｃｈｕｃｋ（２０００年）、「Ｓｉｚｅ　ｄｉｓｔｒｉｂｕｔｉｏｎ　ａｎａｌｙｓｉｓ　ｏｆ　ｍａｃｒｏｍｏｌｅｃｕｌｅｓ　ｂｙ　ｓｅｄｉｍｅｎｔａｔｉｏｎ　ｖｅｌｏｃｉｔｙ　ｕｌｔｒａｃｅｎｔｒｉｆｕｇａｔｉｏｎ　ａｎｄ　Ｌａｍｍ　ｅｑｕａｔｉｏｎ　ｍｏｄｅｌｉｎｇ」、Ｂｉｏｐｈｙｓｉｃａｌ　Ｊｏｕｒｎａｌ　７８：１６０６－１６１９頁）で実行するように行い、試料の全体の不均一性を理解した。半径および時間の両方に依存しないノイズを適合させ、最大エントロピーアルゴリズムを用いて、データから除去した。

【０５７８】

沈降速度実験により、Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）グロブロマーおよび実施例２ａからの（Ｌ１７Ｃ、Ｌ３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）変異オリゴマー（２ａ）の両方は、均一なオリゴマーを形成することが示された（図５Ａ）。しかし、（Ｌ１７Ｃ、Ｌ３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）変異オリゴマーは、よりよい流体力学的特性を表した。

【０５７９】

沈降速度実験により、Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）トランケートしたグロブロマーおよび実施例５ｙからのサーモリシントランケートした（Ｌ１７Ｃ、Ｌ３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー（５ｙ）の両方が、均一なオリゴマーを形成することも示された（図５ＢおよびＣ）。しかし、サーモリシントランケートした（Ｌ１７Ｃ、Ｌ３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーは、よりよい流体力学的特性を表した。

【０５８０】

Ｎ－Ｍｅｔ（１７Ｃ／３４Ｃ）Ａβ（１－４２）オリゴマー（実施例４ｙ）におけるジスルフィド結合の導入により、５ｍＭのＮａＰＯ$_4$、３５ｍＭのＮａＣｌ、ｐＨ７．４中で、ｗｔ　Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーと比べて、さらに凝集が安定化する（図５Ａ）。さらに、ジスルフィド安定化（１７Ｃ／３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーは、ｗｔ　Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーと比べて、サーモリシンによる残基２０でのトランケーション後（実施例５ｙ）、より高い流体力学的均一性を顕著に維持する。これは、０．０５％ＳＤＳの存在（図５Ｂ）および非存在（図５Ｃ）の両方で明らかである。実際に、ｗｔ　Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのサーモリシン処理後、０．０５％ＳＤＳの非存在においてあまりに不均一で試験できない調製となる（データは示していない）。

【０５８１】

[実施例１１]

サーモリシントランケートした（ｘＣ、ｙＣ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーのヨードアセトアミドアルキル化およびＳＥＬＤＩ－ＭＳ解析。

【０５８２】

Ａ：アルキル化に用いた、サーモリシントランケートした（ｘＣ、ｙＣ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマーおよびＮ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）グロブロマー：

次のサーモリシントランケートしたオリゴマーおよびグロブロマーを、ヨードアセトアミドアルキル化に供した。

１）実施例５ａのサーモリシントランケートした（１４Ｃ、３７Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー

２）実施例５ｂのサーモリシントランケートした（１５Ｃ、３６Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー

３）実施例５ｃのサーモリシントランケートした（１６Ｃ、３５Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー

４）実施例５ｄのサーモリシントランケートした（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー

５）実施例５ｅのサーモリシントランケートした（１８Ｃ、３３Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー

６）実施例５ｆのサーモリシントランケートした（１９Ｃ、３２Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー

７）実施例５ｇのサーモリシントランケートした（２０Ｃ、３１Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー

８）実施例５ｈのサーモリシントランケートした（２１Ｃ、３０Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー

９）実施例５ｉのサーモリシントランケートした（２２Ｃ、２９Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー

１０）実施例５ｊのＡβ（１－４２）サーモリシントランケートしたグロブロマー

【０５８３】

Ｂ：ヨードアセトアミドアルキル化

Ｂ１：対照試料

－サーモリシントランケートしたオリゴマーまたはグロブロマー２．５μｌを、（５分ヘリウム通気した）５μｌの５０ｍＭのＴｒｉｓ／ＨＣｌ、１ｍＭのＥＤＴＡ、ｐＨ８．６を用いて希釈した。

－３７℃で２０分温置

－H_2O２μｌを添加した。

－室温で１時間温置

－１１５μｌの５０％CH_3CN、０．５％ＴＦＡを添加した。

【０５８４】

Ｂ２：試料のヨードアセトアミドアルキル化

－サーモリシントランケートしたオリゴマーまたはグロブロマー２．５μｌを、（ヘリウム通気した）５μｌの５０ｍＭのＴｒｉｓ／ＨＣｌ、１ｍＭのＥＤＴＡ、ｐＨ８．６を用いて希釈した。

－３７℃で２０分温置

－H_2O中の２μｌの１００ｍＭのヨードアセトアミド（Ｓｉｇｍａ；Ｃａｔ．ｎｏ．ｌ１１４９）溶液を添加した。

－室温で１時間温置

－１１５μｌの５０％CH_3CN、０．５％ＴＦＡを添加した。

【０５８５】

Ｂ３：ＤＴＴ還元に続く試料のヨードアセトアミドアルキル化

－サーモリシントランケートしたオリゴマーまたはグロブロマー２．５μｌを、（ヘリウム通気した）５μｌの５０ｍＭのＴｒｉｓ／ＨＣｌ、１ｍＭのＥＤＴＡ、２ｍＭのＤＴＴ

、ｐＨ８．６を用いて希釈した。
－３７℃で２０分温置
－H_2O中の２μｌの１００ｍＭのヨードアセトアミド（Ｓｉｇｍａ；Ｃａｔ．ｎｏ．ｌ１１４９）溶液を添加した。
－室温で１時間温置
－１１５μｌの５０％CH_3CN、０．５％ＴＦＡを添加した。
【０５８６】
Ｃ：免疫沈降したＡβ（２０－４２）ペプチドの表面増強レーザー脱離イオン化質量分析（ＳＥＬＤＩ－ＭＳ）定量化
－試料２μｌを、Ｈ４タンパク質チップアレイ（ＢｉｏＲａｄ；Ｃａｔ．ｎｏ．Ｃ５７３－００２８）上にスポットした。
－スポットを、温かい恒温槽プレート上で乾かすようにした。
－ＣＨＣＡ溶液：
ＣＨＣＡ５ｍｇを、アセトニトリル１５０μＬ＋１％ＴＦＡ１５０μＬ中で溶解し、保存液にし、－２０℃で保存した。
保存液の内１０μＬを、アセトニトリル２０μＬおよび１％ＴＦＡ２０μＬで希釈し、作用ＣＨＣＡ溶液にした。
作用ＣＨＣＡ溶液２μＬを、スポット上につけた。
－スポットを、温かい恒温槽プレート上で乾かすようにし、ＳＥＬＤＩ－ＭＳ（表面増強レーザー脱離イオン化質量分析；ＢｉｏＲａｄ、Ｐｒｏｔｅｉｎ ｃｈｉｐ ＳＥＬＤＩシステムエンタープライズ版）によって解析した。
条件：質量の範囲：８００から１００００Ｄａ；フォーカス質量：２２２０Ｄａ；マトリックス減衰：５００Ｄａ；サンプリングレート：４００ＭＨｚ；加温ショット：エネルギー１１００ｎｊで２；データショット：エネルギー１０００ｎジュールで１０；３から１の分割
解析：それぞれの二重アルキル化（２ｘＣＭ）、アルキル化（１ｘＣＭ）または非アルキル化（０ｘＣＭ）ペプチドの質量ピークのピーク強度を検出した。
【０５８７】
結果を図７に示す。
【０５８８】
還元剤としてのＤＴＴの非存在において、システインと別のシステインで、－ＳＨ基が共有結合のＳ－Ｓ架橋を形成すれば、ヨードアセトアミドは、システインの－ＳＨ基をアルキル化することができない。したがって、ＳＥＬＤＩ－ＭＳによって解析した、サーモリシン処理後の（ｘＣ、ｙＣ）Ｎ－Ｍｅｔ－Ａβ（１－４２）オリゴマーの（図７の０ｘＣＭによって示されるような）ヨードアセトアミドアルキル化反応の非存在により、Ｓ－Ｓ形成が（ｘＣ、ｙＣ）Ｎ－Ｍｅｔ－Ａβ（１－４２）オリゴマーにおいて起きたことが示される。ヨードアセトアミドアルキル化反応が、原理的に起き得ることを、ＤＴＴを用いて還元条件下で検証し、Ｓ－Ｓが破壊され、遊離－ＳＨ基が発生し、これによりヨードアセトアミドアルキル化が受け入れられることがわかった（図７）。
【０５８９】
[実施例１２]
サーモリシントランケーションの前および後の（ｘＣ、ｙＣ）Ｎ－Ｍｅｔ Ａβ（１－４２）オリゴマーおよびＡβ（１－４２）グロブロマーのドットブロット解析
【０５９０】
方法：
ドットブロットのためのＡβ標準
１．実施例４ａの（１４Ｃ、３７Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ Ａβ（１－４２）オリゴマー
２．実施例５ａのサーモリシントランケートした（１４Ｃ、３７Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ Ａβ（１－４２）オリゴマー
３．実施例４ｂの（１５Ｃ、３６Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ Ａβ（１－４２）オリゴマー

４．実施例５ｂのサーモリシントランケートした（１５Ｃ、３６Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー
５．実施例４ｃの（１６Ｃ、３５Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー
６．実施例５ｃのサーモリシントランケートした（１６Ｃ、３５Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー
７．実施例４ｄの（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー
８）実施例５ｄのサーモリシントランケートした（１７Ｃ、３４Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー
９．実施例４ｅの（１８Ｃ、３３Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー
１０．実施例５ｅのサーモリシントランケートした（１８Ｃ、３３Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー
１１．実施例４ｆの（１９Ｃ、３２Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー
１２．実施例５ｆのサーモリシントランケートした（１９Ｃ、３２Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー
１３．実施例４ｇの（２０Ｃ、３１Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー
１４．実施例５ｇのサーモリシントランケートした（２０Ｃ、３１Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー
１５．実施例４ｈの（２１Ｃ、３０Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー
１６．実施例５ｈのサーモリシントランケートした（２１Ｃ、３０Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー
１７．実施例４ｉの（２２Ｃ、２９Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー
１８．実施例５ｉのサーモリシントランケートした（２２Ｃ、２９Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）オリゴマー
１９．実施例４ｊのＡβ（１－４２）グロブロマー
２０．実施例５ｊのＡβ（１－４２）サーモリシントランケートしたグロブロマー

【０５９１】

ドットブロットのための材料：
Ａβ標準：
２０ｍＭのＮａＨ$_2$ＳＯ$_4$、１４０ｍＭのＮａＣｌ、ｐＨ７．４＋０．２ｍｇ／ｍｌのＢＳＡ中でのカラム１－２０でのＡβ抗原の連続的希釈
１）１０μｍｏｌ／μｌ
２）１μｍｏｌ／μｌ
３）０．１μｍｏｌ／μｌ
４）０．０１μｍｏｌ／μｌ
５）０．００１μｍｏｌ／μｌ

【０５９２】

ニトロセルロース：
Ｔｒａｎｓ－Ｂｌｏｔ　Ｔｒａｎｓｆｅｒ溶媒、純粋なニトロセルロースメンブレン（０．４５μｍ）；ＢｉｏＲａｄ

【０５９３】

抗マウスＡＰ：
ＡＰ３２６Ａ（Ｃｈｅｍｉｃｏｎ）

【０５９４】

坑ウサギＡＰ：
ＡＰ３０４Ａ（Ｃｈｅｍｉｃｏｎ）

【０５９５】

検出試薬：
ＮＢＴ／ＢＣＩＰ　Ｔａｂｌｅｔ（Ｒｏｃｈｅ）

【０５９６】

ウシ血清アルブミン（ＢＳＡ）：

１１９２６Ｓｅｒｖａ
【０５９７】
ブロッキング試薬：
ＴＢＳ中の５％低脂肪乳
【０５９８】
緩衝溶液：
ＴＢＳ
２５ｍＭのＴｒｉｓ／ＨＣｌ－緩衝液ｐＨ７．５
＋１５０ｍＭのＮａＣｌ
ＴＴＢＳ
２５ｍＭのＴｒｉｓ／ＨＣｌ－緩衝液ｐＨ７．５
＋１５０ｍＭのＮａＣｌ
＋０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０
ＰＢＳ＋０．２ｍｇ／ｍｌのＢＳＡ
２０ｍＭのNaH_2PO_4緩衝液ｐＨ７．４
＋１４０ｍＭのＮａＣｌ
＋０．２ｍｇ／ｍｌのＢＳＡ
【０５９９】
抗体溶液Ｉ：
ウサギ血清試料またはマウスモノクローナル抗体のいずれかを、抗体溶液Ｉとして使用し、次のように調製した：
－ウサギ血清試料（ＴＢＳ中の１％低脂肪乳２０ｍｌ中で１：２００に希釈した。）
－マウスモノクローナル抗体（ＴＢＳ中の１％低脂肪乳２０ｍｌ中で０．２μｇ／ｍｌに希釈した。）
【０６００】
抗体溶液ＩＩ：
抗体溶液Ｉがウサギ血清試料であった場合、抗体溶液ＩＩは、抗ウサギＡＰであった。抗体溶液Ｉがマウスモノクローナル抗体であった場合、抗体溶液ＩＩは、抗マウスＡＰであった。
抗体溶液ＩＩを次のように調製した：
－抗マウスＡＰ：ＴＢＳ中の１％低脂肪乳中で１：５０００に希釈
－抗ウサギＡＰ：ＴＢＳ中の１％低脂肪乳中で１：５０００に希釈
【０６０１】
ドットブロットの手順：
１）異なる各Ａβ基準１μｌ（それらの５回連続希釈中で）を、互いにおよそ１ｃｍ離れているニトロセルロースメンブレン上にドットした。
２）Ａβ基準のドットを、室温（ＲＴ）で少なくとも１０分間、空気でニトロセルロースメンブレン上で乾かすようにした（＝ドットブロット）。
３）ブロッキング：
ドットブロットを、ＲＴで１．５時間、ＴＢＳ中で５％低脂肪乳３０ｍｌを用いて温置した。
４）洗浄：
ブロッキング溶液を捨て、ドットブロットを、ＲＴで１０分間、ＴＴＢＳ２０ｍｌを用いて振盪下で温置した。
５）抗体溶液Ｉ：
洗浄緩衝液を捨て、ドットブロットを、ＲＴで２時間、抗体溶液Ｉを用いて温置した。
６）洗浄：
抗体溶液Ｉを捨て、ドットブロットを、ＲＴで１０分間、ＴＴＢＳ２０ｍｌを用いて振盪下で温置した。洗浄溶液を捨て、ドットブロットを、ＲＴで１０分間ＴＴＢＳ２０ｍｌを用いて振盪下で温置した。洗浄溶液を捨て、ドットブロットを、ＲＴで１０分間、ＴＢＳ

２０ｍｌを用いて振盪下で温置した。
７）抗体溶液ＩＩ：
洗浄緩衝液を捨て、ドットブロットを、ＲＴで１時間、抗体溶液ＩＩを用いて温置した。
８）洗浄：
抗体溶液ＩＩを捨て、ドットブロットを、ＲＴで１０分間、ＴＴＢＳ２０ｍｌを用いて振盪下で温置した。洗浄溶液を捨て、ドットブロットを、ＲＴで１０分間、ＴＴＢＳ２０ｍｌを用いて振盪下で温置した。洗浄溶液を捨て、ドットブロットを、ＲＴで１０分間、ＴＢＳ２０ｍｌを用いて振盪下で温置した。
９）発現：
洗浄溶液を捨てた。１タブレットのＮＢＴ／ＢＣＩＰを、H_2O２０ｍｌ中で溶解し、ドットブロットを、この溶液を用いて４分間温置した。H_2Oを用いる強力な洗浄によって、発現を停止させた。

【０６０２】
結果を図８に示す。

【０６０３】
サーモリシントランケートした（ｘＣ、ｙＣ）Ｎ－Ｍｅｔ－Ａβ（１－４２）オリゴマーは、Ａβ（１－４２）サーモリシントランケートしたグロブロマーと、Ａβグロブロマー特異的抗体７Ｃ６およびポリクローナルウサギ血清５５９９による同程度の認識を示す。例外は、サーモリシントランケートした（１５Ｃ、３６Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ－Ａβ（１－４２）オリゴマーであり、これはポリクローナルウサギ血清５５９９によってのみ認識される。これは、サーモリシントランケートした（１５Ｃ、３６Ｃ）Ｎ－Ｍｅｔ－Ａβ（１－４２）オリゴマーにおいて位置３６でのシステイン変異のためであり得、これにより７Ｃ６のＡβグロブロマーエピトープ認識が妨げられる可能性がある。その上、抗体７Ｃ６およびポリクローナルウサギ血清５５９９は、Ａβ（１－４２）グロブロマーと同程度の、サーモリシン処理なしの（ｘＣ、ｙＣ）Ｎ－Ｍｅｔ－Ａβ（１－４２）オリゴマーを検出しない。留意すべきは、ポリクローナルウサギ血清５５９９は、一般に、ドットした全ペプチドに関して高いバックグラウンド反応を示し、これはＡβグロブロマーエピトープの特異的な認識に起因し得ないということである（図８）。

【０６０４】
[実施例１３]
ＳＥＬＤＩ－ＭＳ解析による（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマーのヨードアセトアミドアルキル化

【０６０５】
Ａ：アルキル化に使用した（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマー：
実施例４ｐの（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマー（４ｐ）を使用した。

【０６０６】
Ｂ：ヨードアセトアミドアルキル化
Ｂ１：ヨードアセトアミドアルキル化なしの対照試料
－オリゴマー２．５μｌを、（５分ヘリウム通気した）５０μｌの１００ｍＭのＴｒｉｓ／ＨＣｌ、１ｍＭのＥＤＴＡ、ｐＨ８．６を用いて希釈した。
－３７℃で２０分温置
－H_2O２０μｌを添加した。
－室温で６時間温置
－試料１μｌを、４９μｌの５０％CH_3CN、０．５％ＴＦＡ中で希釈した。
Ｂ２：試料のヨードアセトアミドアルキル化
－オリゴマー２．５μｌを、（５分ヘリウム通気した）５０μｌの１００ｍＭのＴｒｉｓ／ＨＣｌ、１ｍＭのＥＤＴＡ、ｐＨ８．６を用いて希釈した。
－３７℃で２０分温置
－H_2O中の２０μｌの１００ｍＭのヨードアセトアミド（Ｓｉｇｍａ；Ｃａｔ．ｎｏ．ｌ１１４９）溶液を添加した。

－室温で６時間温置
－試料１μｌを、４９μｌの５０％CH_3CN、０．５％ＴＦＡ中で希釈した。
Ｂ３：ＤＴＴ還元に続く試料のヨードアセトアミドアルキル化
－オリゴマー２．５μｌを、（ヘリウム通気した）５０μｌの１００ｍＭのＴｒｉｓ／ＨＣｌ、１ｍＭのＥＤＴＡ、２ｍＭのＤＴＴ、ｐＨ８．６を用いて希釈した。
－３７℃で２０分温置
－H_2O中の２０μｌの１００ｍＭのヨードアセトアミド（Ｓｉｇｍａ；Ｃａｔ．ｎｏ．ｌ１１４９）溶液を添加した。
－室温で６時間温置
－試料１μｌを、４９μｌの５０％CH_3CN、０．５％ＴＦＡ中で希釈した。

【０６０７】
Ｃ：オリゴマーの表面増強レーザー脱離イオン化質量分析（ＳＥＬＤＩ－ＭＳ）定量化
－試料Ｂ１およびＢ２およびＢ３の試料２μＬを、Ｈ４タンパク質チップアレイ（ＢｉｏＲａｄ；Ｃａｔ．ｎｏ．Ｃ５７３－００２８）上に個々にスポットした。
－スポットを、温かい恒温槽プレート上で乾かすようにした。
－ＣＨＣＡ溶液：
　ＣＨＣＡ５ｍｇを、アセトニトリル１５０μＬ＋１％ＴＦＡ１５０μＬ中で溶解し、保存液にし、－２０℃で保存した。
　保存液の内１０μＬを、アセトニトリル２０μＬおよび１％ＴＦＡ２０μＬで希釈し、作用ＣＨＣＡ溶液にした。
　作用ＣＨＣＡ溶液２μＬを、スポット上につけた。
－スポットを、温かい恒温槽プレート上で乾かすようにし、ＳＥＬＤＩ－ＭＳ（表面増強レーザー脱離イオン化質量分析；ＢｉｏＲａｄ、Ｐｒｏｔｅｉｎ　ｃｈｉｐ　ＳＥＬＤＩシステムエンタープライズ版）によって解析した。
　条件：質量の範囲：８００から１００００Ｄａ；フォーカス質量：２２２０Ｄａ；マトリックス減衰：５００Ｄａ；サンプリングレート：４００ＭＨｚ；加温ショット：エネルギー１１００ｎｊで２；データショット：エネルギー１０００ｎジュールで１０；２から１の分割
　解析：それぞれの二重アルキル化（２ｘＣＭ）、アルキル化（１ｘＣＭ）または非アルキル化（０ｘＣＭ）オリゴマーの質量ピークのピーク強度を検出した。

【０６０８】
　結果を図９に示す。

【０６０９】
　還元剤としてのＤＴＴの非存在において、システインと別のシステインで、－ＳＨ基が共有結合のＳ－Ｓ架橋を形成すれば、ヨードアセトアミドは、システインの－ＳＨ基をアルキル化することができない。したがって、ＳＥＬＤＩによって解析したように、（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマーのヨードアセトアミドアルキル化反応の非存在により、Ｓ－Ｓ形成が（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマーにおいて起きたことが示される。ヨードアセトアミドアルキル化反応が、原理的に起き得ることを、ＤＴＴを用いて還元条件下で検証し、Ｓ－Ｓが破壊され、遊離－ＳＨ基が発生し、これによりヨードアセトアミドアルキル化が受け入れられることがわかった（図９）。

【０６１０】
[実施例１４]
ＳＥＬＤＩ－ＭＳ検出による免疫沈降を用いたＡβグロブロマー特異的抗体による（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマーの認識

【０６１１】
Ａ：モノクローナルマウス抗体によるダイナビーズの活性化
－ダイナビーズの保存懸濁液（ダイナビーズＭ－２８０ヒツジ抗マウスＩｇＧ、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ；Ｃａｔ．ｎｏ．：１１２．０２）を、起泡を防ぐように注意深く振盪した。

－１ｍＬを無菌的に除去し、１．５ｍＬの反応小瓶に移した。
－ダイナビーズを、１ｍＬの免疫沈降（ＩＰ）洗浄緩衝液（ＩＰ洗浄緩衝液：ＰＢＳ（２０ｍＭのNaH_2PO_4、１４０ｍＭのＮａＣｌ、ｐＨ７．４）、０．１％ＢＳＡ）を用いて、５分で３回洗浄した。洗浄手順の間、上澄みを注意深く除去する一方、ダイナビーズを、磁気分離スタンド（ＭＳＳ）により反応小瓶の端に固定した。
－洗浄したダイナビーズを、ＰＢＳ１ｍＬ、０．１％ＢＳＡ中でＡβ抗体４０μｇとともに温置した。
－４℃で振盪下において一晩、温置することによって、活性化を行った。
－活性化したダイナビーズを、ＩＰ洗浄緩衝液（ＰＢＳ（２０ｍＭのNaH_2PO_4、１４０ｍＭのＮａＣｌ、ｐＨ７．４）、０．１％ＢＳＡ）１ｍＬを用いて、（再びＭＳＳを用いて）３０分で４回洗浄した。
－活性化したダイナビーズを、ボルテックスしたＰＢＳ１ｍＬ、０．１％ＢＳＡ、０．０２％Ｎａ－Ａｚｉｄｅで再懸濁し、簡単に遠心分離した。
－抗体活性化したダイナビーズを、さらに使用するまで、４℃で保存した。

【０６１２】

Ｂ：免疫沈降に使用した試料の調製：
１：ヨードアセトアミドアルキル化なしの（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマー
－実施例４ｐの（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマー（４ｐ）２．５μｌを、（５分ヘリウム通気した）５０μｌの１００ｍＭのＴｒｉｓ／ＨＣｌ、１ｍＭのＥＤＴＡ、ｐＨ８．６で希釈した。
－３７℃で２０分温置
－H_2O２０μｌを添加した。
－室温で６時間温置
－Ｓｌｉｄｅ－Ａ－Ｌｙｚｅｒ　Ｍｉｎｉ　Ｄｉａｌｙｓｉｓ　Ｕｎｉｔｓ　Ｐｌｕｓ　Ｆｌｏａｔ、３５００ＭＷＣＯ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、＃６９５５８）中で５ｍＭのNaH_2PO_4、３５ｍＭのＮａＣｌ、ｐＨ７．４に対して一晩の透析
２：ＤＴＴおよびヨードアセトアミドアルキル化による（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマー
－実施例４ｐの（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマー（４ｐ）２．５μｌを、（ヘリウム通気した）５０μｌの１００ｍＭのＴｒｉｓ／ＨＣｌ、１ｍＭのＥＤＴＡ、２ｍＭのＤＴＴ、ｐＨ８．６で希釈した。
－３７℃で２０分温置
－H_2O中の２０μｌの１００ｍＭのヨードアセトアミド（Ｓｉｇｍａ；Ｃａｔ．ｎｏ．：ｌ１１４９）溶液を添加した。
－室温で６時間温置
－Ｓｌｉｄｅ－Ａ－Ｌｙｚｅｒ　Ｍｉｎｉ　Ｄｉａｌｙｓｉｓ　Ｕｎｉｔｓ　Ｐｌｕｓ　Ｆｌｏａｔ、３５００ＭＷＣＯ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、＃６９５５８）中で５ｍＭのNaH_2PO_4、３５ｍＭのＮａＣｌ、ｐＨ７．４に対して一晩の透析

【０６１３】

Ｃ：免疫沈降（ＩＰ）
－（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマー試料Ｂ１およびＢ２を、２０ｍＭのNaH_2PO_4、１４０ｍＭのＮａＣｌ；０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０、ｐＨ７．４＋０．１％ＢＳＡを用いて、最終濃度１μｇ／ｍｌまで希釈した。
－次のリストの各抗体活性化ダイナビーズ２５μＬを、希釈した試料０．１ｍＬとともに温置した：
　１０Ｆ１１－ダイナビーズ
　７Ｃ６－ダイナビーズ
　ＩｇＧ２ａ－ダイナビーズ（ＩＰバックグラウンドに対するアイソタイプ対照として使用した。）

ＩｇＧ２ｂ－ダイナビーズ（ＩＰバックグラウンドに対するアイソタイプ対照として使用した。）
－６℃で振盪下における１８時間の温置によって、免疫沈降を行った。
－ダイナビーズをＭＳＳに固定した。
－上澄みを注意深く除去し、捨てた。
－ダイナビーズを次のように洗浄した：
５００μＬの２０ｍＭのNaH_2PO_4、１４０ｍＭのＮａＣｌ、ｐＨ７．４＋０．１％ＢＳＡを用いて５分で２回；
５００μＬの２ｍＭのNaH_2PO_4、１４ｍＭのＮａＣｌ、ｐＨ７．４を用いて３分で１回；
重要：洗浄緩衝液の最後の除去の後、反応小瓶を遠心分離し、ＭＳＳ中に戻し、残っている液体の液滴を注意深く除去した；
H_2O中の１０μＬの５０％CH_3CN、０．５％ＴＦＡを、反応小瓶に添加し、ボルテックスした；
反応小瓶を、振盪下においてＲＴで１０分温置した；
ダイナビーズをＭＳＳに固定した；
免疫沈降し、溶出したＡβ種を含む上澄みを、注意深く取り除いた（＝ＩＰ－溶出物）。

【０６１４】
Ｄ：免疫沈降した（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマーの表面増強レーザー脱離イオン化質量分析（ＳＥＬＤＩ－ＭＳ）定量化
－ＩＰ－溶出物２μＬを、Ｈ４　Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｃｈｉｐ　Ａｒｒａｙ（ＢｉｏＲａｄ；Ｃａｔ．ｎｏ．Ｃ５７３－００２８）上にスポットした。
－スポットを温かい恒温槽プレート上で乾かすようにした。
－ＣＨＣＡ溶液：
ＣＨＣＡ５ｍｇを、アセトニトリル１５０μＬ＋１％ＴＦＡ１５０μＬ中で溶解し、保存液にし、－２０℃で保存した。
保存液の内１０μＬを、アセトニトリル２０μＬおよび１％ＴＦＡ２０μＬで希釈し、作用ＣＨＣＡ溶液にした。
作用ＣＨＣＡ溶液２μＬを、スポット上につけた。
－スポットを、温かい恒温槽プレート上で乾かすようにし、ＳＥＬＤＩ－ＭＳ（表面増強レーザー脱離イオン化質量分析；ＢｉｏＲａｄ、Ｐｒｏｔｅｉｎ　ｃｈｉｐ　ＳＥＬＤＩシステムエンタープライズ版）によって解析した。
条件：質量の範囲：８００から１００００Ｄａ；フォーカス質量：２２２０Ｄａ；マトリックス減衰：５００Ｄａ；サンプリングレート：４００ＭＨｚ；加温ショット：エネルギー１３５０ｎｊで２；データショット：エネルギー１３００ｎジュールで１０；２から１の分割
解析：それぞれのＡβ（１６－３５）ペプチドの質量ピークのピーク強度を定量化した。

【０６１５】
結果を図１０Ａおよび１０Ｂに示す。

【０６１６】
（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマーは、Ａβグロブロマーエピトープ特異的抗体７Ｃ６および１０Ｆ１１によって認識される。免疫沈降の間の非特異的バックグラウンドレベルを、ＳＥＬＤＩ－ＭＳ解析において顕著に低いシグナル強度を示す、アイソタイプの対照抗体ＩｇＧ２ａおよびＩｇＧ２ｂによって制御した（図１０Ａ）。システインＳ－Ｓ共有結合が、ＤＴＴによって遊離－ＳＨに還元され、続くヨードアセトアミド反応が遊離－ＳＨで行われれば、続くＩＰにより、１つまたは２つのアルキル化－ＳＨ基（１ｘまたは２ｘＣＭ）を有する（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）ペプチドが、７Ｃ６または１０Ｆ１１によってもはや認識されないとき、（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６

－３５）オリゴマーの立体構造は破壊されたことが明らかになった。不十分なＤＴＴ還元、および／または無傷のシステインＳ－Ｓ共有結合（０ｘＣＭ）を有する非アルキル化（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマーを維持するヨードアセトアミド反応によるときのみ、免疫沈降した。結論として、（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）オリゴマーは、Ａβグロブロマーエピトープを含むが、直鎖化された（１７Ｃ、３４Ｃ）Ａβ（１６－３５）ペプチドは含まなかった。

【０６１７】

参考実施例

組換えＮ－Ｍｅｔ　Ａβ（１－４２）ペプチド

クローニングおよび発現：アミロイドベータペプチドをコードする配列を、ｐＥＴ２９ベクターを用いて大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）においてクローン化し、発現した。発現したペプチドは、そのＮ末端メチオニン残基を完全に保持し、（アミロイド前駆体タンパク質、ＡＰＰ内由来の）位置０から位置４２のアミロイドβの天然配列を示す。ペプチドを、大腸菌ＢＬ２１（ＤＥ３）細胞を用いて発現した。培養液OD_{600}ｎｍが０．４５に到達するまで、細胞を３０℃で増殖させ、次いでＡβの発現を、１ｍＭのＩＰＴＧの添加によって誘導し、フラスコを４１℃のオービタルシェーカーに移した。誘導して３時間後、細胞を収集した。不溶性画分では、Ｃｏｍａｓｓｉｅｓｔａｉｎｅｄ　ＳＤＳタンパク質ゲル上で可視化したとき、期待した大きさの産物が得られた。

【０６１８】

組換えで発現したＡβの精製。単離した全試料に関する出発物質は、大腸菌細胞培養液の収集から得た、－８０℃で凍結した細胞ペーストであった。凍結細胞ペーストを、４℃で５－１０倍の量の溶解緩衝液（１００ｍＭトリス最終ｐＨ７．５）に添加した。Ｂｅｎｚｏｎａｓｅ（ＥＭＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｍａｄｉｓｏｎ、ＷＩ）を、濃度０．１μｌ／ｍｌの細胞ライセートに添加し、ペレットが一様に再懸濁するまで撹拌した（４５－６０分）。細胞溶解を、Ｍ－１１０Ｌマイクロフルイダイザー（Ｍｉｃｒｏｆｌｕｉｄｉｃｓ、Ｎｅｗｔｏｎ、ＰＡ）を用いて行った。１５℃で溶解した物質を、４℃で３０分間、ＪＬＡ１６．２５ローター（Ｂｅｃｋｍａｎ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ、Ｐａｌｏ　Ａｌｔｏ、ＣＡ）中で２３０００×Ｇでスピンした。ｐＨ７．５から７．８の冷たい５０ｍＭのトリス緩衝液を添加することによって、物質を３回洗浄し、次いで再懸濁したペレットをホモジナイズし、ＪＬＡ１６．２５ローター中で２３０００×Ｇでスピンした。これを続いて水洗浄してトリス緩衝液を除去した。ペレットを、０．１％トリフルオロ酢酸を含む水に再懸濁させた。再懸濁した試料をシェルフローズンし、凍結乾燥器上に置いた。

【０６１９】

凍結乾燥した物質１０－２０ｇを、３７℃のＤＭＳＯに添加し、組織ホモジナイザーを用いてホモジナイズし、１時間撹拌し、次いで一晩そのままにした。次いで、試料をＪＬＡ１６．２５ローター中において２３０００×Ｇで、２つの２５０ｍＬのナルゲンボトル中で、２５℃で３０分間、スピンした。ＤＭＳＯの上澄みをデカントし、別のＤＭＳＯ５０ｍＬを各ボトルに添加し、ホモジナイズし、スピンし、次いでこのＤＭＳＯをデカントし、また保存した。ペレットを捨てた。

【０６２０】

ＤＭＳＯ抽出物を、約１．５Ｌを保持するのに十分な、６０００－８０００カットオフ透析膜（Ｓｐｅｃｔｒｕｍ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ｒａｎｃｈｏ　Ｄｏｍｉｎｇｕｅｚ、ＣＡ）中に注意深く注いだ。それを、１０ｍＬの濃縮したアンモニア（０．１％ｖ／ｖ）を添加した１５％アセトニトリル１０Ｌに対して透析した。これにより、ベンチ上で４時間、透析することができた。定期的に、濃いＤＭＳＯを再分配し、透析工程を加速させるように、透析膜を取り外した。４時間の終わりに、膜を、新鮮に変えた緩衝液１０Ｌ中に置き、もう２時間、工程を続けた。透析の終わりに、試料を除去し、２５℃で３０分間、２３０００×Ｇで遠心分離した。試料を、２Ｌのシリンダーに移し、０．１％アンモニア水を用いて、総体積２０００ｍｌの量まで２倍希釈した。

【０６２１】
２．２Ｘ２５ｃｍ（９５ｍＬ）ステンレスカラムを、１５－２０ミクロン、３００Ａ、Ｐｏｌｙｍｅｒ Ｌａｂｓ（Ａｍｈｅｒｓｔ、ＭＡ）からのＰＬＰＲＳ逆相樹脂を用いてハンドパックした。それに、７５％アセトニトリル＋０．１％アンモニア、（７５％Ｂ）からの１サイクルを通して、１０％Ｂに平衡化した。カラムを、Ｐｈａｒｍａｃｉａ Ｐ５００ ｐｕｍｐ（Ａｍｅｒｓｈａｍ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、 Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ、ＮＪ）に接続し、ペプチド溶液１４００ｍＬを、室温で約１６．７時間以上、ベンチ上で一晩、カラムを通して汲み出した。翌朝、カラムを、約２５０ｍＬの１０％Ｂで、Ｐ５００ポンプにより洗浄し、次いでＢｅｃｋｍａｎ ＨＰＬＣ（Ｐａｌｏ Ａｌｔｏ、ＣＡ）に接続した。２８０ｎｍでの吸光度が基準線に来るまで洗浄を１０％Ｂを用いて続け、次いで、勾配は２００分以上、１０％Ｂから３０％Ｂまで起きた（０．１％勾配）。フルスケールの吸光度を、１吸光度単位および流率５ｍＬ／分で維持した。物質を、約１０ｍＬの約５０個の画分中にハンド採取した。各画分１００μＬを、ＳｐｅｅｄＶａｃ上に置いて乾かし、１Ｘ試料緩衝液１００μＬをチューブに添加した。物質を、Ａｍｉｃｏｎ（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ Ｉｎｃ、Ｂｉｌｌｅｒｉｃａ、ＣＡ）上の３５００カットオフ膜上で濃縮し、細胞を撹拌し、約３５０から５０ｍＬに濃縮し、次いでそれを凍結乾燥して一晩乾かした。

【０６２２】
産生された精製Ａβペプチドは、４６４５から４６４８Ｄａの観察質量を示した。これは、採用したＤＮＡ発現配列から期待したような、Ｎ末端メチオニンの存在と一致した。

【０６２３】
参考実施例

【０６２４】
参考実施例１
Ａβ（１－４２）グロブロマー
Ａβ（１－４２）合成ペプチド（Ｈ－１３６８、Ｂａｃｈｅｍ、Ｂｕｂｅｎｄｏｒｆ、Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）を、１００％１，１，１，３，３，３－ヘキサフルオロ－２－プロパノール（ＨＦＩＰ）中で６ｍｇ／ｍＬで懸濁し、３７℃で１．５時間、振盪下において完全な可溶化のために温置した。ＨＦＩＰは、水素結合ブレーカーとして働き、前から存在するＡβペプチドの構造上の不均一性を排除するために使用する。ＨＦＩＰを、ＳｐｅｅｄＶａｃ中の蒸発によって除去し、Ａβ（１－４２）を、ジメチルスルホキシド中において濃度５ｍＭで再懸濁し、２０秒間、超音波処理した。ＨＦＩＰで前処理したＡβ（１－４２）を、リン酸緩衝食塩水（ＰＢＳ）（２０ｍＭのNaH_2PO_4、１４０ｍＭのＮａＣｌ、ｐＨ７．４）中で４００μＭに希釈し、１／１０体積の２％ドデシル硫酸ナトリウム（ＳＤＳ）（H_2O中）を添加した（最終濃度０．２％ＳＤＳ）。３７℃で６時間温置により、１６／２０－ｋＤａのＡβ（１－４２）グロブロマー中間体が生じた。３倍のH_2Oを用いたさらなる希釈および３７℃で１８時間の温置によって、３８／４８－ｋＤａ Ａβ（１－４２）グロブロマーを生成した。３０００ｇで２０分間遠心分離した後、試料を、限外濾過によって濃縮し（３０－ｋＤａカットオフ）、５ｍＭのNaH_2PO_4、３５ｍＭのＮａＣｌ、ｐＨ７．４に対して透析し、１０００００ｇで１０分間遠心分離し、３８／４８－ｋＤａのＡβ（１－４２）グロブロマーを含む上澄みを取り除いた。

【０６２５】
参考実施例２
Ｎ－ＭｅｔＡβ（１－４２）グロブロマー
２つの１．６ｍＬのＥｐｐｉｔｕｂｅ（２ｘ５００μＬ部分）（Ｅｐｐｅｎｄｏｒｆ Ｎｏｒｔｈａｍｅｒｉｃａ、Ｗｅｓｔｂｕｒｙ、ＮＹ）中の、６ｍｇのヒトアミロイドβ（１－４２）ペプチド（Ｂａｃｈｅｍ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｋｉｎｇ ｏｆ Ｐｒｕｓｓｉａ、ＰＡ）または組換えＮ－Ｍｅｔ Ａβ（１－４２）ペプチド＋２Ｘ５００μＬのＨＦＩＰ（ヘキサフルオロイソプロパノール）（６ｍｇ／ｍＬ懸濁液）を、３７℃で１．５時間振盪し、ＳｐｅｅｄＶａｃ中で１．５時間乾かし、次いで各ＤＭＳＯ１３２μ

Ｌの２アリコートにおいて再懸濁し、２０秒間、水浴中で両方とも超音波処理し、プレートアジテーター上で１０分間穏やかに振盪し、－２０℃で保管した。６９０μＬの２０ｍＭのＮａＰＯ$_4$；１４０ｍＭのＮａＣｌ；ｐＨ７．４緩衝液を、１５ｍＬのＦａｌｃｏｎチューブ中に満たし、ＤＭＳＯ中の５ｍＭのアミロイド６０μＬの保存懸濁液（アミロイド４００μＭ）、次いで水中の２％ＳＤＳ７５μｌ（０．２％ＳＤＳ）を添加した。混合物を、３７℃で６－８時間温置し、水２４７５μＬ（水で４倍希釈）を、最終体積３．３ｍＬまで添加した。混合物を、３７℃で１８－２０時間温置し、３０００×Ｇで１０分遠心分離し、最後に上澄みを、３０ｋＤａのＣｅｎｔｒｉｐｒｅｐ（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ Ｉｎｃ、Ｂｉｌｌｅｒｉｃａ、ＣＡ）によって、１ｍＬに濃縮した。試料を、１２－１５ｋＤａのカットオフ透析チューブにおいて、４℃で、ＰＢＳ／４（ＰＢＳ＝リン酸緩衝食塩水、１ｍＭのＫＣｌ、１５４ｍＭのＮａＣｌ、４ｍＭのリン酸、ｐＨ７．４；ＰＢＳ／４＝蒸留水により1から4に希釈したＰＢＳ、最終ｐＨ７．４）中で、一晩透析した。濃縮物を、Ｅｐｐｅｎｄｏｒｆｆチューブ（クリアペレット）中で１０，０００×Ｇで１０分間、遠心分離し、２５０μＬで分注し、－２０℃で凍結した。

【０６２６】

参考実施例３

Ａβ（２０－４２）グロブロマー

参考実施例３のＡβ（１－４２）グロブロマーの調製物１．５９ｍｌを、水中で、３８ｍｌの緩衝液（５０ｍＭのＭＥＳ／ＮａＯＨ、ｐＨ７．４）および２００μｌの１ｍｇ／ｍｌのサーモリシン溶液（Ｒｏｃｈｅ）と混合した。反応混合物を、ＲＴで２０時間撹拌した。次いで水中で、１００ｍＭのＥＤＴＡ溶液８０μｌ、ｐＨ７．４を添加し、混合物を、さらに、１％強度ＳＤＳ溶液４００μｌで、ＳＤＳ含有量０．０１％に調整した。反応混合物を、１５ｍｌの３０ｋＤａのＣｅｎｔｒｉｐｒｅｐチューブにより、およそ１ｍｌに濃縮した。濃縮物を、緩衝液（５０ｍＭのＭＥＳ／ＮａＯＨ、０．０２％ＳＤＳ、ｐＨ７．４）９ｍｌと混合し、再び１ｍｌに濃縮した。濃縮物を、透析チューブ中で１６時間、１ｌの緩衝液（５ｍＭのリン酸ナトリウム、３５ｍＭのＮａＣｌ）に対して６℃で透析した。透析物を、水中で、２％強度ＳＤＳ溶液によりＳＤＳ含有量０．１％に調整した。試料を、１００００ｇで１０分間遠心分離し、Ａβ（２０－４２）グロブロマーの上澄みを取り除いた。

【０６２７】

参考実施例４

Ａβ（１２－４２）グロブロマー

参考実施例３のＡβ（１－４２）グロブロマーの調製物２ｍｌを、水中で、３８ｍｌの緩衝液（５ｍＭのリン酸ナトリウム、３５ｍＭの塩化ナトリウム、ｐＨ７．４）および１５０μｌの１ｍｇ／ｍｌのＧｌｕＣエンドプロテアーゼ（Ｒｏｃｈｅ）と混合した。反応混合物を、ＲＴで６時間撹拌し、さらに水中の１５０μｌの１ｍｇ／ｍｌのＧｌｕＣエンドプロテアーゼ（Ｒｏｃｈｅ）を続いて添加した。反応混合物を、ＲＴでもう１６時間撹拌し、続いて５ＭのＤＩＦＰ溶液８μｌを添加した。反応混合物を、１５ｍｌの３０ｋＤａのＣｅｎｔｒｉｐｒｅｐチューブにより、およそ１ｍｌに濃縮した。濃縮物を、９ｍｌの緩衝液（５ｍＭのリン酸ナトリウム、３５ｍＭの塩化ナトリウム、ｐＨ７．４）と混合し、再び１ｍｌに濃縮した。濃縮物を、透析チューブ中で１６時間、１ｌの緩衝液（５ｍＭのリン酸ナトリウム、３５ｍＭのＮａＣｌ）に対して６℃で透析した。透析物を、水中で、１％強度ＳＤＳ溶液により、ＳＤＳ含有量０．１％に調整した。試料を、１００００ｇで１０分間、遠心分離し、Ａβ（１２－４２）グロブロマーの上澄みを取り除いた。

【０６２８】

参考実施例５

Ａβ（１－４０）モノマー（０．１％ＮａＯＨ）

１ｍｇのＡβ（１－４０）（Ｂａｃｈｅｍ Ｉｎｃ．、ｃａｔ．ｎｏ．Ｈ－１１９４）を、（新鮮に調製した）Ｈ$_2$Ｏ中で、０．１％ＮａＯＨ２３２．６μｌ中で溶解し（＝４．３ｍｇ／ｍｌ＝１ｎｍｏｌ／１μｌ）、すぐに室温で３０秒間振盪し、クリアな溶液を

得た。試料を、さらに使うために－２０℃で保存した。

【０６２９】

参考実施例６

Ａβ（１－４２）モノマー（０．１％ＮａＯＨ）

１ｍｇのＡβ（１－４２）（Ｓａｃｈｅｍ Ｉｎｃ．、ｃａｔ．ｎｏ．Ｈ－１３６８）を、（新鮮に調製した）$Ｈ_{2}Ｏ$中で、０．１％ＮａＯＨ２２２．２μｌ中で溶解し（＝４．５ｍｇ／ｍｌ＝１ｎｍｏｌ／１μｌ）、すぐに室温で３０秒間振盪し、クリアな溶液を得た。試料を、さらに使うために－２０℃で保存した。

【０６３０】

参考実施例７

Ａβ原線維

１ｍｇのＡβ（１－４２）（Ｓａｃｈｅｍ Ｉｎｃ．カタログＮｒ．：Ｈ－１３６８）を、５００μｌアリコート０．１％$ＮＨ_{4}ＯＨ$（Ｅｐｐｅｎｄｏｒｆｆチューブ）中で溶解し、試料を室温で１分間撹拌した。試料を１００００×ｇで５分間遠心分離し、上澄みを取り除いた。新鮮に調整したこのＡβ（１－４２）溶液１００μｌを、３００μｌの２０ｍＭの$ＮａＨ_{2}ＰＯ_{4}$；１４０ｍＭのＮａＣｌ、ｐＨ７．４を用いて中和した。ｐＨを、１％ＨＣｌによりｐＨ７．４に調整した。試料を、３７℃で２４時間温置し、遠心分離した（１００００×ｇで１０分）。上澄みを捨て、原線維ペレットを、４００μｌの２０ｍＭの$ＮａＨ_{2}ＰＯ_{4}$、１４０ｍＭのＮａＣｌ、ｐＨ７．４で２回洗浄し、次いで最後に、１分間のボルテックスによって、４００μｌの２０ｍＭの$ＮａＨ_{2}ＰＯ_{4}$；１４０ｍＭのＮａＣｌ、ｐＨ７．４により再懸濁した。

【０６３１】

参考実施例８

ｓＡＰＰα

Ｓｉｇｍａから供給された（ｃａｔ．ｎｏ．Ｓ９５６４；２０ｍＭの$ＮａＨ_{2}ＰＯ_{4}$；１４０ｍＭのＮａＣｌ；ｐＨ７．４中で２５μｇ）。ｓＡＰＰαを、２０ｍＭの$ＮａＨ_{2}ＰＯ_{4}$、１４０ｍＭのＮａＣｌ、ｐＨ７．４、０．２ｍｇ／ｍｌのＢＳＡを用いて０．１ｍｇ／ｍｌ（＝１μｍｏｌ／μｌ）に希釈した。

【０６３２】

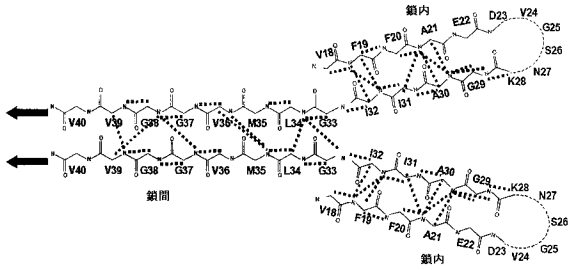
参考実施例９

ポリクローナル抗血清５５９９

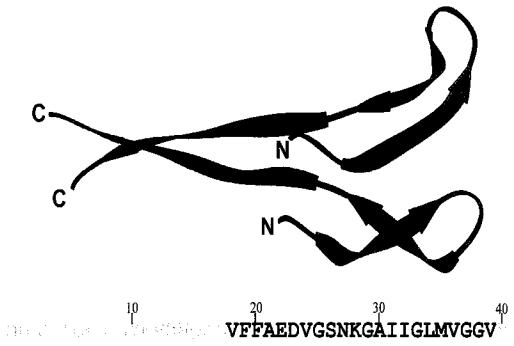
ポリクローナル抗血清５５９９を、ＷＯ２００４／０６７５６１、実施例２５ａ、血清ａ１　５６００に記載のポリクローナル抗血清５６００のようにして入手し、例外として、５６００ＬＰＨコンジュゲートしたＡβ（２０－４２）グロブロマーの代わりにＡβ（２０－４２）グロブロマーを使用した。

【図１－１】

FIG. 1

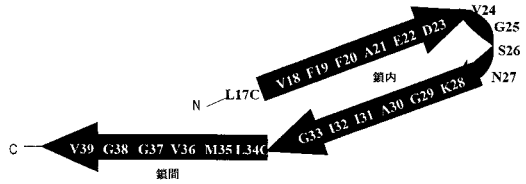


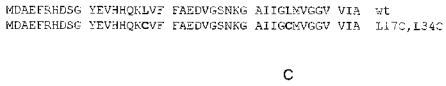
A



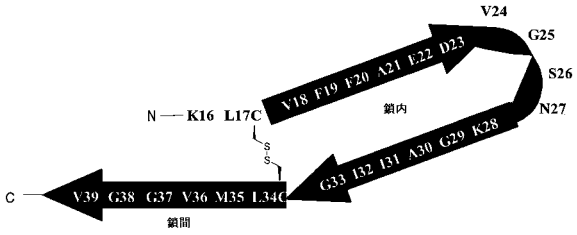
B

【図１－２】





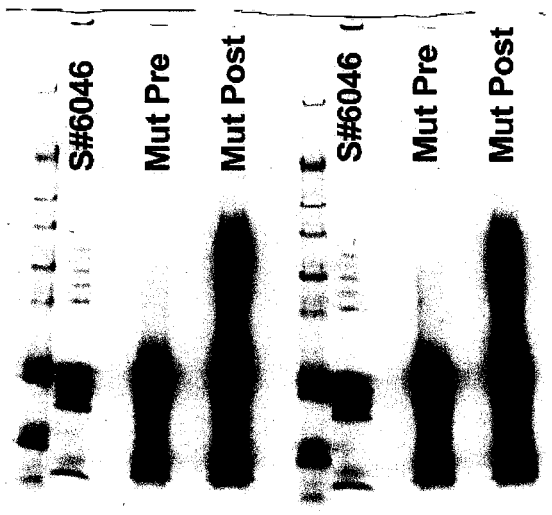
C



D

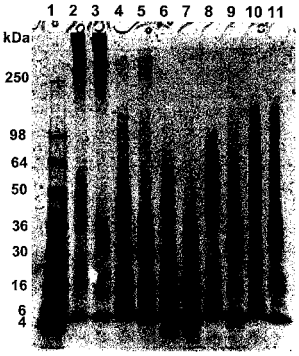
【図２－１】

FIG. 2

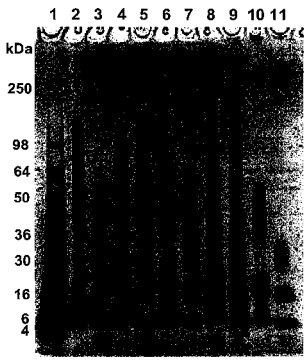


A

【図２－２】

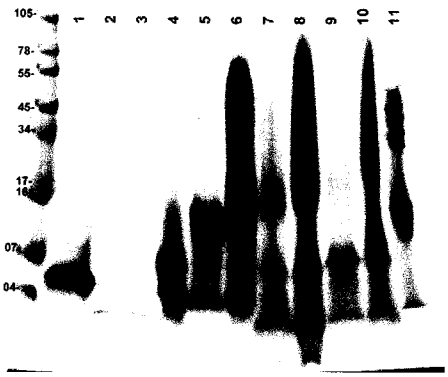


B



C

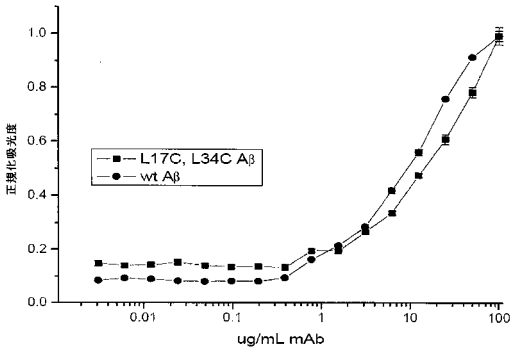
【図２－３】



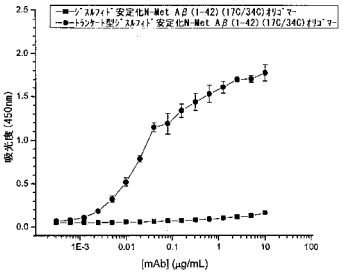
D

【図３－１】

FIG. 3

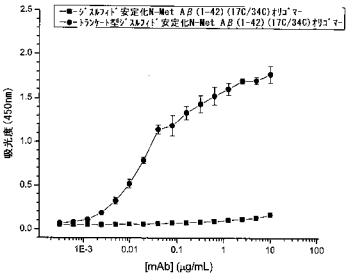


A

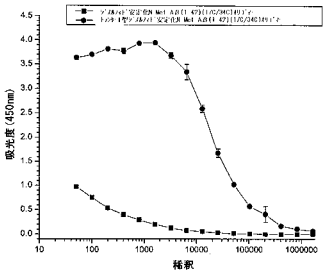


B

【図３－２】

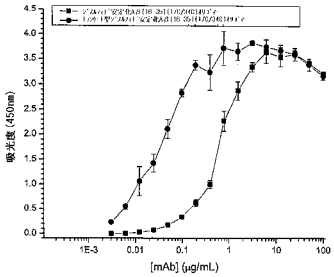


C

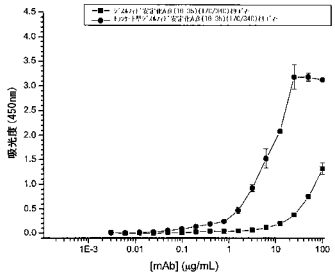


D

【図３－３】

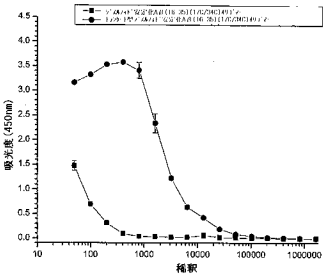


E

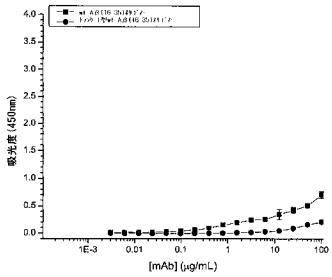


F

【図３－４】

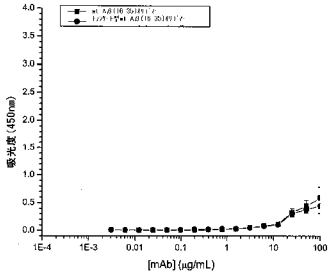


G



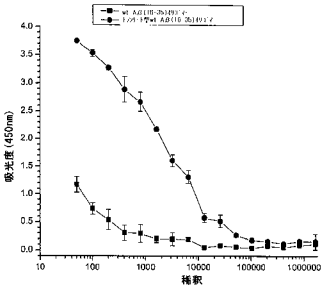
H

【図３－５】

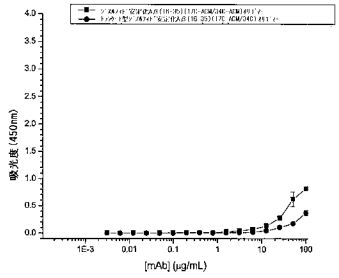


I

【図３－６】

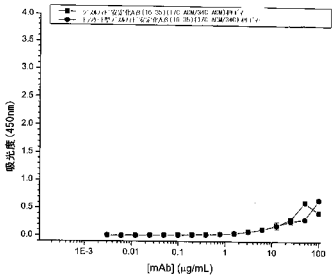


J

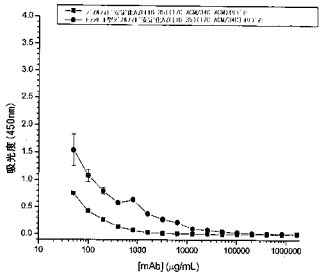


K

【図３－７】

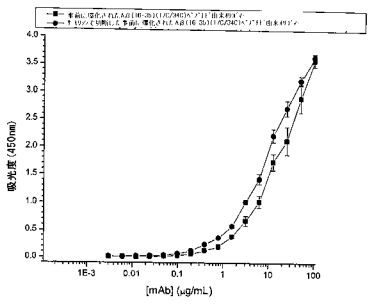


L

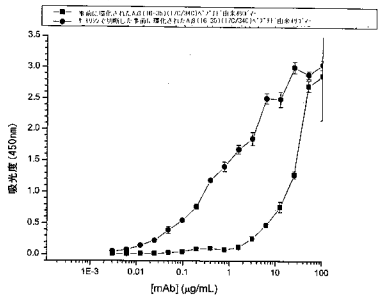


M

【図３－８】

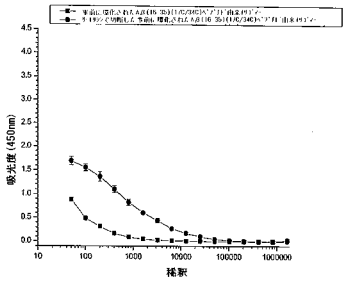


N

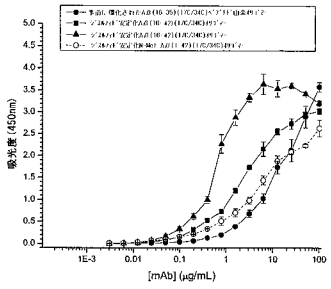


O

【図３－９】

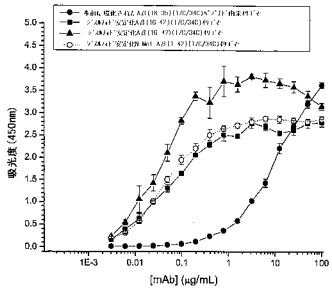


P

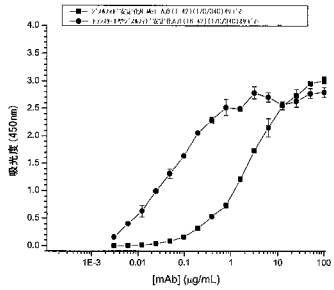


Q

【図３－１０】

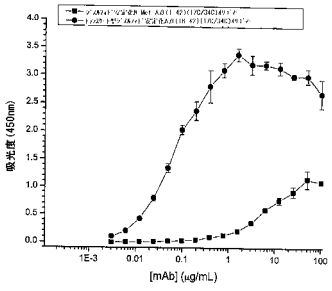


R

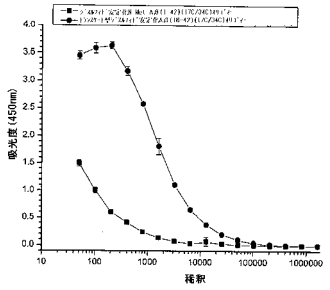


S

【図３－１１】



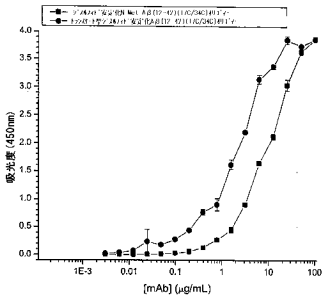
T



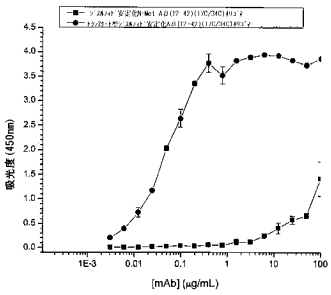
U

#2593A
5599
+/- Trunc

【図３－１２】

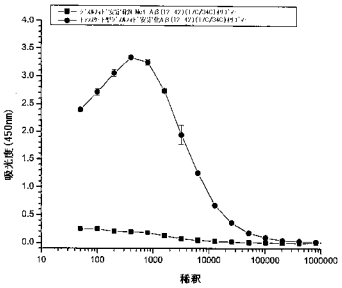


V

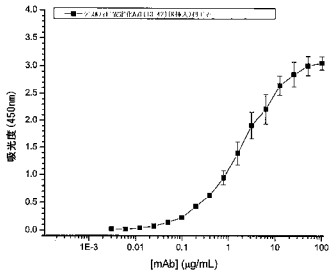


W

【図３－１３】

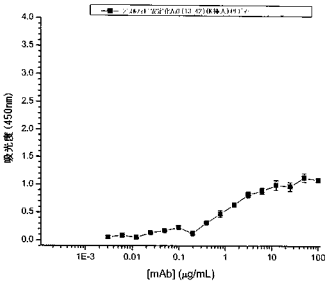


X

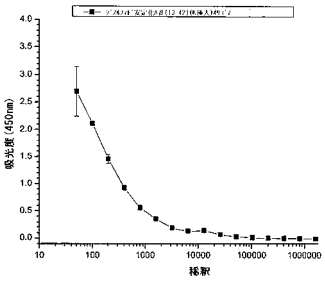


Y

【図３－１４】



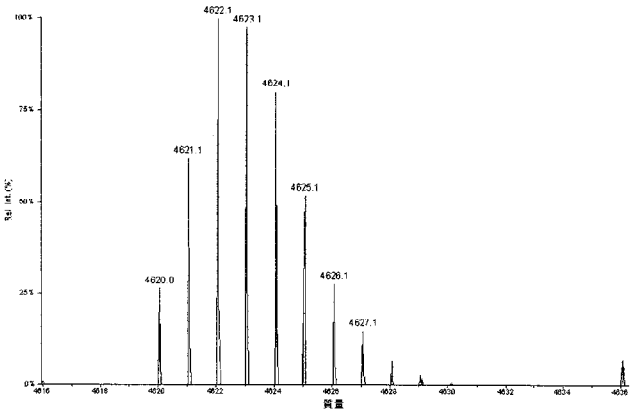
Z



AA

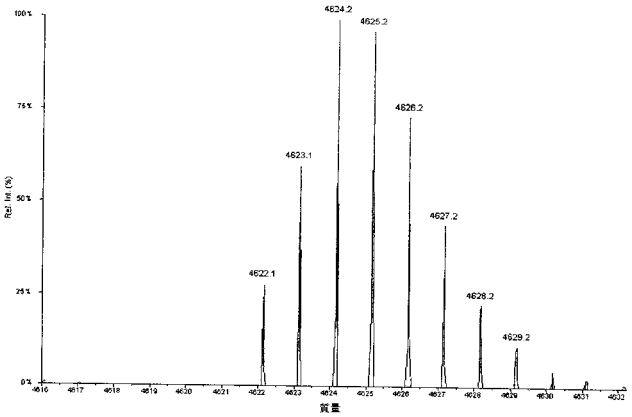
【図４－１】

FIG. 4



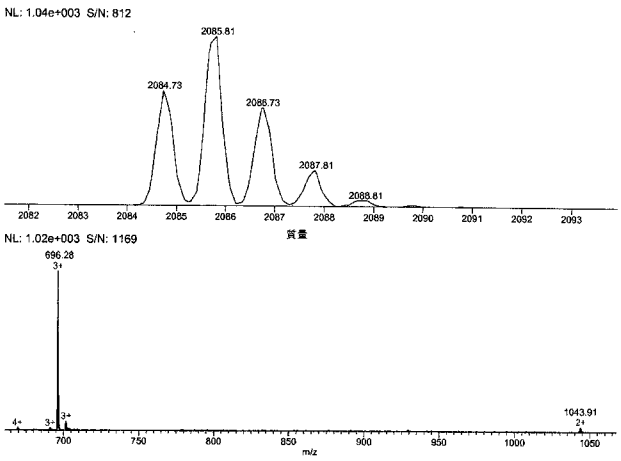
A

【図４－２】



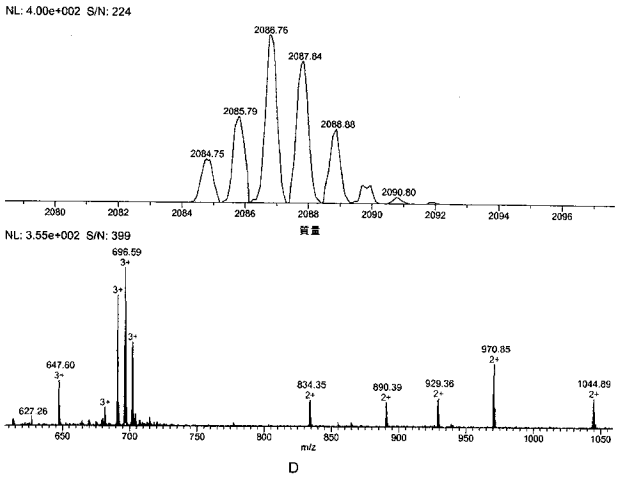
B

【図４－３】



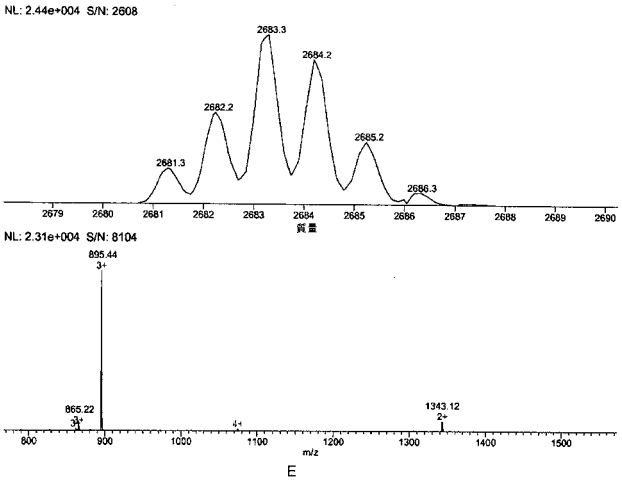
C

【図４－４】



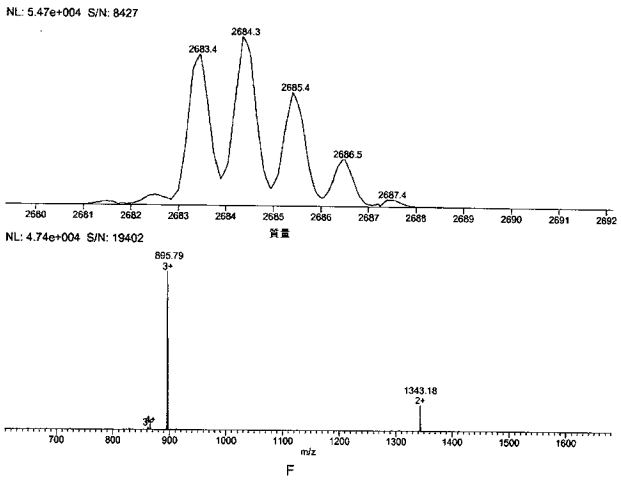
D

【図４－５】



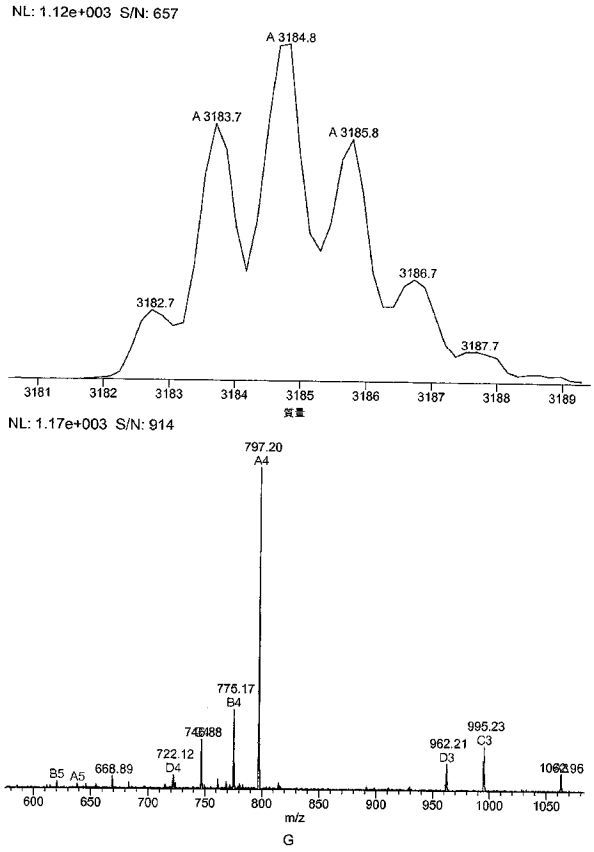
E

【図４－６】



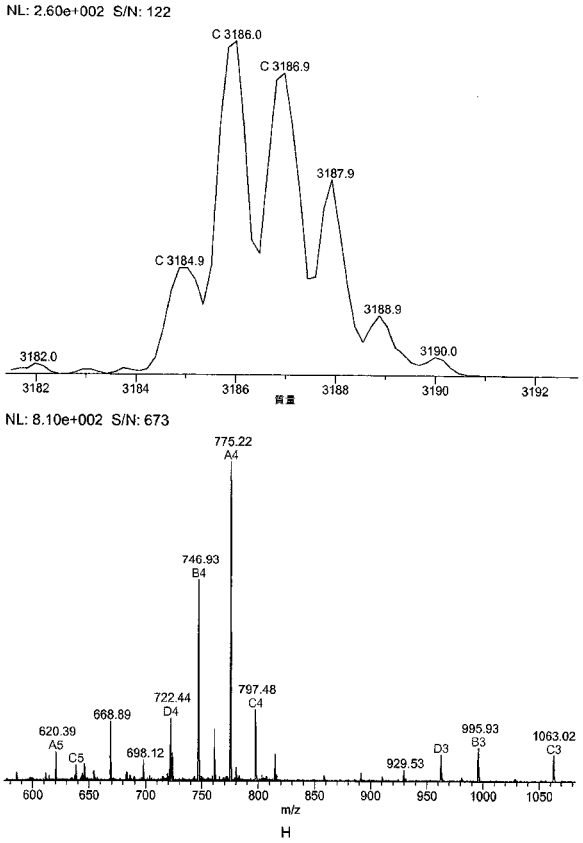
F

【図４－７】



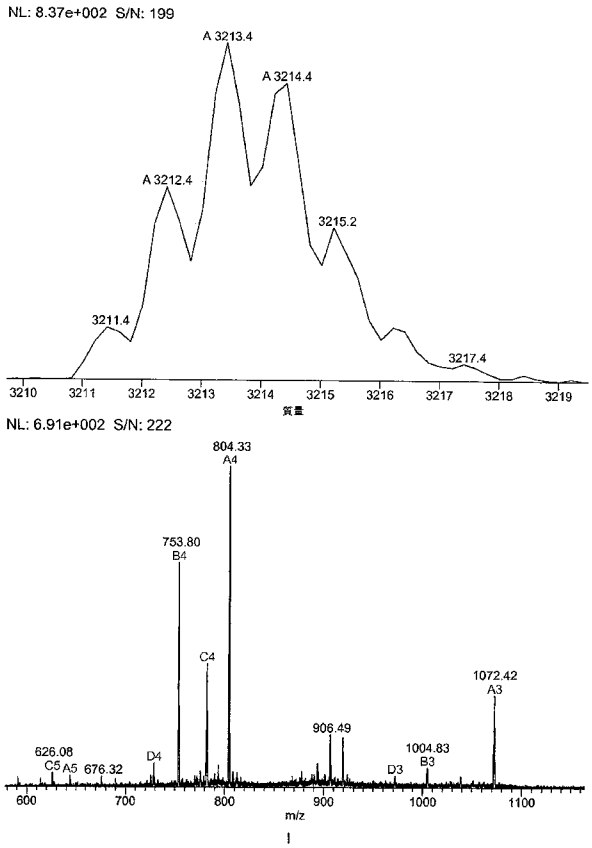
G

【図４－８】



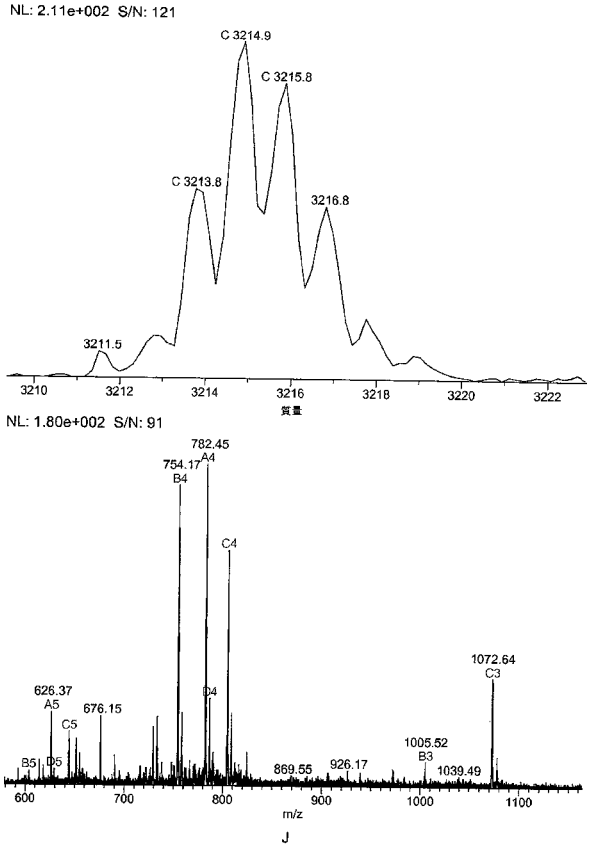
H

【図４－９】



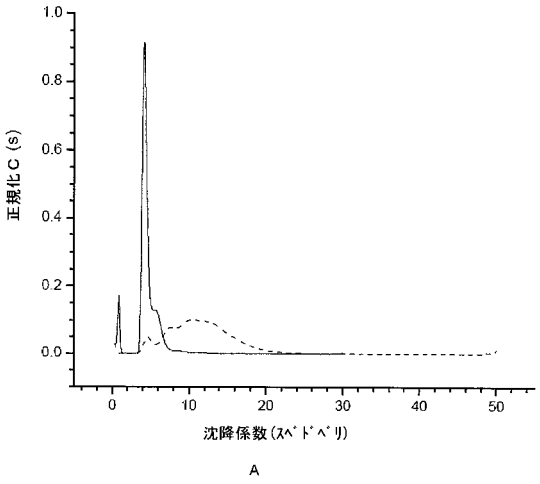
I

【図４－１０】



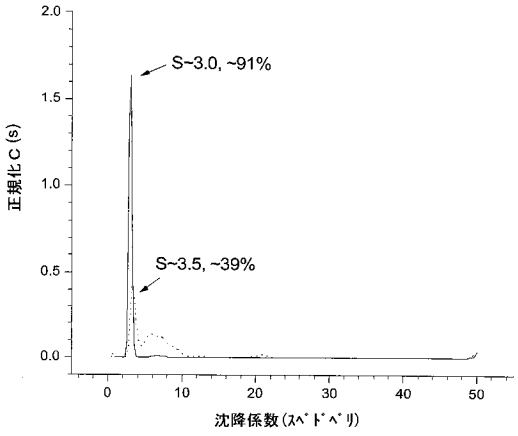
【図５－１】

FIG. 5



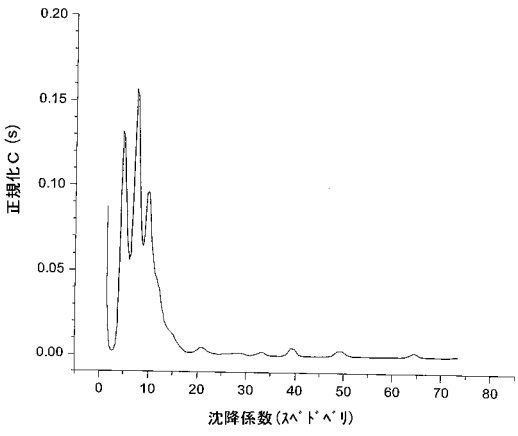
A

【図５－２】



B

【図５－３】



C

【図６】

FIG. 6

(14C, 37C) N-Met-Aβ(1-42)	M DAEFR HDSGY EVHCQ KLVFF AEDVG SNKGA IIGLM VGGVV IA	4657	nd	nd
(15C, 36C) N-Met-Aβ(1-42)	M DAEFR HDSGY EVHNC KLVFF AEDVG SNKGA IIGLM CGGVV IA	4624	4626 Aβ(0-42)	1011 Aβ(4-11) 2223 Aβ(20-42) 4136 Aβ(4-42)
(16C, 35C) N-Met-Aβ(1-42)	M DAEFR HDSGY EVHNQ CLVFF AEDVG SNKGA IIGLC VGGVV IA	4592	4595 Aβ(0-42)	3182 Aβ(20-42)
(17C, 34C) N-Met-Aβ(1-42)	M DAEFR HDSGY EVHNQ KCVFF AEDVG SNKGA IIGCM VGGVV IA	4625	4625 Aβ(0-42)	1011 Aβ(4-11) 2296 Aβ(23-42) 4179 Aβ(4-42)
(18C, 33C) N-Met-Aβ(1-42)	M DAEFR HDSGY EVHHQ KLCFF AEDVG SNKGA IICLM VGGVV IA	4695	4696 Aβ(0-42)	1011 Aβ(4-11) 2265 Aβ(20-42) 4248 Aβ(4-42)
(19C, 32C) N-Met-Aβ(1-42)	M DAEFR HDSGY EVSHQ KLVCF AEDVG SNKGA ICGLM VGGVV IA	4691	4693 Aβ(0-42)	1011 Aβ(4-11) 2209 Aβ(20-42) 3163 Aβ(13-42) 4146 Aβ(4-42)
(20C, 31C) N-Met-Aβ(1-42)	M DAEFR HDSGY EVHKQ KLVFC AEDVG SNKGA CIGLM VGGVV IA	4691	4691 Aβ(0-42)	1011 Aβ(4-11) 2222 Aβ(17-42) 3152 Aβ(12-42) 4144 Aβ(4-42)
(21C, 30C) N-Met-Aβ(1-42)	M DAEFR HDSGY EVHHQ KLVFF CEDVG SNKGC IIGLM VGGVV IA	4709	nd	1011 Aβ(4-11) 2281 Aβ(20-42)
(22C, 29C) N-Met-Aβ(1-42)	M DAEFR HDSGY EVHHQ KLVFF ACDVG SNKCA IIGLM VGGVV IA	4665	4666 Aβ(0-42)	1011 Aβ(4-11) 2237 Aβ(20-42) 3227 Aβ(12-42) 4219 Aβ(4-42)
Aβ(1-42)	DAEFR HDSGY EVHHQ KLVFF AEDVG SNKGA IIGLM VGGVV IA	4514	4517 Aβ(1-42)	4517 Aβ(1-42) 1011 Aβ(4-11) 2230 Aβ(20-42) 4203 Aβ(4-42)
	0 5 10 15 20 25 30 35 40 42			

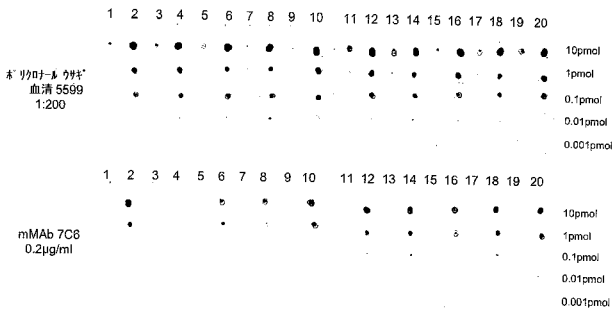
【図７】

FIG. 7

名称	ペプチド	天然体 [g/mol]	Sulfo-SMCC架橋 [g/mol]			DBT/ヨードアセトアミド架橋 [g/mol]		
			0 x CM	1 x CM	2 x CM	0 x CM	1 x CM	2 x CM
(14C, 37C) N-Met-Aβ(1-42) オリゴマー	Aß 5-17	nd	nd	nd	nd	nd	1665	nd
	Aß 5-18	nd	nd	nd	nd	nd	1779	nd
	Aß 5-20	nd	nd	2025	nd	nd	2025	nd
	Aß 20-42	2267	nd	2324	nd	nd	2324	nd
(15C, 36C) N-Met-Aβ(1-42) オリゴマー	Aß 20-42	2224	nd	2281	nd	nd	2281	nd
(16C, 35C) N-Met-Aβ(1-42) オリゴマー	Aß 20-42	nd	nd	2249	nd	nd	2249	nd
(17C, 34C) N-Met-Aβ(1-42) オリゴマー	Aß 20-42	2209	nd	2267	nd	nd	2267	nd
	Aß 12-42	3187	3187	nd	nd	nd	nd	3304
(18C, 33C) N-Met-Aβ(1-42) オリゴマー	Aß 20-42	2265	nd	2323	nd	nd	2323	nd
	Aß 4-42	4248	4250	nd	nd	nd	nd	nd
(19C, 32C) N-Met-Aβ(1-42) オリゴマー	Aß 20-42	2209	nd	2266	nd	nd	2266	nd
	Aß 17-42	2523	2523	nd	nd	nd	nd	2639
	Aß 12-42	3153	3153	nd	nd	nd	nd	3270
	Aß 4-42	4146	4146	nd	nd	nd	nd	4263
(20C, 31C) N-Met-Aβ(1-42) オリゴマー	Aß 20-42	2163	2163	nd	nd	nd	nd	2279
	Aß 19-42	2311	2311	nd	nd	2311	nd	2426
	Aß 17-42	2523	2523	nd	nd	2523	nd	2639
	Aß 12-42	3152	3152	nd	nd	3152	nd	3269
	Aß 4-42	4145	4145	nd	nd	4145	nd	4261
(21C, 30C) N-Met-Aβ(1-42) オリゴマー	Aß 20-42	2282	2282	nd	nd	2282	nd	2398
	Aß 12-42	3153	3153	nd	nd	nd	nd	3270
(22C, 29C) N-Met-Aβ(1-42) オリゴマー	Aß 20-42	2236	2236	nd	nd	2236	nd	2354
Aβ(1-42) 単量体	Aß 20-42	2220	2220	nd	nd	2220	nd	nd

【図８】

FIG. 8



【図９】

FIG. 9

名称	x CM	非アルキル化 [g/mol]	非アルキル化 シグナル強度	ヨードアセトアミド アルキル化 [g/mol]	ヨードアセトアミド アルキル化 シグナル強度	DDT/ヨードアセトアミド アルキル化 [g/mol]	DDT/ヨードアセトアミド アルキル化 シグナル強度
(17C,34C) Aβ(16-35) oligomer	0	2087	1911	2087	1201	2087	601
	1	nd	nd	2144	321	2144	257
	2	nd	nd	2203	36	2203	729

【図１０】

FIG. 10

名称	免疫沈降	[g/mol]	シグナル強度
(17C,34C) Aβ(16-35) オリゴマー	10F11	2087	659
(17C,34C) Aβ(16-35) オリゴマー	7C6	2087	659
(17C,34C) Aβ(16-35) オリゴマー	IgG2a	2087	150
(17C,34C) Aβ(16-35) オリゴマー	IgG2b	2087	210

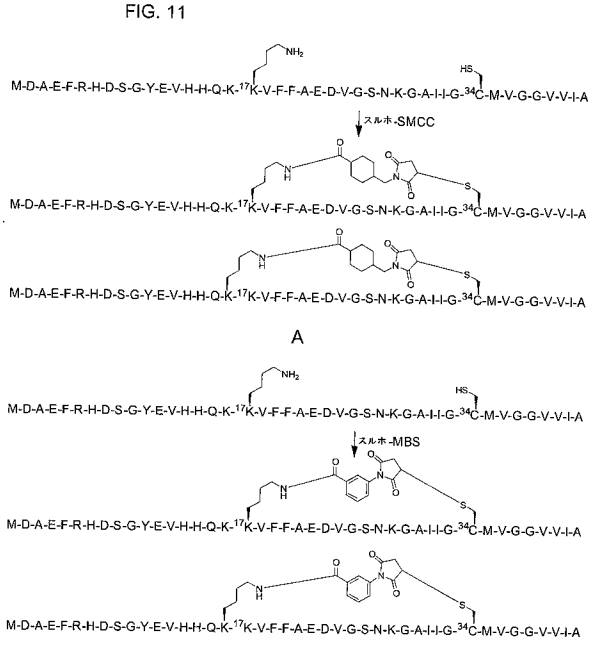
A

名称	免疫沈降	x CM	[g/mol]	シグナル強度
(17C,34C) Aβ(16-35) オリゴマー	10F11	0	2087	62
		1	2143	6
		2	nd	nd
(17C,34C) Aβ(16-35) オリゴマー	7C6	0	2087	58
		1	2144	4
		2	nd	nd
(17C,34C) Aβ(16-35) オリゴマー	IgG2a	0	2087	22
		1	nd	nd
		2	nd	nd
(17C,34C) Aβ(16-35) オリゴマー	IgG2b	0	2087	8
		1	nd	nd
		2	nd	nd

B

【図１１－１】

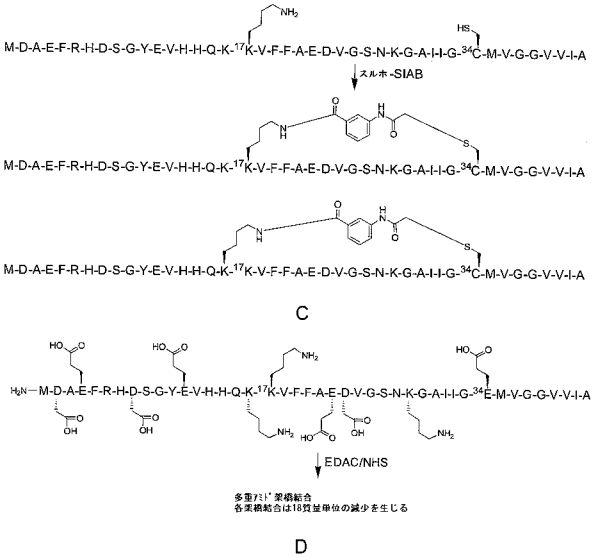
FIG. 11



A

B

【図１１－２】

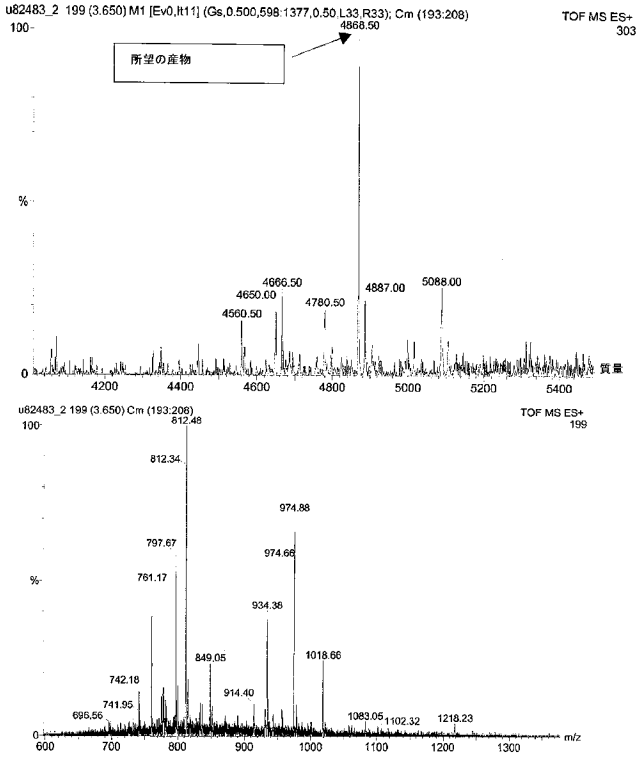


C

D

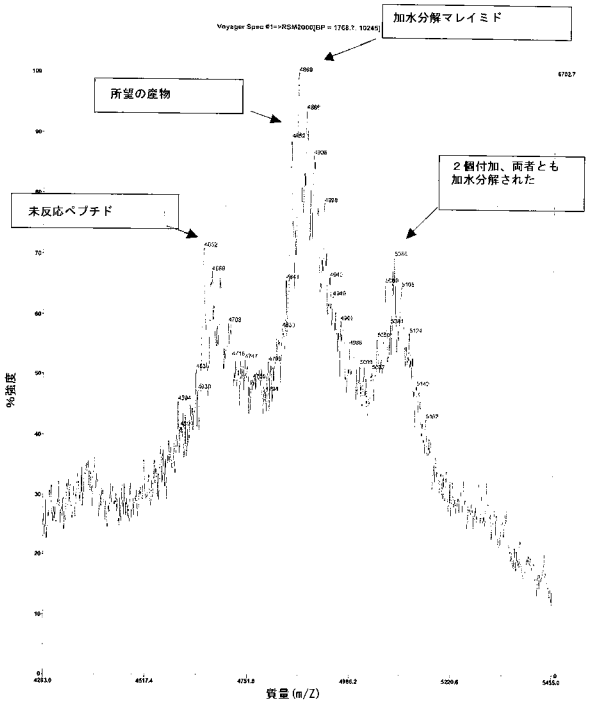
【図１２－１】

FIG. 12



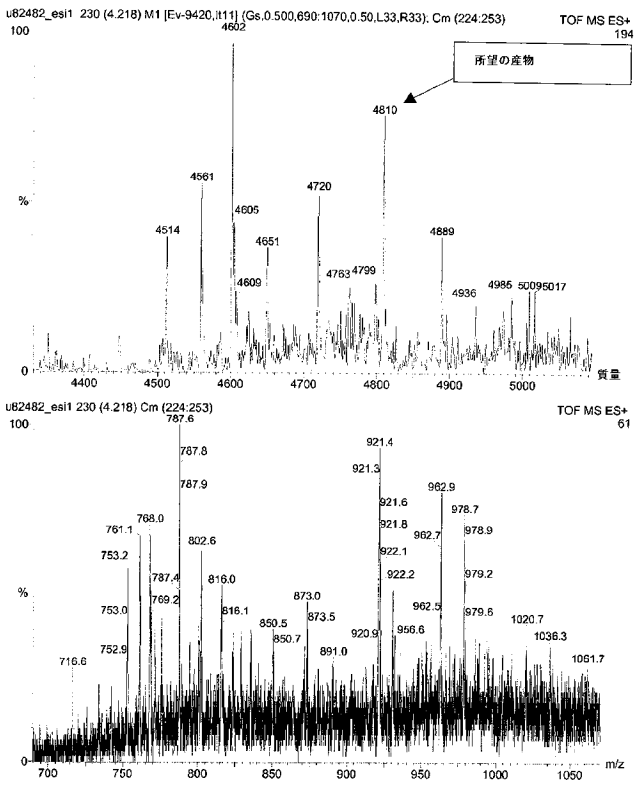
A

【図１２－２】



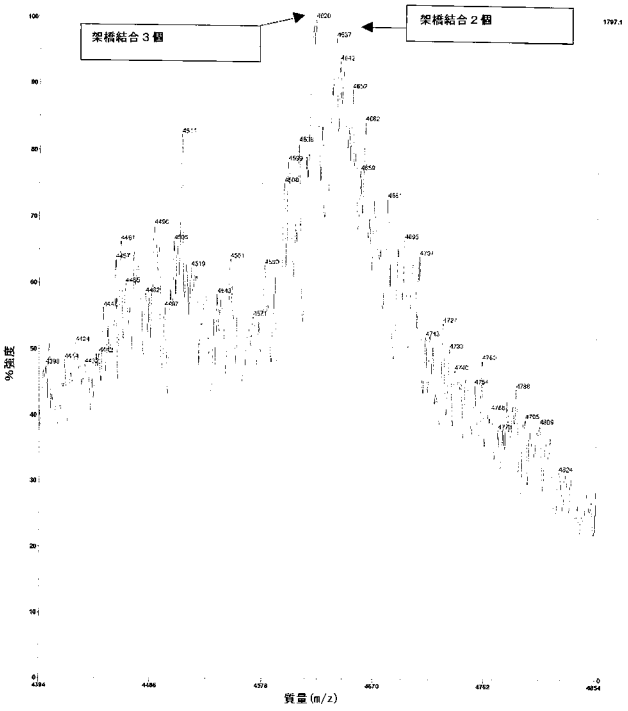
B

【図１２－３】



C

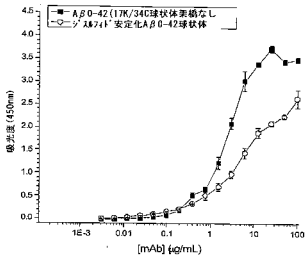
【図１２－４】

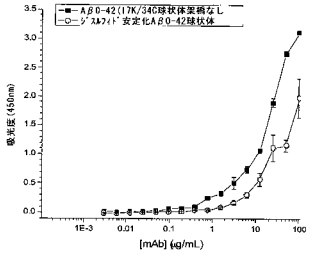


D

【図１３－１】

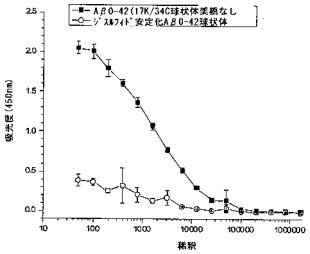
FIG. 13





B

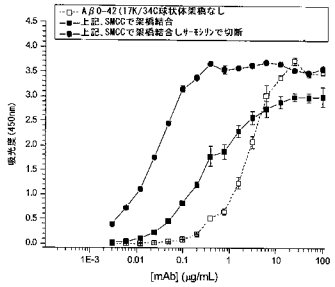
【図１３－２】



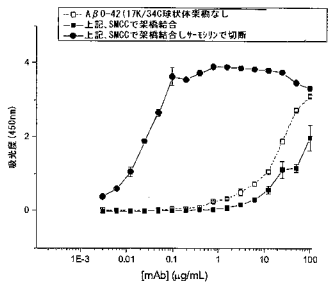
C

【図１４－１】

FIG. 14

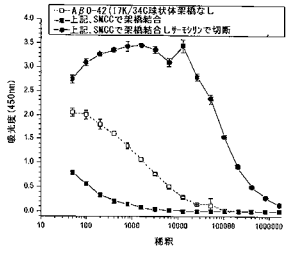


A



B

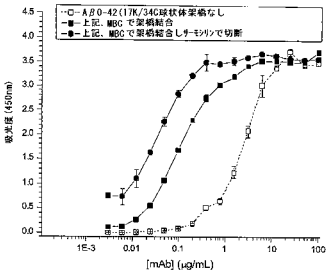
【図１４－２】



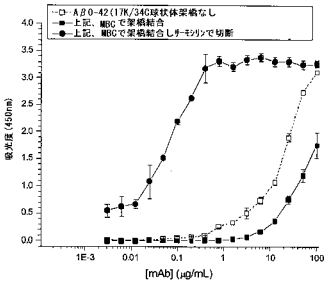
C

【図１５－１】

FIG. 15

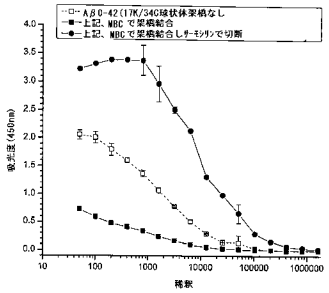


A



B

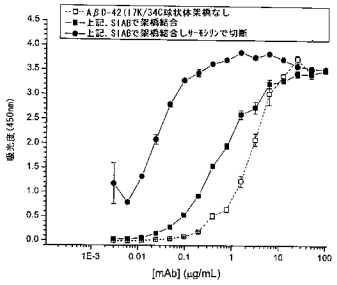
【図１５－２】



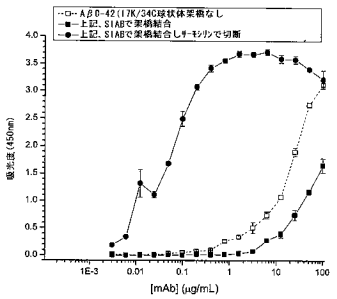
C

【図１６－１】

FIG. 16

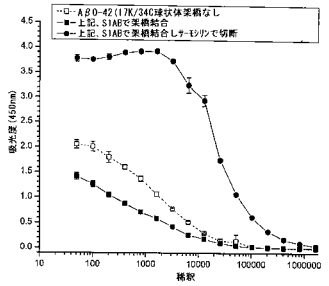


A



B

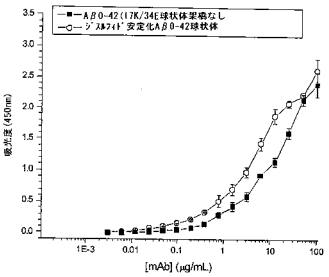
【図１６－２】



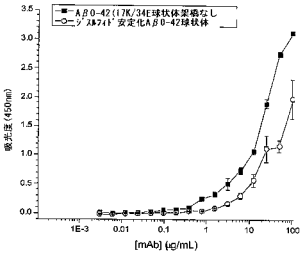
C

【図１７－１】

FIG. 17

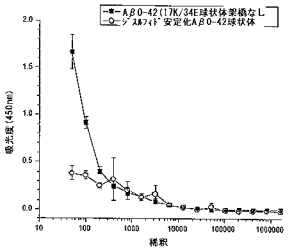


A



B

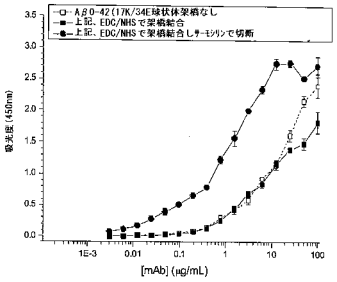
【図１７－２】



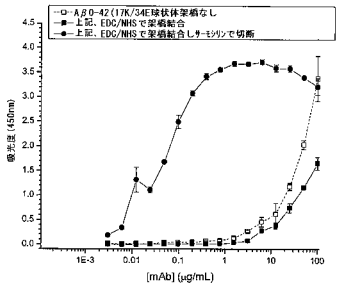
C

【図１８－１】

FIG. 18

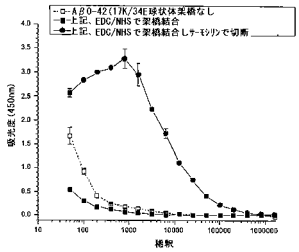


A



B

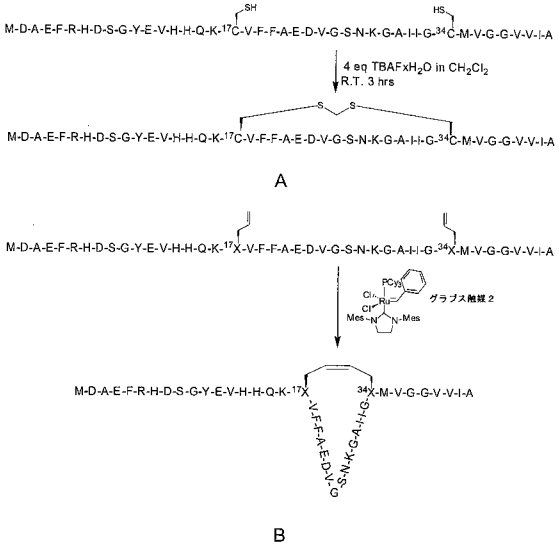
【図１８－２】



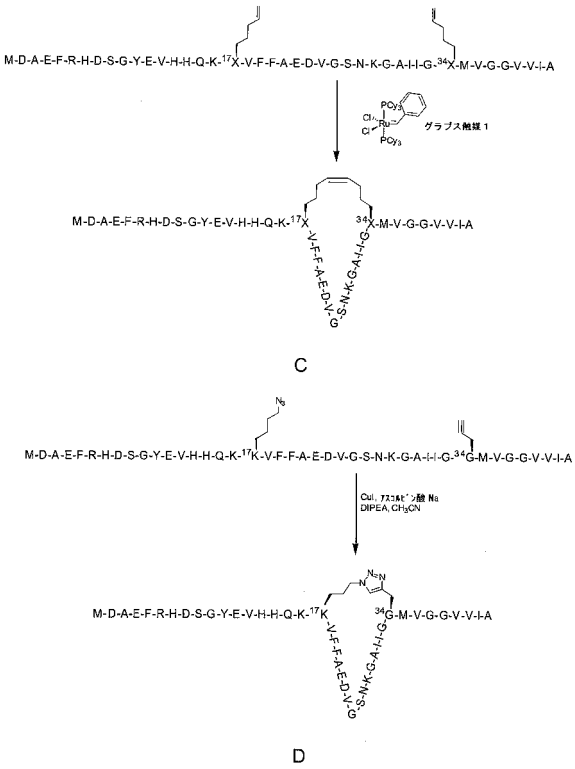
C

【図１９－１】

FIG. 19



【図１９－２】



【配列表】

2011529084000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2009/051721

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K 14/47(2006.01)i, C07K 16/18(2006.01)i, A61K 38/17(2006.01)i, G01N 33/68(2006.01)i

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)
IPC7 C07K 14/435, A61K 48/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
N.A.

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
eKIPASS, WPI, USPTO, PAJ, PubMed, INSPECT "cyclic, globular, Amyloid β-Peptide, antiparallel, secondary structure, etc."

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	Liping Yu, et al., (Published online: 13 Feb 2009) "Structural Characterization of a Soluble Amyloid β-Peptide Oligomer" Biochemistry, vol.48(9):1870-1877, DOI: 10.1021/bi802046n - see the whole document [cited in the application]	1-3
X	US 2004-0116337 A1 (Kapurniotu, A., et al., DE) 17 Jun 2004 - see [0014] ~ [0016]; [0021] ~ [0024]; Fig.3; claims 1-4 - [cited in the application]	1-3
X	US 2008-0107649 A1 (Zurbriggen, R., et al., CH) 08 May 2008 - see [0009]; [0015] ~ [0020]; [0024]; claims	1-3
A	US 2007-0213512 A1 (Krafft, GA., et al., US) 13 Sep 2007 - see abstract; Sequence listing on pages 23 ~ 43	1-3
A	US 2002-0132758 A1 (Shell, JW., et al., US) 19 Sep 2002 - see the whole document	1-3

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

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

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
15 MARCH 2010 (15.03.2010)	**16 MARCH 2010 (16.03.2010)**

Name and mailing address of the ISA/KR	Authorized officer
Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon, 139 Seonsa-ro, Seo-gu, Daejeon 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140	SHIN, Weon Hye Telephone No. 82-42-481-5591

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2009/051721

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2007-0098721 A1 (Hillen, H., et al., DE) 03 May 2007 - see the whole document	1-3
A	WO 2006-094724 A2 (Abbott GMBH & CO. KG, DE) 14 Sep 2006 - see the whole document	1-3

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/US2009/051721

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2004-0116337 A1	17.06.2004	AT 307143 T	15.11.2005
		AU 2002-229677 A8	24.07.2002
		CA 2433687 A1	18.07.2002
		DE 10101430 A1	01.08.2002
		DE 10101430 B4	02.10.2008
		DK 1353948 T3	27.02.2006
		EP 1353948 A2	22.10.2003
		EP 1353948 B1	19.10.2005
		ES 2250509 T3	16.04.2006
		JP 2004-526693 T	02.09.2004
		JP 2004-526693 A	02.09.2004
		US 07342091 B2	11.03.2008
		US 2008-0146508 A1	19.06.2008
		WO 2002-055552 A2	18.07.2002
US 2008-0107649 A1	08.05.2008	AU 2005-321495 A1	06.07.2006
		CA 2592690 A1	06.07.2006
		EP 1831251 A1	12.09.2007
		EP 1676859 A1	05.07.2006
		WO 2006-069718 A1	06.07.2006
US 2007-0213512 A1	13.09.2007	AU 2005-244013 A1	24.11.2005
		CA 2566619 A1	24.11.2005
		EP 1755644 A2	28.02.2007
		JP 2008-500286 A	10.01.2008
		US 2008-0306074 A1	11.12.2008
		US 2008-0176252 A1	24.07.2008
		WO 2005-110056 A2	24.11.2005
		WO 2005-110056 A3	24.11.2005
US 2002-0132758 A1	19.09.2002	AU 2002-247017 A8	30.07.2002
		CA 2434850 A1	25.07.2002
		EP 1354209 A2	22.10.2003
		WO 0205-7796A3	27.03.2003
		WO 2002-057796 A2	25.07.2002
		WO 2002-057796 A3	25.07.2002

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/US2009/051721

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2007-0098721 A1	03.05.2007	AU 2004-207075 A1	12.08.2004
		PI 0407084 A	24.01.2006
		CA 2514582 A1	12.08.2004
		CN 1768076 A	03.05.2006
		DE 10303974 A1	05.08.2004
		EP 1594891 A1	16.11.2005
		JP 2007-524574 T	30.08.2007
		JP 2007-524574 A	30.08.2007
		KR 10-2005-0103483 A	31.10.2005
		KR 10-2009-0019911 A	25.02.2009
		PA 05007964 A	20.09.2005
		NZ 541453 A	29.02.2008
		WO 2004-067561 A1	12.08.2004
WO 2006-094724 A2	14.09.2006	AU 2006-320392 A1	07.06.2007
		AU 2006-319358 A1	07.06.2007
		AU 2006-222193 A1	14.09.2006
		CA 2599792 A1	14.09.2006
		CA 2637472 A1	07.06.2007
		CA 2631195 A1	07.06.2007
		CN 101506236 A	12.08.2009
		CN 101528770 A	09.09.2009
		CN 101365717 A	11.02.2009
		CN 101432302 A	13.05.2009
		EP 1963363 A2	03.09.2008
		EP 1954718 A2	13.08.2008
		EP 1861422 A2	05.12.2007
		EP 1976877 A2	08.10.2008
		JP 2008-531635 A	14.08.2008
		JP 2009-517057 A	30.04.2009
		JP 2009-518010 A	07.05.2009
		JP 2009-519012 A	14.05.2009
		KR 10-2008-0021585 A	07.03.2008
		KR 10-2008-0090407 A	08.10.2008
		KR 10-2008-0090408 A	08.10.2008
		MX 2007010687 A	28.01.2008
		TW 200700432 A	01.01.2007
		US 2009-0035295 A1	05.02.2009
		WO 2007-064917 A2	07.06.2007
		WO 2007-064972 A2	07.06.2007
		WO 2007-062852 A2	07.06.2007

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2009/051721

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.: 7,11,15
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:

The subject matters of claims 7,11,15 are so unclear and indefinite that no meaningful search could be made because theses claims are in reference to the multiple dependent claims 6,10,13 which are not drafted in accordance with the second and the third sentence of Rule 6.4(a).

3. ☒ Claims Nos.: 4-6,8-10,12-14,16-20
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:

1. ☐ As all required addtional 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 an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

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.:

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.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード（参考）
G01N 33/53 (2006.01)	G01N 33/53	D

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(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,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,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,PE,PG,PH,PL,PT,RO,RS,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 バルクホルン，シユテフアン
ドイツ国、６８１６１・マンハイム、ベルリナー・シユトラーセ・３０
(72)発明者 ヒレン，ハインツ
ドイツ国、６７４５４・ハスロツホ、マツクスープランクーシユトラーセ・１７
(72)発明者 エダルジ，ロヒントン
アメリカ合衆国、イリノイ・６００８３、ワツズワース、ピー・オー・ボツクス・１５３
(72)発明者 バレツト，レオ
アメリカ合衆国、イリノイ・６００４６、レイク・ビラ、ピー・オー・ボツクス・９８１
(72)発明者 リチヤードソン，ポール
アメリカ合衆国、イリノイ・６００４８、リバテイビル、バージニア・１７２４
(72)発明者 ユイ，リーピン
アメリカ合衆国、アイオワ・５２２４５、アイオワ・シテイ、エバーサル・レイン・７６
(72)発明者 オレイニチヤク，エドワード
アメリカ合衆国、イリノイ・６００３０、グレイズレイク、ローリー・コート・５０６
(72)発明者 ハーラン，ジヨン
アメリカ合衆国、イリノイ・６００４７、レイク・チユーリツヒ、ポーツリー・レイン・６８９
(72)発明者 ホルツマン，トーマス
アメリカ合衆国、イリノイ・６００４８、リバテイビル、タマラツク・レイン・１１１２

Ｆターム(参考) 4C084 AA01 AA02 AA07 BA01 BA08 BA19 CA53 CA59 NA14 ZA162
4C085 AA03 BB11 CC31 CC32 DD62 EE01 GG01
4H045 AA10 AA20 AA30 BA19 CA45 EA31 EA50 FA20

【要約の続き】
するためおよびアミロイドーシスを診断するための使用などの作用物質の使用も記載している。

专利名称(译)	制备淀粉状蛋白β肽类似物，其低聚物，其类似物或低聚物的方法和含有所述类似物或低聚物的组合物及其用途		
公开(公告)号	JP2011529084A	公开(公告)日	2011-12-01
申请号	JP2011520233	申请日	2009-07-24
[标]申请(专利权)人(译)	雅培公司 基于EM的雅培门硬UND公司汽车游戏		
申请(专利权)人(译)	雅培制药 雅培GMBH UND有限公司卡格		
[标]发明人	バルクホルンシユテフアン ヒレンハインツ エダルジロヒントン バレツトレオ リチヤードソンポール ユイリーピン オレイニチヤクエドワード ハーランジヨン ホルツマントーマス		
发明人	バルクホルン,シユテフアン ヒレン,ハインツ エダルジ,ロヒントン バレツト,レオ リチヤードソン,ポール ユイ,リーピン オレイニチヤク,エドワード ハーラン,ジヨン ホルツマン,トーマス		
IPC分类号	C07K14/47 C40B40/10 A61K38/00 A61P25/28 A61K39/00 G01N33/53		
CPC分类号	A61K38/00 A61P25/28 C07K14/4711 C07K16/18 C07K2319/00 G01N2333/4709 G01N2500/04 G01N2800/2821		
FI分类号	C07K14/47.ZNA C40B40/10 A61K37/02 A61P25/28 A61K39/00.H G01N33/53.D		
F-TERM分类号	4C084/AA01 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/BA01 4C084/BA08 4C084/BA19 4C084/CA53 4C084/CA59 4C084/NA14 4C084/ZA162 4C085/AA03 4C085/BB11 4C085/CC31 4C085/CC32 4C085/DD62 4C085/EE01 4C085/GG01 4H045/AA10 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA19 4H045/CA45 4H045/EA31 4H045/EA50 4H045/FA20		
优先权	61/083589 2008-07-25 US		
其他公开文献	JP2011529084A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

淀粉样蛋白本发明涉及淀粉样蛋白。 包含氨基酸序列或其拟肽的肽类似物，其中序列（i）形成环，（ii）与天然A&bgr的氨基酸序列具有至少66％的同一性；（iii）包含至少6个连续的氨基酸残基，和（iv）具有至少2个彼此共价连接的非连续氨基酸残基，寡聚物包含多个所述淀粉状蛋白。 肽类似物，淀粉样蛋白的制备方法 肽类似物或寡聚物，包含淀粉样蛋白的组合物； 肽类似物或寡聚物，以及淀粉样蛋白的用途 肽类似物或寡聚物，例如其用于治疗或预防淀粉样变性病（例如通过主动免疫），诊断淀粉样变性病以及提供能够与淀粉样蛋白结合的试剂的用途。 肽类似物或寡聚物。 本发明还描述了能够与淀粉样蛋白结合的试剂。 肽类似物或寡

聚物，例如 抗体，包含所述试剂的组合物以及所述试剂的用途，例如其用于治疗或预防淀粉样变性病（例如通过被动免疫）和用于诊断淀粉样变性病的用途。