(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2014-502141
(P2014-502141A)
(43)公表日　平成26年1月30日(2014.1.30)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	ZNAA	4B024
C07K 16/18	(2006.01)	C07K	16/18		4B064
C07K 14/47	(2006.01)	C07K	14/47		4B065
C12N 5/10	(2006.01)	C12N	5/00	102	4C084
C12P 21/02	(2006.01)	C12P	21/02	C	4C085

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 148 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2013-532226 (P2013-532226)
(86)(22)出願日　平成23年10月7日 (2011.10.7)
(85)翻訳文提出日　平成25年6月7日 (2013.6.7)
(86)国際出願番号　PCT/EP2011/067604
(87)国際公開番号　WO2012/045882
(87)国際公開日　平成24年4月12日 (2012.4.12)
(31)優先権主張番号　11174248.2
(32)優先日　平成23年7月15日 (2011.7.15)
(33)優先権主張国　欧州特許庁 (EP)
(31)優先権主張番号　10186810.7
(32)優先日　平成22年10月7日 (2010.10.7)
(33)優先権主張国　欧州特許庁 (EP)

(71)出願人　513022966
エーシー　イミューン　エス．エー．
スイス国　ツェーハー－１０１５　ローザンヌ，　ピーエスイー　ビルディング　ビー－イーピーエフエル
(71)出願人　513086463
カトリーケ　ユニヴェルシテート　ルーヴェン
ベルギー国　ベー－３０００　ルーヴェン，　ボックス　５１０５，　ワーイストラート　６，　カーユー　ルーヴェン　リサーチ　アンド　ディベロップメント
(74)代理人　100109726
弁理士　園田　吉隆

最終頁に続く

(54)【発明の名称】タウを認識するリン酸化部位特異的抗体

(57)【要約】
本発明は、神経原線維変化によって引き起こされるか又は関連付けられる疾患及び障害の治療における治療的及び診断用途のための方法及び組成物に関する。特に、本発明は、リン酸化された病理学的タンパク質タウコンフォーマーを特異的に認識し結合する抗体、及びアルツハイマー病（ＡＤ）を含むタウオパチーの治療における治療的及び診断用途のための前記抗体を含有する組成物及び方法に関する。

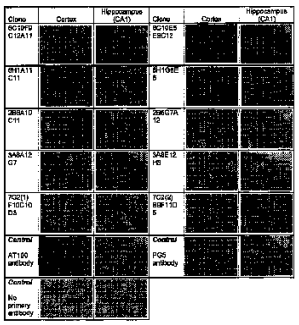


FIGURE 1-1

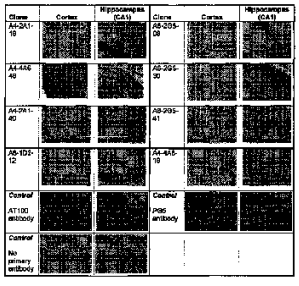


FIGURE 1-2

【特許請求の範囲】
【請求項１】
哺乳動物のタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープを認識し特異的に結合する抗体、又はその機能性部分であって、該抗体又は抗体断片が可溶性及び不溶性タウタンパク質に対して高い結合親和性を有し、可溶性及び不溶性タウのレベルを調節する抗体又はその機能性部分。
【請求項２】
前記抗体又は抗体断片が、哺乳動物の脳内で可溶性及び不溶性タウのレベルを調節する、請求項１に記載の抗体又はその機能性断片。
【請求項３】
前記抗体又は抗体断片が、大脳皮質及び／又は海馬内で可溶性及び不溶性タウのレベルを調節する、請求項２に記載の抗体又はその機能性断片。
【請求項４】
前記抗体又は抗体断片が全可溶性タウタンパク質のレベルを減少させる、請求項１から３の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。
【請求項５】
前記抗体又は抗体断片が可溶性リン酸化タウタンパク質のレベルを減少させる、請求項１から４の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。
【請求項６】
前記抗体又は抗体断片が高リン酸化タウタンパク質を含む対らせん状細線維のレベルを減少させる、請求項１から５の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。
【請求項７】
前記抗体又は抗体断片が全可溶性タウタンパク質、可溶性リン酸化タウタンパク質、及びｐＴａｕ対らせん状細線維のレベルを減少させる、請求項１から６の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。
【請求項８】
前記哺乳動物がヒトである、請求項１から７の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。
【請求項９】
前記抗体又は抗体断片が少なくとも１０ｎＭの解離定数を有する、請求項１から８の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。
【請求項１０】
前記抗体又は抗体断片が少なくとも５ｎＭ、少なくとも２ｎＭ、少なくとも１ｎＭ、少なくとも５００ｐＭ、少なくとも３００ｐＭ、少なくとも２００ｐＭ、少なくとも１００ｐＭの解離定数を有する、請求項１から９の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。
【請求項１１】
前記抗体又は抗体断片が$10^{4}M^{-1}s^{-1}$以上、$10^{5}M^{-1}s^{-1}$以上、$10^{6}M^{-1}s^{-1}$以上の会合定数を有する、請求項１から１０の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。
【請求項１２】
前記抗体又は抗体断片が少なくとも４ｎＭの解離定数と$10^{5}M^{-1}s^{-1}$以上の会合定数を持つ高結合親和性を有する、請求項１から１１の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。
【請求項１３】
前記抗体又は抗体断片が少なくとも３ｎＭの解離定数と$10^{6}M^{-1}s^{-1}$以上の会合定数を持つ高結合親和性を有する、請求項１から１２の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。
【請求項１４】
前記抗体又は抗体断片が少なくとも２ｎＭの解離定数と$10^{4}M^{-1}s^{-1}$以上の会合

定数を持つ高結合親和性を有する、請求項１から１３の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項１５】

前記抗体又は抗体断片が少なくとも１ｎＭの解離定数と$10^{5}M^{-1}s^{-1}$以上の会合定数を持つ高結合親和性を有する、請求項１から１４の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項１６】

前記抗体又は抗体断片が少なくとも２００ｐＭの解離定数と$10^{5}M^{-1}s^{-1}$以上の会合定数を持つ高結合親和性を有する、請求項１から１５の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項１７】

前記抗体又は抗体断片が少なくとも１００ｐＭの解離定数と$10^{6}M^{-1}s^{-1}$以上の会合定数を持つ高結合親和性を有する、請求項１から１６の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項１８】

前記抗体又は抗体断片が、位置１８にリン酸化Ｔｙｒ（Ｙ１８）を含むタウａａ１５－２０、位置４０９にリン酸化Ｓｅｒ（ｐＳ４０９）を含むタウａａ４０５－４１２、位置４０９にリン酸化Ｓｅｒ（ｐＳ４０９）を含むタウａａ４０５－４１１；位置２１２にリン酸化Ｔｈｒ（ｐＴ２１２）及び位置にリン酸化Ｓｅｒ（ｐＳ２１４）を含むタウａａ２０８－２１８；位置３９６にリン酸化Ｓｅｒ（ｐＳ３９６）を含むタウａａ３９３－４０１、位置３９６にリン酸化Ｓｅｒ（ｐＳ３９６）を含むタウａａ３９６－４０１、位置３９６にリン酸化Ｓｅｒ（ｐＳ３９６）を含むタウａａ３９４－４００、位置４０４にリン酸化Ｓｅｒ（ｐＳ４０４）を含むタウａａ４０２－４０６、及び位置３９６にリン酸化Ｓｅｒ（ｐＳ３９６）を含むタウａａ３９３－４００からなる群から選択されるエピトープに結合する、請求項１から１７の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項１９】

前記抗体又は抗体断片が位置１８にリン酸化Ｔｙｒ（Ｙ１８）を持つタウａａ１５－２０を含むエピトープに結合する、請求項１２又は１３に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項２０】

前記抗体又は抗体断片が位置４０９にリン酸化Ｓｅｒ（ｐＳ４０９）を持つタウａａ４０５－４１２を含むエピトープに結合する、請求項１４又は１５に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項２１】

前記抗体又は抗体断片が位置４０９にリン酸化Ｓｅｒ（ｐＳ４０９）を持つタウａａ４０５－４１１を含むエピトープに結合する、請求項１６又は１７に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項２２】

前記抗体又は抗体断片が位置３９６にリン酸化Ｓｅｒ（ｐＳ３９６）を含むタウａａ３９６－４０１を含むエピトープに結合する、請求項１２に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項２３】

前記抗体又は抗体断片が位置４０４にリン酸化Ｓｅｒ（ｐＳ４０４）を含むタウａａ４０２－４０６を含むエピトープに結合する、請求項１２に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項２４】

配列番号２１、２４、２７、２８、２９、３２、７３、８１、９３、１０１、１０６に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも７０％、特に少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を

持つＣＤＲ１；配列番号２２、２５、３０、３３、７４、８２、９４、１０２、１０７に示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２；及び配列番号２３、２６、３１、３４、７５、８３、９５、１０３、１０８に示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも６０％、特に少なくとも７０％、特に少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン；及び／又は配列番号１２、１５、１８、７０、７８、８９、９８に示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号１３、１６、１９、７１、７９、９０、９９、１１５に示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を持つ配列ＣＤＲ２；及び配列番号１４、１７、２０、７２、８０、９１、１００に示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を持つ配列ＣＤＲ３を配列に含む第二結合ドメインを含む、請求項１から２３の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項２５】

配列番号２１、２４、２７、２８、２９、３２に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも７０％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号２２、２５、３０、３３に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２及び配列番号２３、２６、３１、３４に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも６０％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン；及び／又は、配列番号１２、１５、１８に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号１３、１６、１９に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号１４、１７、２０に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも６０％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第二結合ドメインを含む請求項１から２４の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項２６】

配列番号２１、２４、２７、２８、２９、３２に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８５％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号２２、２５、３０、３３に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号２３、２６、３１、３４に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン；及び／又は、配列番号１２、１５、１８に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号１３、１６、１９に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８５％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号１４、１７、２０に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８５％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を含む抗体ドメインを含む請

求項１から２５の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。
【請求項２７】
配列番号２１、２４、２７、２８、２９、３２に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号２２、２５、３０、３３に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号２３、２６、３１、３４に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン、及び／又は、配列番号１２、１５、１８に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号１３、１６、１９に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号１４、１７、２０に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第二結合ドメインを含む請求項１から２６の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。
【請求項２８】
配列番号２１、２４、２７、２８、２９、３２に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号２２、２５、３０、３３に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号２３、２６、３１、３４に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン（抗体ドメイン）、及び／又は、配列番号１２、１５、１８に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号１３、１６、１９に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号１４、１７、２０に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第二結合ドメインを含む請求項１から２７の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。
【請求項２９】
配列番号２１、２４、２７、２８、２９、３２に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９８％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号２２、２５、３０、３３に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号２３、２６、３１、３４に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン；及び／又は、配列番号１２、１５、１８に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号１３、１６、１９に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号１４、１７、２０に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第二結合ドメインを含む請求項１から２８の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。
【請求項３０】
配列番号２１、２４、２７、２８、２９、３２に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９８％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号２２、２５、３０、３３に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号２３、２６、３１、３４に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９８％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン；及び／又は、配列番号１２、１５、１８に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号１３、１６、１９に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９８％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号１４、１７、２０に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第二結合ドメインを含む請求項１から２９の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。
【請求項３１】
配列番号２１、２４、２７、２８、２９、３２に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号２２、２５、３０、３３に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号２３、２６、３１、３４に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合

ドメイン、及び／又は、配列番号１２、１５、１８に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号１３、１６、１９に示されるアミノ酸配列持つＣＤＲ２、及び配列番号１４、１７、２０に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第二結合ドメインを含む請求項１から３０の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項３２】

配列番号２１に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも７６％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号２２に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号２３に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも６６％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン、及び／又は、配列番号１２に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号１３に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８８％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号１４に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも６６％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第二結合ドメインを含む請求項１から３１の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項３３】

配列番号２４に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８８％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号２５に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号２６に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも６６％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン、及び／又は、配列番号１２に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号１３に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８８％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号１４に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも６６％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第二結合ドメインを含む請求項１から３２の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項３４】

ＣＤＲ１が配列番号２７に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８８％同一であるアミノ酸配列を有する第一結合ドメインを含む、請求項３３に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項３５】

ＣＤＲ１が配列番号２８に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８８％同一であるアミノ酸配列を有する第一結合ドメインを含む、請求項３３に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項３６】

配列番号２９に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号３０に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号３１に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン、及び／又は、配列番号１５に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号１６に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９４％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号１７に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも３６％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第二結合ドメインを含む請求項１から３５の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項３７】

配列番号３２に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号３３に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号３４に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン、及び／又は、配列番号１８に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号１９に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号２０に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも６３％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第二結合ドメインを含む、請求項１から３６の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項３８】

配列番号７３に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号７４に示されるアミノ

酸配列を持つＣＤＲ２，及び配列番号７５に示されるアミノ酸配又はそれに対して少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン、及び／又は配列番号７０に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％、特に９８％、特に９９％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号７１に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号７２に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第二結合ドメインを含む、請求項１から３７の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項３９】

配列番号８１に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号８２に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２，及び配列番号８３に示されるアミノ酸配又はそれに対して少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン、及び／又は、配列番号７８に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号７９に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号８０に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第二結合ドメインを含む、請求項１から３８の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項４０】

配列番号９３に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号９４に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２，及び配列番号９５に示されるアミノ酸配又はそれに対して少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％上記のＣＤＲの何れか一に同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン、及び／又は、配列番号８９に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号９０に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号９１に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％上記のＣＤＲの何れか一に同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第二結合ドメインを含む、請求項１から３９の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項４１】

配列番号１０１に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号１０２に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２，及び配列番号１０３に示されるアミノ酸配又はそれに対して少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に

少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％上記のＣＤＲの何れか一に同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン、及び／又は、配列番号９８に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号９９に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号１００に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％上記のＣＤＲの何れか一に同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第二結合ドメインを含む、請求項１から４０の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項４２】

配列番号１０６に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号１０７に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２，及び配列番号１０８に示されるアミノ酸配又はそれに対して少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％上記のＣＤＲの何れか一に同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン、及び／又は、配列番号８９に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号１１５に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号９１に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％上記のＣＤＲの何れか一に同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第二結合ドメインを含む、請求項１から４１の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項４３】

配列番号６、７、８、９、１０、１１に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン、及び／又は、配列番号１、２、３、４、５に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８５％同一であるアミノ酸配列を含む第二結合ドメインを含む、請求項１から４２の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項４４】

配列番号６、７、８、９、１０、１１に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン、及び／又は、配列番号１、２、３、４、５に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９１％同一であるアミノ酸配列を含む第二結合ドメインを含む、請求項１から４３の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項４５】

配列番号６、７、８、９、１０、１１に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％同一であるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン（抗体ドメイン）；及び／又は、配列番号１、２、３、４、５に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９１％同一であるアミノ酸配列を含む第二結合ドメインを含む、請求項１から４４の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項４６】

配列番号６９、７７、１１６／９２、９７、１０５に示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、

少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン、及び／又は、配列番号６８、７６、８８、９６、１０４に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む第二結合ドメインを含む、請求項１から４５の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項４７】

配列番号６又は配列番号７に示されるアミノ酸配列又はそれに対してそれぞれ少なくとも９０％及び９４％同一であるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン；及び／又は、配列番号１に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９１％同一であるアミノ酸配列を含む第二結合ドメインを含む、請求項１から４６の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項４８】

配列番号８に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％同一であるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン；及び／又は、配列番号２に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む第二結合ドメインを含む、請求項１から４７の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項４９】

配列番号９に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％同一であるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン；及び／又は、配列番号３に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む第二結合ドメインを含む、請求項１から４８の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項５０】

配列番号１０に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン；及び／又は、配列番号４に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８９％同一であるアミノ酸配列を含む第二結合ドメインを含む、請求項１から４９の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項５１】

配列番号１１に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９８％同一であるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン；及び／又は、配列番号５に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８７％同一であるアミノ酸配列を含む第二結合ドメインを含む、請求項１から５０の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項５２】

ａ．配列番号６に示されるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン及び／又は配列番号１に示されるアミノ酸配列を含む第二結合ドメイン；又は

ｂ．配列番号７に示されるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン及び／又は配列番号１に示されるアミノ酸配列を含む第二結合ドメイン；又は

ｃ．配列番号８に示されるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン及び／又は配列番号２に示されるアミノ酸配列を含む第二結合ドメイン；又は

ｄ．配列番号９に示されるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン及び／又は配列番号３に示されるアミノ酸配列を含む第二結合ドメイン；又は

ｅ．配列番号１０に示されるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン及び／又は配列番号４に示されるアミノ酸配列を含む第二結合ドメイン；又は

ｆ．配列番号１１に示されるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン及び／又は配列番号５に示されるアミノ酸配列を含む第二結合ドメイン；又は

ｇ．配列番号６９に示されるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン及び／又は配列番号６８に示されるアミノ酸配列を含む第二結合ドメイン；又は

ｈ．配列番号７７に示されるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン及び／又は配列番号７６に示されるアミノ酸配列を含む第二結合ドメイン；又は
ｉ．配列番号１１６に示されるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン及び／又は配列番号８８に示されるアミノ酸配列を含む第二結合ドメイン；又は
ｊ．配列番号９２に示されるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン及び／又は配列番号８８に示されるアミノ酸配列を含む第二結合ドメイン；又は
ｋ．配列番号９７に示されるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン及び／又は配列番号６に示されるアミノ酸配列を含む第二結合ドメイン；又は
ｌ．配列番号１０５に示されるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン及び／又は配列番号１０４に示されるアミノ酸配列を含む第二結合ドメイン
を含む請求項１から５１の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項５３】
ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体又は完全ヒト抗体又はその機能性断片である、請求項１から５２の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項５４】
ＩｇＧ２ｂ、ＩｇＧ２ａ又はＩｇＧ３アイソタイプのものである、請求項１から５３の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項５５】
請求項１から５４の何れか一項に記載の抗体の結合ペプチド又はタンパク質。

【請求項５６】
前記結合ペプチド、タンパク質抗体又は抗体断片が、哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に凝集したタウタンパク質のリン酸化エピトープを認識し特異的に結合するが、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合しない、請求項１から５５の何れか一項に記載の結合ペプチド又はタンパク質又は抗体又はその機能性断片。

【請求項５７】
請求項１から５６の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片をコードするポリヌクレオチド。

【請求項５８】
ａ．配列番号３５－４５に示されるアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸分子；
ｂ．配列番号３５－４５、配列番号８４－８７、配列番号１０９－１１２及び１１７－１１９に示されるアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む核酸分子；
ｃ．配列番号３５－４５、配列番号８４－８７、配列番号１０９－１１２及び１１７に示されるアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む核酸分子；
ｄ．配列番号３５－４５、配列番号８４－８７、配列番号１０９－１１２及び１１７－１１９に示されるアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む核酸分子；
ｅ．配列番号３５－４５、配列番号８４－８７、配列番号１０９－１１２及び１１７－１１９に示されるアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む核酸分子；
ｆ．ａ）－ｆ）の何れかに記載の核酸分子にハイブリダイズする相補鎖の核酸配列を含む核酸分子；
ｇ．遺伝コードの縮重によって、ａ）－ｇ）の何れかに定められた核酸配列から逸脱するヌクレオチド配列を含む核酸分子からなる群から選択される核酸分子を含み、
ａ）－ｇ）の何れかに定められた前記核酸配列が、哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し

、特異的に結合するが、しかし対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、前記抗体が凝集タウタンパク質に対して高親和性を有し、可溶性及び不溶性のタウレベルを調節する、請求項５７に記載のポリヌクレオチド。

【請求項５９】

請求項１から５８の何れか一項に記載の結合ペプチド又はタンパク質、抗体又はその断片、又はポリヌクレオチド、又はそれらの組み合わせを、薬学的に許容される担体と一緒に治療的有効量含有する薬学的組成物。

【請求項６０】

哺乳動物のタウタンパク質の２つの異なるリン酸化エピトープを認識し結合する、請求項１から５９の何れか一項に記載の少なくとも２つの結合ペプチド又はタンパク質、抗体又はその機能性断片、又はポリヌクレオチドを含む、請求項５９に記載の薬学的組成物。

【請求項６１】

異なるアミロイド形成タンパク質を認識し結合する更なる抗体又はその機能性断片を含む、請求項５９又は６０に記載の薬学的組成物。

【請求項６２】

哺乳動物、特に治療を必要としているヒトにおいて治療に使用するための、特に、タウオパチーなどの神経変性疾患の治療に使用するための、請求項１から６１の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片、結合ペプチド又はタンパク質、ポリヌクレオチド又は薬学的組成物、又はそれらの組み合わせ。

【請求項６３】

哺乳動物における認知障害、特に該障害に罹患したヒトの認知障害の治療又は緩和において使用のための、請求項１から６２に記載の抗体又はその機能性断片、結合ペプチド又はタンパク質、又は薬学的組成物。

【請求項６４】

哺乳動物、特にヒトの認知障害の治療又は緩和が、認知障害の進行の停止へと導く、請求項１から６３に記載の抗体又はその機能性断片、結合ペプチド又はタンパク質、ポリヌクレオチド又は薬学的組成物。

【請求項６５】

哺乳動物、特にヒトの認知障害の治療又は緩和が、治療された被験体において、記憶力の増大、特に認知記憶容量の完全な回復へと導く、請求項１から６４に記載の抗体又はその機能性断片、結合ペプチド又はタンパク質、ポリヌクレオチド又は薬学的組成物。

【請求項６６】

アルツハイマー病、クロイツフェルト・ヤコブ病、ボクサー痴呆、ダウン症候群、ゲルストマン－シュトロイスラー－シャインカー病、封入体筋炎、およびプリオンタンパク質脳アミロイド血管障害、外傷性脳損傷を含むがこれらに限定されないタウ及びアミロイド病理の共存を示す疾患又は障害、及び、筋萎縮性側索硬化症／グアムのパーキンソニズム－認知症複合、神経原線維変化を伴う非グアム型運動ニューロン疾患、嗜銀顆粒性認知症、皮質基底核変性症、石灰化を伴うびまん性神経原線維変化、第１７染色体に連鎖したパーキンソニズムを伴う前頭側頭型認知症、ハレルフォルデン－スパッツ病、多系統萎縮症、Ｃ型ニーマン－ピック病、淡蒼球－橋－黒質変性（Ｐａｌｌｉｄｏ－ｐｏｎｔｏ－ｎｉｇｒａｌ　ｄｅｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ）、ピック病、進行性皮質下グリオーシス、進行性核上麻痺、亜急性硬化性全脳炎、神経原線維変化型認知症、脳炎後パーキンソニズム、筋緊張性ジストロフィーを含むがこれらに限定されない、明確なアミロイド病理を示さない更なる疾患又は障害を含む神経変性疾患又は障害の不均一な群を含む、タウオパチーにおける優勢な脳病理である神経原線維の形成によって引き起こされる又は関連する疾患及び障害の治療に使用される、請求項１から６５に記載の抗体又はその機能性断片、結合ペプチド又はタンパク質、ポリヌクレオチド又は薬学的組成物。

【請求項６７】

アルツハイマー病の治療に使用のための、請求項１から６６に記載の抗体又はその機能性断片、結合ペプチド又はタンパク質、ポリヌクレオチド又は薬学的組成物。

【請求項６８】
タウオパチーなどの神経変性疾患又は障害の治療のための方法であって、動物、具体的には哺乳動物に対して、特にそうした疾患又は障害に罹患したヒトに対して、請求項１から６７の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片、結合ペプチド又はタンパク質、ポリヌクレオチド又は薬学的組成物、又はそれらの組み合わせを投与することを含む方法。
【請求項６９】
アルツハイマー病、クロイツフェルト・ヤコブ病、ボクサー痴呆、ダウン症候群、ゲルストマン－シュトロイスラー－シャインカー病、封入体筋炎、およびプリオンタンパク質脳アミロイド血管障害、外傷性脳損傷を含むがこれらに限定されないタウ及びアミロイド病理の共存を示す疾患又は障害、及び、筋萎縮性側索硬化症／グアムのパーキンソニズム－認知症複合、神経原線維変化を伴う非グアム型運動ニューロン疾患、嗜銀顆粒性認知症、皮質基底核変性症、石灰化を伴うびまん性神経原線維変化、第１７染色体に連鎖したパーキンソニズムを伴う前頭側頭型認知症、ハレルフォルデン－スパッツ病、多系統萎縮症、Ｃ型ニーマン－ピック病、淡蒼球－橋－黒質変性、ピック病、進行性皮質下グリオーシス、進行性核上麻痺、亜急性硬化性全脳炎、神経原線維変化型認知症、脳炎後パーキンソニズム、筋緊張性ジストロフィーを含むがこれらに限定されない、明確なアミロイド病理を示さない更なる疾患又は障害を含む神経変性疾患又は障害の不均一な群を含む、タウオパチーにおける優勢な脳病理である神経原線維の形成によって引き起こされる又は関連する疾患及び障害の治療のための、請求項１から６８に記載の方法。
【請求項７０】
請求項１から６９の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片、結合ペプチド又はタンパク質又は薬学的組成物、又はそれらの組み合わせを前記動物又はヒトに投与することにより、タウオパチーなどの神経変性疾患に罹患した動物、特に哺乳動物又はヒトにおいて受動免疫応答を誘導するための方法。
【請求項７１】
サンプル中又はインサイツで、抗体又はその活性断片のタウタンパク質のエピトープに対する免疫特異的結合を検出することを含む、患者のタウタンパク質に関連した疾患、障害又は状態を診断する方法であって、
ａ．タウタンパク質を含有すると疑われるサンプル又は特定の体の部分又は体の領域を、請求項１から７０の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片と接触させ、該ペプチド又はその断片がタウタンパク質のエピトープに結合し；
ｂ．抗体をタウタンパク質に結合させて免疫複合体を形成し；
ｃ．免疫複合体の形成を検出し；そして
ｄ．サンプル中又は特定の体の部分又は領域において、免疫複合体の存在又は欠損をタウタンパク質の存在又は欠損と相関させる；
工程を含む方法。
【請求項７２】
サンプル中又はインサイツで、抗体又はその活性断片のタウタンパク質のエピトープに対する免疫特異的結合を検出することを含む、患者のタウタンパク質に関連した疾患、障害又は状態に対する素因を診断する方法であって、
ａ．タウ抗原を含有すると疑われるサンプル又は特定の体の部分又は体の領域を、請求項１から７１の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片と接触させ、該ペプチド又はその断片がタウタンパク質のエピトープに結合し；
ｂ．抗体をタウ抗原に結合させて免疫複合体を形成し；
ｃ．免疫複合体の形成を検出し；そして
ｄ．サンプル中又は特定の体の部分又は領域において、免疫複合体の存在又は欠損をタウ抗原の存在又は欠損と相関させ；
ｅ．前記免疫複合体の量を正常コントロール値と比較する、
工程を含み、
正常コントロール値と比較して前記凝集体の量の増加が、前記患者がタウタンパク質関

連疾患又は状態に罹患しているか又は発症するリスクがあることを示す方法。
【請求項７３】
請求項１から７２の何れか一項に記載の抗体又は薬学的組成物による治療後に患者の微小残存病変を監視するための方法であって、
ａ．タウ抗原を含有すると疑われるサンプル又は特定の体の部分又は体の領域を、請求項１から７２の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片と接触させ、該ペプチド又はその断片がタウタンパク質のエピトープに結合し；
ｂ．抗体をタウ抗原に結合させて免疫複合体を形成し；
ｃ．免疫複合体の形成を検出し；そして
ｄ．サンプル中又は特定の体の部分又は領域において、免疫複合体の存在又は欠損をタウ抗原の存在又は欠損と相関させ、
ｅ．前記免疫複合体の量を正常コントロール値と比較する、
ことを含み、
正常コントロール値と比較して前記凝集体の量の増加が、前記患者が微小残存病変になお罹患していることを示す方法。
【請求項７４】
請求項１から７３の何れか一項に記載の抗体又は薬学的組成物により治療される患者の応答性を予測するための方法であって、
ａ．タウ抗原を含有すると疑われるサンプル又は特定の体の部分又は体の領域を、請求項１から７３の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片と接触させ、該ペプチド又はその断片がタウタンパク質のエピトープに結合し；
ｂ．抗体をタウ抗原に結合させて免疫複合体を形成し；
ｃ．免疫複合体の形成を検出し；そして
ｄ．サンプル中又は特定の体の部分又は領域において、免疫複合体の存在又は欠損をタウ抗原の存在又は欠損と相関させ、
ｅ．治療開始前と後で前記免疫複合体の量を比較する、
ことを含み、
前記凝集体の量の減少が、前記患者が治療に対して応答する高い可能性を有していることを示す方法。
【請求項７５】
請求項１から７４の何れか一項に記載の抗体を含む、タウタンパク質関連疾患、障害又は状態の検出又は診断のための検査キット。
【請求項７６】
本発明による一以上の抗体又はその機能性断片と、タウ抗原と結合させて免疫複合体を形成させて、免疫複合体の有無がタウ抗原の有無と相関するように免疫複合体の形成を検出する目的で抗体を用いるための説明書とを収容する容器を含む、請求項１から７５に記載の検査キット。
【請求項７７】
位置１８にリン酸化Ｔｙｒ（Ｙ１８）を含むタウａａ１５－２０、位置４０９にリン酸化Ｓｅｒ（ｐＳ４０９）を含むタウａａ４０５－４１２、位置４０９にリン酸化Ｓｅｒ（ｐＳ４０９）を含むタウａａ４０５－４１１；及び位置２１２にリン酸化Ｔｈｒ（ｐＴ２１２）及び位置にリン酸化Ｓｅｒ（ｐＳ２１４）を含むタウａａ２０８－２１８；位置３９６にリン酸化Ｓｅｒ（ｐＳ３９６）を含むタウａａ３９３－４０１、位置３９６にリン酸化Ｓｅｒ（ｐＳ３９６）を含むタウａａ３９６－４０１、位置３９６にリン酸化Ｓｅｒ（ｐＳ３９６）を含むタウａａ３９４－４００、位置４０４にリン酸化Ｓｅｒ（ｐＳ４０４）を含むタウａａ４０２－４０６、及び位置３９６にリン酸化Ｓｅｒ（ｐＳ３９６）を含むタウａａ３９３－４００からなる群から選択されるエピトープ。
【請求項７８】
請求項１から７７の何れかに記載の抗体を産生する細胞株。
【請求項７９】

２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０７９として寄託されたハイブリドーマ細胞株６Ｃ１０Ｆ９Ｃ１２Ａ１１である、請求項７８に記載の細胞株。
【請求項８０】
２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０８１として寄託されたハイブリドーマ細胞株６Ｃ１０Ｅ５Ｅ９Ｃ１２である、請求項７８に記載の細胞株。
【請求項８１】
２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０８０として寄託されたハイブリドーマ細胞株６Ｈ１Ａ１１Ｃ１１である、請求項７８に記載の細胞株。
【請求項８２】
２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０８８として寄託されたハイブリドーマ細胞株６Ｈ１Ｇ６Ｅ６である、請求項７８に記載の細胞株。
【請求項８３】
２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０８４として寄託されたハイブリドーマ細胞株２Ｂ６Ａ１０Ｃ１１である、請求項７８に記載の細胞株。
【請求項８４】
２０１０年３月１０日にＤＳＭ ＡＣＣ３０８７として寄託されたハイブリドーマ細胞株２Ｂ６Ｇ７Ａ１２である、請求項７８に記載の細胞株。
【請求項８５】
２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０８６として寄託されたハイブリドーマ細胞株３Ａ８Ａ１２Ｇ７である、請求項７８に記載の細胞株。
【請求項８６】
２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０８５として寄託されたハイブリドーマ細胞株３Ａ８Ｅ１２Ｈ８である、請求項７８に記載の細胞株。
【請求項８７】
２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０８２として寄託されたハイブリドーマ細胞株７Ｃ２（１）Ｆ１０Ｃ１０Ｄ３である、請求項７８に記載の細胞株。
【請求項８８】
２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０８３として寄託されたハイブリドーマ細胞株７Ｃ２（２）Ｂ９Ｆ１１Ｄ５である、請求項７８に記載の細胞株。
【請求項８９】
ａ．第一結合ドメインの増幅のために配列番号５４の５’プライマーと配列番号５１の３’プライマーを含むプライマー対；及び／又は
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号５３及び配列番号５４の５’プライマーと配列番号４７の３’プライマーを含むプライマーの混合
を用いて、
２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０７９として寄託されたハイブリドーマ細胞株６Ｃ１０Ｆ９Ｃ１２Ａ１１のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、請求項１に記載の抗体又はその機能性断片
【請求項９０】
ａ．第一結合ドメインの増幅のために配列番号４８及び配列番号４９の５’プライマーと配列番号５１の３’プライマーを含むプライマーの混合；及び／又は
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号５３及び配列番号５４の５’プライマーと配列番号４７の３’プライマーを含むプライマーの混合
を用いて、
２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０８１として寄託されたハイブリドーマ細胞株６Ｃ１０Ｅ５Ｅ９Ｃ１２のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、請求項１に記載の抗体又はその機能性断片。
【請求項９１】

ａ．第一結合ドメインの増幅のために配列番号５０の５’プライマーと配列番号５１の３’プライマーを含むプライマー対；及び／又は
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号４６の５’プライマーと配列番号４７の３’プライマーを含むプライマー対
を用いて、
２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０８０として寄託されたハイブリドーマ細胞株６Ｈ１Ａ１１Ｃ１１のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、請求項１に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項９２】
ａ．第一結合ドメインの増幅のために配列番号５０の５’プライマーと配列番号５１の３’プライマーを含むプライマー対；及び／又は
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号４６の５’プライマーと配列番号４７の３’プライマーを含むプライマー対
を用いて
２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０８８として寄託されたハイブリドーマ細胞株６Ｈ１Ｇ６Ｅ６のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、請求項１に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項９３】
ａ．第一結合ドメインの増幅のために配列番号５０の５’プライマーと配列番号５１の３’プライマーを含むプライマー対；及び／又は
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号４６及び配列番号５２の５’プライマーと配列番号４７の３’プライマーを含むプライマーの混合
を用いて、
２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０８４として寄託されたハイブリドーマ細胞株２Ｂ６Ａ１０Ｃ１１のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、請求項１に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項９４】
ａ．第一結合ドメインの増幅のために配列番号５０の５’プライマーと配列番号５１の３’プライマーを含むプライマー対；及び／又は
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号４６及び配列番号５２の５’プライマーと配列番号４７の３’プライマーを含むプライマーの混合
を用いて、
２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０８７として寄託されたハイブリドーマ細胞株２Ｂ６Ｇ７Ａ１２のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、請求項１に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項９５】
ａ$_1$．第一結合ドメインの増幅のために配列番号４８及び配列番号４９の５’プライマーと配列番号５１の３’プライマーを含むプライマーの混合；又は
ａ$_2$．第一結合ドメインの増幅のために配列番号５０の５’プライマーと配列番号５１の３’プライマーを含むプライマー対；及び／又は
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号４６の５’プライマーと配列番号４７の３’プライマーを含むプライマー対
を用いて、
２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０８６として寄託されたハイブリドーマ細胞株３Ａ８Ａ１２Ｇ７のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、請求項１に記載の抗体又はその機能性断片。

【請求項９６】
ａ$_1$．第一結合ドメインの増幅のために配列番号４８及び配列番号４９の５’プライマーと配列番号５１の３’プライマーを含むプライマーの混合；又は
ａ$_2$．第一結合ドメインの増幅のために配列番号５０の５’プライマーと配列番号５１の３’プライマーを含むプライマー対；及び／又は
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号４６の５’プライマーと配列番号４７の３’プライマーを含むプライマー対
を用いて、
２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０８５として寄託されたハイブリドーマ細胞株３Ａ８Ｅ１２Ｈ８のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、請求項１に記載の抗体又はその機能性断片。
【請求項９７】
ａ．第一結合ドメインの増幅のために配列番号４９；配列番号５６及び配列番号５７の５’プライマーと配列番号５１の３’プライマーを含むプライマーの混合；
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号５３及び配列番号５５の５’プライマーと配列番号４７の３’プライマーを含むプライマーの混合
を用いて、
２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０８２として寄託されたハイブリドーマ細胞株７Ｃ２（１）Ｆ１０Ｃ１０Ｄ３のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、請求項１に記載の抗体又はその機能性断片。
【請求項９８】
ａ．第一結合ドメインの増幅のために配列番号５７の５’プライマーと配列番号５１の３’プライマーを含むプライマーの対；
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号５３及び配列番号５５の５’プライマーと配列番号４７の３’プライマーを含むプライマーの混合
を用いて、
２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０８３として寄託されたハイブリドーマ細胞株７Ｃ２（２）Ｂ９Ｆ１１Ｄ５のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、請求項１に記載の抗体又はその機能性断片。
【請求項９９】
ａ．第一結合ドメインの増幅のために配列番号１４９の５’プライマーと配列番号５１の３’プライマーを含むプライマー対；及び／又は
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号１２０、１２３、１２４、１３６、１３７、１３８、１３９、及び１４０からなる群から選択される５’プライマーと配列番号１３１、１３４，及び１４１－１４８らなる群から選択される３’プライマーを含むプライマーの混合
を用いて、
２０１１年８月３０日にＤＳＭ ＡＣＣ３１３９として寄託されたハイブリドーマ細胞株Ａ４－２Ａ１－１８のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、請求項１に記載の抗体又はその機能性断片。
【請求項１００】
ａ．第一結合ドメインの増幅のために配列番号５１及び１６９－１７４からなる群から選択される５’プライマー及び配列番号５１の３’プライマーを含むプライマーの混合；及び／又は
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号１２４、１２７，及び１５０－１５８からなる群から選択される５’プライマーと配列番号１３０，及び１５９－１６８らなる

群から選択される３’プライマーを含むプライマーの混合
を用いて、
２０１１年８月３０日にＤＳＭ ＡＣＣ３１３７として寄託されたハイブリドーマ細胞株Ａ６－２Ｇ５－３０のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、請求項１に記載の抗体又はその機能性断片。
【請求項１０１】
ａ．第一結合ドメインの増幅のために配列番号１７８、１７９及び１８０からなる群から選択される５’プライマー及び配列番号５１の３’プライマーを含むプライマーの混合；及び／又は
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号１２１、１２７、１３９、１５４、１５５，及び１７５からなる群から選択される５’プライマーと配列番号１２８、１２９、１４７、１７６，及び１７７からなる群から選択される３’プライマーを含むプライマーの混合
を用いて、
２０１１年８月３０日にＤＳＭ ＡＣＣ３１４０として寄託されたハイブリドーマ細胞株Ａ４－２Ａ１－４０のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、請求項１に記載の抗体又はその機能性断片。
【請求項１０２】
ａ．第一結合ドメインの増幅のために配列番号５１及び１８８－１９２からなる群から選択される５’プライマー及び配列番号５１の３’プライマーを含むプライマーの混合；及び／又は
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号１２０、１２４、１２６、１８１、１８２及び１８３からなる群から選択される５’プライマーと配列番号１４４、１４５及び１８４－１８７からなる群から選択される３’プライマーを含むプライマーの混合
を用いて、
２０１１年８月３０日にＤＳＭ ＡＣＣ３１３８として寄託されたハイブリドーマ細胞株Ａ６－２Ｇ５－４１のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、請求項１に記載の抗体又はその機能性断片。
【請求項１０３】
ａ．第一結合ドメインの増幅のために配列番号５０及び２０１－２０４からなる群から選択される５’プライマー及び配列番号５１の３’プライマーを含むプライマーの混合；及び／又は
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号１２１、１３７、１５１及び１９３－１９７からなる群から選択される５’プライマーと配列番号１３１、１４１、１４４、１６６、１９８、１９９及び２００からなる群から選択される３’プライマーを含むプライマーの混合
を用いて、
２０１１年８月３０日にＤＳＭ ＡＣＣ３１３６として寄託されたハイブリドーマ細胞株Ａ４－４Ａ６－４８のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、請求項１に記載の抗体又はその機能性断片。
【請求項１０４】
ａ．第一結合ドメインの増幅のために配列番号２０９－２１４、及び２１９－２２１からなる群から選択される５’プライマー及び配列番号２１５の３’プライマーを含むプライマーの混合；及び／又は
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号２１６、２１７及び２１８からなる群から選択される５’プライマー及び配列番号２０８の３’プライマーを含むプライマーの

混合
を用いて、
２０１１年９月６日にＤＳＭ ＡＣＣ３１４１として寄託されたハイブリドーマ細胞株Ａ６－１Ｄ２－１２のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、請求項１に記載の抗体又はその機能性断片。
【請求項１０５】
前記抗体が、ＩｇＧ２ａ、ＩｇＧ２ｂ又はＩｇＧ３アイソタイプの抗体、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、又は完全ヒト抗体である、請求項１から１０４の何れか一項に記載の抗体又はその機能性断片。
【請求項１０６】
請求項１から１０５の何れか一項に記載の結合ペプチド又はタンパク質又は抗体。
【請求項１０７】
請求項１から５４、５６の何れか一項に記載又は請求項８９から１０５の何れか一項に記載の抗体を産生する細胞株。
【請求項１０８】
請求項５７又は５８のポリヌクレオチドを含有する細胞株。
【請求項１０９】
適切な培養培地中で請求項１０６に記載の細胞株を培養する工程を含む、請求項１から５４、５６の何れか一項に記載又は請求項８９から１０５の何れか一項に記載の抗体を産生する方法。
【請求項１１０】
適切な培養培地中で請求項７８から８８の何れか一項に記載の細胞株を培養する工程を含む、請求項１から５４、５６の何れか一項に記載又は請求項８９から１０５の何れか一項に記載の抗体を産生する方法。
【請求項１１１】
細胞株又は培養培地から抗体を精製する工程を更に含む、請求項１０９又は１１０に記載の方法。
【請求項１１２】
タウタンパク質に関連した疾患又は障害の群であるタウオパチーの治療において使用のための医薬の調製における、請求項１から５４、５６の何れか一項に記載又は請求項８９から１０５の何れか一項に記載の、任意の機能性部分を含む抗体の使用。
【請求項１１３】
タウタンパク質に関連した疾患又は障害の群であるタウオパチーに関連した症状の治療又は緩和において使用のための医薬の調製における、請求項１から５４、５６の何れか一項に記載又は請求項８９から１０５の何れか一項に記載の、任意の機能性部分を含む抗体の使用。
【請求項１１４】
タウオパチーに罹患した哺乳動物における認知記憶容量を保持する又は増加させることに使用のための医薬の調製における、請求項１から５４、５６の何れか一項に記載又は請求項８９から１０５の何れか一項に記載の、任意の機能性部分を含む抗体の使用。
【請求項１１５】
２０１０年８月３０日にＤＳＭ ＡＣＣ３１３６として寄託されたハイブリドーマ細胞株Ａ４－４Ａ６－４８である、請求項７８に記載の細胞株。
【請求項１１６】
２０１０年８月３０日にＤＳＭ ＡＣＣ３１３７として寄託されたハイブリドーマ細胞株Ａ６－２Ｇ５－３０である、請求項７８に記載の細胞株。
【請求項１１７】
２０１０年８月３０日にＤＳＭ ＡＣＣ３１３８として寄託されたハイブリドーマ細胞株Ａ６－２Ｇ５－４１である、請求項７８に記載の細胞株。

【請求項１１８】
２０１０年８月３０日にＤＳＭ ＡＣＣ３１３９として寄託されたハイブリドーマ細胞株Ａ４－２Ａ１－１８である、請求項７８に記載の細胞株。
【請求項１１９】
２０１０年８月３０日にＤＳＭ ＡＣＣ３１４０として寄託されたハイブリドーマ細胞株Ａ４－２Ａ１－４０である、請求項７８に記載の細胞株。
【請求項１２０】
２０１０年９月６日にＤＳＭ ＡＣＣ３１４１として寄託されたハイブリドーマ細胞株Ａ６－１Ｄ２－１２である、請求項７８に記載の細胞株。
【発明の詳細な説明】
【発明の開示】
【０００１】
本発明は、神経原線維変化によって引き起こされるか又は関連付けられる疾患及び障害の治療における治療的及び診断用途のための方法及び組成物に関する。特に、本発明は、リン酸化された病理学的タンパク質タウコンフォーマーを特異的に認識し結合する抗体、及びアルツハイマー病（ＡＤ）を含むタウオパチーの治療における治療的及び診断用途のための前記抗体を含有する組成物及び方法に関する。
【０００２】
神経原線維変化と経粘膜送達（ＮＴＳ）は、アルツハイマー病の主要な神経病理学的特徴（ＡＤ）である。それらは、アスパラギン又はアスパラギン酸残基のリン酸化、脱アミド化及び異性化を含む翻訳後修飾を受けた微小管結合タンパク質タウから構成されている。それらは高リン酸化タンパク質のタウとそのコンフォーマーの凝集により由来する。ＡＤは、多くの神経変性タウオパチーと、特に前頭側頭型認知症（ＦＴＤ）の指定された型とこの病理を共有する。
【０００３】
タンパク質タウは、微小管（ＭＴ）に貪欲に結合する「天然にアンフォールドした」自在に可溶なタンパク質であり、それらの会合と安定を促進する。ＭＴは、ニューロンの細胞骨格の完全性のために－それにより、神経回路の適切な形成と機能のために、それゆえ学習と記憶のために、主として重要である。タウのＭＴに対する結合は、主にインビトロで非神経細胞において実証されるように、動的リン酸化及び脱リン酸化によって制御される。可能なリン酸化部位が多数であるゆえ（＞８０）、各々の正確な寄与と関与するキナーゼはインビボにおいて多くが不明確なままである。
【０００４】
ＡＤの脳において、タウ病理は、アミロイド病理より後で、そして恐らくアミロイド病理に応答して発展し、これは、アミロイドカスケードという仮説の本質を構成している。このことはＡＤとダウン症の患者における研究に基づいて示され、アミロイドとタウ病理学の併用によるトランスジェニックマウスの研究により実証されている(Lewis et al., 2001; Oddo et al., 2004; Ribe et al., 2005; Muyllaert et al, 2006; 2008; Terwel et al, 2008)。
【０００５】
ヒトのＡＤ患者における両方の病理の正確なタイミング並びにアミロイドをタウ病理学にリンクするメカニズムはほとんどわかっていないが、しかし作用する神経シグナル伝達経路の活性化又は主要な「タウキナーゼ」としてＧＳＫ３とｃｄｋ５による活性化が関与することが提唱されている。
【０００６】
タウオパチーは無害な副作用ではなくＡＤにおける主要な病理学的実行者であるという仮説は完全にお互いを実証する健全な遺伝的、病理学的及び実験的な観察に基づいている：
・アミロイドタンパク質前駆体（ＡＰＰ）又はプレセニリンにおける変異に起因する早期発症型家族性ＡＤの症例において、絶対的病原性の原因はアミロイドの蓄積であるが、

常にその病理学は、遅発性散発性ＡＤ症例の場合と同一の副次的タウオパチーを含み；
・認知機能障害と認知症の重症度は、アミロイドに対するＰＩＢ－ＰＥＴイメージングを含み多くの「偽陽性」：高い脳アミロイド負荷を持つ認知的健常者を同定するいくつかの臨床フェーズ１＆２研究によってごく最近例示されるように、アミロイド病理ではなく、タウオパチーと相関しており；
・家族制ＦＴＤにおいて、タウオパチーは、変異体タウによって引き起こされ、アミロイド病理無しに直接神経変性を引き起こし；
実験マウスモデルにおいて、アミロイド病理によって引き起こされる認知障害がタンパク質タウ（ロバーソンら、２００７）の欠損によってほぼ完全に緩和される(Roberson et al, 2007)。

【０００７】
議論の併用により、タンパク質タウがＡＤ及び関連する神経変性タウオパチーにおける認知機能消滅の主要なプレーヤーであるとする仮説を支持している。

【０００８】
ＡＤの卓越した新たな治療法は、特定のモノクローナル抗体による受動免疫療法により、神経毒性又はシナプス毒性であると推定されるアミロイドペプチドとその凝集体を除去することである。

【０００９】
本明細書に提案されるように、タウ病理を標的とする免疫療法は、既知の病理学的タンパク質タウ、コンフォーマーに対抗することが予想され、又はシナプス機能障害及び神経変性を引き起こすことが仮定される。生じたアミロイド病理及び高リン酸化タンパク質タウのニューロン内の凝集体が、軽度認知障害（ＭＣＩ）からＡＤの重度認知症につながる、病理学的事象の認知機能及び変性カスケードに相乗的に作用することが提案されている。従って、現在の単一治療法とは対照的に、アミロイド指向（又は他の）薬とタウ指向の薬の組み合わせが、好ましくかつ実質的により有効なＡＤの治療法を構成するであろう。

【００１０】
タンパク質タウを標的にする他の治療的アプローチは不足しており主に以下を含む：
・タウのリン酸化を病的レベルにまで増加させると考えられているキナーゼの阻害剤
・高リン酸化タンパク質タウの細胞質凝集を阻止する化合物。

【００１１】
これらのアプローチは特異性及び有効性の様々な欠点、ＡＰＰ及びアミロイドの代謝を改変する試みを共有する問題を負い、全てはタウに対する免疫療法を含む追加治療の選択肢の継続的な探索の重要性を強調している。

【００１２】
実際には、－ターゲットはおろか－インビトロでの病理学的タウのコンフォーマーを定義するために、全く努力が捧げられされていない。Ａβ４２のフェーズＩＩ臨床試験では、もつれた病理学が十分に考慮されるようには見えず、徹底的に分析されるようにも見えなかった(Nicoll et al., 2003; Masliah et al., 2005)。一方、ＡＤ様病理が混合した前臨床マウスモデルにおいてアミロイドを標的とする実験的免疫療法は、タウ凝集体が持続するものの、タウ病理における影響も実証した(Oddo et al., 2004)。

【００１３】
免疫療法によって細胞内タンパク質タウに接近する実現可能性において幾つかの疑問が投げかけられた。これらはタウオパチーのマウスモデルの最も最近の実験研究によって反論されている(Asuni et al., 2007)。それらは、タンパク質タウ由来リン酸化ペプチドのワクチン接種により、もつれ病理の減少及び機能の改善を示した。これらのデータは、パーキンソン病（ＰＤ）及びレビー小体病モデルにおけるα－シヌクレインを標的免疫療法の以前の報告(Masliah et al., 2005, 2011)、及び筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）モデルにおけるスーパーオキシドジスムターゼの以前の報告(Urushitiani et al., 2007)を実証している。これらの疾患は、細胞内タンパク質が、まだ十分に理解されていないメカニズムによってシナプスの欠陥と神経変性へと導く実施例である。一方、使用されたアジュバ

ント、すなわち完全フロイントと百日咳毒素が、その研究の否定的な結果に貢献したかもしれないが、細菌で生産され分離された完全長組換えタンパク質のタウはワクチンとしては適していないように見える(Rosenmann et al., 2006)。

【００１４】

例えば、アミロイドと同じくらいＡＤにおいて典型的な高リン酸化タンパク質タウのニューロン内凝集体によって生じるＡＤにおいて、アミロイド病理などの神経変性疾患を引き起こすことが知られているか－又は推定される病的タンパク質コンフォーマーに対抗するように作用する受動及び／又は能動免疫療法について、未だ対処されていない必要性が存在する。

【００１５】

この未だ対処されていない必要性が、タウタンパク質の主要な病的リン酸化エピトープを認識し結合する結合タンパク質を提供することによって本発明の範囲内で満たされる可能性がある。特に、本発明は、ＡＤを含むタウオパチーにおいてシナプス及び神経毒性に関与すると考えられている、タンパク質のタウにおいて、特に凝集したタウタンパク質上の線状及び立体構造的、単一及び複合体のリン酸化エピトープを提供する。

【００１６】

従って、本発明は、一実施態様において、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分に関し、その結合ペプチド又はタンパク質又は抗体は、哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に凝集したタウ蛋白質のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで、前記結合ペプチド又は抗体は可溶性及び不溶性タウ蛋白質に対して高い結合親和性を有し、特に脳において、可溶性及び不溶性タウのレベルを、特に解離定数が少なくとも１０ｎＭ、特に少なくとも８ｎＭ、特に少なくとも５ｎＭ、特に少なくとも２ｎＭ、特に少なくとも１ｎＭ、特に少なくとも５００ｐＭ、特に少なくとも４００ｐＭ、特に少なくとも３００ｐＭ、特に少なくとも２００ｐＭ、特に少なくとも１００ｐＭ、特に少なくとも５０ｐＭで調節する。第二の実施態様において、本発明は結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで前記結合ペプチド又は抗体は、$10^{4}M^{-1}s^{-1}$以上、特に$3-5\times10^{4}M^{-1}s^{-1}$以上、特に$10^{5}M^{-1}s^{-1}$以上；特に$2-9\times10^{5}M^{-1}s^{-1}$以上、特に$10^{6}M^{-1}s^{-1}$以上、特に$1-4\times10^{6}M^{-1}s^{-1}$以上、特に$10^{7}M^{-1}s^{-1}$以上の会合定数を有する。

【００１７】

第三の実施態様において、本発明は結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで前記結合ペプチド又は抗体は、解離定数が少なくとも４ｎＭ及び会合定数が$10^{5}M^{-1}s^{-1}$以上、特に解離定数が少なくとも３ｎＭ及び会合定数が$10^{6}M^{-1}s^{-1}$以上、特に解離定数が少なくとも２ｎＭ及び会合定数が$10^{4}M^{-1}s^{-1}$以上、特に解離定数が少なくとも１ｎＭ及び会合定数が$10^{5}M^{-1}s^{-1}$以上、特に解離定数が少なくとも２００ｐＭ及び会合定数が$10^{5}M^{-1}s^{-1}$以上、特に解離定数が少なくとも１００ｐＭ及び会合定数が$10^{6}M^{-1}s^{-1}$以上を持つ高い結合親和性を有する。

【００１８】

本発明の一実施態様（４）は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかの結合ペプチド又はタンパク質又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで前記結合ペプチド又は抗体は、哺乳動物、特にリン酸化Ｔｙｒを位置１８（Ｙ１８）に含むタウのａａ１５－２０、リン酸化Ｓｅｒを位置４０９（ｐＳ４０９）に含むタウのａａ４０５－４１１；及びリン酸化Ｔｈｒを位置２１２（ｐＴ２１２）に及びリン酸化Ｓｅｒを位置２１４（ｐＳ２１４）タウのａａ２０８－２１８からなる群から選択される、配列番号６７に示されるヒトタウタンパク質のエピトープに結合する。

【００１９】

一実施態様（５）は、前述の実施態様の何れかの結合ペプチド又は抗体に関し、ここで前記ペプチドは、哺乳動物、特にヒトタウタンパク質、しかし具体的には、リン酸化Ｔｙｒを位置１８（Ｙ１８）に持つタウのａａ１５－２０を含む、配列番号６７に示されるヒトタウタンパク質のエピトープに結合する。

【００２０】

一実施態様（６）は、前述の実施態様の何れかの結合ペプチド又は抗体に関し、ここで前記ペプチドは、哺乳動物、特にヒトタウタンパク質、しかし具体的には、リン酸化Ｓｅｒを位置４０９（ｐＳ４０９）に持つタウのａａ４０５－４１２を含む、配列番号６７に示されるヒトタウタンパク質のエピトープに結合する。

【００２１】

一実施態様（７）は、前述の実施態様の何れかの結合ペプチド又は抗体に関し、ここで前記ペプチドは、哺乳動物、特にヒトタウタンパク質、しかし具体的には、リン酸化Ｓｅｒを位置４０９（ｐＳ４０９）に持つタウのａａ４０５－４１１を含む、配列番号６７に示されるヒトタウタンパク質のエピトープに結合する。

【００２２】

一実施態様（８）は、前述の実施態様の何れかの結合ペプチド又は抗体に関し、ここで前記ペプチドは、哺乳動物、特にヒトタウタンパク質、しかし具体的には、リン酸化Ｔｈｒを位置２１２（ｐＴ２１２）及びリン酸化Ｓｅｒを位置２１４（ｐＳ２１４）に持つタウのａａ２０８－２１８を含む、配列番号６７に示されるヒトタウタンパク質のエピトープに結合する。

【００２３】

その他の実施態様（９）において、本発明は結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号２１、２４、２７、２８、２９、３２、７３、８１、９３、１０１、１０６に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも７０％、特に少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号２２、２５、３０、３３、７４、８２、９４、１０２、１０７に示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２；及び配列番号２３、２６、３１、３４、７５、８３、９５、１０３、１０８に示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少な

くとも６０％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を含む第一結合ドメイン；及び／又は配列番号１２、１５、１８、７０、７８、８９、９８に示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号１３、１６、１９、７１、７９、９０、９９、１１５に示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を持つ配列ＣＤＲ２；及び　配列番号１４、１７、２０、７２、８０、９１、１００に示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を持つ配列ＣＤＲ３を配列に含む第二結合ドメインを含む。

【００２４】

本発明の一実施態様（１０）は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号２１、２４、２７、２８、２９、３２、７３、８１に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８５％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号２２、２５、３０、３３、７４、８２に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２；及び配列番号２３、２６、３１、３４、７５、８３に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン；及び／又は配列番号１２、１５、１８、７０、７８に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号１３、１６、１９、７１、７９に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８５％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２；及び配列番号１４、１７、２０、７２、８０に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８５％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を含む抗体ドメインを含む。

【００２５】

本発明の一実施態様（１１）は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号２１、２４、２７、２８、２９、３２、７３、８１に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号２２、２５、３０、３３、７４、８２に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２；及び配列番号２３、２６、３１、３４、７５、８３に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン；及び／又は配列番号１２、１５、１８、７０、

７８に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号１３、１６、１９、７１、７９に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２；及び配列番号１４、１７、２０、７２、８０に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３をその配列に含む第二結合ドメインを含む。

【００２６】

本発明の一実施態様（１２）は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号２１、２４、２７、２８、２９、３２、７３、８１に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号２２、２５、３０、３３、７４、８２に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２；及び配列番号２３、２６、３１、３４、７５、８３に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン（抗体ドメイン）；及び／又は配列番号１２、１５、１８、７０、７８に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号１３、１６、１９、７１、７９に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２；及び配列番号１４、１７、２０、７２、８０に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３をその配列に含む第二結合ドメインを含む。

【００２７】

本発明の一実施態様（１３）は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号２１、２４、２７、２８、２９、３２に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９８％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号２２、２５、３０、３３に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２；及び配列番号２３、２６、３１、３４に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン；及び／又は配列番号１２、１５、１８に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号１３、１６、１９に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２；及び配列番号１４、１７、２０に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３をその配列に含む第二結合ドメインを含む。

【００２８】

本発明の一実施態様（１４）は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号２１、２４、２７、２８、２９、３２に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９８％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号２２、２５、３０、３３に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２；及び配列番号２３、２６、３１、３４に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９８％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン；及び／又は配列番号１２、１５、１８に示されるアミノ酸

配列を持つＣＤＲ１；配列番号１３、１６、１９に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９８％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２；及び配列番号１４、１７、２０に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３をその配列に含む第二結合ドメインを含む。

【００２９】

本発明の一実施態様（１５）は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号２１、２４、２７、２８、２９、３２、７３、８１，９３，１０１又は１０６に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号２２、２５、３０、３３、７４、８２，９４、１０２、又は１０７に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２；及び配列番号２３、２６、３１、３４、７５、８３、９５、１０３、又は１０８に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン；及び／又は配列番号１２、１５、１８、７０、７８、８９，又は９８に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１；配列番号１３、１６、１９、７１、７９、９０、９９，又は１１５に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２；及び配列番号１４、１７、２０、７２、８０、９１，又は１００に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第二結合ドメインを含む。

【００３０】

本発明の一実施態様（１６）は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号２１に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも７６％、特に少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号２２に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％、特に９８％、特に９９％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２，及び配列番号２１に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも６６％、特に少なくとも７０％、特に少なくとも７５％、特に少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン、及び／又は配列番号１２に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％、特に９８％、特に９９％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号１３に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８８％、特に少なくとも９０％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号１４に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも６６％、特に少なくとも７０％、特に少なくとも７５％、特に少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第二結合ドメインを含む。

【００３１】

本発明の一実施態様（１７）は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトー

プ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号２４，又は配列番号２７、又は配列番号２８に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８８％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号２５に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％、特に９８％、特に９９％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２，及び配列番号２６に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも６６％、特に少なくとも７０％、特に少なくとも７５％、特に少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン、及び／又は配列番号１２に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％、特に９８％、特に９９％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号１３に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８８％、特に少なくとも９０％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号１４に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも６６％、特に少なくとも７０％、特に少なくとも７５％、特に少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第二結合ドメインを含む。

【００３２】

本発明の一実施態様（１８）は、第一結合ドメインを含む実施態様（１５）に記載される、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分に関し、ここでＣＤＲ１は配列番号２７に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８８％同一であるアミノ酸配列を有する。

【００３３】

本発明の一実施態様（１９）は、第一結合ドメインを含む実施態様（１５）に記載される、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分に関し、ここでＣＤＲ１は配列番号２８に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８８％同一であるアミノ酸配列を有する。

【００３４】

本発明の一実施態様（２０）は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号２９に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号３０に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２，及び配列番号３１に示されるアミノ酸配を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン、及び／又は配列番号１５に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％、特に９８％、特に９９％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号１６に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９４％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号１７に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも６０％、特に少なくとも７０％、特に少なくとも７５％、特に少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第二結合ドメインを含む。

【００３５】

本発明の一実施態様（２１）は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウ

タンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号３２に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号３３に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２，及び配列番号３４に示されるアミノ酸配を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン、及び／又は配列番号１８に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％、特に９８％、特に９９％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号１９に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％又は９９％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号２０に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも６３％、特に少なくとも７０％、特に少なくとも７５％、特に少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第二結合ドメインを含む。

【００３６】

本発明の一実施態様（２２）は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号７３に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号７４に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２，及び配列番号７５に示されるアミノ酸配又はそれに対して少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン、及び／又は配列番号７０に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％、特に９８％、特に９９％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号７１に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号７２に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第二結合ドメインを含む。

【００３７】

本発明の一実施態様（２３）は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号８１に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号８２に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２，及び配列番号８３に示されるアミノ酸配又はそれに対して少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン、及び／又は配列番号７８に示されるアミノ酸配列を持つＣＤ

Ｒ１、配列番号７９に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号８０に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第二結合ドメインを含む。

【００３８】

本発明の一実施態様（２４）は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号９３に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号９４に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２，及び配列番号９５に示されるアミノ酸配又は上のＣＤＲの何れか一に対して少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン、及び／又は配列番号８９に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号９０に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号９１に示されるアミノ酸配列又は上のＣＤＲの何れか一に対して少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第二結合ドメインを含む。

【００３９】

本発明の一実施態様（２５）は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号１０１に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号１０２に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２，及び配列番号１０３に示されるアミノ酸配又は上のＣＤＲの何れか一に対して少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン、及び／又は配列番号９８に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号９９に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号１００に示されるアミノ酸配列又は上のＣＤＲの何れか一に対して少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第二結合ドメインを含む。

【００４０】

本発明の一実施態様（２６）は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特

に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号１０６に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号１０７に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２，及び配列番号１０８に示されるアミノ酸配又は上のＣＤＲの何れか一に対して少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第一結合ドメイン、及び／又は配列番号８９に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ１、配列番号１１５に示されるアミノ酸配列を持つＣＤＲ２、及び配列番号９１に示されるアミノ酸配列又は上のＣＤＲの何れか一に対して少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を持つＣＤＲ３を配列に含む第二結合ドメインを含む。

【００４１】

その他の実施態様（２７）において、本発明は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号６、７、８、９、１０、１１に示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン、及び／又は配列番号１、２、３、４、５に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８５％同一であるアミノ酸配列を含む第二結合ドメインを含む。

一実施態様（２８）において、本発明は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号６、７、８、９、１０、１１に示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン、及び／又は配列番号１、２、３、４、５に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８５％同一であるアミノ酸配列を含む第二結合ドメインを含む。

【００４２】

本発明の一実施態様（２９）は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号６、７、８、９、１０、１１に示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン（抗体ドメイン）、及び／又は配列番号１、２、３、４、５に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８５％

同一であるアミノ酸配列を含む第二結合ドメインを含む。

【００４３】

その他の実施態様（３０）において、本発明は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号６９、７７、１１６／９２、９７、１０５に示されるアミノ酸配列又はそれに対して特に少なくとも８５％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン、及び／又は配列番号６８、７６、８８、９６、１０４に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％、特に少なくとも８５％、特に少なくとも８６％、特に少なくとも８７％、特に少なくとも８８％、特に少なくとも８９％、特に少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、特に少なくとも９５％、特に少なくとも９６％、特に少なくとも９７％、特に少なくとも９８％、特に少なくとも９９％又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む第二結合ドメインを含む。

【００４４】

本発明の一実施態様（３１）は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号６又は配列番号７に示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも９０％及び９４％それぞれ同一であるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン、及び／又は配列番号１に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９１％同一であるアミノ酸配列を含む第二結合ドメインを含む。

【００４５】

本発明の一実施態様（３２）は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号８に示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも９５％同一であるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン、及び／又は配列番号２に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む第二結合ドメインを含む。

本発明の一実施態様（３３）は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号９に示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも９５％同一であるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン、及び／又は配列番号３に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む第二結合ドメインを含む。

【００４６】

本発明の一実施態様（３４）は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号１０に示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン、及び／又は配列番号４に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８９％同一であるアミノ酸配列を含む第二結合ドメインを含む。

本発明の一実施態様（３５）は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号１１に示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも９８％同一であるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン、及び／又は配列番号５に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８７％同一であるアミノ酸配列を含む第二結合ドメインを含む。

本発明の一実施態様（３６）は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号６９に示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも９８％又は９９％同一であるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン；及び／又は配列番号６８に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９０％、９１％、９２％又は９３％同一であるアミノ酸配列を含む第二結合ドメインを含む。

【００４７】

本発明の一実施態様（３７）は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号７７に示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも９３％、９４％又は９５％同一であるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン；及び／又は配列番号７６に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８８％、８９％、又は９０％同一であるアミノ酸配列を含む第二結合ドメインを含む。

【００４８】

本発明の一実施態様（３８）は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号１１６、９２、又は１１８に示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも９３％、９４％又は９５％同一であるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン；及び／又は配列番号８８に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９０％、９１％、９２％又は９３％同一であるアミノ酸配列を含む第二結合ドメインを含む。

【００４９】
本発明の一実施態様（３９）は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号９７に示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン；及び／又は配列番号９６に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８６％、８７％、８８％又は９０％同一であるアミノ酸配列を含む第二結合ドメインを含む。

【００５０】
本発明の一実施態様（４０）は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで前記結合ペプチド又は抗体は、配列番号１０５に示されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも９８％又は９９％同一であるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン；及び／又は配列番号１０４に示されるアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８８％、８９％、又は９０％同一であるアミノ酸配列を含む第二結合ドメインを含む。

【００５１】
その他の実施態様（４１）において、本発明は、実施態様（２２）－（２４）に記載される、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分に関し、ここで前記第一結合ドメインは配列番号２１－３４に示されるＣＤＲを含み、前記第二結合ドメインは配列番号１２－２０に示されるＣＤＲを含む。

【００５２】
本発明の一実施態様（４２）は、実施態様（３１）に記載される、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分に関し、ここで前記第一結合ドメインは配列番号２１－２３及び配列番号２４－２６にそれぞれ示されるＣＤＲを含み、前記第二結合ドメインは配列番号１２－１４に示されるＣＤＲを含む。

【００５３】
本発明の一実施態様（４３）は、実施態様（３２）に記載される、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分に関し、ここで前記第一結合ドメインは配列番号２７、２５、２６に示されるＣＤＲを含み、前記第二結合ドメインは配列番号１２－１４に示されるＣＤＲを含む。

【００５４】
本発明の一実施態様（４４）は、実施態様（３３）に記載される、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分に関し、ここで前記第一結合ドメインは配列番号２８、２５、２６に示されるＣＤＲを含み、前記第二結合ドメインは配列番号１２－１４に示されるＣＤＲを含む。

【００５５】
本発明の一実施態様（４５）は、実施態様（３４）に記載される、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分に関し、ここで前記第一結合ドメインは配列番号２９－３１に示されるＣＤＲを含み、前記第二結合ドメインは配列番号１５－１７に示されるＣＤＲを含む。

【００５６】

本発明の一実施態様（４６）は、実施態様（３５）に記載される、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分に関し、ここで前記第一結合ドメインは配列番号３２－３４に示されるＣＤＲを含み、前記第二結合ドメインは配列番号１８－２０に示されるＣＤＲを含む。

【００５７】

本発明の一実施態様（４７）は、実施態様（２７）に記載される、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分に関し、ここで前記第一結合ドメインは配列番号７３－７５に示されるＣＤＲを含み、前記第二結合ドメインは配列番号７０－７２に示されるＣＤＲを含む。

【００５８】

本発明の一実施態様（４８）は、実施態様（２７）に記載される、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分に関し、ここで前記第一結合ドメインは配列番号８１－８３に示されるＣＤＲを含み、前記第二結合ドメインは配列番号７８－８０に示されるＣＤＲを含む。

【００５９】

本発明の一実施態様（４９）は、実施態様（２７）に記載される、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分に関し、ここで前記第一結合ドメインは配列番号１０１－１０３に示されるＣＤＲを含み、前記第二結合ドメインは配列番号９８－１００に示されるＣＤＲを含む。

【００６０】

本発明の一実施態様（５０）は、実施態様（２７）に記載される、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分に関し、ここで前記第一結合ドメインは配列番号８９、１１５、及び９１に示されるＣＤＲを含み、前記第二結合ドメインは配列番号１０６－１０８に示されるＣＤＲを含む。

【００６１】

更に別の実施態様（５１）において、本発明は、結合ペプチド又はタンパク質又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、特に前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチド又は抗体に関し、その結合ペプチド又は抗体は哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで前記結合ペプチド又は抗体は、

ａ．配列番号６に示されるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン及び／又は配列番号１に示されるアミノ酸配列を含む第二結合ドメイン；又は

ｂ．配列番号７に示されるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン及び／又は配列番号１に示されるアミノ酸配列を含む第二結合ドメイン；又は

ｃ．配列番号８に示されるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン及び／又は配列番号２に示されるアミノ酸配列を含む第二結合ドメイン；又は

ｄ．配列番号９に示されるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン及び／又は配列番号３に示されるアミノ酸配列を含む第二結合ドメイン；又は

ｅ．配列番号１０に示されるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン及び／又は配列番号４に示されるアミノ酸配列を含む第二結合ドメイン；又は

ｆ．配列番号１１に示されるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン及び／又は配列番号５に示されるアミノ酸配列を含む第二結合ドメイン；又は

ｇ．配列番号６９に示されるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン及び／又は配列番号６８に示されるアミノ酸配列を含む第二結合ドメイン；又は

ｈ．配列番号７７に示されるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン及び／又は配列番号７６に示されるアミノ酸配列を含む第二結合ドメイン；又は

ｉ．配列番号１１６に示されるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン及び／又は配列番号８８に示されるアミノ酸配列を含む第二結合ドメイン；又は

ｊ．配列番号９２に示されるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン及び／又は配列番号８８に示されるアミノ酸配列を含む第二結合ドメイン；又は
ｋ．配列番号９７に示されるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン及び／又は配列番号６に示されるアミノ酸配列を含む第二結合ドメイン；又は
ｌ．配列番号１０５に示されるアミノ酸配列を含む第一結合ドメイン及び／又は配列番号１０４に示されるアミノ酸配列を含む第二結合ドメイン
を含む。

【００６２】

本発明の一実施態様（５２）において、前述の実施態様の何れかに記載の結合ペプチドは、抗体、特にＩｇＧ２ａ、ＩｇＧ２ｂ又はＩｇＧ３アイソタイプの抗体、特にポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、又は完全ヒト抗体である。本発明の一実施態様（４８）は、前述の実施態様の何れか一に記載の結合ペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する。

【００６３】

一実施態様（５３）において、前記ポリヌクレオチドは、
ａ．配列番号３１－４５、配列番号８４－８７、配列番号１０９－１１２及び１１７に示されるアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸分子
ｂ．配列番号３１－４５、配列番号８４－８７、配列番号１０９－１１２及び１１７に示されるアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む核酸分子
ｃ．配列番号３１－４５、配列番号８４－８７、配列番号１０９－１１２及び１１７に示されるアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む核酸分子
ｄ．配列番号３５－４５、配列番号８４－８７、配列番号１０９－１１２及び１１７に示されるアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む核酸分子
ｅ．配列番号３５－４５、配列番号８４－８７、配列番号１０９－１１２及び１１７に示されるアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む核酸分子
ｆ．配列番号３５－４５、配列番号８４－８７、配列番号１０９－１１２及び１１７に示されるアミノ酸配列に対して少なくとも９９％の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む核酸分子
ｇ．ａ）－ｆ）の何れかに記載の核酸分子にハイブリダイズする相補鎖の核酸配列を含む核酸分子；
ｈ．遺伝コードの縮重によって、ａ）－ｇ）の何れかに定められた核酸配列から逸脱するヌクレオチド配列を含む核酸分子
からなる群から選択される核酸分子を含む。

【００６４】

ここで、ａ）－ｈ）の何れかに定められた前記核酸分子は、哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片、特に配列番号６７に示され、リン酸化Ｔｙｒを位置１８に含む（Ｙ１８）タウのａａ１５－２０、リン酸化Ｓｅｒを位置４０９に含む（ｐＳ４０９）タウのａａ４０５－４１２、リン酸化Ｓｅｒを位置４０９に含む（ｐＳ４０９）タウのａａ４０５－４１１、リン酸化Ｔｈｒを位置２１２（ｐＴ２１２）及びリン酸化Ｓｅｒを位置２１４（ｐＳ２１４）に含むタウのａａ２０８－２１８、リン酸化Ｓｅｒを位置３９６（ｐＳ３９６）に含むタウのａａ３９３－４０１、リン酸化Ｓｅｒを位置３９６（ｐＳ３９６）に含むタウのａａ３９６－４０１、リン酸化Ｓｅｒを位置３９６（ｐＳ３９６）に含むタウのａａ３９４－４００、リン酸化Ｓｅｒを位置４０４（ｐＳ４０４）に含むタウのａａ４０２－４０６、及びリン酸化Ｓｅｒを位置３９６（ｐＳ３９６）に含むタウのａａ３９３－４００から選択される、ヒトタウタンパク質上のリン酸化エピトープを認識し、特異的に結合し、ここで、一実施態様において、前記結合ペプチドは少なくとも１０ｎＭ、

特に少なくとも８ｎＭ、特に少なくとも５ｎＭ、特に少なくとも２ｎＭ、特に少なくとも１ｎＭ、特に少なくとも５００ｐＭ、特に少なくとも４００ｐＭ、特に少なくとも３００ｐＭ，特に少なくとも２００ｐＭ、特に少なくとも１００ｐＭ、特に少なくとも５０ｐＭの解離定数を持つ高い結合親和性を有し、及び／又は$10^4 M^{-1} s^{-1}$以上、特に３－５×$10^4 M^{-1} s^{-1}$の間又はそれ以上、特に$10^5 M^{-1} s^{-1}$以上；特に６－９×$10^5 M^{-1} s^{-1}$以上；特に$10^6 M^{-1} s^{-1}$以上、特に１－４×$10^6 M^{-1} s^{-1}$以上、特に$10^7 M^{-1} s^{-1}$以上の会合定数を有するが、一実施態様において、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合しない。

【００６５】

本発明の様々な実施態様（５４）において、哺乳動物、例えば、神経原線維変化及び変性神経突起における主要構造である対らせん状細線維（ＰＨＦ）に存在する、特にヒトタウタンパク質、特に微小管結合タンパク質タウ、特に凝集微小管結合型かつ高リン酸化タンパク質タウのリン酸化エピトープを特異的に認識しかつ結合することができるが、一実施態様においては、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合しない、前述の実施態様の何れか一又はその組み合わせに記載される結合ペプチド又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、又はポリヌクレオチドが与えられる。

【００６６】

本発明の特定の実施態様（５５）において、ヒトタウタンパク質は、配列番号６７に示されるヒトタウタンパク質である。

【００６７】

従って、前述の実施態様の何れか一に記載の結合ペプチド又は抗体は、可溶性タウタンパク質及び／又は可溶性リン酸化タウタンパク質の増加したレベルを含む、哺乳動物又はヒトの脳、大脳皮質及び／又は海馬において、全可溶性タウタンパク質、特に可溶性リン酸化タウタンパク質のレベルを下げるために用いることができる（５６）。

【００６８】

前述の実施態様の何れか一に記載の結合ペプチド又は抗体はまた、前記ｐＴａｕ対らせん状細線維（ｐＴａｕ　ＰＨＦ）の増加したレベルを含む、哺乳動物又はヒトの脳、大脳皮質及び／又は海馬において、高リン酸化タウタンパク質を含む対らせん状細線維（ｐＴａｕ　ＰＨＦ）のレベルを下げるために用いることができる（５７）。

【００６９】

前記哺乳動物又はヒトのタウタンパク質関連の疾患、障害又は病態の一因である、前記タウタンパク質変異体の増加したレベルを含む哺乳動物又はヒトの脳、特に大脳皮質及び／又は海馬において、全可溶性タウタンパク質及び／又は可能性リン酸化タウタンパク質及び／又はｐＴａｕ対らせん状細線維（ｐＴａｕ　ＰＨＦ）のレベルの減少は、そうしたタウタンパク質関連の疾患、障害又は病態に関連した症状の改善及び／又は緩和へと導き得る（５８）。

【００７０】

従って、前述の実施態様の何れか一に記載の結合ペプチド又は抗体は、タウタンパク質関連の疾患、障害又は病態の進行を遅らせるか、又は停止するために、治療、特にヒトの治療において用いることができる（５９）。

【００７１】

更に、前述の実施態様の何れか一に記載の結合ペプチド又は抗体は、タウタンパク質関連の疾患、障害又は病態に関連した症状、例えば、推論、状況判断、記憶容量、学習、特別なナビゲーションなどを含む認知機能の障害又は喪失の改善又は緩和のために、治療、特にヒトの治療において用いることができる（６０）。

【００７２】

一実施態様（６１）において、本発明は、治療における使用のための、特にタウタンパク質関連疾患又は障害の群であるタウオパチーの治療における使用のための、又はタウオパチーに関連した症状を緩和するための、前述の実施態様の何れか一に記載される結合ペ

プチド又は抗体に関する。

【００７３】

一実施態様（６２）において、本発明は、タウオパチーに罹患する哺乳動物における認知的記憶容量を維持または増加させるために、前述の実施態様の何れか一に記載される結合ペプチド又は抗体に関する。

【００７４】

本発明の特定の実施態様（６３）において、配列番号２５、２６、２７、及び配列番号２１、２２、２３にぞれぞれ与えられる抗体ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１，及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２の軽鎖ＣＤＲの少なくとも一又は全て、及び／又は配列番号１２、１３、１４に与えられる抗体ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１，及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２の重鎖ＣＤＲの少なくとも一又は全てを含む結合ペプチド又は抗体が、タウタンパク質関連の疾患、障害又は病態に関連した症状、例えば、推論、状況判断、記憶容量、学習、特別なナビゲーションなどを含む認知機能の障害又は喪失の改善又は緩和のために、治療、特にヒトの治療において用いることができる。

【００７５】

本発明の別の実施態様（６４）において、配列番号８、及び配列番号６、７にぞれぞれ与えられる抗体ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１，及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２の軽鎖、及び／又は配列番号１及び配列番号２に与えられる抗体ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１２、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１，及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２の重鎖を含む抗体が、タウタンパク質関連の疾患、障害又は病態に関連した症状、例えば、推論、状況判断、記憶容量、学習、特別なナビゲーションなどを含む認知機能の障害又は喪失の改善又は緩和のために、治療、特にヒトの治療において用いることができる。

【００７６】

本発明の別の実施態様（６５）において、配列番号２９、３０、３１に与えられる抗体ＡＣＩ－３３－６Ｃ１０－Ａｂ１及びＡＣＩ－３３－６Ｃ１０－Ａｂ２の軽鎖ＣＤＲの少なくとも一又は全て、及び／又は配列番号１５、１６、１７に与えられる抗体ＡＣＩ－３３－６Ｃ１０－Ａｂ１及びＡＣＩ－３３－６Ｃ１０－Ａｂ２の重鎖ＣＤＲの少なくとも一又は全てを含む結合ペプチド又は抗体が、タウタンパク質関連の疾患、障害又は病態に関連した症状、例えば、推論、状況判断、記憶容量、学習、特別なナビゲーションなどを含む認知機能の障害又は喪失の改善又は緩和のために、治療、特にヒトの治療において用いることができる。

【００７７】

本発明の別の実施態様（６６）において、配列番号３２、３３、３４に与えられる抗体ＡＣＩ－４１－７Ｃ２－Ａｂ１及びＡＣＩ－４１－７Ｃ２－Ａｂ２の軽鎖ＣＤＲの少なくとも一又は全て、及び／又は配列番号１８、１９、２０に与えられる抗体ＡＣＩ－４１－７Ｃ２－Ａｂ１及びＡＣＩ－４１－７Ｃ２－Ａｂ２の重鎖ＣＤＲの少なくとも一又は全てを含む結合ペプチド又は抗体が、タウタンパク質関連の疾患、障害又は病態に関連した症状、例えば、推論、状況判断、記憶容量、学習、特別なナビゲーションなどを含む認知機能の障害又は喪失の改善又は緩和のために、治療、特にヒトの治療において用いることができる。

【００７８】

本発明の特定の実施態様（６７）において、配列番号７３－７５、８１－８３、９３－９５、１０１－１０３、１０６－１０８に与えられる抗体ＡＣＩ－３５－２Ａ１－Ａｂ１；ＡＣＩ－３５－２Ａ１－Ａｂ２；ＡＣＩ－３５－４Ａ６－Ａｂ１；ＡＣＩ－３５－４Ａ６－Ａｂ２；ＡＣＩ－３５－１Ｄ２－Ａｂ１；ＡＣＩ－３５－２Ｇ５－Ａｂ１の軽鎖ＣＤＲの少なくとも一又は全て、及び／又は配列番号７０－７２、７８－８０、８９－９１、９８－１００に与えられる抗体ＡＣＩ－３５－２Ａ１－Ａｂ１；ＡＣＩ－３５－２Ａ１－

Ａｂ２；ＡＣＩ－３５－４Ａ６－Ａｂ１；ＡＣＩ－３５－４Ａ６－Ａｂ２；ＡＣＩ－３５－１Ｄ２－Ａｂ１；ＡＣＩ－３５－２Ｇ５－Ａｂ１の重鎖ＣＤＲの少なくとも一又は全てを含む結合ペプチド又は抗体が、タウタンパク質関連の疾患、障害又は病態に関連した症状、例えば、推論、状況判断、記憶容量、学習、特別なナビゲーションなどを含む認知機能の障害又は喪失の改善又は緩和のために、治療、特にヒトの治療において用いることができる。

【００７９】

本発明の別の実施態様（６８）において、配列番号１０６－１０８に与えられる抗体ＡＣＩ－３５－２Ｇ５－Ａｂ２；ＡＣＩ－３５－２Ｇ５－Ａｂ３の軽鎖ＣＤＲの少なくとも一又は全て、及び／又は配列番号８９、１１５、９１に与えられる抗体ＡＣＩ－３５－２Ｇ５－Ａｂ２；ＡＣＩ－３５－２Ｇ５－Ａｂ３の重鎖ＣＤＲの少なくとも一又は全てを含む結合ペプチド又は抗体が、タウタンパク質関連の疾患、障害又は病態に関連した症状、例えば、推論、状況判断、記憶容量、学習、特別なナビゲーションなどを含む認知機能の障害又は喪失の改善又は緩和のために、治療、特にヒトの治療において用いることができる。脳のタウ濃縮体又はｐＴａｕに対する前述の実施態様に記載のペプチド又は抗体の結合は、選択された脳切片のタンパク質免疫反応性試験を適用することにより及び脳ホモジネートのウエスタンブロッティングにより、それぞれ実施例に記載されるように決定され得る。

【００８０】

その他の実施態様（６９）において、本発明は、前述の実施態様の何れか一に記載される、結合ペプチド又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、又はポリヌクレオチド、又はそれらの組み合わせを、薬学的に許容される担体と一緒に治療的有効量含有する薬学的組成物を提供する。

【００８１】

一実施態様（７０）において、前述の実施態様の何れか一に記載される、結合ペプチド又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、又はポリヌクレオチド、又は薬学的組成物、又はそれらの組み合わせは、タウオパチーなどの神経変性疾患を含むタウタンパク質関連の疾患又は障害の症状の治療又は緩和のために、治療、特にヒトの治療において用いられる。

【００８２】

従って、前述の実施態様の何れか一に記載される結合ペプチド、抗体及び／又は薬学的組成物は、前記結合ペプチド、抗体及び／又は薬学的組成物を、そうした疾患又は状態に罹患した動物、特に哺乳動物、特にヒトに対して投与して、タウタンパク質関連疾患、障害又は病態の進行を遅らせるか又は停止させるために用いられ得る（７１）。

【００８３】

更に、前述の実施態様の何れか一に記載される結合ペプチド、抗体及び／又は薬学的組成物は、前記結合ペプチド、抗体及び／又は薬学的組成物を、そうした疾患又は状態に罹患した動物、特に哺乳動物、特にヒトに対して投与して、タウタンパク質関連の疾患、障害又は病態に関連した症状、例えば、推論、状況判断、記憶容量、学習、特別なナビゲーションなどを含む認知機能の障害又は喪失を改善し又は緩和するために用いられ得る（７２）。

【００８４】

一実施態様（７３）において、前述の実施態様の何れか一に記載される結合ペプチド又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、又はポリヌクレオチド又は薬学的組成物、又はそれらの組み合わせは、アルツハイマー病、クロイツフェルト・ヤコブ病、ボクサー痴呆、ダウン症候群、ゲルストマン－シュトロイスラー－シャインカー病、封入体筋炎、およびプリオンタンパク質脳アミロイド血管障害、外傷性脳損傷を含むがこれらに限定されないタウ及びアミロイド病理の共存を示す疾患又は障害、及び、筋萎縮性側索硬化症／グアムのパーキンソニズム－認知症複合、神経原線維変化を伴う非グアム型運動ニューロン疾患、嗜銀顆粒性認知症、皮質基底核変性症、石灰化を

伴うびまん性神経原線維変化、第１７染色体に連鎖したパーキンソニズムを伴う前頭側頭型認知症、ハレルフォルデン－スパッツ病、多系統萎縮症、Ｃ型ニーマン－ピック病、淡蒼球－橋－黒質変性（Ｐａｌｌｉｄｏ－ｐｏｎｔｏ－ｎｉｇｒａｌ　ｄｅｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ）、ピック病、進行性皮質下グリオーシス、進行性核上麻痺、亜急性硬化性全脳炎、神経原線維変化型認知症、脳炎後パーキンソニズム、筋緊張性ジストロフィーを含むがこれらに限定されない、明確なアミロイド病理を示さない更なる疾患又は障害を含む神経変性疾患又は障害の不均一な群を含む、タウオパチーにおける優勢な脳病理である神経原線維の形成によって引き起こされる又は関連する疾患及び障害の治療に使用される。

【００８５】

一実施態様（７４）において、前述の実施態様の何れか一に記載される、結合ペプチド又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、又はポリヌクレオチド、又は薬学的組成物、又はそれらの組み合わせは、アルツハイマー病の治療において治療において用いられる。

【００８６】

本発明の一実施態様（７５）において、前述の実施態様の何れか一に記載される結合ペプチド又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、又はポリヌクレオチド又は薬学的組成物、又はそれらの組み合わせを前記動物、特に前記哺乳動物又はヒトに投与することを含み、特に、動物、特に哺乳動物又はヒトの脳、特に大脳皮質及び／又は海馬において、可溶性及び／又は不溶性Ｔａｕレベルを調節するための方法が提供される。

【００８７】

一態様において、調節は、可溶性タウタンパク質及び／又は可溶性リン酸化タウタンパク質の増加したレベルを含む、哺乳動物又はヒトの脳、大脳皮質及び／又は海馬において、可溶性タウタンパク質、特に可溶性リン酸化タウタンパク質のレベルを下げることに関する。

【００８８】

本発明の一実施態様（７６）において、前述の実施態様の何れか一に記載される結合ペプチド又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、又はポリヌクレオチド又は薬学的組成物、又はそれらの組み合わせを前記動物、特に前記哺乳動物又はヒトに投与することを含み、不溶性タウタンパク質、特にｐＴａｕ対らせん状細線維（ｐＴａｕＰＨＦ）の増加したレベルを含む、動物、特に哺乳動物又はヒトの脳、特に大脳皮質及び／又は海馬において、不溶性タウタンパク質、特に高リン酸化タウタンパク質を含む対らせん状細線維（ｐＴａｕＰＨＦ）のレベルを下げるための方法が提供される。

【００８９】

一実施態様（７７）において、本発明は、そうした疾患又は状態に罹患した前記動物、特に前記哺乳動物又はヒトに対して、前述の実施態様の何れか一に記載される、結合ペプチド又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、ポリヌクレオチド又は薬学的組成物、又はそれらの組み合わせを投与することを含む、動物、特に哺乳動物又はヒトにおいてタウタンパク質関連疾患、障害又は病態の進行を遅らせ又は停止させるための方法に関する。

【００９０】

一実施態様（７８）において、本発明は、そうした疾患又は状態に罹患した前記動物、特に前記哺乳動物又はヒトに対して、前述の実施態様の何れか一に記載される、結合ペプチド又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、ポリヌクレオチド又は薬学的組成物、又はそれらの組み合わせを投与することを含み、動物、特に哺乳動物又はヒトにおける、例えば、推論、状況判断、記憶容量、学習、特別なナビゲーションなどを含む認知機能の障害又は喪失などのタウタンパク質関連疾患、障害又は病態に関連した症状を改善し又は緩和するための方法に関する。

【００９１】

一実施態様（７９）において、本発明はタウオパチーに罹患した哺乳動物において認知記憶容量を保持するか又は増加させるための方法に関する。

【００９２】

更に別の実施態様（８０）において、本発明は、そうした疾患又は状態に罹患した動物、特に哺乳動物、しかし特にヒトに対して、前述の実施態様の何れか一に記載される、結合ペプチド又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、ポリヌクレオチド又は薬学的組成物、又はそれらの組み合わせを投与することを含む、タウオパチーなどの神経変性疾患又は障害を含む、タウタンパク質に関連する疾患又は障害の治療のための方法が与えられる。

【００９３】

本発明の一実施態様（８１）において、アルツハイマー病、クロイツフェルト・ヤコブ病、ボクサー痴呆、ダウン症候群、ゲルストマン－シュトロイスラー－シャインカー病、封入体筋炎、およびプリオンタンパク質脳アミロイド血管障害、外傷性脳損傷を含むがこれらに限定されないタウ及びアミロイド病理の共存を示す疾患又は障害、及び、筋萎縮性側索硬化症／グアムのパーキンソニズム－認知症複合、神経原線維変化を伴う非グアム型運動ニューロン疾患、嗜銀顆粒性認知症、皮質基底核変性症、石灰化を伴うびまん性神経原線維変化、第１７染色体に連鎖したパーキンソニズムを伴う前頭側頭型認知症、ハレルフォルデン－スパッツ病、多系統萎縮症、Ｃ型ニーマン－ピック病、淡蒼球－橋－黒質変性（Ｐａｌｌｉｄｏ－ｐｏｎｔｏ－ｎｉｇｒａｌ　ｄｅｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ）、ピック病、進行性皮質下グリオーシス、進行性核上麻痺、亜急性硬化性全脳炎、神経原線維変化型認知症、脳炎後パーキンソニズム、筋緊張性ジストロフィーを含むがこれらに限定されない、明確なアミロイド病理を示さない更なる疾患又は障害を含む神経変性疾患又は障害の不均一な群を含む、タウオパチーにおける優勢な脳病理である神経原線維の形成によって引き起こされる又は関連する疾患及び障害の治療のための方法が提供され、その方法は、そうした疾患又は障害に罹患した、動物、特に哺乳動物、しかし特にヒトに対して、前述の実施態様の何れか一に記載される結合ペプチド又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、又はポリヌクレオチド又は薬学的組成物、又はそれらの組み合わせを投与することを含む。

【００９４】

本発明の別の実施態様（８２）において、前述の実施態様の何れか一に記載される結合ペプチド又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、又はポリヌクレオチド又は薬学的組成物、又はそれらの組み合わせを前記動物又はヒトに投与することにより、タウオパチーなどの神経変性疾患に罹患した動物、特に哺乳動物又はヒトにおいて受動免疫応答を誘導するための方法が提供される。

【００９５】

本発明の更に別の実施態様（８３）において、前述の実施態様の何れか一に記載の結合ペプチド又はその活性断片、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分の、サンプル中で又はインサイツでタウタンパク質のエピトープへの免疫特異的結合を検出することを含む、患者のタウタンパク質関連疾患、障害又は病態を診断する方法が提供され、

ａ．タウタンパク質を含有すると疑われるサンプル又は特定の体の部分又は体の領域を、前述の実施態様の何れか一に記載される結合ペプチド又は又はその断片、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分と接触させ、ここで前記結合ペプチド又は抗体又はその断片はタウタンパク質のエピトープに結合し；

ｂ．前記結合ペプチド、特に前記抗体、特に前記モノクローナル抗体又はその機能性部分をタウタンパク質に結合させ、免疫複合体を形成させ；

ｃ．免疫複合体の形成を検出し；そして

ｄ．サンプル中又は特定の体の部分又は領域において、免疫複合体の存在又は欠損をタウタンパク質の存在又は欠損と相関させる

工程を含む。

【００９６】
本発明の更に別の実施態様（８４）において、前述の実施態様の何れか一に記載の結合ペプチド又はその活性断片、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分の、サンプル中で又はインサイツでタウタンパク質のエピトープへの免疫特異的結合を検出することを含む、患者のタウタンパク質関連疾患、障害又は病態に対する素因を診断するための方法が提供され、
ａ．タウ抗原含有すると疑われるサンプル又は特定の体の部分又は体の領域を、前述の実施態様の何れか一に記載される結合ペプチド又は又はその活性断片、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分と接触させ、そのペプチド又はその断片はタウタンパク質のエピトープに結合し；
ｂ．前記結合ペプチド、特に前記抗体、特に前記モノクローナル抗体又はその機能性部分をタウ抗原に結合させ、免疫複合体を形成させ；
ｃ．免疫複合体の形成を検出し；そして
ｄ．サンプル中又は特定の体の部分又は領域において、免疫複合体の存在又は欠損をタウ抗原の存在又は欠損と相関させ；
ｅ．前記免疫複合体の量を正常コントロール値と比較する；
工程を含み、
ここで、正常コントロール値と比較して前記凝集体の量の増加は、前記患者が、タウタンパク質関連疾患又は状態に罹患しているか又は発症するリスクであることを示している。
【００９７】
本発明の一実施態様（８５）において、前述の実施態様の何れか一に記載される、結合ペプチド又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、又はポリヌクレオチド、又は薬学的組成物による治療の後で患者の微小残存病変（ｍｉｎｉｍａｌ　ｒｅｓｉｄｕａｌ　ｄｉｓｅａｓｅ）を監視するための方法が提供され、ここで前記方法は、
ａ．タウ抗原含有すると疑われるサンプル又は特定の体の部分又は体の領域を、前述の実施態様の何れか一に記載される結合ペプチド又は又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分と接触させ、そのペプチド又はその断片はタウタンパク質のエピトープに結合し；
ｂ．前記結合ペプチド、特に前記抗体、特に前記モノクローナル抗体又はその機能性部分をタウ抗原に結合させ、免疫複合体を形成させ；
ｃ．免疫複合体の形成を検出し；そして
ｄ．サンプル中又は特定の体の部分又は領域において、免疫複合体の存在又は欠損をタウ抗原の存在又は欠損と相関させ、
ｅ．前記免疫複合体の量を正常コントロール値と比較する、
工程を含み、
ここで、正常コントロール値と比較して前記凝集体の量の増加は、前記患者が、微小残存病変（ｍｉｎｉｍａｌ　ｒｅｓｉｄｕａｌ　ｄｉｓｅａｓｅ）になお罹患していることを示している。
【００９８】
一実施態様（８６）において、前述の実施態様の何れか一に記載される、結合ペプチド又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、又はポリヌクレオチド、又は薬学的組成物による治療される患者の応答性を予測するための方法が提供され、
ａ．タウ抗原含有すると疑われるサンプル又は特定の体の部分又は体の領域を、前述の実施態様の何れか一に記載される結合ペプチド又は又はその活性断片、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分と接触させ、そのペプチド又はその断片はタウタンパク質のエピトープに結合し；
ｂ．前記結合ペプチド、特に前記抗体、特に前記モノクローナル抗体又はその機能性部分をタウ抗原に結合させ、免疫複合体を形成させ；

ｃ．免疫複合体の形成を検出し；そして
ｄ．サンプル中又は特定の体の部分又は領域において、免疫複合体の存在又は欠損をタウ抗原の存在又は欠損と相関させ、
ｅ．治療開始前と後で前記免疫複合体の量を比較する、
ことを含み、
ここで、前記凝集体の量の減少は、前記患者が治療に対して応答する高い可能性を有していることを示す。

【００９９】
その他の実施態様（８７）において、本発明は、前述の実施態様の何れか一に記載される結合ペプチド又はその活性断片、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分を含む、タウタンパク質関連疾患、障害又は病態の検出及び診断のための試験キットに関する。

【０１００】
一実施態様（８８）において、前記キットは、前述の実施態様の何れか一に記載される一以上の結合ペプチド又はその活性断片、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、及び結合ペプチド又は抗体を、タウ抗原に対して結合させ、免疫複合体の存在又は欠損がタウ抗原の存在又は欠損に関連するようにその免疫複合体を形成させるために使用するための説明書を入れる容器を含む。

【０１０１】
更に別の実施態様（８９）において、本発明は、位置１８にリン酸化Ｔｙｒ（Ｙ１８）を含む配列番号６７に示されるヒトタウタンパク質のタウａａ１５－２０、位置４０９にリン酸化Ｓｅｒ（ｐＳ４０９）を含むタウａａ４０５－４１２、位置４０９にリン酸化Ｓｅｒ（ｐＳ４０９）を含むタウａａ４０５－４１１；及び位置２１２にリン酸化Ｔｈｒ（ｐＴ２１２）及び位置２１４にリン酸化Ｓｅｒ（ｐＳ２１４）を含むタウａａ２０８－２１８からなる群から選択されるエピトープに関する。

【０１０２】
一実施態様（９０）において、前記エピトープはリン酸化Ｔｙｒを位置１８（Ｙ１８）に持つタウａａ１５－２０からなる。

【０１０３】
一実施態様（９１）において、前記エピトープはリン酸化Ｓｅｒを位置４０９（ｐＳ４０９）に持つタウａａ４０５－４１２からなる。

【０１０４】
一実施態様（９２）において、前記エピトープはリン酸化Ｓｅｒを位置４０９（ｐＳ４０９）に持つタウａａ４０５－４１１からなる。

【０１０５】
その他の実施態様（９３）において、本発明は、前述の実施態様の何れか一に記載される結合ペプチド又はその活性断片、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分を生産する細胞株に関する。

【０１０６】
一実施態様（９４）において、本発明は、ＤＳＭ ＡＣＣ３０７９として２０１０年８月２５日に寄託されたハイブリドーマ細胞株６Ｃ１０Ｆ９Ｃ１２Ａ１１である細胞株に関する。

【０１０７】
一実施態様（９５）において、本発明は、ＤＳＭ ＡＣＣ３０８１として２０１０年８月２５日に寄託されたハイブリドーマ細胞株６Ｃ１０Ｅ５Ｅ９Ｃ１２である細胞株に関する。

【０１０８】
一実施態様（９６）において、本発明は、ＤＳＭ ＡＣＣ３０８０として２０１０年８月２５日に寄託されたハイブリドーマ細胞株６Ｈ１Ａ１１Ｃ１１である細胞株に関する。

【０１０９】

一実施態様（９７）において、本発明は、ＤＳＭ ＡＣＣ３０８８として２０１０年８月２５日に寄託されたハイブリドーマ細胞株６Ｈ１Ｇ６Ｅ６である細胞株に関する。

【０１１０】

一実施態様（９８）において、本発明は、ＤＳＭ ＡＣＣ３０８４として２０１０年８月２５日に寄託されたハイブリドーマ細胞株２Ｂ６Ａ１０Ｃ１１である細胞株に関する。

【０１１１】

一実施態様（９９）において、本発明は、ＤＳＭ ＡＣＣ３０８７として２０１０年８月２５日に寄託されたハイブリドーマ細胞株２Ｂ６Ｇ７Ａ１２である細胞株に関する。

【０１１２】

一実施態様（１００）において、本発明は、ＤＳＭ ＡＣＣ３０８６として２０１０年８月２５日に寄託されたハイブリドーマ細胞株３Ａ８Ａ１２Ｇ７である細胞株に関する。

【０１１３】

一実施態様（１０１）において、本発明は、ＤＳＭ ＡＣＣ３０８５として２０１０年８月２５日に寄託されたハイブリドーマ細胞株３Ａ８Ｅ１２Ｈ８である細胞株に関する。

【０１１４】

一実施態様（１０２）において、本発明は、ＤＳＭ ＡＣＣ３０８２として２０１０年８月２５日に寄託されたハイブリドーマ細胞株７Ｃ２（１）Ｆ１０Ｃ１０Ｄ３である細胞株に関する。

【０１１５】

一実施態様（１０３）において、本発明は、ＤＳＭ ＡＣＣ３０８３として２０１０年８月２５日に寄託されたハイブリドーマ細胞株７Ｃ２（２）Ｂ９Ｆ１１Ｄ５である細胞株に関する。

【０１１６】

一実施態様（１０３ａ）において、本発明は、ＤＳＭ ＡＣＣ３１３６として２０１１年８月３０日に寄託されたハイブリドーマ細胞株Ａ４－４Ａ６－４８である細胞株に関する。

【０１１７】

一実施態様（１０３ｂ）において、本発明は、ＤＳＭ ＡＣＣ３１３７として２０１１年８月３０日に寄託されたハイブリドーマ細胞株Ａ６－２Ｇ５－３０である細胞株に関する。

【０１１８】

一実施態様（１０３ｃ）において、本発明は、ＤＳＭ ＡＣＣ３１３８として２０１１年８月３０日に寄託されたハイブリドーマ細胞株Ａ６－２Ｇ５－４１である細胞株に関する。

【０１１９】

一実施態様（１０３ｄ）において、本発明は、ＤＳＭ ＡＣＣ３１３９として２０１１年８月３０日に寄託されたハイブリドーマ細胞株Ａ４－２Ａ１－１８である細胞株に関する。

【０１２０】

一実施態様（１０３ｅ）において、本発明は、ＤＳＭ ＡＣＣ３１４０として２０１１年８月３０日に寄託されたハイブリドーマ細胞株Ａ４－２Ａ１－４０である細胞株に関する。

【０１２１】

一実施態様（１０３ｅ）において、本発明は、ＤＳＭ ＡＣＣ３１４１として２０１１年９月６日に寄託されたハイブリドーマ細胞株Ａ６－１Ｄ２－１２である細胞株に関する。

【０１２２】

一実施態様（１０４）において、本発明は、

ａ．第一結合ドメインの増幅のために配列番号５４の５’プライマーと配列番号５１の３’プライマーを含むプライマー対；及び／又は

ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号５３及び配列番号５４の５’プライマーと配列番号４７の３’プライマーを含むプライマーの混合
を用いて、
２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０７９として寄託されたハイブリドーマ細胞株６Ｃ１０Ｆ９Ｃ１２Ａ１１のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、軽鎖（ＶＬ）及び／又は重鎖（ＶＨ）ドメインを含むモノクローナル抗体又はその機能性部分に関する。

【０１２３】

一実施態様（１０５）において、本発明は、
ａ．第一結合ドメインの増幅のために配列番号４８及び配列番号４９の５’プライマーと配列番号５１の３’プライマーを含むプライマーの混合；及び／又は
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号５３及び配列番号５４の５’プライマーと配列番号４７の３’プライマーを含むプライマーの混合；
を用いて、
２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０８１として寄託されたハイブリドーマ細胞株６Ｃ１０Ｅ５Ｅ９Ｃ１２のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、軽鎖（ＶＬ）及び／又は重鎖（ＶＨ）ドメインを含むモノクローナル抗体又はその機能性部分に関する。

【０１２４】

一実施態様（１０６）において、本発明は、
ａ．第一結合ドメインの増幅のために配列番号５０の５’プライマーと配列番号５１の３’プライマーを含むプライマー対；及び／又は
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号４６の５’プライマーと配列番号４７の３’プライマーを含むプライマー対；
を用いて、
２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０８０として寄託されたハイブリドーマ細胞株６Ｈ１Ａ１１Ｃ１１のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、軽鎖（ＶＬ）及び／又は重鎖（ＶＨ）ドメインを含むモノクローナル抗体又はその機能性部分に関する。

【０１２５】

一実施態様（１０７）において、本発明は、
ａ．第一結合ドメインの増幅のために配列番号５０の５’プライマーと配列番号５１の３’プライマーを含むプライマー対；及び／又は
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号４６の５’プライマーと配列番号４７の３’プライマーを含むプライマー対；
を用いて、
２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０８８として寄託されたハイブリドーマ細胞株６Ｈ１Ｇ６Ｅ６のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、軽鎖（ＶＬ）及び／又は重鎖（ＶＨ）ドメインを含むモノクローナル抗体又はその機能性部分に関する。

【０１２６】

一実施態様（１０８）において、本発明は、
ａ．第一結合ドメインの増幅のために配列番号５０の５’プライマーと配列番号５１の３’プライマーを含むプライマー対；及び／又は
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号４６及び配列番号５２の５’プライマーと配列番号４７の３’プライマーを含むプライマーの混合；
を用いて、
２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０８４として寄託されたハイブリドーマ細胞株２Ｂ６Ａ１０Ｃ１１のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、軽鎖（ＶＬ）及び／又は重鎖（ＶＨ）ドメ

インを含むモノクローナル抗体又はその機能性部分に関する。
【０１２７】
一実施態様（１０９）において、本発明は、
ａ．第一結合ドメインの増幅のために配列番号５０の５’プライマーと配列番号５１の３’プライマーを含むプライマー対；及び／又は
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号４６及び配列番号５２の５’プライマーと配列番号４７の３’プライマーを含むプライマーの混合；
を用いて、
２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０８７として寄託されたハイブリドーマ細胞株２Ｂ６Ｇ７Ａ１２のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、軽鎖（ＶＬ）及び／又は重鎖（ＶＨ）ドメインを含むモノクローナル抗体又はその機能性部分に関する。
【０１２８】
一実施態様（１１０）において、本発明は、
ａ$_1$．第一結合ドメインの増幅のために配列番号４８及び配列番号４９の５’プライマーと配列番号５１の３’プライマーを含むプライマーの混合；又は
ａ$_2$．第一結合ドメインの増幅のために配列番号５０の５’プライマーと配列番号５１の３’プライマーを含むプライマー対；及び／又は
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号４６の５’プライマーと配列番号４７の３’プライマーを含むプライマー対；
を用いて、
２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０８６として寄託されたハイブリドーマ細胞株３Ａ８Ａ１２Ｇ７のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、軽鎖（ＶＬ）及び／又は重鎖（ＶＨ）ドメインを含むモノクローナル抗体又はその機能性部分に関する。
【０１２９】
一実施態様（１１１）において、本発明は、
ａ$_1$．第一結合ドメインの増幅のために配列番号４８及び配列番号４９の５’プライマーと配列番号５１の３’プライマーを含むプライマーの混合；又は
ａ$_2$．第一結合ドメインの増幅のために配列番号５０の５’プライマーと配列番号５１の３’プライマーを含むプライマー対；及び／又は
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号４６の５’プライマーと配列番号４７の３’プライマーを含むプライマー対；
を用いて、
２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０８５として寄託されたハイブリドーマ細胞株３Ａ８Ｅ１２Ｈ８のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、軽鎖（ＶＬ）及び／又は重鎖（ＶＨ）ドメインを含むモノクローナル抗体又はその機能性部分に関する。
【０１３０】
一実施態様（１１２）において、本発明は、
ａ．第一結合ドメインの増幅のために配列番号４９；配列番号５６及び配列番号５７の５’プライマーと配列番号５１の３’プライマーを含むプライマーの混合；
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号５３及び配列番号５５の５’プライマーと配列番号４７の３’プライマーを含むプライマーの混合；
を用いて、
２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０８２として寄託されたハイブリドーマ細胞株７Ｃ２（１）Ｆ１０Ｃ１０Ｄ３のＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、軽鎖（ＶＬ）及び／又は重鎖（ＶＨ）ドメインを含むモノクローナル抗体又はその機能性部分に関する。
【０１３１】

一実施態様（１１３）において、本発明は、
ａ．第一結合ドメインの増幅のために配列番号５７の５’プライマーと配列番号５１の３’プライマーを含むプライマーの対；
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号５３及び配列番号５５の５’プライマーと配列番号４７の３’プライマーを含むプライマーの混合；
を用いて、
２０１０年８月２５日にＤＳＭ ＡＣＣ３０８３として寄託されたハイブリドーマ細胞株７Ｃ２（２）Ｂ９Ｆ１１Ｄ５のＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、軽鎖（ＶＬ）及び／又は重鎖（ＶＨ）ドメインを含むモノクローナル抗体又はその機能性部分に関する。

【０１３２】
一実施態様（１１４）において、
ａ．第一結合ドメインの増幅のために配列番号１４９の５’プライマーと配列番号５１の３’プライマーを含むプライマー対；及び／又は
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号１２０、１２３、１２４、１３６、１３７、１３８、１３９、及び１４０からなる群から選択される５’プライマーと配列番号１３１、１３４，及び１４１－１４８らなる群から選択される３’プライマーを含むプライマーの混合；
を用いて、
本発明は、２０１１年８月３０日にＤＳＭ ＡＣＣ３１３９として寄託されたハイブリドーマ細胞株Ａ４－２Ａ１－１８のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、軽鎖（ＶＬ）及び／又は重鎖（ＶＨ）ドメインを含むモノクローナル抗体又はその機能性部分に関する。

【０１３３】
一実施態様（１１５）において、本発明は、
ａ．第一結合ドメインの増幅のために配列番号５１及び１６９－１７４からなる群から選択される５’プライマー及び配列番号５１の３’プライマーを含むプライマーの混合；及び／又は
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号１２４、１２７，及び１５０－１５８からなる群から選択される５’プライマーと配列番号１３０，及び１５９－１６８らなる群から選択される３’プライマーを含むプライマーの混合；
を用いて、
２０１１年８月３０日にＤＳＭ ＡＣＣ３１３７として寄託されたハイブリドーマ細胞株Ａ６－２Ｇ５－３０のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、軽鎖（ＶＬ）及び／又は重鎖（ＶＨ）ドメインを含むモノクローナル抗体又はその機能性部分に関する。

【０１３４】
一実施態様（１１６）において、本発明は、
ａ．第一結合ドメインの増幅のために配列番号１７８、１７９及び１８０からなる群から選択される５’プライマー及び配列番号５１の３’プライマーを含むプライマーの混合；及び／又は
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号１２１、１２７、１３９、１５４、１５５，及び１７５からなる群から選択される５’プライマーと配列番号１２８、１２９、１４７、１７６，及び１７７からなる群から選択される３’プライマーを含むプライマーの混合；
を用いて、
２０１１年８月３０日にＤＳＭ ＡＣＣ３１４０として寄託されたハイブリドーマ細胞株Ａ４－２Ａ１－４０のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、軽鎖（ＶＬ）及び／又は重鎖（ＶＨ）ドメインを含むモノクローナル抗体又はその機能性部分に関する。

【０１３５】
一実施態様（１１７）において、
ａ．第一結合ドメインの増幅のために配列番号５１及び１８８－１９２からなる群から選択される５’プライマー及び配列番号５１の３’プライマーを含むプライマーの混合；及び／又は
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号１２０、１２４、１２６、１８１、１８２及び１８３からなる群から選択される５’プライマーと配列番号１４４、１４５及び１８４－１８７からなる群から選択される３’プライマーを含むプライマーの混合；
を用いて、
本発明は、２０１１年８月３０日にＤＳＭ ＡＣＣ３１３８として寄託されたハイブリドーマ細胞株Ａ６－２Ｇ５－４１のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、軽鎖（ＶＬ）及び／又は重鎖（ＶＨ）ドメインを含むモノクローナル抗体又はその機能性部分に関する。
【０１３６】
一実施態様（１１８）において、本発明は、
ａ．第一結合ドメインの増幅のために配列番号５０及び２０１－２０４からなる群から選択される５’プライマー及び配列番号５１の３’プライマーを含むプライマーの混合；及び／又は
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号１２１、１３７、１５１及び１９３－１９７からなる群から選択される５’プライマーと配列番号１３１、１４１、１４４、１６６、１９８、１９９及び２００からなる群から選択される３’プライマーを含むプライマーの混合；
を用いて、
２０１１年８月３０日にＤＳＭ ＡＣＣ３１３６として寄託されたハイブリドーマ細胞株Ａ４－４Ａ６－４８のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、軽鎖（ＶＬ）及び／又は重鎖（ＶＨ）ドメインを含むモノクローナル抗体又はその機能性部分に関する。
【０１３７】
一実施態様（１１９）において、本発明は、
ａ．第一結合ドメインの増幅のために配列番号２０９－２１４、及び２１９－２２１からなる群から選択される５’プライマー及び配列番号２１５の３’プライマーを含むプライマーの混合；及び／又は
ｂ．第二結合ドメインの増幅のために配列番号２１６、２１７及び２１８からなる群から選択される５’プライマー及び配列番号２０８の３’プライマーを含むプライマーの混合；
を用いて、
２０１１年９月６日にＤＳＭ ＡＣＣ３１４１として寄託されたハイブリドーマ細胞株Ａ６－１Ｄ２－１２のＤＮＡのＰＣＲ増幅により得ることができるヌクレオチド断片に位置するポリヌクレオチドによりコードされる、軽鎖（ＶＬ）及び／又は重鎖（ＶＨ）ドメインを含むモノクローナル抗体又はその機能性部分に関する。
【０１３８】
一実施態様（１２０）において、前述の実施態様の何れか一に記載される抗体は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、ラクダ科動物抗体、ダイアボディ、又は修飾又は操作された抗体であり得る。
【０１３９】
一実施態様（１２１）において、結合ペプチド又はその機能性部分は、重鎖及び／又は軽鎖を含む断片、特に配列番号１－５に示される重鎖及び／又は配列番号６－１１に示される軽鎖、特にＦａｂ又はＦ（ａｂ’）$_2$断片であり得る。
【０１４０】
特定の実施態様（１２２）において、本発明は配列番号１－５に示される重鎖に関する

。
【０１４１】
別の実施態様（１２３）において、本発明は配列番号１－１１に示される軽鎖に関する
。
【０１４２】
一実施態様（１２４）において、本発明は、前述の実施態様の何れか細胞株を適切な培養培地中で培養し、任意で細胞株又は培養培地から結合ペプチド又は抗体を精製する工程を含む、前述の実施態様の何れか一に記載される結合ペプチド又は抗体を産生するための方法を提供する。
【０１４３】
図と配列の簡潔な説明
【図面の簡単な説明】
【０１４４】
【図１】図１は、ＴＡＵＰＩＲを用いるｂｉＧＴ（タウバイジェニック）マウスからの脳切片におけるリン酸化タウに対する抗体結合を示す。
【図２】図２は、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１抗体を用いた、ＴＡＵＰＩＲを用いるＡＤ及びタウオパチー患者からの脳切片におけるリン酸化タウに対する抗体結合を示す。
【図３】図３は、ＭＳＤを用いた、ｐＴａｕエピトープｐＴ２３１のインビボでの試験における１週間後の抗タウ抗体治療の作用を示す。
【図４】図４は、いかにして脳が可溶性およびサルコシル不溶性（ＳｉｎＴ）タウ蛋白分画のために調製されたかを示す図を示す。
【図５】図５は、１ヶ月（図５Ａ、５Ｂ、５Ｃ、５Ｇ、５Ｈ、５Ｉ）又は３ヶ月間のインビボ研究について、抗タウ抗体治療後のｐＴａｕエピトープウエスタンブロットを示す（図５Ｄ、５Ｅ、５Ｆ）。
【図６】図６は、ｂｉＧＴバイジェニックマウスを用いた、３ヶ月間のインビボ研究について、抗タウ抗体治療後のｐＴａｕエピトープウエスタンブロットを示す。
【図７】図７は、３ヶ月のインビボ研究におけるＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１による抗タウ抗体治療後のＩＨＣを示す。
【図８】図８は、３ヶ月のインビボ研究におけるＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１による抗タウ抗体治療後のＩＨＣを示す。
【図９】図９は、３ヶ月のインビボ研究におけるＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１による抗タウ抗体治療後のモーリス水迷路の結果を示す。
【図１０】図１０は、３ヶ月のインビボ研究におけるＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１による抗タウ抗体治療後のモーリス水迷路の結果を示す。
【０１４５】
配列
配列番号１は、ハイブリドーマ細胞株３Ａ８Ａ１２Ｇ７により産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１の重鎖可変領域（ＶＨ）のアミノ酸配列を示す。
配列番号２は、ハイブリドーマ細胞株２Ｂ６Ａ１０Ｃ１１により産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１の重鎖可変領域（ＶＨ）のアミノ酸配列を示す。
配列番号３は、ハイブリドーマ細胞株６Ｈ１Ａ１１Ｃ１１及び６Ｈ１Ｇ６Ｅ６によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３６－６Ｈ１－Ａｂ１及びＡＣＩ－３６－６Ｈ１－Ａｂ２の重鎖可変領域（ＶＨ）のアミノ酸配列を示す。
配列番号４は、ハイブリドーマ細胞株６Ｃ１０Ｅ５Ｅ９Ｃ１２及び６Ｃ１０Ｆ９Ｃ１２Ａ１１によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３３－６Ｃ１０－Ａｂ２及びＡＣＩ－３３－６Ｃ１０－Ａｂ１の重鎖可変領域（ＶＨ）のアミノ酸配列を示す。
配列番号５は、ハイブリドーマ細胞株７Ｃ２（１）Ｆ１０Ｃ１０Ｄ３及び７Ｃ２（２）Ｂ９Ｆ１１Ｄ５によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－４１－７Ｃ２－Ａｂ１及びＡＣＩ－４１－７Ｃ２－Ａｂ２の重鎖可変領域（ＶＨ）のアミノ酸配列を示す。
配列番号６は、ハイブリドーマ細胞株３Ａ８Ａ１２Ｇ７及び３Ａ８Ｅ１２Ｈ８によりそ

れぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１$_{VK-AD}$及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２$_{VK-AD}$の軽鎖可変領域（ＶＫ）のアミノ酸配列を示す。

配列番号７は、ハイブリドーマ細胞株３Ａ８Ａ１２Ｇ７及び３Ａ８Ｅ１２Ｈ８によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１$_{VK-G}$及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２$_{VK-G}$の軽鎖可変領域（ＶＫ）のアミノ酸配列を示す。

配列番号８は、ハイブリドーマ細胞株２Ｂ６Ａ１０Ｃ１１及び２Ｂ６Ｇ７Ａ１２によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１及びＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２の軽鎖可変領域（ＶＫ）のアミノ酸配列を示す。

配列番号９は、ハイブリドーマ細胞株６Ｈ１Ａ１１Ｃ１１及び６Ｈ１Ｇ６Ｅ６によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３６－６Ｈ１－Ａｂ１及びＡＣＩ－３６－６Ｈ１－Ａｂ２の軽鎖可変領域（ＶＫ）のアミノ酸配列を示す。

配列番号１０は、ハイブリドーマ細胞株６Ｃ１０Ｅ５Ｅ９Ｃ１２及び６Ｃ１０Ｆ９Ｃ１２Ａ１１によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３３－６Ｃ１０－Ａｂ２及びＡＣＩ－３３－６Ｃ１０－Ａｂ１の軽鎖可変領域（ＶＫ）のアミノ酸配列を示す。

配列番号１１は、ハイブリドーマ細胞株７Ｃ２（１）Ｆ１０Ｃ１０Ｄ３及び７Ｃ２（２）Ｂ９Ｆ１１Ｄ５によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－４１－７Ｃ２－Ａｂ１及びＡＣＩ－４１－７Ｃ２－Ａｂ２の軽鎖可変領域（ＶＫ）のアミノ酸配列を示す。

配列番号１２は、ハイブリドーマ細胞株３Ａ８Ａ１２Ｇ７、３Ａ８Ｅ１２Ｈ８、２Ｂ６Ａ１０Ｃ１１、２Ｂ６Ｇ７Ａ１２、６Ｈ１Ａ１１Ｃ１１及び６Ｈ１Ｇ６Ｅ６によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２、ＡＣＩ－３６－６Ｈ１－Ａｂ１の重鎖可変領域（ＶＨ）のＣＤＲ１のアミノ酸配列を示す。

配列番号１３は、ハイブリドーマ細胞株３Ａ８Ａ１２Ｇ７、３Ａ８Ｅ１２Ｈ８、２Ｂ６Ａ１０Ｃ１１、２Ｂ６Ｇ７Ａ１２、６Ｈ１Ａ１１Ｃ１１及び６Ｈ１Ｇ６Ｅ６によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２、ＡＣＩ－３６－６Ｈ１－Ａｂ１の重鎖可変領域（ＶＨ）のＣＤＲ２のアミノ酸配列を示す。

配列番号１４は、ハイブリドーマ細胞株３Ａ８Ａ１２Ｇ７、３Ａ８Ｅ１２Ｈ８、２Ｂ６Ａ１０Ｃ１１、２Ｂ６Ｇ７Ａ１２、６Ｈ１Ａ１１Ｃ１１及び６Ｈ１Ｇ６Ｅ６によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２、ＡＣＩ－３６－６Ｈ１－Ａｂ１の重鎖可変領域（ＶＨ）のＣＤＲ３のアミノ酸配列を示す。

配列番号１５は、ハイブリドーマ細胞株６Ｃ１０Ｅ５Ｅ９Ｃ１２及び６Ｃ１０Ｆ９Ｃ１２Ａ１１によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３３－６Ｃ１０－Ａｂ２及びＡＣＩ－３３－６Ｃ１０－Ａｂ１の重鎖可変領域（ＶＨ）のＣＤＲ１のアミノ酸配列を示す。

配列番号１６は、ハイブリドーマ細胞株６Ｃ１０Ｅ５Ｅ９Ｃ１２及び６Ｃ１０Ｆ９Ｃ１２Ａ１１によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３３－６Ｃ１０－Ａｂ２及びＡＣＩ－３３－６Ｃ１０－Ａｂ１の重鎖可変領域（ＶＨ）のＣＤＲ２のアミノ酸配列を示す。

配列番号１７は、ハイブリドーマ細胞株６Ｃ１０Ｅ５Ｅ９Ｃ１２及び６Ｃ１０Ｆ９Ｃ１２Ａ１１によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３３－６Ｃ１０－Ａｂ２及びＡＣＩ－３３－６Ｃ１０－Ａｂ１の重鎖可変領域（ＶＨ）のＣＤＲ３のアミノ酸配列を示す。

配列番号１８は、ハイブリドーマ細胞株７Ｃ２（１）Ｆ１０Ｃ１０Ｄ３及び７Ｃ２（２）Ｂ９Ｆ１１Ｄ５によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－４１－７Ｃ２－Ａｂ１及びＡＣＩ－４１－７Ｃ２－Ａｂ２の重鎖可変領域（ＶＨ）のＣＤＲ１のアミノ酸配列を示す。

配列番号１９は、ハイブリドーマ細胞株７Ｃ２（１）Ｆ１０Ｃ１０Ｄ３及び７Ｃ２（２

）Ｂ９Ｆ１１Ｄ５によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－４１－７Ｃ２－Ａｂ１及びＡＣＩ－４１－７Ｃ２－Ａｂ２の重鎖可変領域（ＶＨ）のＣＤＲ２のアミノ酸配列を示す。

配列番号２０は、ハイブリドーマ細胞株７Ｃ２（１）Ｆ１０Ｃ１０Ｄ３及び７Ｃ２（２）Ｂ９Ｆ１１Ｄ５によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－４１－７Ｃ２－Ａｂ１及びＡＣＩ－４１－７Ｃ２－Ａｂ２の重鎖可変領域（ＶＨ）のＣＤＲ３のアミノ酸配列を示す。

配列番号２１は、ハイブリドーマ細胞株３Ａ８Ａ１２Ｇ７及び３Ａ８Ｅ１２Ｈ８によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１$_{VK-AD}$及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２$_{VK-AD}$の軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ１のアミノ酸配列を示す。

配列番号２２は、ハイブリドーマ細胞株３Ａ８Ａ１２Ｇ７及び３Ａ８Ｅ１２Ｈ８によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１$_{VK-AD}$及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２$_{VK-AD}$の軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ２のアミノ酸配列を示す。

配列番号２３は、ハイブリドーマ細胞株３Ａ８Ａ１２Ｇ７及び３Ａ８Ｅ１２Ｈ８によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１$_{VK-AD}$及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２$_{VK-AD}$の軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ３のアミノ酸配列を示す。

配列番号２４は、ハイブリドーマ細胞株３Ａ８Ａ１２Ｇ７及び３Ａ８Ｅ１２Ｈ８によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１$_{VK-G}$及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２$_{VK-G}$の軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ１のアミノ酸配列を示す。

配列番号２５は、ハイブリドーマ細胞株３Ａ８Ａ１２Ｇ７、３Ａ８Ｅ１２Ｈ８、２Ｂ６Ａ１０Ｃ１１、２Ｂ６Ｇ７Ａ１２、６Ｈ１Ａ１１Ｃ１１及び６Ｈ１Ｇ６Ｅ６によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１$_{VK-G}$、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２$_{VK-G}$、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２、ＡＣＩ－３６－６Ｈ１－Ａｂ１及びＡＣＩ－３６－６Ｈ１－Ａｂ２の軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ２のアミノ酸配列を示す。

配列番号２６は、ハイブリドーマ細胞株３Ａ８Ａ１２Ｇ７、３Ａ８Ｅ１２Ｈ８、２Ｂ６Ａ１０Ｃ１１、２Ｂ６Ｇ７Ａ１２、６Ｈ１Ａ１１Ｃ１１及び６Ｈ１Ｇ６Ｅ６によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１$_{VK-G}$、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２$_{VK-G}$、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２、ＡＣＩ－３６－６Ｈ１－Ａｂ１及びＡＣＩ－３６－６Ｈ１－Ａｂ２の軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ３のアミノ酸配列を示す。

配列番号２７は、ハイブリドーマ細胞株２Ｂ６Ａ１０Ｃ１１及び２Ｂ６Ｇ７Ａ１２によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１及びＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２の軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ１のアミノ酸配列を示す。

配列番号２８は、ハイブリドーマ細胞株６Ｈ１Ａ１１Ｃ１１及び６Ｈ１Ｇ６Ｅ６によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３６－６Ｈ１－Ａｂ１及びＡＣＩ－３６－６Ｈ１－Ａｂ２の軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ１のアミノ酸配列を示す。

配列番号２９は、ハイブリドーマ細胞株６Ｃ１０Ｅ５Ｅ９Ｃ１２及び６Ｃ１０Ｆ９Ｃ１２Ａ１１によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３３－６Ｃ１０－Ａｂ２及びＡＣＩ－３３－６Ｃ１０－Ａｂ１の軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ１のアミノ酸配列を示す。

配列番号３０は、ハイブリドーマ細胞株６Ｃ１０Ｅ５Ｅ９Ｃ１２及び６Ｃ１０Ｆ９Ｃ１２Ａ１１によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３３－６Ｃ１０－Ａｂ２及びＡＣＩ－３３－６Ｃ１０－Ａｂ１の軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ２のアミノ酸配列を示す。

配列番号３１は、ハイブリドーマ細胞株６Ｃ１０Ｅ５Ｅ９Ｃ１２及び６Ｃ１０Ｆ９Ｃ１

２Ａ１１によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３３－６Ｃ１０－Ａｂ２及びＡＣＩ－３３－６Ｃ１０－Ａｂ１の軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ３のアミノ酸配列を示す。

配列番号３２は、ハイブリドーマ細胞株７Ｃ２（１）Ｆ１０Ｃ１０Ｄ３及び７Ｃ２（２）Ｂ９Ｆ１１Ｄ５によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－４１－７Ｃ２－Ａｂ１及びＡＣＩ－４１－７Ｃ２－Ａｂ２の軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ１のアミノ酸配列を示す。

配列番号３３は、ハイブリドーマ細胞株７Ｃ２（１）Ｆ１０Ｃ１０Ｄ３及び７Ｃ２（２）Ｂ９Ｆ１１Ｄ５によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－４１－７Ｃ２－Ａｂ１及びＡＣＩ－４１－７Ｃ２－Ａｂ２の軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ２のアミノ酸配列を示す。

配列番号３４は、ハイブリドーマ細胞株７Ｃ２（１）Ｆ１０Ｃ１０Ｄ３及び７Ｃ２（２）Ｂ９Ｆ１１Ｄ５によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－４１－７Ｃ２－Ａｂ１及びＡＣＩ－４１－７Ｃ２－Ａｂ２の軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ３のアミノ酸配列を示す。

配列番号３５は、ハイブリドーマ細胞株３Ａ８Ａ１２Ｇ７及び３Ａ８Ｅ１２Ｈ８によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２の重鎖可変領域（ＶＨ）のヌクレオチド配列を示す。

配列番号３６は、ハイブリドーマ細胞株２Ｂ６Ａ１０Ｃ１１及び２Ｂ６Ｇ７Ａ１２によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１及びＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２の重鎖可変領域（ＶＨ）のヌクレオチド配列を示す。

配列番号３７は、ハイブリドーマ細胞株６Ｈ１Ａ１１Ｃ１１及び６Ｈ１Ｇ６Ｅ６によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３６－６Ｈ１－Ａｂ１及びＡＣＩ－３６－６Ｈ１－Ａｂ２の重鎖可変領域（ＶＨ）のヌクレオチド配列を示す。

配列番号３８は、ハイブリドーマ細胞株６Ｃ１０Ｅ５Ｅ９Ｃ１２及び６Ｃ１０Ｆ９Ｃ１２Ａ１１によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３３－６Ｃ１０－Ａｂ２及びＡＣＩ－３３－６Ｃ１０－Ａｂ１の重鎖可変領域（ＶＨ）のヌクレオチド配列を示す。

配列番号３９は、ハイブリドーマ細胞株７Ｃ２（１）Ｆ１０Ｃ１０Ｄ３及び７Ｃ２（２）Ｂ９Ｆ１１Ｄ５によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－４１－７Ｃ２－Ａｂ１及びＡＣＩ－４１－７Ｃ２－Ａｂ２の重鎖可変領域（ＶＨ）のヌクレオチド配列を示す。

配列番号４０は、ハイブリドーマ細胞株３Ａ８Ａ１２Ｇ７及び３Ａ８Ｅ１２Ｈ８によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２の軽鎖可変領域（ＶＫ）のヌクレオチド配列を示す。

配列番号４１は、ハイブリドーマ細胞株３Ａ８Ａ１２Ｇ７及び３Ａ８Ｅ１２Ｈ８によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２の軽鎖可変領域（ＶＫ）のヌクレオチド配列を示す。

配列番号４２は、ハイブリドーマ細胞株２Ｂ６Ａ１０Ｃ１１及び２Ｂ６Ｇ７Ａ１２によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１及びＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２の軽鎖可変領域（ＶＫ）のヌクレオチド配列を示す。

配列番号４３は、ハイブリドーマ細胞株６Ｈ１Ａ１１Ｃ１１及び６Ｈ１Ｇ６Ｅ６によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３６－６Ｈ１－Ａｂ１及びＡＣＩ－３６－６Ｈ１－Ａｂ２の軽鎖可変領域（ＶＫ）のヌクレオチド配列を示す。

配列番号４４は、ハイブリドーマ細胞株６Ｃ１０Ｅ５Ｅ９Ｃ１２及び６Ｃ１０Ｆ９Ｃ１２Ａ１１によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３３－６Ｃ１０－Ａｂ２及びＡＣＩ－３３－６Ｃ１０－Ａｂ１の軽鎖可変領域（ＶＫ）のヌクレオチド配列を示す。

配列番号４５は、ハイブリドーマ細胞株７Ｃ２（１）Ｆ１０Ｃ１０Ｄ３及び７Ｃ２（２）Ｂ９Ｆ１１Ｄ５によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－４１－７Ｃ２－

Ａｂ１及びＡＣＩ－４１－７Ｃ２－Ａｂ２の軽鎖可変領域（ＶＫ）のヌクレオチド配列を示す。

配列番号４６－５７は、ＶＨ／ＶＫフォワード及びリバースプライマーのヌクレオチド配列を示す。

配列番号５８は、タウ３７９－４０８［ｐＳ３９６、ｐＳ４０４］のアミノ酸配列を示す。

配列番号５９は、タウ５－２０［ｐＹ１８］のアミノ酸配列を示す。

配列番号６０は、タウ２０６－２２１［ｐＴ２１２、ｐＳ２１４］のアミノ酸配列を示す。

配列番号６１は、タウ１９６－２１１［ｐＳ２０２、ｐＴ２０５］のアミノ酸配列を示す。

配列番号６２は、タウ３９３－４０８［ｐＳ３９６、ｐＳ４０４］のアミノ酸配列を示す。

配列番号６３は、タウ４０１－４１８［ｐＳ４０４、ｐＳ４０９］のアミノ酸配列を示す。

配列番号６４は、タウ２００－２１６［ｐＳ２０２＋ｐＴ２０５＆ｐＴ２１２＋ｐＳ２１４］のアミノ酸配列を示す。

配列番号６５は、タウ４０７－４１８［ｐＳ４０９］のアミノ酸配列を示す。

配列番号６６は、タウ３９９－４０８［ｐＳ４０４］のアミノ酸配列を示す。

配列番号６７は、タウ４０とも呼ばれるヒトタウの最長アイソフォームのアミノ酸配列（４４１ａａ）を示す。

配列番号６８は、ハイブリドーマ細胞株Ａ４－４Ａ６－１８により産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－４Ａ６－Ａｂ１の重鎖可変領域（ＶＨ）のアミノ酸配列を示す。

配列番号６９は、ハイブリドーマ細胞株Ａ４－４Ａ６－１８により産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－４Ａ６－Ａｂ１の軽鎖可変領域（ＶＫ）のアミノ酸配列を示す。

配列番号７０は、モノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－４Ａ６－Ａｂ１の重鎖可変領域（ＶＨ）のＣＤＲ１のアミノ酸配列を示す。

配列番号７１は、モノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－４Ａ６－Ａｂ１の重鎖可変領域（ＶＨ）のＣＤＲ２のアミノ酸配列を示す。

配列番号７２は、モノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－４Ａ６－Ａｂ１の重鎖可変領域（ＶＨ）のＣＤＲ３のアミノ酸配列を示す。

配列番号７３は、モノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－４Ａ６－Ａｂ１の軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ１のアミノ酸配列を示す。

配列番号７４は、モノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－４Ａ６－Ａｂ１の軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ２のアミノ酸配列を示す。

配列番号７５は、モノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－４Ａ６－Ａｂ１の軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ３のアミノ酸配列を示す。

配列番号７６は、ハイブリドーマ細胞株Ａ６－１Ｄ２－１２により産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－１Ｄ２－Ａｂ１の重鎖可変領域（ＶＨ）のアミノ酸配列を示す。

配列番号７７は、ハイブリドーマ細胞株Ａ６－１Ｄ２－１２により産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－１Ｄ２－Ａｂ１の軽鎖可変領域（ＶＫ）のアミノ酸配列を示す。

配列番号７８は、モノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－１Ｄ２－Ａｂ１の重鎖可変領域（ＶＨ）のＣＤＲ１のアミノ酸配列を示す。

配列番号７９は、モノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－１Ｄ２－Ａｂ１の重鎖可変領域（ＶＨ）のＣＤＲ２のアミノ酸配列を示す。

配列番号８０は、モノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－１Ｄ２－Ａｂ１の重鎖可変領域（

ＶＨ）のＣＤＲ３のアミノ酸配列を示す。
配列番号８１は、モノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－１Ｄ２－Ａｂ１の軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ１のアミノ酸配列を示す。
配列番号８２は、モノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－１Ｄ２－Ａｂ１の軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ２のアミノ酸配列を示す。
配列番号８３は、モノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－１Ｄ２－Ａｂ１の軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ３のアミノ酸配列を示す。
配列番号８４は、ハイブリドーマ細胞株Ａ４－４Ａ６－１８により産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－４Ａ６－Ａｂ１の重鎖可変領域（ＶＨ）のヌクレオチド配列を示す。
配列番号８５は、ハイブリドーマ細胞株Ａ４－４Ａ６－１８により産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－４Ａ６－Ａｂ１の軽鎖可変領域（ＶＫ）のヌクレオチド配列を示す。
配列番号８６は、ハイブリドーマ細胞株Ａ６－１Ｄ２－１２により産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－１Ｄ２－Ａｂ１の重鎖可変領域（ＶＨ）のヌクレオチド配列を示す。
配列番号８７は、ハイブリドーマ細胞株Ａ６－１Ｄ２－１２により産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－１Ｄ２－Ａｂ１の軽鎖可変領域（ＶＫ）のヌクレオチド配列を示す。
配列番号８８は、ハイブリドーマ細胞株Ａ４－２Ａ１－１８、Ａ４－２Ａ１－４０及びＡ４－４Ａ６－４８によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ａ１－Ａｂ１、ＡＣＩ－３５－２Ａ１－Ａｂ２、及びＡＣＩ－３５－４Ａ６－Ａｂ２のそれぞれの重鎖可変領域（ＶＨ）のアミノ酸配列を示す。
配列番号８９は、モノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ａ１－Ａｂ１、ＡＣＩ－３５－２Ａ１－Ａｂ２、ＡＣＩ－３５－４Ａ６－Ａｂ２、ＡＣＩ－３５－２Ｇ５－ＡＢ２及びＡＣＩ－３５－２Ｇ５－ＡＢ３のそれぞれの重鎖可変領域（ＶＨ）のＣＤＲ１のアミノ酸配列を示す。
配列番号９０は、モノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ａ１－Ａｂ１、ＡＣＩ－３５－２Ａ１－Ａｂ２、及びＡＣＩ－３５－４Ａ６－Ａｂ２のそれぞれの重鎖可変領域（ＶＨ）のＣＤＲ２のアミノ酸配列を示す。
配列番号９１は、モノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ａ１－Ａｂ１、ＡＣＩ－３５－２Ａ１－Ａｂ２、ＡＣＩ－３５－４Ａ６－Ａｂ２、ＡＣＩ－３５－２Ｇ５－ＡＢ２及びＡＣＩ－３５－２Ｇ５－ＡＢ３のそれぞれの重鎖可変領域（ＶＨ）のＣＤＲ３のアミノ酸配列を示す。
配列番号９２は、ハイブリドーマ細胞株Ａ４－２Ａ１－４０により産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ａ１－Ａｂ２の軽鎖可変領域（ＶＫ）のアミノ酸配列を示す。
配列番号９３は、モノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ａ１－Ａｂ２の軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ１のアミノ酸配列を示す。
配列番号９４は、モノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ａ１－Ａｂ２の軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ２のアミノ酸配列を示す。
配列番号９５は、モノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ａ１－Ａｂ２の軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ３のアミノ酸配列を示す。
配列番号９６は、ハイブリドーマ細胞株Ａ６－２Ｇ５－０８により産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ｇ５－Ａｂ１の重鎖可変領域（ＶＨ）のアミノ酸配列を示す。
配列番号９７は、ハイブリドーマ細胞株Ａ６－２Ｇ５－０８により産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ａ１－Ａｂ２の軽鎖可変領域（ＶＫ）のアミノ酸配列を示す。
配列番号９８は、モノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ｇ５－Ａｂ１の重鎖可変領域（

ＶＨ）のＣＤＲ１のアミノ酸配列を示す。
配列番号９９は、モノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ｇ５－Ａｂ１の重鎖可変領域（ＶＨ）のＣＤＲ２のアミノ酸配列を示す。
配列番号１００は、モノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ｇ５－Ａｂ１の重鎖可変領域（ＶＨ）のＣＤＲ３のアミノ酸配列を示す。
配列番号１０１は、モノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ｇ５－Ａｂ１の軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ１のアミノ酸配列を示す。
配列番号１０２は、モノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ｇ５－Ａｂ１の軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ２のアミノ酸配列を示す。
配列番号１０３は、モノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ｇ５－Ａｂ１の軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ３のアミノ酸配列を示す。
配列番号１０４は、ハイブリドーマ細胞株Ａ６－２Ｇ５－３０及びＡ６－２Ｇ５－４１によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ｇ５－ＡＢ２及びＡＣＩ－３５－２Ｇ５－ＡＢ３のそれぞれの重鎖可変領域（ＶＨ）のアミノ酸配列を示す。
配列番号１０５は、ハイブリドーマ細胞株Ａ６－２Ｇ５－３０及びＡ６－２Ｇ５－４１によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ｇ５－ＡＢ２及びＡＣＩ－３５－２Ｇ５－ＡＢ３のそれぞれの軽鎖可変領域（ＶＫ）のアミノ酸配列を示す。
配列番号１０６は、モノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ｇ５－ＡＢ２及びＡＣＩ－３５－２Ｇ５－ＡＢ３のそれぞれの軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ１のアミノ酸配列を示す。
配列番号１０７は、モノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ｇ５－ＡＢ２及びＡＣＩ－３５－２Ｇ５－ＡＢ３のそれぞれの軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ２のアミノ酸配列を示す。
配列番号１０８は、モノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ｇ５－ＡＢ２及びＡＣＩ－３５－２Ｇ５－ＡＢ３のそれぞれの軽鎖可変領域（ＶＫ）のＣＤＲ３のアミノ酸配列を示す。
配列番号１０９は、ハイブリドーマ細胞株Ａ４－２Ａ１－１８、Ａ４－２Ａ１－４０及びＡ４－４Ａ６－４８によりそれぞれ産生されたモノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ａ１－Ａｂ１、ＡＣＩ－３５－２Ａ１－Ａｂ２、及びＡＣＩ－３５－４Ａ６－Ａｂ２の重鎖可変領域（ＶＨ）のヌクレオチド配列を示す。
配列番号１１０は、ハイブリドーマ細胞株Ａ４－２Ａ１－４０により産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ａ１－Ａｂ２の軽鎖可変領域（ＶＫ）のヌクレオチド配列を示す。
配列番号１１１は、ハイブリドーマ細胞株Ａ６－２Ｇ５－０８により産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ｇ５－ＡＢ１の重鎖可変領域（ＶＨ）のアミノ酸配列を示す。
配列番号１１２は、ハイブリドーマ細胞株Ａ６－２Ｇ５－０８により産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ｇ５－ＡＢ１の軽鎖可変領域（ＶＫ）のヌクレオチド配列を示す。
配列番号１１３は、ハイブリドーマ細胞株Ａ６－２Ｇ５－３０及びＡ６－２Ｇ５－４１によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ｇ５－ＡＢ２及びＡＣＩ－３５－２Ｇ５－ＡＢ３のそれぞれの重鎖可変領域（ＶＨ）のヌクレオチド配列を示す。
配列番号１１４は、ハイブリドーマ細胞株Ａ６－２Ｇ５－３０及びＡ６－２Ｇ５－４１によりそれぞれ産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ｇ５－ＡＢ２及びＡＣＩ－３５－２Ｇ５－ＡＢ３のそれぞれの軽鎖可変領域（ＶＫ）のヌクレオチド配列を示す。
配列番号１１５は、モノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ｇ５－ＡＢ２及びＡＣＩ－３５－２Ｇ５－ＡＢ３の重鎖可変領域（ＶＨ）のＣＤＲ２のアミノ酸配列を示す。
配列番号１１６は、ハイブリドーマ細胞株Ａ４－２Ａ１－１８により産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ａ１－Ａｂ１の軽鎖可変領域（ＶＫ）のアミノ酸配列を示す。

配列番号１１７は、ハイブリドーマ細胞株Ａ４－２Ａ１－１８により産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－２Ａ１－Ａｂ１の軽鎖可変領域（ＶＫ）のヌクレオチド配列を示す。

配列番号１１８は、ハイブリドーマ細胞株Ａ４－４Ａ６－４８により産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－４Ａ６－Ａｂ２の軽鎖可変領域（ＶＫ）のアミノ酸配列を示す。

配列番号１１９は、ハイブリドーマ細胞株Ａ４－４Ａ６－４８により産生されるモノクローナル抗体ＡＣＩ－３５－４Ａ６－Ａｂ２の軽鎖可変領域（ＶＫ）のヌクレオチド配列を示す。

配列番号１２０－２２１は、ＶＨ／ＶＫフォワード及びリバースプライマーのヌクレオチド配列を示す。

【０１４６】

用語の定義

「ポリペプチド」、「ペプチド」、及び「タンパク質」という用語は、本明細書で用いる場合、互換的であり、ペプチド結合によって連結されたアミノ酸で構成される生体分子を意味するものと定義される。

【０１４７】

「ペプチド」又は「結合ペプチド」という用語は、本明細書中で互換的に使用され、そのα炭素が、１つのアミノ酸のα炭素のカルボキシル基と別のアミノ酸のα炭素のアミノ基とのあいだの縮合反応によって形成されるペプチド結合を通して連結されるアミノ酸（典型的にＬ－アミノ酸）の鎖を指す。鎖の１つの端部（すなわち、アミノ末端）での末端アミノ酸は、遊離のアミノ基を有し、鎖の他の端部（すなわち、カルボキシ末端）の末端アミノ酸は、遊離のカルボキシル基を有する。そのため、「アミノ末端」（Ｎ－末端と省略される）という用語は、ペプチドのアミノ末端のアミノ酸上の遊離のαアミノ基、またはペプチド内の他の任意の位置でのアミノ酸のαアミノ基（ペプチド結合に関与する場合にはイミノ基）を指す。同様に、「カルボキシ末端」（Ｃ－末端と省略される）という用語は、ペプチドのカルボキシ末端のアミノ酸上の遊離のカルボキシル基、またはペプチド内の他の任意の位置でのアミノ酸のカルボキシル基を指す。結合ペプチドは、本明細書に定義されるような、例えば、ポリクローナル又はモノクローナル抗体、ヒト又はヒト化抗体、ダイアボディー、ラクダ科動物抗体などの抗体、又はそれらの機能性部分を構成し得る。

【０１４８】

本明細書において用いられる「その断片」または「断片」という用語は、本明細書において定義されるペプチド（たとえばそれぞれ、表１の配列番号５９－６６に示されるように）と本質的に同じ（生物学的）活性を有する機能的ペプチド断片を指し、すなわち該断片は、生物において、具体的には動物において、具体的には哺乳動物またはヒトにおいて、非常に有効で、タウオパチーまたはタウオパチーに関連する症状を予防または緩和することができる、非常に特異的で、具体的にはコンフォメーション特異的免疫応答をなおも誘発することができる。特に、前記断片は本明細書において用いられ、定義されるタウペプチドの特異的病理学的リン酸化エピトープまたは複数のエピトープをなおも含有する。

【０１４９】

典型的に、ペプチドを構成するアミノ酸は、アミノ末端から開始してペプチドのカルボキシ末端に向かう方向に増加する番号が順につけられる。このように、１つのアミノ酸が別のアミノ酸の「次である」と言われる場合、そのアミノ酸は、先行アミノ酸よりペプチドのカルボキシ末端により近くに位置する。

【０１５０】

「残基」という用語は、本明細書においてアミド結合によってペプチドに組み入れられるアミノ酸を指すために用いられる。そのため、アミノ酸は、天然に存在するアミノ酸であってもよく、またはそれ以外で限定される場合を除き、天然に存在するアミノ酸と類似のように機能する天然のアミノ酸の公知のアナログ（すなわち、アミノ酸模倣体）を包含

してもよい。更に、アミド結合模倣体には、当業者に周知のペプチド骨格改変が含まれる。

【０１５１】

「本質的にからなる」という語句は、本明細書において、その句が指すペプチドの本質的な特性を実質的に変化させるであろういかなるエレメントも除外するために用いられる。このように、「～から本質的になる」ペプチドという記載は、そのペプチドの生物学的活性を実質的に変化させるであろういかなるアミノ酸置換、付加、又は欠失も除外する。

【０１５２】

更に、当業者は、先に言及したように、コードされる配列における１つのアミノ酸又は小さい割合のアミノ酸（典型的に５％未満、より典型的に１％未満）を変化、付加、又は欠失させる個々の置換、欠失、又は付加が、その変化によってあるアミノ酸が化学的に類似のアミノ酸へ置換される保存的に改変された変異体であると認識するであろう。機能的に類似のアミノ酸を提供する保存的置換の表が、当技術分野において周知である。以下の６つの群は、各々が互いに保存的置換であるアミノ酸を含有する：

１）アラニン（Ａ）、セリン（Ｓ）、トレオニン（Ｔ）；

２）アスパラギン酸（Ｄ）、グルタミン酸（Ｅ）；

３）アスパラギン（Ｎ）、グルタミン（Ｑ）；

４）アルギニン（Ｒ）、リジン（Ｋ）；

５）イソロイシン（Ｉ）、ロイシン（Ｌ）、メチオニン（Ｍ）、バリン（Ｖ）；及び

６）フェニルアラニン（Ｆ）、チロシン（Ｙ）、トリプトファン（Ｗ）。

【０１５３】

「単離された」又は「生物学的に純粋な」という語句は、その天然の状態で見いだされる場合にそれが通常伴う成分を実質的に又は本質的に含まない材料を指す。このように、本明細書に記載するペプチドは、そのインサイツ環境に通常会合する材料を含有しない。典型的に、本明細書に記載する単離された免疫原性ペプチドは、銀染色ゲル上でのバンド強度によって測定した場合に、少なくとも約８０％純粋、通常、少なくとも約９０％、及び好ましくは少なくとも約９５％純粋である。

【０１５４】

タンパク質の純度または均一性は、タンパク質試料のポリアクリルアミドゲル電気泳動の後に染色による可視化などの当技術分野において周知の多数の方法によって示される可能性がある。目的によっては、高い解像度が必要であり、精製のためにＨＰＬＣまたは類似の手段が利用されるであろう。

【０１５５】

免疫原性ペプチドの長さが比較的短い場合（すなわち、アミノ酸約５０個未満）、それらはしばしば、標準的な化学的ペプチド合成技術を用いて合成される。

【０１５６】

配列のＣ－末端アミノ酸を不溶性の支持体に付着させた後、配列における残りのアミノ酸を連続的に付加する固相合成は、本明細書に記載する免疫原性ペプチドを化学合成するために好ましい方法である。固相合成技術は当業者に公知である。

【０１５７】

または、本明細書に記載する免疫原性ペプチドは、組み換え型核酸方法論を用いて合成される。一般的に、これは、ペプチドをコードする核酸配列を作製すること、特定のプロモーターの制御下で発現カセットの中に核酸を入れること、宿主においてペプチドを発現させること、発現されたペプチドまたはポリペプチドを単離すること、及び必要であればペプチドを再生することを伴う。そのような手順を通して当業者を誘導するために十分な技術が文献において見いだされる。

【０１５８】

発現された後、組み換え型ペプチドを、硫酸アンモニウム沈殿、アフィニティカラム、カラムクロマトグラフィー、ゲル電気泳動等が含まれる標準的な手順に従って精製することができる。約５０％～９５％均一性の実質的に純粋な組成物が好ましく、治療薬として

用いるためには８０％～９５％又はそれより高い均一性が最も好ましい。

【０１５９】

当業者は、化学合成、生物学的発現または精製後、免疫原性ペプチドが構成成分ペプチドの本来のコンフォメーションとは実質的に異なるコンフォメーションを有する可能性があることを認識するであろう。この場合、抗増殖性ペプチドを変性させて還元し、その後ペプチドを好ましいコンフォメーションにリフォールドさせることがしばしば必要である。タンパク質を還元および変性させて、リフォールディングを誘導する方法は、当業者に周知である。

【０１６０】

精製タンパク質の抗原性は、たとえば免疫血清との反応、またはタンパク質そのものに対して産生された抗血清との反応を実証することによって確認してもよい。

【０１６１】

本明細書で用いる「１つ（ａ）」、「１つ（ａｎ）」、および「その（ｔｈｅ）」という用語は、「１つまたは複数の」を意味し、文脈が不適切である場合を除き、複数を含むものと定義される。

【０１６２】

本明細書で用いる「検出すること」又は「検出された」という用語は、免疫化学的方法または組織学的方法といった生体分子の検出のための公知の方法を用いることを意味し、調査中の生体分子の存在又は濃度を質的又は量的に決定することを指す。

【０１６３】

「単離された」とは、それが天然に起こる成分の少なくとも幾つかを含まない生物学的分子を意味する。

【０１６４】

本明細書において用いられる「抗体」、「複数の抗体」、又は「その機能性部分」という用語は、当技術分野において認識される用語であり、公知の抗原に、具体的には免疫グロブリン分子、および免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分に結合する分子または分子の活性断片、すなわち抗原に免疫特異的に結合する結合部位を含有する分子を指すと理解される。本発明に従う免疫グロブリンは、免疫グロブリン分子の任意のタイプ（ＩｇＧ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＡおよびＩｇＹ）またはクラス（ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１、およびＩｇＡ２）もしくはサブクラスの免疫グロブリン分子でありうる。

【０１６５】

「抗体」は、本発明の範囲内において、モノクローナル抗体、ポリクローナル、キメラ、一本鎖、二重特異性、サル化、ヒト、及びヒト化抗体、並びにその活性断片が含まれると意図される。公知の抗原に結合する分子の活性断片の例には、Ｆａｂ免疫グロブリン発現ライブラリ及び先に言及した抗体および断片のいずれかのエピトープ結合断片の生成物が含まれる、ＦａｂおよびＦ（ａｂ’）$_2$断片が含まれる。

【０１６６】

これらの活性断片は、多数の技術によって本発明の抗体から誘導されうる。たとえば、精製モノクローナル抗体を、ペプシンなどの酵素によって切断して、ＨＰＬＣゲル濾過に供することができる。続いて、Ｆａｂ断片を含む適切な画分を収集して、膜濾過などによって濃縮することができる。抗体の活性断片の単離についての一般的な手法に関する更なる記述については、例えば、Khaw,B. A. et al. J. Nucl. Med. 23:1011-1019 (1982);Rousseaux et al. Methods Enzymology,121:663-69,Academic Press,1986を参照のこと。

【０１６７】

「ヒト化抗体」は、非ヒトドナー免疫グロブリンに由来するそのＣＤＲと、１つ（または複数）のヒト免疫グロブリンに由来する分子の残りの免疫グロブリン由来部分とを有する操作抗体のタイプを指す。

【０１６８】

ヒト化抗体はさらに、そのフレームワーク領域の１つまたは複数がヒトまたは霊長類ア

ミノ酸を有する可変領域を有する抗体を指してもよい。その上、フレームワーク支持体残基を、結合親和性を保存するように変更してもよい。「ヒト化抗体」を得る方法は、当業者に周知である（たとえば、Queen et al.,Proc. Natl Acad Sci USA,86:10029-10032 (1989),Hodgson et al.,Bio/Technoloy,9:421 (1991) を参照されたい）。

【０１６９】

「ヒト化抗体」はまた、たとえばウサギなどの大きい動物における親和性成熟ヒト様ポリクローナル抗体の産生を可能にする新規遺伝子工学アプローチによって得てもよい（http://www.rctech.com/bioventures/therapeutic.php）。

【０１７０】

「完全ヒト抗体」又は「ヒト抗体」なる用語は、ヒト抗体遺伝子を運ぶトランスジェニックマウス由来又はヒト細胞由来の抗体を指すことを意味する。しかし、ヒト免疫系に対しては、「完全ヒト」、「ヒト」、及び「ヒト化」抗体の間の相違は無視し得るかあるいは存在せず、そういうわけで３つ全でが等しい有効性と安全性であり得る。

【０１７１】

「モノクローナル抗体」という用語はまた、当技術分野において十分に認識されており、１つのクローンから実験室において大量に産生され、かつ１つの抗原のみを認識する抗体を指す。モノクローナル抗体は、典型的に、通常の短命な抗体産生Ｂ細胞を、癌細胞（時に「不死化」細胞と呼ばれる）などの急速に生育する細胞に融合させることによって作製される。得られたハイブリッド細胞またはハイブリドーマは、迅速に増倍して、大量の抗体を産生するクローンを作製する。

【０１７２】

「抗原」という用語は、生物、具体的には動物、より具体的にはヒトが含まれる哺乳動物において免疫応答を誘導することができる実体またはその断片を指す。この用語には、免疫源及び抗原性の原因である領域または抗原決定基が含まれる。

【０１７３】

本明細書で用いる場合、「可溶性」という用語は、水溶液に部分的または完全に溶解することを意味する。

【０１７４】

また本明細書で用いるように、「免疫原性」という用語は、免疫原に対する抗体、Ｔ細胞、および他の反応性免疫細胞の産生を誘発または増強し、かつヒトまたは動物における免疫応答に関与する物質を指す。

【０１７５】

免疫応答は、処置すべき障害を和らげるまたは緩和するために、投与された本発明の免疫原性組成物に対して、個体が十分な抗体、Ｔ細胞、および他の反応性免疫細胞を産生する場合に起こる。

【０１７６】

「ハイブリドーマ」という用語は、抗体産生細胞と不死化細胞、たとえば多発性骨髄腫細胞との融合によって産生された細胞を指すと、当技術分野において認識され、当業者によって理解される。このハイブリッド細胞は、抗体を連続的に供給することができる。融合法のより詳細な説明に関しては、先の「モノクローナル抗体」の定義および以下の実施例を参照されたい。

【０１７７】

本明細書において用いられる「担体」という用語は、抗原性ペプチドまたは超分子構築物が組み入れられるかまたは会合し、それによってヒトまたは動物の免疫系に抗原性ペプチドまたはペプチドの一部を提示または曝露する構造を意味する。たとえば小胞、粒子、または微粒子体などの、動物またはヒトの治療において適切に用いることができるいかなる粒子も、本発明の文脈において担体として用いてもよい。

【０１７８】

「担体」という用語はさらに、抗原性ペプチドを含む超分子抗原性構築組成物が送達機序によって所望の部位に輸送され得る送達法を含む。そのような送達系の一例は、金コロ

イドなどのコロイド金属を利用する。

【０１７９】

本発明の超分子抗原性構築組成物において用いることができる担体タンパク質には、マルトース結合タンパク質「ＭＢＰ」；ウシ血清アルブミン「ＢＳＡ」；キーホールリンペットヘモシアニン「ＫＬＨ」；卵アルブミン；フラゲリン；サイログロブリン；任意の種の血清アルブミン；任意の種のγグロブリン；同系細胞；Ｉａ抗原を有する同系細胞；およびＤ－および／またはＬ－アミノ酸のポリマーが含まれるがこれらに限定されるわけではない。

【０１８０】

更に、用語「治療的に機能的な量（ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃａｌｌｙ　ｆｕｎｃｔｉｏｎａｌ　ａｍｏｕｎｔ）」又は「薬学的有効量」とは、ヒトまたは動物に投与された場合に、ヒトまたは動物で治療的効果をもたらすのに十分である、結合ペプチドの量を指す。有効量は、日常的な手順に従って当業者により容易に決定される。

【０１８１】

「ｐＴａｕ　ＰＨＦ」、「ＰＨＦ」、「対らせん状細線維」は本明細書中で同義的に使用され、電子顕微鏡で見える１６０ｎｍでの周期でらせん状に巻かれた約１０ｎｍのフィラメントのペアを指す。幅は１０～２２ｎｍの間で異なる。ＰＨＦは、アルツハイマー病（ＡＤ）及び神経網スレッドの神経原線維変化において優勢な構造である。ＰＨＦはまた、老人斑に関連付けられた幾つかの、すべてではないが、ジストロフィー神経突起に見られる場合がある。ＰＨＦの主要成分は、微小管結合タンパク質タウの高リン酸化型である。ＰＨＦは、ジスルフィド結合した反平行過リン酸化タウ蛋白質で構成されている。ＰＨＦタウは、そのＣ－末端２０アミノ酸残基について切断されうる。ＰＨＦ形成に潜在するメカニズムは不明であるが、タウの過リン酸化がそれを微小管から解放し、タウの可溶性プールを増やす可能性がある。

【０１８２】

本発明の範囲において、本発明に従う抗原性組成物に対する抗体誘導応答は大半がＴ細胞非依存的であることが証明された。この点に関してヌードマウスモデルを用いて、ヌードマウスにワクチンを接種して、免疫したヌードマウスにおいて本発明に従う抗原性組成物によって誘導されたＡβ特異的抗体応答を評価するために抗体応答を測定した。ヌードマウスはＦｏｘｎ１ｎｕ変異を有し、その結果適した胸腺の欠如によりＴ細胞機能が低減されている。

【０１８３】

本明細書において用いられる「薬学的有効量」は、処置される疾患、障害、もしくは状態、またはそれに関連する任意の合併症の症状を治癒する、または少なくとも部分的に停止させるために適切な薬学的組成物中の活性成分の用量を指す。

【０１８４】

本発明は、タウタンパク質の主要な病理学的リン酸化エピトープを認識して結合する結合ペプチドを提供する。特に、本発明は、ＡＤを含むタウオパチーにおいてシナプス及び神経毒性に関与すると考えられている、タンパク質タウにおいて、線状及び立体構造的、単一及び複合体のリン酸化エピトープを提供する。

【０１８５】

従って、本発明は、一実施態様において、結合ペプチド又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分に関し、その結合ペプチド又は抗体は、哺乳動物、特にヒトタウタンパク質又はその断片のリン酸化エピトープ、特に病的タンパク質タウのコンフォーマーを認識し、特異的に結合するが、しかし一実施態様では、対応する非リン酸化エピトープ及び／又は関連しないエピトープに結合せず、ここで、前記結合ペプチド又は抗体は、少なくとも１０ｎＭ、特に少なくとも８ｎＭ、特に少なくとも５ｎＭ、特に少なくとも２ｎＭ、特に少なくとも１ｎＭ、特に少なくとも５００ｐＭ、特に少なくとも４００ｐＭ、特に少なくとも３００ｐＭ、特に少なくとも２００ｐＭ、特に少なくとも１００ｐＭ、特に少なくとも５０ｐＭの解離定数を持ち、高い結合親和性を有する

。
本明細書で用いられる場合「可溶性タウ」タンパク質は、完全可溶化タウタンパク質／ペプチドのモノマーの両方、又はタウ様ペプチド／タンパク質、又は修飾型又は切断型タウペプチド／タンパク質、又はタウペプチド／タンパク質のモノマーの別の誘導体、及びタウタンパク質オリゴマーからなるタンパク質を指す。「可溶性タウ」は、特に神経原線維変化（ＮＦＴ）を除外する。

【０１８６】

本明細書で使用される「不溶性タウ」は、インビトロで水溶性培地及びインビボで哺乳動物又はヒトの体の両方で、特に具体的には脳で不溶性であるオリゴマー又はポリマー構造を形成する、タウペプチド又はタンパク質、又はタウ様ペプチド／タンパク質、又は修飾又は切断されたタウペプチド／タンパク質、又はタウペプチド／タンパク質の別の誘導体の複数の凝集モノマーを指すが、具体的には、哺乳動物又はヒトの体で、特に具体的には脳で不溶性である、タウ、又は修飾又は切断されたタウペプチド／タンパク質、又はそれらの誘導体の複数の凝集モノマーをそれぞれ指す。

【０１８７】

「不溶性タウ」は、特に神経原線維変化（ＮＦＴ）を含む。

【０１８８】

本明細書で使用される「モノマーのタウ」又は「タウモノマー」は、水溶性培地で凝集複合体無しに完全に可溶化したタウタンパク質を指す。

【０１８９】

「凝集タウ」、「オリゴマータウ」及び「タウオリゴマー」は、インビトロで水溶性培地及びインビボで哺乳動物又はヒトの体の両方で、特に具体的には脳で不溶性又は可溶性であるオリゴマー又はポリマー構造を形成する、タウペプチド又はタンパク質、又はタウ様ペプチド／タンパク質、又は修飾又は切断されたタウペプチド／タンパク質、又はタウペプチド／タンパク質の別の誘導体の複数の凝集モノマーを指すが、具体的には、哺乳動物又はヒトの体で、特に具体的には脳で不溶性又は可溶性である、タウ、又は修飾又は切断されたタウペプチド／タンパク質、又はそれらの誘導体の複数の凝集モノマーをそれぞれ指す。

【０１９０】

一実施態様において、本発明は、記載された実施態様の何れか一及び本明細書の請求項に記載される、結合ペプチド又はその機能性部分、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分、又は前記結合ペプチド又は抗体をコードする核酸配列を含むポリヌクレオチド、又はそれらの組み合わせを、薬学的に許容される担体と一緒に治療的有効量含有する薬学的組成物を提供する。

【０１９１】

適した薬学的担体、希釈剤および／または賦形剤は当技術分野で周知であり、これには例えば、リン酸緩衝食塩水、水、水中油型エマルジョンなどのエマルジョン、様々な種類の湿潤剤、滅菌溶液などが含まれる。

【０１９２】

抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分を含む本発明による結合ペプチドは、生理的に許容される製剤として調製することができ、かつ薬学的に許容される、担体、希釈剤、および／または賦形剤を公知の手法を用いて含んでもよい。例えば、任意の機能的に等価な結合ペプチドまたはその機能性部分を含む、本発明によるおよび本明細書に前述した通りの結合ペプチド、特に任意の機能的に等価な抗体またはその機能性部分を含むモノクローナル抗体を、薬学的に許容される、担体、希釈剤および／または賦形剤と混ぜ合わせて、治療用組成物を形成させる。適した薬学的担体、希釈剤および／または賦形剤は当技術分野で周知であり、これには例えば、リン酸緩衝食塩水、水、水中油型エマルジョンなどのエマルジョン、様々な種類の湿潤剤、滅菌溶液などが含まれる。

【０１９３】

本発明による薬学的組成物の製剤化は、当技術分野で公知の標準的な方法に従って達成

することができる。

【０１９４】

本発明の組成物を、適した薬学的有効量で固体、液体、またはエアロゾルの形態で被験体に投与することができる。固体組成物の例には、丸剤、クリーム、および埋め込み型の投薬単位が含まれる。丸剤は経口的に投与することができる。治療用のクリームは局所的に投与することができる。埋め込み型の投薬単位は、局所的に、例えば腫瘍部位に投与することもでき、または治療用組成物の全身的な放出を目的として、例えば皮下に埋め込むことができる。液体組成物の例には、筋肉内、皮下、静脈内、動脈内への注射に適した製剤、及び局所投与用および眼内投与用の製剤が含まれる。エアロゾル製剤の例には、肺への投与を目的とした吸入用製剤が含まれる。

【０１９５】

組成物を、標準的な投与経路によって投与することができる。一般に、組成物は、局所経路、経口経路、直腸内経路、鼻内経路、皮内経路、腹腔内経路、または非経口的な（例えば、静脈内、皮下もしくは筋肉内）経路で投与することができる。

【０１９６】

加えて、組成物を、送達が望まれる部位、例えば腫瘍部位の近傍に埋め込まれる重合体である生分解性重合体などの徐放性マトリックス中に組み入れることもできる。本方法は、単回投与、所定の間隔での反復投与、および所定の期間にわたる持続的投与を含む。本明細書で用いる場合、徐放性マトリックスは、酵素もしくは酸／塩基による加水分解によってまたは溶解によって分解する材料、通常は重合体でできたマトリックスである。このようなマトリックスは、身体内に挿入されると、酵素および体液の働きによる作用を受ける。。徐放性マトリックスは望ましくは、リポソーム、ポリラクチド（ポリ乳酸）、ポリグリコリド（グリコール酸の重合体）、ポリラクチドコ－グリコリド（乳酸とグリコール酸の共重合体）、ポリ無水物、ポリ（オルト）エステル、ポリペプチド、ヒアルロン酸、コラーゲン、硫酸コンドロイチン、カルボン酸、脂肪酸、リン脂質、多糖、核酸、ポリアミノ酸、フェニルアラニン、チロシン、イソロイシンなどのアミノ酸、ポリヌクレオチド、ポリビニルプロピレン、ポリビニルピロリドン、およびシリコーンなどの、生体適合性を有する材料から選択される。好ましい生分解性マトリックスは、ポリラクチド、ポリグリコリド、またはポリラクチドコ－グリコリド（乳酸とグリコール酸の共重合体）のうちいずれか１つのマトリックスである組成物の用量が、例えば、処置される状態、用いる特定の組成物といった様々な要因、ならびに、患者の体重、サイズ、性別および全般的健康状態、体表面積、投与しようとする特定の化合物または組成物、同時に投与する他の薬剤および投与の経路といった他の臨床的因子に依存すると考えられることは、当業者には周知である。

【０１９７】

本発明による組成物は、例えば、アルツハイマー病に関与するアミロイドβタンパク質などのアミロイドタンパク質またはアミロイド様タンパク質と関連のある一群の疾患および障害であるタウオパチー及び／又はアミロイドーシスの薬物療法に用いられる公知の化合物などの生物活性物質又は化合物を含む他の組成物と併用して投与され得る。

【０１９８】

他の生物活性物質または化合物は、その生物学的効果を、本発明による治療ワクチンと同じもしくは類似の機序によって発揮してもよく、または関係のない作用機序によって、または複数の関係のあるおよび／もしくは関係のない作用機序によって発揮してもよい。

【０１９９】

一般に、他の生物活性化合物には、ニューロン伝達賦活薬、精神治療薬、アセチルコリンエステラーゼ阻害薬、カルシウムチャネル拮抗薬、生体アミン、ベンゾジアゼピン系精神安定剤、アセチルコリンの合成、貯蔵または放出の賦活薬、アセチルコリンシナプス後受容体アゴニスト、モノアミンオキシダーゼ－Ａまたは－Ｂの阻害薬、Ｎ－メチル－Ｄ－アスパラギン酸グルタミン酸受容体アンタゴニスト、非ステロイド性抗炎症薬、抗酸化剤、およびセロトニン作動性受容体アンタゴニストが含まれうる。

【０２００】
酸化ストレスに対する化合物、抗アポトーシス化合物、金属キレート剤、ピレンゼピンおよび代謝産物などのＤＮＡ修復の阻害薬、３－アミノ－１－プロパンスルホン酸（３ＡＰＳ）、１，３－プロパンジスルホナート（１，３ＰＤＳ）、セクレターゼ活性化剤、β－およびγ－セクレターゼ阻害薬、タウタンパク質、神経伝達物質、／３－シート破壊物質（ｂｒｅａｋｅｒ）、抗炎症性分子、クロザピン、ジプラシドン、リスペリドン、アリピプラゾール又はオランザピンなどの「非定型抗精神病薬」、またはタクリン、リバスチグミン、ドネペジル、及び／又はガランタミンなどのコリンエステラーゼ阻害薬（ＣｈＥＩ）、および他の薬物ならびに栄養補給剤、例えば、ビタミンＢ１２、システイン、アセチルコリンの前駆体、レシチン、コリン、イチョウ、アセチル－Ｌ－カルニチン、イデベノン、プロペントフィリン、またはキサンチン誘導体からなる群から選択される少なくとも一化合物を、抗体、特にモノクローナル抗体又はその活性断片を含む本発明による結合ペプチド、及び任意で薬学的に許容される担体、及び／又は希釈剤及び／又は賦形剤及び疾患の治療のための説明書と一緒に含み得る。

【０２０１】
更なる実施態様において、本発明による組成物は、抗体、特にモノクローナル抗体又はその活性断片を含む本発明による結合ペプチドと共にナイアシンまたはメマンチンを、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および／または希釈剤および／または賦形剤を含みうる。

【０２０２】
本発明のさらに別の実施態様においては、抗体、特にモノクローナル抗体又はその活性断片を含む本発明による抗体とともに、幻覚、妄想、思考障害（顕著な思考散乱、脱線、脱線思考が認められる）および奇態または混乱した行動、ならびに快感消失、感情鈍麻、無気力および社会的引きこもりを含む陽性および陰性の精神病症状の治療のための、例えばクロザピン、ジプラシドン、リスペリドン、アリピプラゾール、またはオランザピンなどの「非定型抗精神病薬」を、ならびに任意で、薬学的に許容される担体及び／又は希釈剤及び／又は賦形剤を含む、混合物が提供される。

【０２０３】
本発明による結合ペプチドに加えて混合物中で好適に用いることができるその他の化合物は、例えば、国際公開第２００４／０５８２５８号（特に頁１６－１７を参照）に記載されており、これには治療薬標的（頁３６－３９）、アルカンスルホン酸およびアルカノール硫酸（頁３９－５１）、コリンエステラーゼ阻害薬（頁５１－５６）、ＮＭＤＡ受容体アンタゴニスト（頁５６－５８）、エストロゲン（頁５８－５９）、非ステロイド性抗炎症薬（頁６０－６１）、抗酸化剤（頁６１－６２）、ペルオキシソーム増殖活性化受容体（ＰＰＡＲ）アゴニスト（ペ頁６３－６７）、コレステロール低下薬（頁６８－７５）；アミロイド阻害薬（頁７５－７７）、アミロイド形成阻害薬（頁７７－７８）、金属キレート剤（頁７８－７９）、抗精神病薬および抗鬱薬（頁８０－８２）、栄養補給物質（頁８３－８９）ならびに脳内での生物活性物質の生物学的利用能を高める化合物（頁８９－９３参照）およびプロドラッグ（頁９３および９４）が含まれ、この文書は参照により、特に上記の頁に述べられた化合物が本明細書に組み入れられる。

【０２０４】
タンパク質性の薬学的活性物質は、１回の用量当たり１ｎｇ～１０ｍｇの量で存在してよい。一般に、投与レジメンは、本発明による抗体が、０．１μｇ～１０ｍｇの範囲、特に１．０μｇ～１．０ｍｇの範囲、より特に１．０μｇ～１００μｇの範囲にあるべきであり、これらの範囲内にあるすべての個々の数も同じく本発明の一部である。投与が連続注入によって行われる場合には、より適切な用量は、体重１ｋｇおよび１時間当たり０．０１μｇ～１０ｍｇの範囲にあってよく、これらの範囲内にあるすべての個々の数も同じく本発明の一部である。

【０２０５】
投与は一般に非経口的、例えば静脈内であると考えられる。非経口的投与のための製剤

には、滅菌された水性または非水性溶液、懸濁液およびエマルジョンが含まれる。非水性溶媒には、限定されないが、ポリプロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油などの植物油、およびオレイン酸エチルなどの注射可能な有機酸エステルが含まれる。水性溶媒には、食塩液および緩衝媒質を含む、水、アルコール性／水性溶液、エマルジョンまたは懸濁液が含まれる。非経口用媒体には、塩化ナトリウム溶液、リンゲルデキストロース、デキストロース、および塩化ナトリウム、乳酸加リンゲル液、または固定油が含まれる。静脈内用媒体には、液体および栄養分の補充液、電解質補充液（リンゲルデキストロース液を基にしたものなど）などが含まれる。例えば、抗菌薬、抗酸化物質、キレート剤および不活性ガスなどの、保存料もまた存在してもよい。

【０２０６】

薬学的組成物はさらに、例えば、血清アルブミンまたは免疫グロブリン、特にヒト由来のものなどのタンパク質性担体を含んでもよい。本発明の薬学的組成物中に、さらなる生物活性物質が、その意図した用途に応じて存在してもよい。

【０２０７】

結合標的が脳に位置しているとき、本発明の特定の実施態様では、血液脳関門を通過するための抗体、特にモノクローナル抗体又はその活性断片を含む本発明による結合ペプチドを提供する。特定の神経変性疾患は、抗体、特にモノクローナル抗体又はその活性断片を含む本発明による結合ペプチドが容易に脳に導入することができるような、血液脳関門の透過性の増加と関連している。血液脳関門が無傷のままの場合、それを通過して分子を輸送するために、幾つかの当該技術分野で知られたアプローチが存在し、限定されないが、物理的方法、脂質に基づく方法、及び受容体及びチャネルに基づく方法を含む。

【０２０８】

血液脳関門を通過して、抗体、特にモノクローナル抗体又はその活性断片を含む本発明による結合ペプチドを輸送する物理的方法として、限定されないが、完全に血液脳関門を迂回するか、又は血液脳関門の開口部を作成することを含む。迂回方法としては、限定されないが、脳内に直接注射（例えば、Papanastassiou et al., Gene Therapy 9:398-406 (2002)を参照）、及び脳内送達装置の移植（例えば、Gill et al., Nature Med. 9: 589-595 (2003); 及び Gliadel Wafers(TM),Guildford Pharmaceuticalを参照）を含む。関門の開口部を作成するための方法としては、限定されないが、超音波（例えば、米国特許出願公開第２００２／００３８０８６号）、浸透圧（高張性マンニトールの投与による（Neuwelt, E.A., Implication of the Blood-Brain Barrier and its Manipulation, vols. 1 & 2, Plenum Press, N.Y. (1989)））、例えば、ブラジキニン又は透過処理装置Ａ－７による透過処理（例えば、米国特許第５，１１２，５９６号、第５，２６８，１６４号、第５，５０６，２０６号、及び第５，６８６，４１６号）、及び結合ペプチドはその抗原結合断片をコードする遺伝子を含むベクターを用いた、血液脳関門をまたぐ神経細胞のトランスフェクション（例えば、米国特許出願公開第２００３／００８３２９９号）を含む。

【０２０９】

血液脳関門を通過して、抗体、特にモノクローナル抗体又はその活性断片を含む本発明による結合ペプチドを輸送する脂質に基づく方法として、血液脳関門の血管内皮上の受容体に結合する抗体結合断片と共役しているリポソームの中に抗体、特にモノクローナル抗体又はその活性断片を含む本発明による結合ペプチドをカプセル化すること（例えば、米国特許出願公開第２００２００２５３１３号参照）、および低密度リポタンパク質粒子（例えば、米国特許出願公開第２００４０２０４３５４号参照）またはアポリポタンパク質Ｅ（例えば、米国特許出願公開第２００４０１３１６９２号参照）の中に抗体、特にモノクローナル抗体又はその活性断片を含む本発明による結合ペプチドをコーティングすることが含まれるが、これらに限定されない。

【０２１０】

血液脳関門を通過して、抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性部分を含む本発明に記載される結合ペプチドを輸送する受容体及びチャネルに基づく方法としては、限定

されないが、血液脳関門の透過性を高めるためにグルココルチコイドブロッカーを使用すること（例えば、米国特許出願公開第２００２／００６５２５９号、第２００３／０１６２６９５号及び第２００５／０１２４５３３号）、カリウムチャネルを活性化すること（例えば、米国特許出願公開第２００５／００８９４７３号を参照）、トランスフェリンで抗体をコーティングし、一以上のトランスフェリン受容体の活性を調節すること（例えば、米国特許出願公開第２００３／０１２９１８６号参照）、及び抗体をカチオン化すること（例えば、米国特許第５，００４，６９７号参照）を含む。

【０２１１】

抗体、特にモノクローナル抗体又はその活性断片を含む本発明による結合ペプチドの単回又反復投与、又は本発明による薬学的組成物は被験体に長期間にわたって与えられ得る。投与期間は１週間と最大１２ヶ月以上の間であってもよい。この期間、結合ペプチド、抗体又は薬学的組成物は、週１回、２週間毎、３週間毎、４週間毎など、又は治療される被験体の要求に依存して、より高頻度もしくは低頻度で投与され得る。

【０２１２】

更なる実施態様において、本発明は、アルツハイマー病、クロイツフェルト・ヤコブ病、ボクサー痴呆、ダウン症候群、ゲルストマン－シュトロイスラー－シャインカー病、封入体筋炎、およびプリオンタンパク質脳アミロイド血管障害、外傷性脳損傷を含むがこれらに限定されないタウとアミロイド病理の共存を示す疾患又は障害、及び更に、筋萎縮性側索硬化症／グアムのパーキンソニズム－認知症複合、神経原線維変化を伴う非グアム型運動ニューロン疾患、嗜銀顆粒性認知症、皮質基底核変性症、石灰化を伴うびまん性神経原線維変化、第１７染色体に連鎖したパーキンソニズムを伴う前頭側頭型認知症、ハレルフォルデン－スパッツ病、多系統萎縮症、Ｃ型ニーマン－ピック病、淡蒼球－橋－黒質変性（Ｐａｌｌｉｄｏ－ｐｏｎｔｏ－ｎｉｇｒａｌ　ｄｅｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ）、ピック病、進行性皮質下グリオーシス、進行性核上麻痺、亜急性硬化性全脳炎、神経原線維変化型認知症、脳炎後パーキンソニズム、筋緊張性ジストロフィーを含むがこれらに限定されない、明確なアミロイド病理を示さない更なる疾患又は障害を含む神経変性疾患又は障害の不均一な群を含む、タウタンパク質関連疾患、障害又は病態の検出及び診断のための方法とキットを提供する。病理学的な異常は、タウオパチーで脳における優勢な病理である神経原線維の形成によって引き起こされる又は関連付けることができる。

【０２１３】

更に、本発明は、タウとアミロイド病理の共存を示す疾患または障害を含む、神経変性疾患または障害の不均一な群を含むタウオパチーなどの神経変性疾患または障害を含むタウタンパク質に関連した疾患、障害、又は状態の素因を診断するための、又は患者の微小残存疾患（（ｍｉｎｉｍａｌ　ｒｅｓｉｄｕａｌ　ｄｉｓｅａｓｅ））を監視するため、又は本発明に記載されるような本発明による抗体、特にモノクローナル抗体又はその活性断片、又は組成物を含む本発明に係る結合ペプチドによる治療に対する患者の応答を予測するための方法とキットを提供する。これらの方法には、生物試料中の、またはインサイツ条件における物質を検出または定量するために一般に用いられる公知の免疫学的方法が含まれる。

【０２１４】

タウおよびアミロイド病理の共存を示す疾患または障害を含む神経変性疾患または障害の不均一な群を含む、タウオパチーなどの神経変性疾患又は障害を含み、タウタンパク質に関連した疾患又は状態の診断、又はそれを必要としている被験体、特に哺乳動物、より具体的にはヒトにおけるタウタンパク質に関連した疾患又は状態の素因の診断は、本発明の結合ペプチド、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその活性断片の、サンプル中又はインサイツにおいてタウタンパク質に対する免疫特異的結合を検出することによって達成されてもよく、タウタンパク質を含むことが疑われるサンプル又は特定の身体部分もしくは身体部位を、タウタンパク質のエピトープと結合する抗体と接触させる段階、抗体をアミロイド抗原と結合させて免疫複合体を形成させる段階、免疫複合体の形成を検出する段階、および、試料または特定の身体部分もしくは部位における、免疫複合体の有無とタ

ウタンパク質の有無とを相関づける段階、任意で前記免疫複合体の量を正常対照値と比較する段階が含まれ、該免疫複合体の量が正常対照値と比較して多いことにより、該患者がタウタンパク質に関連した疾患または状態に罹患していること、またはそれを発症するリスクを有することが示される。

【０２１５】

抗体、特にモノクローナル抗体又はその活性断片を含む本発明による結合ペプチド又は本発明による組成物による治療後の、被験体、特に哺乳動物、より具体的にはヒトにおける微小残存病変の監視は、本発明の結合ペプチド、特に抗体、特にモノクローナル抗体又はその活性断片の、試料中の又はインサイツでのタウタンパク質のエピトープに対する免疫特異的結合を検出することにより達成されても良く、これにはタウタンパク質を含むことが疑われる試料または特定の身体部分もしくは身体部位を、抗体、特にモノクローナル抗体及びその断片を含み、タウタンパク質のエピトープに結合する本発明による結合ペプチドと接触させる段階、抗体、特にモノクローナル抗体及びその活性断片を含む本発明による結合ペプチドをタウタンパク質と結合させて免疫複合体を形成する段階、免疫複合体の形成を検出する段階、及び免疫複合体の有無を試料中又は特定の身体部分もしくは部位におけるタウタンパク質の有無と相関づける段階、任意で免疫複合体の量を正常対照値と比較する段階が含まれ、該免疫複合体の量が正常対照値と比較して多いことにより、該患者がなお微小残存病変に罹患していることが示される。

【０２１６】

抗体、特にモノクローナル抗体又はその活性断片を含む本発明による結合ペプチド又は本発明による組成物による治療後の、被験体、特に哺乳動物、より具体的にはヒトの応答性を予測することは、結合ペプチド、特にモノクローナル抗体又はその活性断片の、試料中の又はインサイツでのタウタンパク質のエピトープに対する免疫特異的結合を検出することにより達成されても良く、これにはタウタンパク質を含むことが疑われる試料または特定の身体部分もしくは身体部位を、抗体、特にモノクローナル抗体及びその断片を含み、タウタンパク質のエピトープに結合する本発明による結合ペプチドと接触させる段階、抗体、特にモノクローナル抗体及びその活性断片を含む本発明による結合ペプチドをタウタンパク質と結合させて免疫複合体を形成する段階、免疫複合体の形成を検出する段階、及び免疫複合体の有無を試料中又は特定の身体部分もしくは部位におけるタウタンパク質の有無と相関づける段階、任意で該免疫複合体の量を治療開始の前後で比較する段階が含まれ、該免疫複合体の量の減少は、該患者が治療に対して応答する可能性が高いことを示している。

【０２１７】

タウタンパク質に関連した疾患又は状態の診断において、タウ及びアミロイド病理の共存を示す疾患又は障害を含む神経変性疾患又は障害の不均一群を含むタウオパチーなどの神経変性疾患又は障害を含む、タウタンパク質に関連した疾患又は状態に対する素因を診断するため、又は患者における微小残存病変を監視するため、又は、抗体、特にモノクローナル抗体及びその活性断片を含む本発明による結合ペプチド又は本発明による組成物による本明細書に記載されるような治療に対する患者の応答性を予測するために使用され得る生物学的試料は、例えば、血清、血漿、唾液、胃液分泌物、粘液、脳脊髄液、リンパ液などの体液、又は、神経、脳、心臓又は血管組織などの生体から得られた組織又は細胞のサンプルである。

【０２１８】

試料中のタウタンパク質の有無を決定するためには、当業者に公知の任意のイムノアッセイ法、例えば、検出用の二次試薬を用いる間接的検出法を利用するアッセイ法、ＥＬＩＳＡおよび免疫沈降および凝集アッセイ法を用いることができる。これらのアッセイ法の詳細な記述は、例えば、Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory, New York 1988 555-612、MaertensとStuyverに対する国際公開第９６／１３５９０号、Zrein et al. (1998)及び国際公開第９６／２９６０５号に与えられている。

【０２１９】
インサイツ診断のために、本発明による抗体、特にモノクローナル抗体及びその活性断片、又はその任意の活性および機能性部分が、当技術分野で公知の方法、例えば、静脈内、鼻腔内、腹腔内、大脳内、動脈内注射によって、本発明による抗体のアミロイドタンパク質のエピトープとの特異的結合が起こりうるように、診断しようとする生物に対して投与することができる。結合ペプチド／抗原複合体は、抗体、特にモノクローナル抗体又はその機能性断片を含む本発明による結合ペプチドに付着した標識を介して、又は任意の公知の検出方法によって好都合に検出することができる。
【０２２０】
診断用途において、又はタウ及びアミロイド病理の共存を示す疾患又は障害を含む神経変性疾患又は障害の不均一群を含むタウオパチーなどの神経変性疾患又は障害を含むタウタンパク質に関連した疾患又は状態の素因を診断するため、又は患者の微小残存病変を監視するため、又は、抗体、特にモノクローナル抗体及びその活性断片を含む本発明による結合ペプチド又は本発明による組成物による本明細書に記載されるような治療に対する患者の応答性を予測するための用途に用いられるイムノアッセイは、典型的には標識化抗原、結合ペプチド、又は検出用二次試薬に依存する。
【０２２１】
これらのタンパク質または試薬は、酵素、放射性同位体、ならびにコロイド金およびラテックスビーズなどの着色粒子を含むがこれらに限定されない蛍光性、発光性および発色性物質を含む、当業者に一般に知られた化合物で標識することができる。これらのうち、放射性同位体標識は、ほぼすべての種類のアッセイに用いることができ、バリエーションも非常に多い。酵素結合による標識は、放射能を避けなければならない場合または迅速な結果が求められる場合に特に有用である。蛍光色素は、用いるために高価な装置を必要とするが、極めて感度の高い検出方法を提供する。これらのアッセイにおいて有用な結合ペプチドは本明細書に開示され請求されるものであり、抗体、特にモノクローナル抗体、ポリクローナル抗体およびアフィニティー精製されたポリクローナル抗体が含まれる。
【０２２２】
または、プロテインＡもしくはＧまたは第２の抗体などの、免疫グロブリンに対する親和性のある標識物質との反応によって、抗体、特にモノクローナル抗体及びその活性部分を含む本発明に記載される結合ペプチドを間接的に標識してもよい。抗体、特にモノクローナル抗体及びその活性部分を含む本発明に記載される結合ペプチドを第２の物質と結合させ、抗体と結合した第２の物質に対する親和性のある標識した第３の物質を用いて検出してもよい。例えば、抗体、特にモノクローナル抗体及びその活性部分を含む本発明に記載される結合ペプチドをビオチンと結合させ、標識したアビジンまたはストレプトアビジンを用いて結合ペプチド／ビオチンコンジュゲートを検出することができる。同様に、結合ペプチドをハプテンと結合させ、標識した抗ハプテン結合ペプチドを用いて結合ペプチド／ハプテンコンジュゲートを検出することもできる。
【０２２３】
当業者は、本発明に従って用いうる上記および他の適した標識を把握していると考えられる。結合ペプチドまたはその断片に対するこれらの標識の結合は、当業者に公知の標準的な手法を用いて行うことができる。典型的な手法は、Kennedy, J. H.、et al.、1976(Clin. Chim. Acta 70:1-31)およびSchurs, A. H. W. M.、et al. 1977(Clin. Chim Acta 81:1-40）に記載されている。後者に言及されているカップリング法には、グルタルアルデヒド法、過ヨウ素酸法、ジマレイミド法、および他のものがあり、これらはすべて参照により本明細書に組み入れられる。
【０２２４】
現行のイムノアッセイは、分析物の存在を決定するために、検出可能な標識で標識された第２の抗体との反応によって抗体を間接的に標識する、二重抗体法を利用している。第２の抗体は、好ましくは、モノクローナル抗体の由来となった動物の抗体と結合するものである。言い換えると、モノクローナル抗体がマウス抗体である場合には、標識された第

２の抗体は抗マウス抗体である。本明細書に記載されるアッセイに用いられるべき抗体について、この標識は好ましくは抗体でコーティングされたビーズ、特に磁性ビーズである。本明細書に記載のイムノアッセイに用いられる抗体について、標識は好ましくは、放射性、蛍光性または電気化学発光性の物質などの検出可能な分子である。

【０２２５】

分析物の存在の迅速判定用に適合化されているために迅速フォーマットシステムとしばしば呼ばれる、代替的な二重抗体システムを、本発明の範囲において用いることもできる。本システムは、抗体と分析物との間の高い親和性を必要とする。本発明の一実施態様によれば、アミロイドタンパク質の存在は、それぞれがアミロイドタンパク質に対して特異的である一対の抗体を用いて決定される。前記抗体対の一方は本明細書で「検出用抗体」と呼ばれ、前記抗体対のもう一方は本明細書で「捕捉用抗体」と呼ばれる。本発明のモノクローナル抗体は、捕捉用抗体または検出用抗体のいずれとしても用いることができる。また、本発明のモノクローナル抗体を、単一のアッセイで捕捉用抗体および検出用抗体の両方として用いることもできる。従って、本発明の１つの実施態様は、生体液の試料中のアミロイドタンパク質を検出するために二重抗体サンドイッチ法を用いる。この方法では、分析物（アミロイドタンパク質）を検出用抗体と捕捉用抗体との間にサンドイッチ状に挟み、捕捉用抗体は固体支持体に不可逆的に固定化しておく。検出用抗体は、抗体－分析物サンドイッチの存在を同定するため、およびしたがって分析物の存在を同定するために、検出可能な標識を含む。

【０２２６】

例示的な固相物質には、ラジオイムノアッセイおよび酵素イムノアッセイの分野で周知であるマイクロタイタープレート、ポリスチレン製試験管、磁性ビーズ、プラスチックビーズ、またはガラス製ビーズおよびスライドが非限定的に含まれる。抗体を固相に対してカップリングさせるための方法も当業者に周知である。さらに最近では、ナイロン、ニトロセルロース、酢酸セルロース、グラスファイバーおよび他の多孔性ポリマーなどのさまざまな多孔性材料が固体支持体として用いられている。

【０２２７】

本発明はまた、上記に定義した組成物を含む、生物試料中のタウタンパク質の存在を検出するための診断キットにも関する。さらに、本発明は、上記に定義した組成物に加えて、上記に定義した検出試薬も含む、後者の診断キットにも関する。「診断キット」という用語は一般に、当技術分野で公知の任意の診断キットのことを指す。より具体的には、後者の用語は、Ｚｒｅｉｎら（１９９８）に記載された診断キットのことを指す。

【０２２８】

本発明による結合ペプチドを含む、タウタンパク質に関連した疾患および状態の検出および診断のための新規な免疫プローブおよび検査キットを提供することは、本発明のさらにもう１つの目的である。免疫プローブに関しては、結合ペプチドを、適したレポーター分子、例えば酵素または放射性核種に対して直接的または間接的に結合させる。検査キットは、本発明による１つまたは複数の結合ペプチドと、結合ペプチドをタウ抗原と結合させて免疫複合体を形成させ、かつ免疫複合体の有無がタウタンパク質の有無と相関するように免疫複合体の形成を検出する目的で結合ペプチドを用いるための説明書とを収容できる容器を含む。

【実施例】

【０２２９】

実施例１：ハイブリドーマと抗体の産生及びスクリーニング

本研究の目的は、抗タウモノクローナル抗体（抗Ｔａｕ－ｍＡｂ）（モノクローナル抗体）を産生させてスクリーニングすることであった。ハイブリドーマは骨髄腫細胞株とタウワクチン免疫マウス脾臓の融合により産生した。ハイブリドーマは、リン酸化及び非リン酸化全長タウ蛋白質並びにワクチン製剤に使用されるリン酸化及び非リン酸化タウの抗原性ペプチドの両方に対する反応性について評価した。ハイブリドーマのスクリーニングはまた、タウトランスジェニックマウスの脳切片上の免疫化学を用いて、タウ濃縮体につ

いてハイブリドーマ上清の反応性について行った。

【０２３０】

１．１方法

１．１．１　融合

ＡＣＩ－３３（タウ５－２０［ｐＹ１８］）でワクチン接種された野生型Ｃ５７ＢＬ／６マウスをハイブリドーマの生産に用いた。マウスは第０日目と次いで第４日目に再びＡＣＩ－３３ワクチンで追加免疫され、融合は第７日目に行った。１７３ｘ１０^{6}（ＡＣＩ－３３）、免疫化マウス由来の脾細胞；を、５脾細胞／１骨髄腫細胞の割合でＳＰ２－Ｏ－Ａｇ１４骨髄腫細胞と融合させた。

【０２３１】

ＡＣＩ－３５（タウ３９３－４０８［ｐＳ３９６、ｐＳ４０４］）でワクチン接種された野生型Ｃ５７ＢＬ／６マウスをハイブリドーマの生産に用いた。マウスは第０日目と次いで第４日目にＡＣＩ－３５ワクチンで追加免疫し、融合が第６日目に行われた。ｘ１０^{7}（ＡＣＩ－３５）、免疫化マウス由来の脾細胞を３脾細胞／１骨髄腫細胞の割合で２ｘ１０^{7}ＳＰ２－Ｏ－Ａｇ１４３骨髄腫細胞と融合した。

【０２３２】

ＡＣＩ－３６（タウ４０１－４１８［ｐＳ４０４／Ｓ４０９］）でワクチン接種された野生型Ｃ５７ＢＬ／６マウスをハイブリドーマの生産に用いた。マウスは第０日目と次いで第４日目に再びＡＣＩ－３６ワクチンで追加免疫され、融合は第７日目に行った。免疫化マウス由来の８４ｘ１０^{6}脾細胞；を、５脾細胞／１骨髄腫細胞の割合でＳＰ２－Ｏ－Ａｇ１４骨髄腫細胞と融合させた。

【０２３３】

ＡＣＩ－４１（タウ２０６－２２１［ｐＴ２１２／ｐＳ２１４］とタウ１９６－２１１［ｐＳ２０２／ｐＴ２０５］の混合）でワクチン接種された野生型Ｃ５７ＢＬ／６マウスをハイブリドーマの産生に用いた。マウスは第０日目と次いで第４日目に再びＡＣＩ－４１ワクチンで追加免疫され、融合は第８日目に行った。免疫化マウス由来の１６２ｘ１０６脾細胞；を、５脾細胞／１骨髄腫細胞の割合でＳＰ２－Ｏ－Ａｇ１４骨髄腫細胞と融合させた。

【０２３４】

８ｘ９６ウェルプレートに結果として得られた４つの融合物及びクローンはプレート（１－８）、次いで行（Ａ－Ｇ）、そして最後に列（１－１２）に従って命名された。

【０２３５】

１．１．２　クローンを選択するためのスクリーニング法

８ｘ９６ウェルプレートを、ＩｇＧ発現について二回最初にスクリーニングした。陽性発現するクローンを２４ウェルプレートに移し、増殖細胞の細胞上清（＝クローン）をタウＥＬＩＳＡスクリーニング及び免疫組織化学ＴＡＵＰＩＲスクリーニングで検査した。

【０２３６】

ＥＬＩＳＡ及び／又はＴＡＵＰＩＲの陽性上清をＴ２５フラスコに移し、クローンをタウＥＬＩＳＡスクリーニングとＴＡＵＰＩＲスクリーニングにおいてＩｇＧ発現について再びスクリーニングした。

【０２３７】

１．１．３　ＩｇＧスクリーニング

Ｅｌｉｓａプレートをコーティング緩衝液中４℃で１６時間、５０μｌ／ウェルの抗マウスＩｇＧ抗体（ＣＥＲ Ｇｒｏｕｐｅ、Ｍａｒｌｏｉｅ、Ｂｅｌｇｉｕｍ）でコーティングした。ＰＢＳ／Ｔｗｅｅｎでプレート洗浄後、１００ｕｌ／ウェルのブロッキング溶液を室温で１時間塗布した。希釈していないハイブリドーマ上清の５０μｌを室温で１時間インキュベートした。洗浄工程後に、西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）結合抗マウスＩｇＧ１、ＩｇＧ２ａ、ＩｇＧ２ｂ及びＩｇＧ３の混合物（Ａｂ Ｓｅｒｏｔｅｃ、Ｒａｌｅｉｇｈ、ＮＣ、ＵＳＡ）を室温で１時間プレートに塗布した。最終洗浄後に、検出が、ＴＭＢ（３－３’、５，５’－テトラメチルベンジジン）、ＨＲＰ用ホスファター

ゼ基質を用いて実施され、プレートをＥＬＩＳＡプレートリーダーを用いて４０５ｎｍで読み取った。結果はＯ．Ｄ．として表される。（光学濃度）。

【０２３８】

１．１．４　ハイブリドーマのＴａｕ　ＥＬＩＳＡスクリーニング

ハイブリドーマのＥＬＩＳＡスクリーニングを、ｐＴａｕペプチド（ＡＣＩ－３３、Ｔ１．５：タウ５－２０［ｐＹ１８］；ＡＣＩ－３５、Ｔ３．５：タウ３９３－４０８［ｐＳ３９６／ｐＳ４０４］；ＡＣＩ－３６、Ｔ４．５：タウ４０１－４１８［ｐＳ４０４／Ｓ４０９］；ＡＣＩ－４１、Ｔ８．５：タウ２０６－２２１［ｐＴ２１２／ｐＳ２１４］及びＴ９．５：タウ１９６－２１１［ｐＳ２０２／ｐＴ２０５］ＰｏｌｙＰｅｐｔｉｄｅ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ｈｉｌｌｅｒｏｄ、Ｄｅｎｍａｒｋ）、対応するタウペプチド（ＡＣＩ－３３、Ｔ１．６：タウ５－２０；ＡＣＩ－３６、Ｔ４．６：タウ４０１－４、ＡＣＩ－４１、Ｔ８．６：タウ２０６－２２１とＴ９．６：タウ１９６－２１１、ＰｏｌｙＰｅｐｔｉｄｅ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ｈｉｌｌｅｒｏｄ、Ｄｅｎｍａｒｋ）、リン酸化された完全長（４４１ａａ）タウタンパク質（ｐＴａｕタンパク質、Ｖａｎｄｅｂｒｏｅｋら、２００５）及び完全長（４４１ａａ）タウ蛋白（タウタンパク質、ＳｉｇｎａｌＣｈｅｍ、Ｒｉｃｈｍｏｎｄ、Ｃａｎａｄａ）で行った。最後に、ウシ血清アルブミン（ＢＳＡ）を陰性コントロールとして用いた。

【０２３９】

プレートを１０μｇ／ｍｌの対応タウペプチド及び１μｇ／ｍｌの対応するタウタンパク質で４℃で一晩コーティングした。ＰＢＳ－０．０５％Ｔｗｅｅｎ　２０で各ウェルを洗浄し、ＰＢＳ－０．０５％のＴｗｅｅｎ２０中の１％ＢＳＡでブロッキングした後、希釈していないハイブリドーマ上清又は培地陰性コントロールをプレートに添加し、２時間３７℃でインキュベートした。洗浄後に、プレートを、アルカリホスファターゼ（ＡＰ）結合抗マウスＩｇＧ全抗体（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ｂａｌｔｉｍｏｒｅ、ＰＡ、ＵＳＡ）と共に２時間３７℃でインキュベートした。プレートを、アルカリホスファターゼ（ＡＰ）結合抗マウスＩｇＧ抗体合計（ジャクソン研究所、ボルチモア、ＰＡ、ＵＳＡ）を２時間３７℃でインキュベートした。洗浄後、プレートをｐＮＰＰ（パラ－ニトロフェニル－ホスフェート）、ＡＰ用ホスファターゼ基質と共にインキュベートし、ＥＬＩＳＡプレートリーダーを用いて４０５ｎｍで読み取った。結果はＯ．Ｄ．として表される。（光学濃度）。

【０２４０】

１．１．５　ハイブリドーマのＩＨＣスクリーニング：トランスジェニックマウスからの脳切片における濃縮体の対する抗タウ抗体の結合（ＴＡＵＰＩＲ）

ＴＡＵＰＩＲ実験は実施例３．１．２からのプロトコルに従って行った。

【０２４１】

１．１．６　Ｔ２５フラスコのＩｇＧスクリーニング

ＥＬＩＳＡプレートを炭酸塩－重炭酸塩コーティング緩衝液ｐＨ９．６（Ｓｉｇｍａ、Ｂｕｃｈｓ、Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）に溶解した５ｕｇ／ｍｌの抗マウスＩｇＧ　Ｆ（ａｂ’）２断片特異的抗体（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ｂａｌｔｉｍｏｒｅ、ＰＡ、ＵＳＡ）で一晩４℃でコーティングした。プレートを洗浄した後、希釈していないハイブリドーマ上清、陽性コントロールＩｇＧ１抗体（１ｕｇ／ｍｌの６Ｅ１０：Ｃｏｖａｎｃｅ、Ｅｍｅｒｙｖｉｌｌｅ、ＣＡ、ＵＳＡ）又は陰性コントロール（培地のみ）を室温で１時間インキュベートした。洗浄工程後、二次ＡＰ結合ヤギ抗マウスＩｇＧ（サブクラス１＋２ａ＋２ｂ＋３）のＦｃγ断片特異的抗体（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ｂａｌｔｉｍｏｒｅ、ＰＡ、ＵＳＡ）を３７℃で２時間プレート上でインキュベートした。最終洗浄後、ｐＮＰＰ（パラ－ニトロフェニル－ホスフェート）、ＡＰ用ホスファターゼ基質を行いて検出が行われ、プレートをＥＬＩＳＡプレートリーダーを用いて４０５ｎｍで読み取った。結果はＯ．Ｄ．として表される。（光学濃度）。

【０２４２】

１．２　結果

１．２．１　ＡＣＩ－３３ハイブリドーマ
融合物から生じる８ｘ９６ウェルプレートからの細胞上清を、ＩｇＧの産生についてスクリーニングした。検査した７６８ウェル（８ｘ９６ウェル）において、２７７ウェルが、ＩｇＧ発現について陽性であり、２４ウェルプレートに移した。２４ウェルプレートで、７９クローンが生育しており、これらの細胞からの上清を分析した。陽性クローンを更にＴ２５フラスコに移し、上清をＩｇＧの産生、ＥＬＩＳＡおよびＴＡＵＰＩＲについてスクリーニングした（表２）。

【０２４３】
クローン６Ｃ１０は３つのスクリーニングで唯一陽性であり、サブクローニング用に選択した。

【０２４４】
１．２．２　ＡＣＩ－３６ハイブリドーマ
融合物から生じる８ｘ９６ウェルプレートからの細胞上清を、ＩｇＧの産生についてスクリーニングした。検査した７６８ウェル（８ｘ９６ウェル）において、３３３ウェルが、ＩｇＧ発現について陽性であり、２４ウェルプレートに移した。２４ウェルプレートで、７５クローンが生育しており、これらの細胞からの上清を分析した。陽性クローンを更にＴ２５フラスコに移し、上清をＩｇＧの産生、ＥＬＩＳＡおよびＴＡＵＰＩＲについてスクリーニングした（表３）。

【０２４５】
次の工程のためのクローンを選択するため、ＩｇＧ／ＥＬＩＳＡ／ＴＡＵＰＩＲスクリーニングに対して陽性の全ての上清のランキングがＥＬＩＳＡとＴＡＵＰＩＲの結果に基づいて行われた。ＥＬＩＳＡ及びＴＡＵＰＩＲの結果のランキングは方法の項で説明したように行った。ＴＡＵＰＩＲ染色は、最初の５つのクローンについてほとんど同じであり、これはＥＬＩＳＡの結果に対応する。４Ｃ１２はそれが４Ｃ１と同じプレートで見いだされたため廃棄され、２つのクローンが同一である（同じエピトープを認識する）可能性が増大した。最良の４つのクローンは３Ａ８、２Ｂ６、４Ｃ１及び６Ｈ１であった。他の６クローン（４Ｃ１２、２Ｇ１、２Ｆ９、７Ｄ６、３Ｂ９、４Ｅ１２）はバックアップとして保存された。

【０２４６】
ＥＬＩＳＡスクリーニング及びＴＡＵＰＩＲスクリーニングで陽性を示した１０クローンのランキングが最高のものを選択するために行われた（表４）。グレーで強調表示されたのは、最高の５クローンである。

【０２４７】
１．２．３　ＡＣＩ－４１ハイブリドーマ
融合物から生じる８ｘ９６ウェルプレートからの細胞上清を、ＩｇＧの産生についてスクリーニングした。検査した７６８ウェル（８ｘ９６ウェル）において、２１５ウェルが、ＩｇＧ発現について陽性であり、２４ウェルプレートに移した。２４ウェルプレートで、８１クローンが生育しており、これらの細胞からの上清を分析した。陽性クローンを更にＴ２５フラスコに移し、上清をＩｇＧの産生、ＥＬＩＳＡおよびＴＡＵＰＩＲについてスクリーニングした（表５）。

【０２４８】
クローン５Ｄ１０及び７Ｃ２は３つのスクリーニングで陽性であり、サブクローニング用に選択した。クローン５Ｄ１０はペプチドＴ８．５にのみ結合し、一方クローン７Ｃ２は、ＡＣＩ－４１ワクチン（Ｔ８．５とＴ９．５）の２つのペプチドに結合する（ＰＣＴ出願ＰＣＴ／ＥＰ２０１０／０５４４１８の図１０を参照）。

【０２４９】
５Ｄ１０から派生するサブクローン５Ｄ１０Ａ４はｐＴａｕペプチドに特異的であった。

【０２５０】
１．３．結果

生成された抗体は、非リン酸化ペプチドに対してごくわずかに結合し、ｐＴａｕペプチドに高い特異性を示している。

【０２５１】

４つの融合物（ＡＣＩ－３３、ＡＣＩ－３６、ＡＣＩ－３５及びＡＣＩ－４１）から、全１６クローンがＤＳＭＺに寄託され（表１）、更なるサブクローニング用に選択された。

【０２５２】

上記の陽性母クローンはさらに９６ウェルプレートで、その後２４ウェルプレートで、最終的にＴ２５フラスコで培養した。各段階で、ハイブリドーマクローンの上清をＥＬＩＳＡ、Ｔａｕｐｉｒ及びウェスタンブロットによりスクリーニングした。

【０２５３】

実施例２：抗体軽鎖及び重鎖可変領域のクローニング

ハイブリドーマ細胞からの抗体重鎖と軽鎖の可変領域がクローニングされ、相補性決定領域（ＣＤＲ）のＤＮＡ配列とその位置並びに抗体結合の特徴が決定された。

【０２５４】

全ＲＮＡが、Ｑｉａｇｅｎ ＲＮｅａｓｙミニキット（カタログ番号７４１０４）を用いて$3x10^6$ハイブリドーマ細胞から調製された。ＲＮＡを５０ｍＬの水で溶出し、１．２％アガロースゲル上で確認した。

【０２５５】

V_H及びV_K ｃＤＮＡは、ＩｇＧとカッパ定常領域プライマーにより逆転写酵素を用いて調製された。第一鎖ｃＤＮＡは、シグナル配列プライマーの大きいセットを用いてＰＣＲにより増幅した。増幅されたＤＮＡはゲル精製され、ベクターｐＧｅｍ（登録商標）ＴＥａｓｙ（Ｐｒｏｍｅｇａ）へクローニングした。得られたV_H及びV_Kクローンは、予想された大きさの挿入のためスクリーニングされた。選択されたクローンのＤＮＡ配列は自動化ＤＮＡシーケンシングにより両方向で決定された。その配列の相補性決定領域（ＣＤＲ）の位置は他の抗体配列を参照して決定された（Kabat EA et al.,1991）。

【０２５６】

実施例３：結合研究Ｉ

目的は、タウリポソームワクチンで免疫したマウス由来のサブクローニングしたハイブリドーマから産生された抗体のリン酸化タウ（ｐＴａｕ）結合を測定することであった。これをテストするため、酵素結合免疫吸着測定法（ＥＬＩＳＡ）は、リン酸化及び非リン酸化完全長タウタンパク質ならびにリポソームワクチン製剤に使用されるリン酸化及び非リン酸化タウ抗原性ペプチドの両方に対する精製された抗体の結合を測定するために用いられた。

【０２５７】

スクリーニングは、他の二つの方法で完了した。一次抗体として抗タウ抗体を用いたタウトランスジェニック動物（ＴＡＵＰＩＲ）からの脳切片上の免疫組織化学（ＩＨＣ）が行われた。更に、タウトランスジェニックマウスからの脳タンパク質ホモジネートのウェスタンブロット（ＷＢ）は、ブロッティング抗体として抗タウ抗体を用いて実施された。

【０２５８】

３．１　方法

３．１．１　リン酸化タウ結合アッセイ

抗リン酸化タウ抗体（マウスＩｇＧ３アイソタイプ）はリポソームタウワクチン接種マウスから産生された。リポソームワクチンはリン酸化タウ（ｐＴａｕ）ペプチドのリン酸化製剤である。抗タウ抗体を産生するハイブリドーマのサブクローンは母クローンから限界希釈によって選択した。アイソタイピングを、単一のアイソタイプクローンの存在を示すために行った。抗体は、ローラーボトル中で産生され、アフィニティークロマトグラフィーにより精製し、滅菌０．２２μｍろ過を行い、定量した。タウ及びｐＴａｕへの抗体の結合を試験するためにＥＬＩＳＡアッセイを使用した。簡潔には、Ｎｕｎｃ ＭａｘｉＳｏｒｐ９６ウェルプレート（Ｎｕｎｃ，Ｒｏｓｋｉｌｄｅ，Ｄｅｎｍａｒｋ）が、１μ

ｇ／ｍＬの完全長（４４１ａａ）タウ蛋白質（ＳｉｇｎａｌＣｈｅｍ，Ｒｉｃｈｍｏｎｄ，Ｃａｎａｄａ）又はリン酸化完全長（４４１ａａ）タウ蛋白質（Vandebroek et al.、2005）でコーティングした。加えて、プレートを１０μｇ／ｍＬのタウ由来ペプチドでコーティングした。ワクチン製剤で使用されていなかったタウ配列及びｐＴａｕ配列に対する交差反応性を試験するために、プレートは以下のペプチドを１０μｇ／ｍＬでコーティングした：Ｔａｕ５－２０（Ｙ１８はリン酸化されるか又はされない）、Ｔａｕ３９３－４０８（）Ｓ３９６及びＳ４０４はリン酸化されるか又はされない）、Ｔａｕ４０１－４１８（Ｓ４０４及びＳ４０９はリン酸化されるか又はされない）、Ｔａｕ２０６－２２１（Ｔ２１２及びＳ２１４はリン酸化されるか又はされない）及びＴａｕ１９６－２１１（Ｓ２０２及びＳ２０５はリン酸化されるか又はされない）。コーティングは、リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）中で４℃で一晩行われた。プレートを０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０／ＰＢＳで十分に洗浄し、次いで３７℃で１時間、０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０／ＰＢＳ中、１％ウシ血清アルブミン（ＢＳＡ）でブロックした。試験される抗体を８回又は１６回の２０～０μｇ／ｍＬの間の２倍希釈系列に添加し、３７℃で２時間インキュベートさせた。プレートは、その後、前述のように洗浄し、ＡＰ－結合抗マウスＩｇＧ二次抗体（Ｊａｃｋｓｏｎ ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ｓｕｆｆｏｌｋ、Ｅｎｇｌａｎｄ）を３７℃で２時間、０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０／ＰＢＳの６０００分の１希釈で加えた。洗浄後、プレートを、ｐ－ニトロフェニルリン酸二ナトリウム六水和物（ｐＮＰＰ；Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ，Ｂｕｃｈｓ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）ホスファターゼ基質溶液と共にインキュベートし、ＥＬＩＳＡプレートリーダーを用いて２又は１６時間のインキュベーション後に４０５ｎｍで読み取った。結果は光学濃度（Ｏ．Ｄ．）として表される。

【０２５９】

３．１．２　タウトランスジェニック動物からの脳切片におけるタウ濃縮体に対する抗タウ抗体の結合（ＴＡＵＰＩＲ）

使用した脳スライスは、ＴＰＬＨマウスと交配した老齢（＞１８ヶ月）のダブルトランスジェニックｂｉＧＴ（Ｐ３０１Ｌ変異を有するヒトタウの最長のアイソフォーム（４４１ａａ）を含有する、ＧＳＫ－３βトランスジェニックマウス）からのものであった。さらにタウノックアウトマウス（ＴＫＯ、６ヶ月）由来の切片も使用した。脳の切片はＰＢＳで５分間洗浄し、次に、内因性ペルオキシダーゼ活性をブロックするために、室温で１５分間、ＰＢＳ：ＭｅＯＨ（１：１）中で１．５％のH_2O_2でインキュベートした。切片をＰＢＳＴ（ＰＢＳ／０．１％ＴｒｉｔｏｎＸ１００）で３回洗浄後、それらはＰＢＳＴ＋１０％ＦＣＳ（ウシ胎児血清）ブロッキング溶液中で室温で３０分間インキュベートした。試験された抗タウ抗体とのインキュベーションは、ＰＢＳＴ／１０％ＦＣＳでの示された希釈で４℃で一晩行われた。次に、切片を室温で１時間ＰＢＳＴ／１０％ＦＣＳでＨＲＰ結合ヤギ抗マウス（ダコ、グロストラップ、デンマークから購入した）二次抗体とのインキュベーションの前にＰＢＳＴで３回洗浄した。検出前に、切片をＰＢＳＴで３回洗浄し、５分間、５０ｍＭのトリス／ＨＣｌ　ｐＨ７．６中でインキュベートした。検出は、ジアミノベンジジン（ＤＡＢ：１５０ｍＭのトリスＨＣｌ＋３ｕｌのH_2O_2　３０％を１０ｍｌ中に一錠；ＭＰ Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌｓ，Ｓｏｌｏｎ，ＯＨ，ＵＳＡ）で３分間切片をインキュベートすることにより行われた。反応はＰＢＳＴで切片を３回洗浄することにより停止させた。次いで、切片をシラン化ガラスプレート上に移し、温プレート上で２時間５０℃で空気乾燥した。対比染色は、１分間、メイヤーヘマトキシリン（Ｆｌｕｋａ Ｃｈｅｍｉｅ，Ｂｕｃｈｓ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）とのインキュベーションを用いて行われ、その後流れる水道水による４分間の洗浄工程が続いた。切片は５０％、７０％、９０％、及び２回の１００％エタノール槽を通過させ、次いでキシロール中を２回１分間通過させることにより脱水した。最終的に、切片をＤｅＰｅｘ（ＢＤＨ Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ Ｌｔｄ.，Ｐｏｏｌｅ，Ｅｎｇｌａｎｄ）でガラスカバー下にマウントした。

【０２６０】

更に、１／１０希釈でのハイブリドーマ上清が、タウトランスジェニックマウス、野生型マウス又はノックアウトマウスからＳＤＳ－ＰＡＧＥで分離された脳ホモジネートタンパク質を含有する膜をブロットするために使用された。

【０２６１】

３．１．３．ＡＤ及びタウオパチー患者からの脳切片におけるタウ濃縮体に対する抗タウ抗体の結合（ＴＡＵＰＩＲ）

ヒトの脳内におけるｐＴａｕに対する抗ｐＴａｕ抗体ＡＣＩ－３６－３Ａ８－ＡＢ１の免疫反応のアッセイはＴＡＵＰＩＲによって行われた。脳のパラフィン切片をキシロール中に５分間に２回、及び１００％ＥｔＯＨ中に１分間に２回通すことにより脱パラフィンし、その後９０％、７０％、５０％ＥｔＯＨ、及び蒸留水中で１分間洗浄し、その後ＰＢＳ中で５分間に２回洗浄した。抗原回復のため、切片は０．０１Ｍのクエン酸溶液水溶液（ｐＨ６．０）で１０分間加熱することにより処置し、２０分間冷却した。切片は、内因性ペルオキシダーゼ活性を遮断するために、室温で１５分間ＰＢＳ：ＭｅＯＨ（１：１）中の１．５％H_2O_2でインキュベートした。切片をＰＢＳＴ（ＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ－２０）で３回洗浄後、それらはブロッキング溶液としてＰＢＳＴ＋１０％のウシ胎仔血清（ＦＣＳ）中で室温で３０分間インキュベートした。一次抗ｐＴａｕ抗体ＡＣＩ－３６－３Ａ８－ＡＢ１（ブロッキングバッファー中に４１０ｎｇ／ｍＬ）によるインキュベーションを４℃で一晩行った。次いで切片をＰＢＳＴで３回洗浄し、ＰＢＳＴ／１０％ＦＣＳで１／５００希釈したＨＲＰ結合ヤギ抗マウス二次抗体（Ｄａｋｏ、Ｇｌｏｓｔｒｕｐ、Ｄｅｎｍａｒｋ）で室温で１時間インキュベートした。検出前に、切片をＰＢＳＴで３回洗浄し、５分間、５０ｍＭのトリス／ＨＣｌ　ｐＨ７．６中でインキュベートした。検出は、ジアミノベンジジン（ＤＡＢ：１５０ｍＭのトリスＨＣｌ＋３ｕｌのH_2O_2　３０％を１０ｍＬ中に一錠；ＭＰ　Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌｓ，Ｓｏｌｏｎ，ＯＨ，ＵＳＡ）で３分間切片をインキュベートすることにより行われた。反応はＰＢＳで切片を３回洗浄することにより停止させた。対比染色はマイヤーのヘマトキシリン（Ｆｌｕｋａ　Ｃｈｅｍｉｅ，Ｂｕｃｈｓ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）で１分間インキュベートすることにより行い、次いで水道水中で４分間洗浄した。切片は、５０％、７０％、９０％のエタノール槽を通し、１００％のエタノール槽に２回通し、その後キシロールに１分間に２回通して脱水した。

【０２６２】

最終的に、切片をＤｅＰｅｘ（ＢＤＨ　Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ　Ｌｔｄ．，Ｐｏｏｌｅ，Ｅｎｇｌａｎｄ）でガラスカバー下にマウントした。染色した切片は白色光顕微鏡と３ＣＣＤカメラ（Ｌｅｉｃａ，Ｗｅｔｚｌａｒ，Ｇｅｒｍａｎｙ）で撮影したデジタル画像で調べた。画像が捕捉され、専用のソフトウェア（ＩＭ５００，Ｌｅｉｃａ）を用いて分析した画像は２０×１．６の倍率で示される。

【０２６３】

３．１．４．ウエスタンブロット（ＷＢ）

トランスジェニック動物からの脳抽出物における試験抗体のｐＴａｕに対する結合はＷＢによって行われた。野生型ＦＶＢ、ＴＰＬＨ、ｂｉＧＴ及びＴＫＯマウスから脳のホモジナイズは、次のバッファで行われた：２５ｍＭ　Ｔｒｉｓ／ＨＣｌ　ｐＨ７．６、１５０ｍＭ　ＮａＣｌ、１ｍＭ　ＥＤＴＡ、１ｍＭ　ＥＧＴＡ、３０ｍＭ　ＮａＦ、０．２ｍＭ　Na_3VO_4、１ｎＭ　オカダ酸、１ｍＭ　フッ化フェニルメチルスルホニル（ＰＭＳＦ）、５ｍＭ　Ｎａ４Ｐ２Ｏ７、総１２ミリリットルあたり１錠の完全プロテアーゼ阻害剤カクテル（ＣＰＩＣ）。全脳ホモジネートを得るために、脳は１容量／重量の半球（ｍｌ／ｇ）が氷上でモーター駆動ポッター様ガラスチューブ／テフロン乳棒により７００ｒｐｍでホモジナイズされた。全脳ホモジネートは半分がサンプルバッファー（（２５ｍＭのトリス／ＨＣｌ　ｐＨ６．８、４％（ｗ／ｖ）ドデシル硫酸ナトリウム（ＳＤＳ）、２０％グリセロール、０．０１％ブロモフェノールブルーおよび５％β－メルカプトエタノール）で希釈し、次いで９５℃まで急速に加熱した。サンプルは５分間保持され、サンプルバッファーで１／４希釈され、再び９５℃に加熱し、次いで冷却し、可溶化されていなかった

破片を除去するために５分間１４．０００ｒｐｍで回転させた。上清を回収し、ＳＤＳ－ＰＡＧＥゲル上にロードした。ニトロセルロース膜（Ｈｙｂｏｎｄ－ＥＣＬ）への転写はトランスファーバッファー（２５ｍＭトリスｐＨが８．６、１９０ｍＭのグリシン、２０％メタノール）中で行った。膜を、ブロッキング溶液（ＴＢＳ中０．１％Ｔｗｅｅｎ（５０ｍＭのトリスＨＣｌ、ｐＨ７．６、１５０ｍＭのＮａＣｌ、及び５％乾燥ミルクパウダー）に移し、ブロッキング溶液で希釈した試験抗体と４℃で一晩インキュベートした。ブロッキング溶液で１／１０’０００に希釈した二次抗体ＨＲＰ結合ヤギ抗マウス（Ｄａｋｏ，Ｇｌｏｓｔｒｕｐ，Ｄｅｎｍａｒｋ）とのとのインキュベーションを室温で１時間行った。検出は、ＧＥヘルスケアからのＥＣＬウェスタンブロッティング検出試薬を用いて行った。

【０２６４】

３．２　結果

３．２．１　濃縮体陽性タウトランスジェニックマウスからの脳切片を用いたＥＬＩＳＡアッセイおよびＴＡＵＰＩＲ

抗体の結合を、免疫原として使用されるリン酸化タウペプチドに対して、及びリン酸化全長ヒトタウタンパク質に対して測定した。これは、４４１個のアミノ酸からなるヒトタウタンパク質の最も長いアイソフォームである。対応する非リン酸化ペプチド及び全長ヒトタウタンパク質も含まれていた。表６に示すように、６つの抗体がリン酸化タウペプチドに対して高い結合を示し、リン酸化全長ヒトタウタンパク質に対してはごく限定された結合ないしは全く結合を示さなかった。結合は、対応する非リン酸化タウペプチドまたは非リン酸化全長ヒトタウタンパク質に対しては観察されなかった。これは、リン酸化ヒトタウペプチドに対する抗タウ抗体の高い結合を示している。

【０２６５】

他のリン酸化および非リン酸化タウ配列に対する非特異的結合を試験するため、抗体は、５つのリン酸化タウペプチド及び非リン酸化タウペプチドへの結合について試験され、その一つが抗原ペプチド配列として用いられた。ワクチンに使用されるペプチド以外で、リン酸化または非リン酸化タウペプチドに対する交差反応は、ペプチドが高濃度であっても観察されなかった。

【０２６６】

タウトランスジェニックマウスの脳におけるｐＴａｕに対する抗タウ抗体の結合は、ＴＡＵＰＩＲ染色（図１）及びＷＢ（図１）によって評価した。抗体は、タウトランスジェニック（ｂｉＧＴ）マウスの脳における皮質と海馬に存在する神経網スレッドとタウ濃縮体への結合を実証した。ＴＡＵＰＩＲに使用される抗体の希釈は、０．０５から０．００３３ｕｇ／ｍＬの範囲であった。抗タウ抗体は、野生型ＦＶＢ、ＴＰＬＨ、ｂｉＧＴ及びＴＫＯマウスからの全脳ホモジネートを用いるＷＢにおいて一次抗体として使用し、ＳＤＳ－ＰＡＧＥで分離された。２種の市販の抗ｐＴａｕ抗体をコントロールのＭＣ１とＴａｕ５として使用した。全ての抗タウ抗体はタウトランスジェニックマウスの脳内に存在するｐＴａｕに結合した。ブロッティング

【０２６７】

タウトランスジェニックマウス、野生型マウスおよびタウノックアウトマウスからＳＤＳ－ＰＡＧＥ分離したタンパク質ホモジネートを含有する膜上で、全ＡＣＩ－３５抗体（表１に開示）が、タウ及びｐＴａｕと同じ４６ｋＤａの移動様式を持つタンパク質のバンドに結合した（データ非公開）。

【０２６８】

３．２．２　ＡＤとタウオパチー患者からの脳切片におけるＴＡＵＰＩＲ研究

ＡＤ、ＦＡＤ、ＡＧＤ、ＦＴＤＰ－１７、ＣＢＤとＰＳＰ含む診断タウオパチーに罹患した被験体からのヒト脳切片に宿ったタウ凝集体に結合する抗体ＡＣＩ－３６－３Ａ８－ＡＢ１の能力を、ＴＡＵＰＩＲ免疫組織化学により調べた（図２）。抗ｐＴａｕ抗体ＡＣＩ－３６－３Ａ８－ＡＢ１は、ヒトの脳切片における糸屑状構造物、神経原線維変化（ＮＦＴは）を含むｐＴａｕ、及びニューロン及びグリア細胞型に存在するｐＴａｕの蓄積物

の他の形態に結合した。より具体的には、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－ＡＢ１は、ＡＤ脳におけるＮＦＴ、糸屑状構造物、及びアミロイド斑を取り巻く変性神経突起を顕著に染色し、それはＡＤ及びＦＡＤと診断された被験体で容易に明らかであった。ＡＧＤからの脳切片において、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－ＡＢ１は、複数の好銀性粒子／顆粒が明らかに見え、ＮＦＴと糸屑状構造物の両方を染色した（図２）。ＰＳＰからの脳切片のＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１による染色はＮＦＴ，糸屑状構造物、及び変性神経突起を示した。更に、ピック体様封入及び房状ｐＴａｕ陽性星状細胞が明らかに示され、ＰＳＰでの豊富な特徴であり、そこではｐＴａｕ染色が、遠位の突起を含む細胞全体に広がっている。ＦＴＤＰ－１７において、染色パターンはまた、ＮＦＴだけでなく検出された無色の「膨らんだ」ニューロンを持ち、疾患の既知の不均一性を示した。ＡＣＩ－３６－３Ａ８－ＡＢ１抗体はまた、ＣＢＤの主な特徴であるかすかにタウ陽性である腫れた無彩色のニューロンを染色した。ＣＢＤのその他の顕著な病理学的特徴、すなわち、コイル体と呼ばれるオリゴデンドログリア封入もまた、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－ＡＢ１抗体によって良好に検出された。染色はＡＴ８陰性コントロール被験体において検出されなかったが、弱い染色がＡＴ８陽性のコントロール被験体で同定された。

【０２６９】

以前にタウオパチーの異なる形態に罹患と診断された被験体からのヒト脳切片上でＴＡＵＰＩＲを使用して、抗ｐＴａｕの抗体ＡＣＩ－３６－３Ａ８－ＡＢ１は、これらのの被験体の脳に存在する様々な既知のｐＴａｕに豊んだ病理学的特徴に対する良好な結合を実証した。

【０２７０】

実施例４：結合研究ＩＩ

本研究の目的は、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）を用いて抗タウ抗体とリン酸化タウペプチドとの間の結合親和性を決定することであった。リン酸化タウペプチドは、抗タウ抗体を産生するためのワクチン製剤に使用されるペプチド配列に相当する。この相互作用を研究するために、リン酸化ペプチドをセンサチップの表面に固定化し、その結合は、チップ上に抗体を通過させる際にＳＰＲを使用してリアルタイムでモニターした。

【０２７１】

４．１方法

４．１．１　ＳＰＲ結合アッセイ

全ての実験は、ＳＰＲビアコアＸ機器（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）で行った。固定化の試薬（ＥＤＣ、ＮＨＳおよびエタノールアミン）、センサーチップＣＭ５（カルボキシメチルデキストラン）、並びにバッファＨＢＳ－ＥＰは、ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅから購入した。リン酸化タウペプチドは１：１（ｖ／ｖ）の比でＰＢＳ／酢酸ナトリウム緩衝液（１０ｍＭの、ｐＨ値５．０）に可溶化し、２５０μｇの／ｍｌの最終ペプチド濃度を得た。このペプチド溶液を、次いで、ＥＤＣ／ＮＨＳを用いて予備活性化したＣＭ５センサーチップのフローセル（ｆｃ）２を介して結合させた。結合後、エタノールアミンをその表面に通し、２１８ＲＵの最終的な固定化レベルを与えていた。抗タウ抗体の５つの濃度は、泳動バッファーを用いた段階希釈によってアッセイした。注入は、最も低い濃度から出発して行われ、１８０秒間、３０μＬ／分の流速でｆｃ１と２の両方に通した。フローセル１を非誘導体化し、機器ノイズとバルク屈折率の変化を補正するために反応をｆｃ２から差し引いた。注入が終了した後、表面を３００秒間ランニングバッファーで直ちに洗浄した。残った結合抗体をチップから除去するために、表面の再生を、１Ｍ ＮａＣｌを含む８ｍＭのＮａＯＨの水溶液のパルス（典型的には３μｌ）を注入することによって実施した。動態解析は、ＢＩＡｅｖａｌｕａｔｉｏｎ３．０を使用して数値積分およびグローバル解析のためのアルゴリズムを用いて行った。異なる濃度の抗体の注射について得られたセンソグラムを重ね、ベースラインをゼロに調整した。カーブフィッティングのために、全てのデータを１：１均質（ラングミュア）モデルに対して同時に適合させた。

【０２７２】

あるいは、固定化ビオチン化Ｔ３ペプチド（Ｔ３．３０）を、ビアコアＸ機器を用いてストレプトアビジンビアコアＳＡチップ（ＧＥヘルスケア）に固定化した。抗体は、ＨＢＳ－ＥＰランニングバッファ（ＧＥヘルスケア）で希釈し、５０ｕｌ／分で１２０秒間注入し、続いて１００秒間解離させた。表面再生を１６ｍＭのＮａＯＨのパルス（１－３ｕｌ）を用いて行った。フィッティングはＢＩＡｅｖａｌｕａｔｉｏｎを用いて、１：１のラングミュア結合相互作用を想定して行った。

【０２７３】

使用されたペプチド

T1.5	H-K(Ac)K(Ac)-RQEFEVMEDHAGTY[PO3H2]GL-K(Ac)K(Ac)-NH2	ロット AW11309D
T4.5	H-K(Ac)K(Ac)-GDTS[PO3H2]PRHLS[PO3H2]NVSSTGSID-K(Ac)K(Ac)-NH2	ロット CF09168
T3.30	ビオチン-LC リンカー-GVYKS[PO3H2]PVVSGDTS[PO3H2]PRHL-NH2	ロット MI89P9-P12-2

４．２　結果

リン酸化タウペプチドに対する抗タウ抗体の結合を、ＳＰＲを用いてリアルタイムで監視した。抗体結合の会合相及び解離相の分析は、会合速度定数（k_a）、解離速度定数（K_d）並びに解離定数K_Dを決定するために使用することができる。抗体ＡＣＩ－３３－６Ｃ１０－ＡＢ１は、抗体の３．７→３６７ｎＭの範囲で、非誘導体化カルボキシメチルデキストラン表面でペプチドＴ１．５に特異的に結合する。センソグラムの速度論的分析は、９．４６ｘ１０^{5}Ｍ$^{-1}$ｓ$^{-1}$の速い会合速度定数と３．２７ｘ１０$^{-3}$ｓ$^{-1}$の解離速度定数を示した（表７）。従って、解離定数K_Dは３．４６ｎＭであることが決定され、抗体が非常に高い親和性でリン酸化ペプチドＴ１．５を認識していることを示している。全ての試験抗体は、免疫化とハイブリドーマ生成のために使用されたそれぞれのリン酸化ペプチドに高い親和性を示したが、それらは非リン酸化ペプチドにはほとんど親和性を示さなかった。

【０２７４】

実施例５：抗ｐＴａｕ抗体のエピトープマッピング

５．１　方法

抗リン酸化タウのマウスモノクローナル抗体のエピトープマッピングは、異なるリン酸化および非リン酸化ペプチドライブラリーを用いてＥＬＩＳＡによって行った。使用されるペプチドライブラリーのアミノ酸配列を表８に示す。各ライブラリは、ペプチドワクチンに存在するリン酸化及び非リン酸化配列にまたがる短いビオチン化ペプチドから成っていた。ペプチドライブラリはＡＮＡＷＡ取引ＳＡから購入した。エピトープマッピングは、製造業者（Ｍｉｍｏｔｏｐｅｓ）の指示に従って行った。簡潔には、ストレプトアビジンコーティングプレート（ＮＵＮＣ）は、リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）中の０．１％ＢＳＡで、４℃で一晩ブロックされた。．ＰＢＳ－０．０５％ Ｔｗｅｅｎ ２０による洗浄後、プレートは各ライブラリからの異なるペプチドにより室温で１時間コーティングされ、０．１％ＢＳＡ、０．１％アジ化ナトリウムのＰＢＳ溶液で最終濃度１０μＭに希釈された。洗浄後、プレートは、２％のＢＳＡと０．１％のアジ化ナトリウムのＰＢＳ溶液で４０ｎｇ／ｍｌに希釈された試験抗体とともに室温で１時間インキュベートした。プレートは、再び洗浄され、１／６０００希釈でＡＰ結合抗マウスＩｇＧ二次抗体（Ｊａｃｋｓｏｎ ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｓｕｆｆｏｌｋ，Ｅｎｇｌａｎｄ）とともに室温で１時間インキュベートした。最終洗浄後、プレートは、ｐ－ニトロフェニルリン酸二ナトリウム六水和物（ｐＮＰＰ；Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ，Ｂｕｃｈｓ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）ホスファターゼ基質溶液とともにインキュベートし、２時間のインキュベーション後にＥＬＩＳＡプレートリーダーを用いて４０５ｎｍで読み取られた。結合は、光学濃度（Ｏ．Ｄ．）がバックグランドのＯ．Ｄ．の少なくと

も２倍である場合、陽性と考えられた。

【０２７５】

５．２　結果

エピトープマッピング実験の結果として、エピトープは、本明細書に開示されている抗体が特異的に結合する必要なリン酸化アミノ酸残基（表９参照）を含め識別され得る。

・タウａａ　１５－２０，ｐＹ１８を要件とする（６Ｃ１０Ｆ９Ｃ１２Ａ１１；６Ｃ１０Ｅ５Ｅ９Ｃ１２）

・タウａａ　４０５－４１２，ｐＳ４０９を要件とする（６Ｈ１Ａ１１Ｃ１１；６Ｈ１Ｇ６Ｅ６）

・タウａａ　４０５－４１１，ｐＳ４０９を要件とする（２Ｂ６Ａ１０Ｃ１１；２Ｂ６Ｇ７Ａ１２；３Ａ８Ａ１２Ｇ７；３Ａ８Ｅ１２Ｈ８）

・タウａａ　２０８－２１８，ｐＴ２１２とｐＳ２１４を要件とする（７Ｃ２（１）Ｆ１０Ｃ１０Ｄ３）

・タウａａ　３９３－４０１，ｐＳ３９６を要件とする（Ａ４－２Ａ１－１８；Ａ４－２Ａ１－４０）

・タウａａ　３９６－４０１，ｐＳ３９６を要件とする（Ａ４－４Ａ６－１８）

・タウａａ　３９４－４００，ｐＳ３９６を要件とする（Ａ６－１Ｄ２－１２）

・タウａａ　４０２－４０６，ｐＳ４０４を要件とする（Ａ６－２Ｇ５－０８）

・タウａａ　３９３－４００，ｐＳ３９６を要件とする（Ａ６－２Ｇ５－３０；Ａ６－２Ｇ５－４１）

【０２７６】

実施例６：タウトランスジェニックマウスの１週間受動免疫化

６．１．方法

全てのインビボ試験について、タウトランスジェニックマウスが用いられ、下記の表に示すように、治療抗体を投与した。

インビボでの研究のために用いられたトランスジェニックマウスと抗体

研究番号.	タウトランスジェニックモデル	研究開始時点のマウスの年齢（月）	研究期間(週)	投与された抗体	用量(mg/kg)	腹腔内投与の回数	読み取り
1	TMHT (h*Tau*$^{V337M/R406W}$)	6.3	1	ACI-36-2B6-Ab1	0*, 3 又は 10	2	MSD, IHC, WB
				ACI-36-3A8-Ab1	0 又は 3		
2	TMHT (h*Tau*$^{V337M/R406W}$)	4.2	4	ACI-36-2B6-Ab1 又は ACI-36-3A8-Ab1	0, 1 又は 3	4	MSD, IHC, WB, MWM
3	TMHT (h*Tau*$^{V337M/R406W}$)	3.0	12	ACI-36-2B6-Ab1 又は ACI-36-3A8-Ab1	0, 1 又は 3	13	MSD, IHC, WB, MWM
4	biGT (hTau^{P301L} x hGSK3β)	4.5	12	ACI-36-2B6-Ab1 又は ACI-36-3A8-Ab1	0, 1 又は 3	13	WB

*全ての研究のためのビヒクルコントロール;腹腔内 (i.p.)

【０２７７】

６．１．１．マウス及び処置

全長ヒトＴＡＵアイソフォームＴＡＵ４４１を過剰発現し、マウスＴｈｙ－１プロモーターの制御下でミスセンス変異Ｖ３３７ＭとＲ４０６Ｗを担持する雌と雄の６．３月齢（±３日）のＴｇマウス（ＴＭＨＴマウス）が研究番号１で用いられた（上の表参照）マウスは、脳内のＴＡＵ病理を決定するために、最後の投与後１日に安楽死させた。

【０２７８】

６．１．２　動物の同定と住居

遺伝子型のテールティッピングの過程で、動物は古典的な耳標装着により、連続的に番号付けられた。全ての動物は、試験開始前に再度遺伝子型を決定した。マウスは、国際基準に基づいくＪＳＷ標準操作手順に従って維持した。動物はＲｅｔｔｅｎｍａｉｅｒ（登録商標）によって提供される標準化されたげっ歯類の寝具の個々の換気ケージに収容した。温度を約２４℃に維持し、相対湿度を４０から７０％に維持した。動物は、一定の光サイクル（１２時間の明るい／暗い）下で飼育した。乾燥され、ペレット化した標準的なげっ歯類の餌（Ａｌｔｒｏｍｉｎ（登録商標））と、通常の水道水は動物に対して自由に利用可能であった。個々の動物を、個々の動物のデータシートに記載された任意の臨床徴候について定期的にチェックした。

【０２７９】

６．１．３．インビボでの出血

最初の免疫化の前七日は、インビボでの出血は顔の静脈／動脈からの下顎のサンプリングにより行った。血液サンプルは、静脈および動脈の血液の混合物である。血漿を得るために、血液をヘパリンチューブに回収し、遠心分離した（１，０００×ｇで、１０分間、室温）。血漿は使用するまで２つのアリコートに凍結された。

【０２８０】

６．１．４．免疫組織化学的（ＩＨＣ）定量

全てのクライオ凍結脳の半球を分析した。レベル（全部で５つのレベル）あたり１５クライオ切片、それぞれ１０μｍの厚（Ｌｅｉｃａ ＣＭ ３０５０Ｓ）を矢状に切断した。脳レベルは形態学アトラス“Ｔｈｅ Ｍｏｕｓｅ Ｂｒａｉｎ” ｆｒｏｍ Ｐａｘｉｎｏｓ ａｎｄ Ｆｒａｎｋｌｉｎ（第２版）に従って選択された。５つのレベルの切断はランダムスライスで開始し、次いでサンプリングが均一かつ体系的に継続し、常に連続してレベルごとに１５スライスを保持し、レベル間では１５０μｍを廃棄した。脳領域あたり海馬と扁桃体の５つのスライス（各レベルから１）のＴＡＵ病理を決定するために、動物はＡＴ１８０（＃ＭＮ１０４０、Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）抗体とＨＴ７（＃ＭＮ１０００、Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）抗体を用いて染色された。一次抗体はＣｙ－３－結合２次抗体により可視化され、続いて、免疫反応性領域がイメージプロプラス（ｖ６．２の）ソフトウェアを用いて評価した。

【０２８１】

免疫反応性の対象物はサイズ制限（扁桃体で３０μｍ^2、海馬で７μｍ^2）以上と動的強度閾値以上で測定された。対象物の全領域と強度及び個々の閾値は自動的に提出された。使用される場合、動的な閾値は「ＡＯＩ内の平均強度プラスＡＯＩ内のピクセル強度の標準偏差の因子倍」と定義した。いずれの場合においても、値は、最低限の設定閾値を超えなければならなかった。正確な閾値レベルを以下の表に示す。

閾値	最小	動的因子
AT180扁桃体	25	2
AT180 海馬	28	-
HT7 扁桃体	35	2
HT7 海馬	25	0.5

【０２８２】

領域サイズは、海馬と扁桃体の手動での線引きにより測定した。ＨＴ７及びＡＴ１８０ＩＲ領域データは、領域サイズに正規化した。

【０２８３】

ｎ＞４の全てのＩＨＣ関連データは、コルモゴロフスミルノフ正規試験に従ってガウス分布に従い、平均±ＳＥＭとして表される。従って４匹の動物からのみからなるビヒクル群に対しては、正規性試験には少なすぎるので、ガウス分布を仮定した。群の違いは、パラメトリックな一方向性ＡＮＯＶＡを用いて計算し、続いてＧｒａｐｈＰａｄＰｒｉｓｍソフトウェアで計算されるニューマンクールズ事後試験を行った。α－エラーレベルを０．０５に設定した。

【０２８４】

脳のＴＡＵ病理は、ＡＴ１８０（抗ｐＴＡＵ）抗体及びＨＴ７（抗ＴＡＵ）抗体を用いて免疫組織化学的（ＩＨＣ）定量によって海馬と扁桃体で決定された。更に、メソスケールディスカバリー（ＭＳＤ）デュプレックス技術を使用して、可溶性ホモジネート画分で皮質と海馬の可溶性ｐＴＡＵとＴＡＵの治療効果を測定し、ｐＴＡＵと総ＴＡＵを探索した。

【０２８５】

ＩＨＣアッセイ又はＭＳＤアッセイの何れかで使用される抗体は、この研究で使用される２つの治療抗体と重複するエピトープを持っていない。

【０２８６】

６．１．５．Ｔｇマウスの可溶性脳画分中の可溶性タウタンパク質のレベルの定量化のための画分の生成

方法６．１．１に従って処置されたマウスは、脳内のタウ病理を決定するために、２回目の投与後１日に安楽死させた。簡潔には、一つの脳半球からの可溶性皮質サンプルを１００から２００μＬの冷たい抽出緩衝液（２５ｍＭのトリス－ＨＣｌ ｐＨ＝７．４、１５０ｍＭのＮａＣｌ、１ｍＭのＥＤＴＡ、１ｍＭのＥＧＴＡ、１０ｍＭのβ－グリセロリン酸、３０ｍＭのＮａＦ、２ｍＭのNa_3VO_4、プロテアーゼおよびホスファターゼ阻害剤カクテル）でホモジナイズした。ホモジネートを遠心分離し（４℃で１５分間、７４，２００×ｇ）、上清を可溶性タウの分析に用いた。皮質サンプルの可溶性画分中の総タンパク質濃度は、ＢＣＡタンパク質定量アッセイ（Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ，ＵＳＡ）によって決定した。

【０２８７】

６．１．６．ウェスタンブロットによるｐＴａｕの存在の分析

ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－ＡＢ２とＡＣＩ－３６－３Ａ８－ＡＢ２を投与したマウスの脳における免疫反応を探るために、ｐＴａｕ ＰＨＦエピトープに結合することが報告された２つの抗体（Greenberg et al., 1992; Reig et al., 1995; Hoffmann et al., 1997）を、ウェスタンブロット（ＷＢ）アッセイで用いた。皮質からの可溶性画分を等容量のサンプルバッファーＡ（１２５ｍＭのトリス－ＨＣｌ ｐＨ６．８、４％［ｗ／ｖの］ドデシル硫酸ナトリウム［ＳＤＳ］、２０％グリセロール、０．０１％ブロモフェノールブルー、５％β－メルカプトエタノール）を添加することによって希釈し、そしてサンプルを、１０分間９５℃に加熱した。３０μｇのサンプルを４－１２％のＢｉｓ－Ｔｒｉｓゲル（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｂａｓｅｌ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）上にロードし、ＭＯＰＳ ＳＤＳ バッファー（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）で泳動した。タンパク質はトランスファーバッファー（２５ｍＭトリス ｐＨ８．６、１９０ｍＭのグリシン、２０％メタノール）中で０．４５μｍＰＶＤＦに転写した。タンパク質の転写を確認するため、膜をＰｏｎｃｅａｕ Ｓで５分間染色し、ブロッキングバッファー（ＴＢＳ〔５０ｍＭトリス－ＨＣｌ、ｐＨが７．６、１５０ｍＭのＮａＣｌ］中に５％のＢＳＡ）で１時間ブロックした。ブロッキングバッファーおよび０．１％Ｔｗｅｅｎ中で、膜を一次抗体で４℃で一晩ブロットした。ＷＢで使用された２つのｐＴａｕ ＰＨＦ特異的一次抗体は以下である：抗ｐＳ３９６（ＰＨＦ－１３エピトープ；ＡｂＣａｍ，Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ，ＵＫ；３μｇ／ｍＬで使用）、ヒト又はマウスｐＴａｕのリン酸化Ｓｅｒ３９６に特異的（Hoffmann et

al., 1997）、及びＡＤ２（ＰＨＦ－１エピトープ；ＢｉｏＲａｄ、Ｒｅｉｎａｃｈ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ；０．４μｇ／ｍＬで使用）、ヒト及びマウスのｐＳ３９６及びリン酸化Ｓｅｒ４０４に特異的（ｐＳ４０４；Reig et al., 1995）。全タウＷＢのために、タウ５（０．５μｇ／ｍＬ）、ヒト及びマウスのタウの両方に結合する抗体（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ａｌｌｓｃｈｗｉｌ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）を用いた。一次抗体とのインキュベーション後に、膜をＴＢＳ中０．１％のＴｗｅｅｎで洗浄し、二次抗体：ヤギ抗マウスＩＲＤｙｅ８００またはヤギ抗ウサギＩＲＤｙｅ６８０（両方ともＬｉ－Ｃｏｒ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，ＮＥ，ＵＳＡから）とインキュベートし、両方ともＢＢと０．１％のＴｗｅｅｎで１：１５０００希釈した。次いで、膜を、室温で１時間光から保護してインキュベートし、ＴＢＳ中の０．１％のＴｗｅｅｎで１５分間３回洗浄し、ＴＢＳで５分間２回洗浄し、バンドをＬｉ－Ｃｏｒオデッセイ近赤外イメージング・システム（Ｌｉ－Ｃｏｒ）を使用して定量化した。バンドはβ－アクチンの発現に対して正規化した（ＡｂＣａｍ；０．４μｇ／ｍＬで使用）。ヒトトランスジェニックタウのバンド対マウス内在性のタウのバンドの同定を確認するために、ブロットをヒト完全タウに特異的抗体（Ｔａｕ１３、ＡｂＣａｍ；表示せず）で探索した。加えて、治療抗体ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２が、抗ｐＳ３９６又はＡＤ２の結合に干渉するのに十分な量で変性した試験サンプルに存在していないことを確認するために、膜を抗マウス一次抗体で探索した。この研究で使用したサンプルではインタクト又は変性した治療抗体は検出されなかた（結果は非表示）。

【０２８８】

６．１．７．統計的分析

データは、ノンパラメトリックなクラスカル－ワリス順位和統計を用いて分析し、Ｐ＜０．０５レベルで有意であれば、ダンの事後テストを全群の比較に用いた（ＧｒａｐｈＰａｄ Ｐｒｉｓｍ，ＧｒａｐｈＰａｄソフトウエア，ＣＡ，ＵＳＡ）。結果は平均±平均値の標準誤差（ＳＥＭ）を示す個別のデータ点として示される。Ｐ＜０．０５を持つ差は統計的に有意とみなした。

【０２８９】

６．２　結果

６．２．１．免疫組織化学的（ＩＨＣ）定量による脳のＴＡＵ病理

本研究期間中、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２とＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２の２回の腹腔内注射は、いかなる著しい悪影響をも示さなかった。ＩＨＣによるＡＴ１８０を使用するｐＴ２３１とｐＳ２３５の染色は、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２の処置後に、扁桃体で免疫反応領域（ＩＲ）の増大を示した。３ｍｇ／ｋｇ ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２で処置されたマウスは、海馬において著しく小さいＡＴ１８０ＩＲ領域を持っていた。

【０２９０】

扁桃体において、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－ＡＢ２処置は、ＰＢＳ群に比べて、ＡＴ１８０ＩＲ ｐＴＡＵを増加させた。海馬において、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－ＡＢ２処置はｐＴＡＵを減少させた。ＡＴ１８０は特異的にｐＴＡＵを標識する。ＡＴ１８０ ＩＲ細胞の発生頻度は、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－ＡＢ２処置マウスで減少した。この作用は、低用量（３ｍｇ／ｋｇ）群（ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－ＡＢ２ ＬＤ）でより強かった。細胞体の染色パターンは、群間で違いはない。

【０２９１】

ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２の両方について、より高い１０ｍｇ／ｋｇの容量において、海馬において小さなＡＴ１８０ ＩＲの有意でない傾向が見られた。定性的には、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－ＡＢ２で処置した動物は、非常に強いＡＴ１８０標識を持った海馬ニューロン数の減少を示した。

【０２９２】

６．２．２．受動免疫後の脳画分中の総タウ濃度の低下

可溶性タンパク質を含む脳画分中のｐＴＡＵとＴＡＵに関する治療の効果は、ＭＳＤデ

ュプレックスアッセイを用いて測定した。皮質の全可溶性ＴＡＵのレベルは、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２とＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２で処置されたマウスで著しく減少した（Ｐ＜０．０１、図３の上の段）。ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２の３ｍｇ／ｋｇの用量により、可溶性ｐＴＡＵのレベルもまた著しく減少し（Ｐ＜０．０１、図３の下の段）、最大の減少を実証している（ｐ＜０．０１）。全ＴＡＵに対するｐＴＡＵの比率は変わらなかった。可溶性のＴＡＵとｐＴＡＵのレベルは海馬からのサンプルでは変化しなかった（ここでは非表示）。

【０２９３】

６．２．３．対らせん状細線維（ＰＨＦ）に存在するリン酸化タウエピトープの存在におけるＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２の投与の影響

構造的には、神経原線維変化（ＮＦＴ）は、高リン酸化された状態で主に見られる、微小管結合タンパク質タウからなる対らせん状細線維（ＰＨＦ）からなる（Alonso et al., 1997）。この研究の目的は、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２とＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２の投与後に、タウトランスジェニックマウスの脳内でｐＴａｕＰＨＦを探索し定量化するためにｐＴａｕＰＨＦを認識する抗体を使用することであった。

【０２９４】

文書で十分に立証されたタウＰＨＦリン酸化エピトープの量に関して、２つのＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２又はＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２の投与の効果を測定するために、処置されたタウＴｇマウスからの大脳皮質可溶性画分が、ＷＢを用いた抗ｐＳ３９６抗体（ＰＨＦ－１３エピトープ、ｐＳ３９６）及びＡＤ２（ＰＨＦ－１エピトープ、ｐＳ３９６／ｐＳ４０４）で探索された。免疫反応性は、赤外線イメージングシステムを用いて定量した。タウＴｇマウスにおけるＡＤ２　ＰＨＦ免疫反応性におけるＡＣＩ－３６－３Ａ８－ＡＢ２とＡＣＩ－３６－２Ｂ６－ＡＢ２の作用をＡＤ２を用いて決定し、ｐＳ３９６とｐＳ４０４、タウの２つの以前に文書化されたＰＨＦリン酸化残基を探索する（Greenberg et al., 1992; Reig et al., 1995）。

【０２９５】

ＡＤ２（ＰＨＦ－１）抗体を用いたＳ３９６とＳ４０４がリン酸化されたヒト及びマウスｐＴａｕを示すバンドがＬｉ－Ｃｏｒ赤外線イメージング・システムを用いて定量化された。個別のマウスに対する値ならびに平均±平均値の標準誤差が決定された。

【０２９６】

トランスジェニックヒトｐＴａｕのバンドについて観察された、ＡＤ－２陽性ｐＴａｕ免疫反応性の減少について、有意ではない傾向が観察された。しかしながら、３ｍｇ／ｋｇのＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２で処置されたマウスＡＤ２陽性ｐＴａｕの量の有意な減少が、マウスに観察され、１０ｍｇ／ｋｇのＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２又はＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２の何れかで処置された場合には有意でない傾向が観察された。

【０２９７】

ｐＴａｕ　ｐＳ３９６を特異的に認識する異なる抗体が染色に用いられた場合（Hoffmann et al., 1997）、更に大きな効果が観察された。１０ｍｇ／ｋｇのＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２又はＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２で処置されるときに、減少する傾向を持ち、３ｍｇ／ｋｇのＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２で処置されたマウスは、ｐＳ３９６陽性ヒトトランスジェニック及びマウス内因性ｐＴａｕが著しく少なかった。非リン酸化及び全ｐＴａｕの両方を含む全ヒト及びマウスのタウにおける作用を評価するために、ブロットをＴａｕ５抗体で探索した。ビヒクルコントロールに比較して、１０ｍｇ／ｋｇで投与されたＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２又はＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２によって、全タウは調節されなかったが、しかし、全タウについて減少する傾向がＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２を３ｍｇ／ｋｇで投与されたマウスで観察された。

【０２９８】

６．２．４　要約

抗ｐＴＡＵ抗体ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２によるタウＴｇマウスの２回の末梢性投与は、大脳皮質において可溶性のＴＡＵと可溶性のｐＴＡＵを著しく減少させた。抗ｐＴ

ＡＵ抗体ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２によるタウＴｇマウスの２回の末梢性投与は、大脳皮質において可溶性のＴＡＵと可溶性のｐＴＡＵを著しく減少させた。更に、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２は大幅に海馬のｐＴＡＵ免疫反応性を減少させた。これらの結果は、タウオパチーの低減における、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２抗体を用いた受動抗ｐＴＡＵ免疫化の能力を実証している。

【０２９９】

タウＴｇマウスに対するＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２の３ｍｇ／ｋｇでの２回の末梢性投与は、ウェスタンブロット法により測定される皮質におけるｐＴａｕ ＰＨＦエピトープの存在を減少させた。より高用量の１０ｍｇ／ｋｇでは、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２の両方ともｐＴａｕ ＰＨＦエピトープ免疫反応性の減少傾向を示した。これらの結果はＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２抗体は、アルツハイマー病などのタウオパチーに対する受動免疫治療に適切に用いられ得る。

【０３００】

実施例７：ヒトタウ過剰発現マウスの１ヶ月の処置

７．１　方法

７．１．１　マウス及び処置

タウトランスジェニックマウスが用いられ、方法６．１の表に示すように、治療抗体を投与した。（研究番号２）

【０３０１】

７．１．２．行動実験－モリス水迷路（ＭＷＭ）タスク

最後の投与後に、６．１．１に従って処置されたマウスの空間記憶能力について試験するために水迷路（ＭＷＭ）タスクが実行された。ＭＷＭ実験は開始後第４週に全ての囲い込まれた動物で実施された。ＭＷＭは２１℃±２℃の温度での水道水で満たされた１００センチメートルの直径を持つ白い円形プールで構成されている。プールはは実質的に４つのセクターに分割される。透明なプラットフォーム（直径８ｃｍ）が水面下約０．５ｃｍに配置される。全ての試験セッションの最中にて、プラットフォームは、プールの南西の四分円に位置している。各マウスは、連続４日間の各々で３つの試験を実行しなければならなかった。１回の試験は、最大で１分間続いた。この期間、マウスは隠された半透明の標的を見つける機会があった。各試行後に、マウスは環境に適用させるためにプラットフォーム上で１０～１５秒間休ませた。第４日の最後の試行後に少なくとも１時間、マウスはいわゆるプローブ試験（ＰＴ）を履行する必要があった。ＰＴの最中、プラットフォームはプールから除去され、旧標的位置上の交差の数が、この四分円における滞在とともに、実験者によって記録された。ＰＴにおいて、逃避潜時（マウスが隠されたプラットフォームを見つけて水から脱出するのに必要な時間［秒］）、経路（標的に到達する軌跡の長さ［メートル］）、標的ゾーンの交差、及び標的四分円における滞在の定量化のために、コンピュータ化されたトラッキングシステム（Ｂｉｏｂｓｅｒｖｅソフトウェア）を用いた。全ての動物は、行動の結果における不十分な視覚能力の影響を排除するために、最後の日のＰＴ後に視覚検査を行う必要があった。

【０３０２】

７．１．３．免疫組織化学的（ＩＨＣ）定量による脳のタウ病理

マウスは、脳内のタウ病理を決定するためにＭＷＭの後１日で（最後の投与後１週間で）安楽死させた。脳のタウ病理は、ＡＴ１８０（抗ｐＴａｕ、ｐＴ２３１／ｐＳ２３５）抗体及びＨＴ７（ヒト特異的抗タウ）抗体を用いて免疫組織化学的（ＩＨＣ）定量によって海馬と扁桃体で決定された。更に、メソスケールディスカバリー（ＭＳＤ）デュプレックス技術を使用して、ホモジネート画分で皮質と海馬の可溶性ｐＴａｕと可溶性Ｔａｕの治療効果を測定し、ｐＴａｕ（ｐＴ２３１）と総ＴＡＵを探索した。ＩＨＣアッセイ又はＭＳＤアッセイの何れかで使用される抗体は、この研究で使用される治療抗体と重複するエピトープを持っていない。

【０３０３】

７．１．４．皮質と海馬における可溶性タウの分析のためのサンプル調製
マウスは、最後の治療投与後一週間で、組織の収集のために安楽死させた。皮質と海馬を１００から２００μＬの冷たい抽出緩衝液（２５ｍＭのトリス－ＨＣｌ ｐＨ＝７．４、１５０ｍＭのＮａＣｌ、１ｍＭのＥＤＴＡ、１ｍＭのＥＧＴＡ、１０ｍＭのβ－グリセロリン酸、３０ｍＭのＮａＦ、２ｍＭのNa_3VO_4、プロテアーゼおよびホスファターゼ阻害剤カクテル）でホモジナイズした。ホモジネートを遠心分離し（４℃で１５分間、７４，２００×ｇ）、皮質と海馬における可溶性タウの分析のために上清を用いた（図４）。ペレットを１００－２００μＬの抽出バッファー２（１０ｍＭトリスＨＣｌ ｐＨ＝７．４、８００ｍＭのＮａＣｌ、３００ｍＭのスクロース、１ｍＭのＥＧＴＡ、プロテアーゼ及びホスファターゼ阻害剤カクテル）に再懸濁する。溶液は遠心分離され（４℃で２０分間、４０００ｇ）、上清を超遠心チューブに移した。次にサルコシル（３０％水溶液）を１％の最終濃度まで添加し、室温で１．５時間インキュベートした。遠心分離後（４℃で３０分間、７４２００ｇ）、上清をを廃棄し、ペレットを１００μＬの緩衝液３（５０ｍＭのトリス－ＨＣｌ、ｐＨ＝７．４）に再懸濁した。再懸濁したペレットは皮質と海馬でサルコシル不溶性（ＳｉｎＴ）タウとして使用された。可溶性画分及びＳｉｎＴ画分のサンプル中の総タンパク質濃度は、ＢＣＡタンパク質定量アッセイ（Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ，ＵＳＡ）によって決定した。

【０３０４】
７．１．５．ｐＴａｕ ＰＨＦ及びタウのウェスタンブロット
大脳皮質と海馬におけるｐＴａｕ ＰＨＦの存在下でのＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１の作用を評価するために、ｐＴａｕ ＰＨＦエピトープに結合すると報告された２つの抗体が（Greenberg et al., 1992; Reig et al., 1995; Hoffmann et al., 1997）ウェスタンブロット（ＷＢ）アッセイに用いられた。皮質と海馬からの可溶性画分とＳｉｎＴ画分を等容量のサンプルバッファーＡ（１２５ｍＭのトリス－ＨＣｌ ｐＨ６．８、４％［ｗ／ｖ］ドデシル硫酸ナトリウム［ＳＤＳ］、２０％グリセロール、０．０１％ブロモフェノールブルー、５％β－メルカプトエタノール）を添加することによって希釈し、そしてサンプルを、１０分間９５℃に加熱した。３０μｇのサンプルを４－１２％のＢｉｓ－Ｔｒｉｓゲル（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｂａｓｅｌ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）上にロードし、ＭＯＰＳ ＳＤＳ バッファー（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）で泳動した。タンパク質はトランスファーバッファー（２５ｍＭトリス ｐＨ８．６、１９０ｍＭのグリシン、２０％メタノール）中で０．４５μｍＰＶＤＦに転写した。タンパク質の転写を確認するため、膜をＰｏｎｃｅａｕ Ｓで５分間染色した。膜は次いで洗浄し、ブロッキングバッファー（ＴＢＳ〔５０ｍＭトリス－ＨＣｌ、ｐＨが７．６、１５０ｍＭのＮａＣｌ］中に５％のＢＳＡ）で１時間ブロックした。ブロッキングバッファーおよび０．１％Ｔｗｅｅｎ中で、膜を一次抗体で４℃で一晩ブロットした。

【０３０５】
ＷＢで使用された２つのｐＴａｕ ＰＨＦ特異的一次抗体は以下である：抗ｐＳ３９６（ＰＨＦ－１３エピトープ；ＡｂＣａｍ，Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ，ＵＫ；３μｇ／ｍＬで使用）、ヒト又はマウスｐＴａｕのリン酸化Ｓｅｒ３９６に特異的（Hoffmann et al., 1997）、及びＡＤ２（ＰＨＦ－１エピトープ；ＢｉｏＲａｄ，Ｒｅｉｎａｃｈ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ；０．４μｇ／ｍＬで使用）、ヒト及びマウスのｐＳ３９６及びリン酸化Ｓｅｒ４０４に特異的（ｐＳ４０４；Reig et al.,1995）。ターゲット効果を検出するため、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１を、１．６μｇの／ｍＬでブロッティングのために使用した。全タウＷＢのために、タウ５、ヒト及びマウスのタウの両方に結合する抗体（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ａｌｌｓｃｈｗｉｌ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）を０．５μｇ／ｍＬで用いた。タンパク質負荷のために正規化するため、全ての膜がβ－アクチン（ＡｂＣａｍ：０．４μｇ／ｍＬで使用）について更にブロットされた。

【０３０６】
一次抗体とのインキュベーション後に、膜をＴＢＳ中０．１％のＴｗｅｅｎで洗浄し、

二次抗体：ヤギ抗マウスＩＲＤｙｅ８００またはヤギ抗ウサギＩＲＤｙｅ６８０（両方ともＬｉ－Ｃｏｒ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、ＮＥ、ＵＳＡから）とインキュベートし、両方ともＢＢと０．１％のＴｗｅｅｎで１：１５０００希釈した。次いで、膜を、室温で１時間光から保護してインキュベートし、ＴＢＳ中の０．１％のＴｗｅｅｎで１５分間３回洗浄し、ＴＢＳで５分間２回洗浄し、バンドをＬｉ－Ｃｏｒオデッセイ近赤外イメージング・システム（Ｌｉ－Ｃｏｒ）を使用して定量化した。目的のバンドはβ－アクチンの発現に対して正規化した。ヒトトランスジェニックタウのバンド対マウス内在性のタウのバンドの同定を確認するために、ブロットをヒト完全タウに特異的でマウスタウと交差反応しない抗体（Ｔａｕ１３、ＡｂＣａｍ；表示せず）で探索した。加えて、治療抗体が、一次ブロッティング抗体の結合に干渉するのに十分な量で変性した試験サンプルに存在していないことを確認するために、膜を抗マウス一次抗体で探索した。この研究で使用したサンプルではインタクト又は変性した治療抗体は検出されなかた（結果は非表示）。値は、任意のβ－アクチン補正免疫反応性（ＩＲ）として表される。

【０３０７】

７．１．６．統計的分析

データは一方向性ＡＮＯＶＡを用いて解析され、続いて、ダネットの多重比較事後試験（ＧｒａｐｈＰａｄ Ｐｒｉｓｍ，ＧｒａｐｈＰａｄ Ｓｏｆｔｗａｒｅ，ＣＡ，ＵＳＡ）を行、各処置をＴｇコントロール処置マウスと比較した。結果は平均±平均値の標準誤差（ＳＥＭ）を示す個別のデータ点として示される。Ｐ＜０．０５を持つ差は統計的に有意とみなした。グラブの極端なスチューデント逸脱試験により有意な（ｐ＜０．０５）異常値として同定された単一の値は除外された。

【０３０８】

７．２　結果

７．２．１．行動実験－受動免疫後のモリス水迷路（ＭＷＭ）タスク

毎週３ｍｇ／ｋｇで又は４週間の期間に１ｍｇ／ｋｇで投与されたＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１の４回の腹腔内注射は、いかなる著しい悪影響をも示さなかった。

【０３０９】

処置の最終週の期間、動物の空間ナビゲーションの学習及び記憶を評価した。動物は１日あたり３回試行で４日間のトレーニングを行う必要があり、その後１回のプローブ試験と視覚検査を行った。逃避潜時（マウスが隠されたプラットフォームを見つけて水から脱出するのに必要な時間［秒］）、経路（標的に到達する軌跡の長さ［メートル］）、泳ぐ速度（経路と逃避潜時の計算商）、標的交差の数及び標的四分円における滞在が評価された。

【０３１０】

４日間の試験にわたって、プラットフォームへ到達するために水泳経路の長さ及び逃避潜時が評価されると、Ｔｇ（群Ａ）並びにヒヒクルで処置されたｎＴｇ（Ｆ）コントロールの動物は期待された学習曲線を示した。Ｔｇコントロール（Ａ）の動物は、ｎＴｇコントロールの動物（Ｆ）に比較して、逃避潜時と水泳経路において、平坦な学習曲線で示されるように、著しい学習障害を持っていた。逃避潜時と水泳経路は、トレーニングの３日及び４日で著しく（双方向ＡＮＯＶＡ）長かった（Ｐ＜０．００１；ボンフェローニの事後試験）。ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１とＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１による処置は、低又は高投与量（それぞれ群Ｂ及びＣ及びＤ及びＥ）で、Ｔｇコントロールの動物に比較して空間学習能の著しい改善には至らず、似たような学習曲線を示した。各群の第一日の成績を１００％に適合し、かつ全ての以後の日を第一日の割合とすると、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１で処置されたマウスに改善を見ることができる（両方の用量）。効果は、第３日（ｐ＜０．０１群Ｄ及びｐ＜０．０５群Ｅ）と第４日（ｐ＜０．０５群Ｄ）の水泳経路長に関して統計的有意性に達した。

【０３１１】

ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１で処置されたマウス（両方の用量）について、統計的有意性は無いもの、水泳経路長にわずかな改善を見ることができる。

【０３１２】
処置群間での違いは、全４日間のトレーニングで水泳速度の観点では検出されなかった。
ＭＷＭ試験の結果は、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１とＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１で処置されたマウスに関して空間学習が改善される傾向を実証した。
【０３１３】
７．２．２．免疫組織化学的（ＩＨＣ）定量による脳のＴＡＵ病理
ＡＴ１８０抗体は内因性及びヒトｐＴＡＵ（Ｔｈｒ２３１及びＳｅｒ２３５で２重リン酸化）を染色する。
【０３１４】
ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－ＡＢ１及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－ＡＢ１での免疫化後の扁桃体と海馬におけるＡＴ１８０　ＩＲを測定した。扁桃体と海馬のＡＴ１８０　ＩＲ面積百分率を測定した。
【０３１５】
ｎＴｇコントロールにおける細胞体内のｐＴＡＵの量は、Ｔｇ群と比較して有意に低かった（ｐ＜０．００１）。扁桃体において、細胞体ｐＴＡＵを増加させる傾向が、３ｍｇ／ｋｇのＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１処置で観察された。これに対し、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１の両方の投薬量は、海馬におけるビヒクル処置動物と比較してｐＴＡＵを低下させる傾向があった。平均染色強度は、全てのトランスジェニック群で同等であった。
【０３１６】
ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１の処置は海馬と扁桃体における細胞体ｐＴＡＵを変化させず、扁桃体と海馬の神経細胞のｐＴＡＵレベルは扱われたトランスジェニック群間で有意な違いは無かった。染色強度の平均及び総計は、全てのトランスジェニック群で同等であった。
【０３１７】
ＨＴ７抗体は、ヒトＴＡＵに特異的であるので、サイズが７ピクセル以上のリポフスチンドットの自家蛍光に由来する、僅かな信号のみが、ｎＴＧコントロールで測定された。ビヒクルコントロール（ＰＢＳ）に比べて、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１処置は海馬の細胞体ＨＴ７陽性ＩＲ面積を変えなかった。ＩＲ領域の観点において、扁桃体では、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１の低用量を投与したマウスは、全ヒトＴＡＵの高いレベル（Ｔ検定：Ｐ＝０．０９５４）を有する傾向にあった。この増加はまた、染色の領域の増大及び個々の神経細胞の細胞体における染色強度の増大として定性的に可視的であった。統計的に有意な処置誘導型の相違点は、海馬ニューロンで観察されなかった。
【０３１８】
ビヒクルコントロール（ＰＢＳ）に比べて、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１処置は扁桃体の細胞体ＨＴ７陽性ＩＲ面積を有意には変えなかった。染色強度の平均及び総計は、全てのトランスジェニック群で同等であった（データ非表示）。
【０３１９】
脳のタウ病理は脳の可溶性画分で全タウ又はｐＴａｕのレベルに変化を示さなかったが、脳切片の免疫染色は、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１で処置したマウスにおける海馬のｐＴａｕの減少を示した。
【０３２０】
７．２．３．対らせん状細線維（ＰＨＦ）に存在するリン酸化タウエピトープにおける抗タウ抗体の投与の影響
アルツハイマー病（ＡＤ）は、神経原線維変化によって神経病理学的に特徴付けられる（ＮＦＴｓ；Ｂｒａａｋ，Ｂｒａａｋ，＆Ｂｏｈｌ，１９９３）。構造的には、ＮＦＴは、高リン酸化された状態で主に見られる、微小管結合タンパク質タウからなる対らせん状細線維（ＰＨＦ）からなる（Alonso et al.,1997）。本研究の目的は、抗ｐＴａｕ抗体ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１とＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１の４回の投与によって、タ

ウトランスジェニックマウスの脳におけるこれらのｐＴａｕ ＰＨＦエピトープを減らすことだった。

【０３２１】

文書で十分に立証されたタウＰＨＦリン酸化エピトープの量に関して、４回のＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１の投与の効果を測定するために、処置されたタウＴｇマウスからの大脳皮質及び海馬の可溶性画分及びＳｉｎＴ画分が、ＷＢを用いた抗ｐＳ３９６抗体（ＰＨＦ－１３エピトープ、ｐＳ３９６）及びＡＤ２（ＰＨＦ－１エピトープ、ｐＳ３９６／ｐＳ４０４）で探索された。タウＰＨＦのマーカーとして、ｐＳ３９６／ｐＳ４０４の存在（Greenberg et al., 1992; Reig et al., 1995）、より具体的にはｐＳ３９６位置（Hoffmann et al., 1997）が以前に文書化されている。タウＴｇマウスにおいて、タウは内因性マウスタウとして及びヒトタウ導入遺伝子として、両方の種由来のタウと２つの異なる転写産物由来のタウに結合するブロッティング抗体が十分な量で発現されるときに、明らかにＷＢで識別することができる分子量の違いを有して、発現される。従って、可能な場合、内因性マウスのバンド及びヒトトランスジェニックタウのバンドは各ブロッティング抗体に対して識別され別々に定量した。我々のＷＢアッセイでこれらのタウバンドの移行パターンを検証するために、ヒト特異的（タウ１３）であってタウＴｇ脳でヒトの導入遺伝子を示すのみであるが、全タウに結合する抗タウ抗体が、タウトランスジェニックマウスにおいてヒト及びマウスのタウの移行パターンを検証するためにタウＴｇコントロールサンプルに用いられた。さらに、全ての定量化されたバンドはβアクチンに規格化された。

【０３２２】

大脳皮質からの可溶性画分で探索されるＰＨＦエピトープの存在は、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１で処置されたマウスで減少した。これは、ＷＢでｐＳ３９６（ＰＨＦ－１３）抗体を用いて、マウスとヒトのバンドの両方で有意であった（図５Ａ及びＢ）。

【０３２３】

ＡＤ２（ＰＨＦ－１、ｐＳ３９６／ｐＳ４０４）抗体が、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１処置マウスからの抽出物のＷＢで用いられるとき、有意な減少が観察された（図５Ｃ）。

【０３２４】

これらのＷＢで使用された２つのＰＨＦ－特異的抗体は類似のエピトープ及びリン酸化ターゲットに対する良好な特異性を持っているにもかかわらず、ｐＳ３９６（ＰＨＦ－１３）抗体はより良いシグナル対ノイズ比を有するように見え、かつこれらのＷＢについてより良好な全体的抗体であったことは記録されるべきである。

【０３２５】

治療抗体の直接的な標的効果は、ブロッティング抗体としてＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１とＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１をそれぞれ使用して大脳皮質において探索された。この抗ｐＴａｕ抗体は、本研究で用いた治療抗体と同じリン酸化タウのエピトープに結合する。ブロットは、以前は二次抗マウスＩｇＧ抗体で探索された。

【０３２６】

バンドは、赤外線イメージングシステムを用いて定量した。個別のマウスに対する値ならびに平均±平均値の標準誤差が決定された。

【０３２７】

バックグランド以上のシグナルは検出されず、これらのサンプルおいて治療抗体によって遮断効果又は干渉がないことを実証している（データ非表示）。

【０３２８】

ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１で処置したマウスでは、コントロールで処置されたｎＴＧマウスのレベルまで下がってシグナルが低減する傾向が観察され、直接的な標的効果を示している（図５Ｇ）。ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１で処置したマウスでは、処置の有意な影響は観察されなかった（図５Ｇ）。

【０３２９】
タウＴｇマウスの可溶性皮質における総タウにおいて、内因性マウスタウ及びトランスジェニックヒトタウの両方に結合するブロッティング用Ｔａｕ５抗体を用いて、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１処置の有意な効果が観察された。
【０３３０】
全タウの有意な減少は、大脳皮質の可溶性画分における内因性マウスのタウおよびトランスジェニックヒトタウの両方について観察された。
【０３３１】
マウスＡ）及びヒトＢ）の全タウ（タウ５）を示すバンドは、赤外線イメージングシステムを用いて定量した。個別のマウスに対する値ならびに平均±平均値の標準誤差が決定された。
【０３３２】
界面活性剤不溶性タウ画分中のＰＨＦエピトープの存在は、サルコシル不溶性（ＳｉｎＴ）脳画分を調製することによって行われた。
【０３３３】
バンドは、赤外線イメージングシステムを用いて定量した。個別のマウスに対する値ならびに平均±平均値の標準誤差が決定された。
【０３３４】
皮質と海馬の両方で、可溶性タウ画分と比較したとき、この画分でタウはほとんど存在していなかった。これは、４ヶ月で海馬及び皮質に不溶性で凝集したタウの有意な量を蓄積していない可能性がある本研究で用いたタウＴｇマウスの年齢に起因する可能性がある。従って、ＳｉｎＴ画分でＰＨＦエピトープを探索するとき、ＡＤ２（ＰＨＦ－１、ｐＳ３９６／ｐＳ４０４）抗体のみが、バンドの信頼性のある量子化のために十分であったシグナルを提供した。
【０３３５】
１ｍｇ／ｋｇのＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１及び１ｍｇ／ｋｇのＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１でそれぞれ処置されたマウスは、内因性マウスタウを表すバンドでＰＨＦ－１エピトープの有意な減少があった（図５Ｃ）トランスジェニックヒトバンドで観測されたシグナルは確実に定量するのに十分な強さではなかった。
【０３３６】
海馬はまた、皮質に対するものと同じ抗体および画分を用いて探索された。全ブロッティングの抗体についてより低シグナルが、皮質のそれと比べて海馬由来画分において検出された。
【０３３７】
タウＴｇマウスの可溶性海馬におけるｐＳ３９６（ＰＨＦ－１３）免疫反応において、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－ＡＢ１及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－ＡＢ１処置の効果を決定した。マウスＡ）及びヒトＢ）のｐＴａｕ　ｐＳ３９６（ＰＨＦ－１３）エピトープを示すバンドは、赤外線イメージングシステムを用いて定量した。個別のマウスに対する値ならびに平均±平均値の標準誤差が決定された。
【０３３８】
ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１処置は、ヒトの導入遺伝子バンドにおいて減少するわずかな傾向を伴っており、マウスタウ溶性海馬画分中でｐＳ３９６（ＰＨＦ－１３）エピトープの存在を有意には変えなかった。
【０３３９】
ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１処置は、ｐＳ３９６（ＰＨＦ－１３）エピトープの存在下で、マウスタウ可溶性海馬画分及びヒト導入遺伝子のバンドで、減少傾向を示した。
【０３４０】
ｐＳ３９６（ＰＨＦ－１３）ＷＢで観察されたものと類似して、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１で処置されたマウスの抽出物の両方で、ヒトタウ可溶性海馬画分における全タウについて、シグナルの減少する傾向が検出された。

【０３４１】
皮質ＳｉｎＴサンプルに似て、海馬からのＳｉｎＴ画分はｐＴａｕのレベルが非常に低かった。ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１のそれぞれで処置されたマウスは、内因性マウスタウを表すバンドにおいて、ＰＨＦ－１（ｐＳ３９６／ｐＳ４０４）エピトープに変化は無かった。トランスジェニックヒトバンドで観測されたシグナルは確実に定量するのに十分に強くはなかった。
【０３４２】
７．２．４　要約
本研究は、リン酸化部位特異的抗ｐＴａｕ抗体ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１抗体及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１抗体の４回の投与を用いる受免疫化は、空間学習を改善し、脳のｐＴａｕ病理を減少させることを示している。
【０３４３】
タウＴｇマウスに対する抗ｐＴａｕ抗体ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１の１及び３ｍｇ／ｋｇでの４回の末梢性投与は、ウェスタンブロット法により測定される皮質におけるｐＴａｕ　ＰＨＦエピトープの存在を減少させた。減少の傾向は海馬で観察された。同様に、全タウの低下も観察された。ｐＴａｕ　ＰＨＦ－１免疫反応性の有意な減少が、不溶性皮質画分で観察され、抗体治療の直接的な標的効果を示す傾向もまた観察された。これらの結果は、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ２及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ２抗体は、アルツハイマー病などのタウオパチーに対する受動免疫治療における、抗ｐＴａｕ抗体ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１についての更なる支持を与えている。
【０３４４】
実施例８：ヒトタウ過剰発現マウスの３ヶ月の処置
８．１　方法
８．１．１　マウス及び処置
タウトランスジェニックマウスが用いられ、方法６．１の表に示すように、治療抗体を投与し（研究番号３）、下記の表に記載のようにマウスは４つの異なる処置群に割り当てられた。

群	マウス株	遺伝子型	開始時年齢	性	n	処置		
A	TMHT	Tg	3月 (±2週)	混合	15+1	PBS (コントロール)	i.p. 10 µl/g b.w.	毎週
B	TMHT	Tg	3月 (±2週)	混合	15+1	ACI-36-2B6-Ab1 (1 mg/kg)	i.p. 10 µl/g b.w.	毎週
C	TMHT	Tg	3月 (±2週)	混合	15+1	ACI-36-2B6-Ab1 (3 mg/kg)	i.p. 10 µl/g b.w.	毎週
F	TMHT	nTg	3月 (±2週)	混合	15+1	PBS (コントロール)	i.p. 10 µl/g b.w.	毎週

【０３４５】
全４５匹のＴｇマウスプラス３匹の予備は、処置群ＡからＣに割り当てられ、１５匹のｎＴｇマウスプラス１匹の予備（群Ｇ）は、ＰＢＳ（ビヒクルコントロール）又は抗ｐＴＡＵ抗体のＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１又はＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１の何れかを腹腔内注射により、第０日目、７日目、１４日目、２１日目、２８日目、３５日目、４２日目、４９日目、５６日目、６３日目、７０日目、７７日目、および８４日目に処置された。動物を全ての処置群の動物を含む５つの異なる出発群（階級）に無作為に囲い込んだ。一階級における動物の数は同じ年齢で均一な取扱いを確保するように限定された。第１２回目の投与後に、水迷路（ＭＷＭ）タスクを、空間記憶の成績を試験するために行った。ＭＷＭの後で、マウスに被験物質を更に１回追加投与し（第１３回目の注射）、２４時間後安楽死させてタウ病理を決定した。脳のタウ病理は、ＡＴ１８０（抗ｐＴａｕ、ｐＴ

２３１／ｐＳ２３５）抗体を用いて免疫組織化学的（ＩＨＣ）定量によって海馬と扁桃体で決定された。更に、皮質と海馬において、可溶性及びサルコシル不溶性タウ及びｐＴａｕに関する処置の効果を、メソスケールディスカバリー（ＭＳＤ）技術を用いて測定し、ｐＴａｕ（ｐＴ２３１とｐＳ３９６）及び全タウを探索した。

【０３４６】

８．１．２．行動実験－モリス水迷路（ＭＷＭ）タスク

この実験は、実施例７．１．２に記載のプロトコルに従って行った。第１２週に、学習および記憶を評価するために、空間的ナビゲーションをモリス水迷路（ＭＷＭ）で試験した。

【０３４７】

８．１．３．分子生物学

全ＴＡＵ及びＴｈｒ２３１及びｐＳ３９６をリン酸化したタウは、メソスケールディスカバリー（ＭＳＤ）から免疫測定法を用いて、Ｔｇ動物の脳ホモジネートで定量した。

【０３４８】

８．１．４．免疫組織化学的（ＩＨＣ）定量による脳のタウ病理

この実験は、実施例７．１．３に記載のプロトコルに従って行った。ＴＡＵ病理は、群あたり８匹の海馬及び扁桃体におけるＡＴ１８０免疫反応によって決定された。

【０３４９】

８．１．５．対らせん状細線維（ＰＨＦ）に存在するリン酸化タウエピトープにおける３ヶ月抗タウ抗体の投与の影響

この実験は、実施例７．１．４、７．１．５と７．１．６に記載のプロトコルに従って行った。文書で十分に立証されたタウＰＨＦリン酸化エピトープの量に関して、４回のＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１及びＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１の投与の効果を測定するために、処置されたタウＴｇマウスからの大脳皮質及び海馬の可溶性画分及びＳｉｎＴ画分が、ＷＢを用いて、ＡＤ２（ＰＨＦ－１エピトープ、ｐＳ３９６／ｐＳ４０４）、抗ｐＳ３９６抗体（ＰＨＦ－１３エピトープ、ｐＳ３９６）及びＡＴ１８０（ｐＴ２３１／ｐＳ２３５）で探索された。

【０３５０】

８．１．６．ｂｉＧＴタウバイジェニックマウスを用いた、リン酸化タウエピトープに対する３ヶ月抗タウ抗体投与の影響

研究番号４は方法６．１に示したようにバイジェニックタウマウスを用いて行った。ウェスタンブロッティングの総ホモジネート（ＴＨ）または可溶性画分（Ｓ１）を使用して、下図に示すように、大脳皮質サンプルを調製した。膜はｐＴａｕまたは全タウに対して次のブロッティング抗体を用いて探索した：

ＨＴ－７（２６ｎｇ／ｍｌ）、全ヒトタウに対して特異的
ＰＨＦ－１３（ｐＳ３９６）　１／７５００希釈
ＡＴ１８０（ｐＴ２３１）　２．４７ｕｇ／ｍｌ
ＡＴ８（ｐＳ２０２）　３ｕｇ／ｍｌ
ｐＳ４０４　１：５０００希釈
ｐＳ４００　１：５０００希釈

【０３５１】

すべての定量化は、β－アクチンに対して規格化した。

【０３５２】

８．２　ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１抗体の結果

１２週間の研究期間中毎週１又は３ｍｇ／ｋｇで投与されたＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１の１３回の腹腔内注射は、いかなる著しい悪影響をも示さなかった。

【０３５３】

８．２．１　行動結果－モリス水迷路

ＭＷＭ試験の結果は、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１で処置されたマウスに関して空間学習が改善される強い傾向を実証した（図９）。

【０３５４】
処置の最終週の期間、動物の空間ナビゲーションの学習及び記憶を評価した。動物は１日あたり３回試行で４日間のトレーニングを行う必要があり、その後１回のプローブ試験と視覚検査を行った。逃避潜時（マウスが隠されたプラットフォームを見つけて水から脱出するのに必要な時間［秒］）、経路（標的に到達する軌跡の長さ［メートル］）、泳ぐ速度（経路と逃避潜時の計算商）、標的交差の数及び標的四分円における滞在が評価された。４日間の試験にわたるプラットフォームへ到達するために水泳経路の長さ及び逃避潜時の観点から、ビヒクルで処置されたＴｇ（群Ａ）及びｎＴｇ（Ｆ）コントロールの動物は期待された学習曲線を示した。Ｔｇコントロール（Ａ）の動物は、ｎＴｇコントロールの動物（群Ｆ）に比較して、逃避潜時と水泳経路の平坦な学習曲線で示される、著しい学習能力の障害を示した。逃避潜時と水泳経路は、トレーニングの３日（Ｐ＜０．０１、潜時；ｐ＜０．００１、長さ；ボンフェローニの事後試験）及び４日（Ｐ＜０．０１；ボンフェローニの事後試験）で著しく（双方向ＡＮＯＶＡ）異なっていた。ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１による処置は、Ｔｇコントロールの動物（Ａ）と比較して、低又は高用量（ＢとＣ）で、空間学習能を著しくは改善しなかった。各群の成績をトレーニング第１日における１００％に適合させ、以後の全ての日を第一日の割合とすると、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１で処置されたマウスにおいて（低及び高用量）、統計的有意性は無いが、遊泳経路長にわずかな改善を見ることができる。処置群間での違いは、全４日間のトレーニングで水泳速度を計算すると検出されなかった。プローブ試験（ＰＴ）において、標的四分円（西南象限）における滞在並びに標的ゾーンの交差が記録された。ｎＴｇコントロール（群Ｆ）は、統計的有意性は無いが、標的四分円でより長時間を過ごし、Ｔｇコントロール（群Ａ）に比べて非常にしばしば標的ゾーンを交差した。

【０３５５】
低容量又は高用量の何れの処置も、ＰＴにより評価されるように、Ｔｇコントロールに比較して、空間学習能の改善には至らなかった。

【０３５６】
８．２．２　分子生物学
８．２．２．１　皮質ホモジネートの可溶性画分におけるＴＡＵ
全ＴＡＵ、ｐ２３１ＴＡＵ、ｐ３９６ＴＡＵ、及びｐＴＡＵの全ＴＡＵに対する比率は、群Ａ（ＴｇビヒクＬ群；ＰＢＳ）、群Ｂ（Ｔｇ、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１　１ｍｇ／ｋｇ），及び群Ｃ（Ｔｇ、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１　３ｍｇ／ｋｇ）に由来するｎ＝１６匹の動物の皮質ホモジネートの可溶性画分で評価された。ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１による処置は可溶性皮質ホモジネートにおいて全ＴＡＵ及びｐＴＡＵに有意には影響を与えなかった。しかし、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１の処置の際、全ＴＡＵ、ｐ２３１ＴＡＵ，及びｐ３９６ＴＡＵの平均に（有意性は無いが）わずかな増加が観察された。全ＴＡＵに対するｐＴＡＵの比率として評価されるＴＡＵリン酸化は影響を受けなかった。

【０３５７】
８．２．２．２　皮質ホモジネートのサルコシル不溶性画分におけるＴＡＵ
全ＴＡＵ、ｐ２３１ＴＡＵ、ｐ３９６ＴＡＵ、及びｐＴＡＵの全ＴＡＵに対する比率は、群Ａ（ＴｇビヒクＬ群；ＰＢＳ）、群Ｂ（Ｔｇ、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１　１ｍｇ／ｋｇ），及び群Ｃ（Ｔｇ、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１　３ｍｇ／ｋｇ）に由来するｎ＝１６匹の動物の皮質ホモジネートのサルコシル不溶性画分で評価された。ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１による処置はサルコシル不溶性皮質ホモジネートにおいて全ＴＡＵ及びｐＴＡＵに有意には影響を与えなかった。しかし、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１の処置の際、全ＴＡＵ及びｐ２３１ＴＡＵの平均に（有意性は無いが）わずかな増加が観察された。全ＴＡＵに対するｐＴＡＵの比率として評価されるＴＡＵリン酸化は影響を受けなかった。

【０３５８】
８．２．２．３　海馬ホモジネートの可溶性画分におけるＴＡＵ

全ＴＡＵ、ｐ２３１ＴＡＵ、ｐ３９６ＴＡＵ、及びｐＴＡＵの全ＴＡＵに対する比率は、群Ａ（Ｔｇビヒクル群；ＰＢＳ）、群Ｂ（Ｔｇ、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１　１ｍｇ／ｋｇ），及び群Ｃ（Ｔｇ、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１　３ｍｇ／ｋｇ）に由来するｎ＝１６匹の動物の海馬ホモジネートの可溶性画分で評価された。ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１による処置は可溶性海馬ホモジネートにおいて全ＴＡＵ及びｐＴＡＵに有意には影響を与えなかった。ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１の処置の際、全ＴＡＵに対するｐＴＡＵの比率として評価されるＴＡＵのリン酸化のわずかな増加が（有意性は無いが）観察された。

【０３５９】

８．２．２．４　海馬ホモジネートのサルコシル不溶性画分におけるＴＡＵ

全ＴＡＵ、ｐ２３１ＴＡＵ、ｐ３９６ＴＡＵ、及びｐＴＡＵの全ＴＡＵに対する比率は、群Ａ（Ｔｇビヒクル群；ＰＢＳ）、群Ｂ（Ｔｇ、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１　１ｍｇ／ｋｇ），及び群Ｃ（Ｔｇ、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１　３ｍｇ／ｋｇ）に由来するｎ＝１６匹の動物の海馬ホモジネートのサルコシル不溶性画分で評価された。ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１による処置はサルコシル不溶性海馬ホモジネートにおいて全ＴＡＵ及びｐＴＡＵに有意には影響を与えなかった。３ｍｇ／ｋｇによる処置は全ＴＡＵ、ｐ２３１ＴＡＵ並びにｐ３９６ＴＡＵの平均を、有意性に到達することは無いものの増加させたが、１ｍｇ／ｋｇで処置すると、全ＴＡＵ、ｐ２３１ＴＡＵ並びにｐ３９６ＴＡＵの平均のわずかな減少が観察された。全ＴＡＵに対するｐＴＡＵの比率として評価されるＴＡＵリン酸化は、３ｍｇ／ｋｇのＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１処置によりわずかに増加した。

【０３６０】

８．２．２．５．水溶性の皮質のウェスタンブロット

ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１の用量依存性による処置は、大脳皮質の可溶性画分において、ｐＳ３９６／ｐＳ４０４（図５Ｄ）及びｐＴ１８１（図Ｆ５Ｅ及び５Ｆ）ｐＴａｕエピトープの両方の存在を減少させ、３ｍｇ／ｋｇ用量で有意な作用を示した。

【０３６１】

８．２．２．６　ｂｉＧＴタウバイジェニックマウスのＴＡＵ

３ヶ月間ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１で処置したｂｉＧＴマウスは、大脳皮質可溶性画分で総タウを有意に減少させた（図６Ａおよび６Ｂ）。ｐＴａｕエピトープのｐＴ２３１／ＡＴ１８０（図６Ｃ及び６Ｄ）、ｐＳ２０２／ＡＴ８（図６Ｅ）、及びｐＳ３９６（図６Ｆ及び６Ｇ）で有意な減少が観察された。有意な減少もまたｐＴａｕエピトープｐＳ４００（図６Ｈ及び６Ｉ）及びｐＳ４０４（図６Ｌ及び６Ｍ）の両方の総ホモジネート（ＴＨ）の両方で観察された。更に、ｐＴａｕエピトープｐＳ４００の可溶性画分で有意な減少も観察され（図６Ｊ及び６Ｋ）、ｐＴａｕエピトープｐＳ４０４について減少傾向がみられた（図６Ｎ及び６Ｏ）。

【０３６２】

８．２．３　組織学

８．２．３．１　形態計測－領域面積の決定

解剖及びＩＨＣ又は染色の最中で組織に対する負の影響（例えば明確な収縮、異なる切片）と、ある程度、処置が誘発した萎縮を除外し、海馬及び扁桃体の測定されたの領域面積は、調査された脳の全てを通して有意差は認められなかった。個々の切片は、例えば、標識化プロトコルの実行の最中での切片部分の喪失又は組織の折れたたみのために、個体及び群の平均から逸脱する場合がある。従って、任意の標識の全免疫反応性面積［μm^2単位］は、領域面積内の標識面積の割合［標識面積／（領域面積＊１０．０００）］を計算することにより、切片の個々の領域面積［mm^2単位］に対して規格化した。

【０３６３】

８．２．３．２　ＡＴ１８０　ＩＨの結果

ＡＴ１８０抗体は内因性及びヒトｐＴＡＵ（Ｔｈｒ２３１及びＳｅｒ２３５で２重リン酸化）を検出する。ｎＴｇコントロールにおける細胞体内のｐＴＡＵの量は、Ｔｇ群と比

較して有意に低かった（ｐ＜０．０１並びにｐ＜０．００１）。扁桃体では、ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１の高用量（３ｍｇ／ｋｇ 群Ｃ）は、ビヒクル処置動物に比べて細胞体ｐＴＡＵを有意に減少させた（図７、左）。低用量（１ｍｇ／ｋｇ 群Ｃ）は同様の傾向を示したが有意性には至らなかった。同じ効果は、海馬で検出可能であった。ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１は用量依存的にｐＴＡＵを減少させ、高用量で有意であり低用量でその傾向がみられた（図７、右）。この減少はまた、染色の領域の減少及び個々の神経細胞の細胞体における染色強度の減少として定性的に可視的であった。ニューロンの細胞体で測定されたＡＴ１８０ ＩＲのＡＯＩのサイズに規格化された染色強度の総和の結果は、扁桃体における高用量の大きな効果の有意な用量依存性を含み、測定されたＡＴ１８０ ＩＲ面積割合が同程度であった。海馬では、事後の比較は有意な水準には達しなかった。

【０３６４】

８．２．４ 要約

ＭＳＤで測定した脳のタウ病理には、有意な変化を示さなかったが、脳切片の免疫染色は、神経細胞体でＡＴ１８０（ｐＴ２３１／ｐＳ２３５）免疫染色の最大６０％の減少を伴う用量依存性を示した。

【０３６５】

本研究は、リン酸化部位特異的抗ｐＴａｕ抗体ＡＣＩ－３６－２Ｂ６－Ａｂ１抗体の１３回の投与を用いる受免疫化は、空間学習を改善し、脳のｐＴａｕ病理を著しく減少させることを示している。

【０３６６】

８．３ ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１抗体の結果

１２週間の研究期間中毎週１又は３ｍｇ／ｋｇで投与されたＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１の１３回の腹腔内注射は、いかなる著しい悪影響をも示さなかった。

【０３６７】

８．３．１ 行動結果－モリス水迷路

ＭＷＭ試験の結果は、３ｍｇ／ｋｇのＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１で処置されたマウスに関して空間学習が改善される有意な効果を実証した（図１０）。

【０３６８】

４日間の試験にわたるプラットフォームへ到達するために水泳経路の長さ及び逃避潜時の観点から、ビヒクルで処置されたＴｇ（群Ａ）及びｎＴｇ（Ｆ）コントロールの動物は期待された学習曲線を示した。Ｔｇコントロール（Ａ）の動物は、ｎＴｇコントロールの動物（群Ｆ）に比較して、逃避潜時と水泳経路の平坦な学習曲線で示される、著しい学習能力の障害を示した。逃避潜時と水泳経路は、トレーニングの３日（Ｐ＜０．０１、潜時；ｐ＜０．００１、長さ；ボンフェローニの事後試験）及び４日（Ｐ＜０．０１；ボンフェローニの事後試験）で著しく（双方向ＡＮＯＶＡ）異なっていた。ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１による処置は、Ｔｇコントロールの動物（Ａ）と比較して、低又は高用量（ＤとＥ）で、絶対値が解析されるとき、空間学習能を著しくは改善しなかった。各群の成績をトレーニング第１日における１００％に適合させ、以後の全ての日を第一日の割合とすると、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１処置（低及び高用量）の際に学習及び記憶能力の改善の可能性がある。ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１（群Ｄ）の低用量で処置された動物は、Ｔｇコントロール（群Ａ）に比べて、ＭＷＭでごくわずかに良好に機能した。３ｍｇ／ｋｇのＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１による毎週の処置の効果は（群Ｅ）はるかに顕著であり、ｎＴｇ動物のパフォーマンスをほとんど回復した。Ｔｇコントロール（Ａ）に比べて、３ｍｇ／ｋｇのＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１の作用は第３日と第４日で遊泳経路長について統計的に有意であった。処置群間での違いは、全４日間のトレーニングで水泳速度を計算すると検出されなかった。

【０３６９】

プローブ試験（ＰＴ）において、標的四分円（西南象限）における滞在並びに標的ゾーンの交差が記録された。ｎＴｇコントロール（群Ｆ）は、統計的有意性は無いが、標的四

分円でより長時間を過ごし、Ｔｇコントロール（群Ａ）に比べて非常にしばしば標的ゾーンを交差した。低容量又は高用量の何れの処置も、ＰＴにより評価されるように、Ｔｇコントロールに比較して、統計的に有意な改善には至らなかった。しかし、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１処置動物は－統計的には有意でないものの－、Ｔｇコントロールに比較して、標的ゾーンをより交差し、それは４日間にわたるトレーニングの遊泳距離の結果と一致する。

【０３７０】

８．３．２　分子生物学

８．３．２．１　皮質ホモジネートの可溶性画分におけるＴＡＵ

全ＴＡＵ、ｐ２３１ＴＡＵ、ｐ３９６ＴＡＵ、及びｐＴＡＵの全ＴＡＵに対する比率は、群Ａ（ＴｇビヒクルＰＢＳ）及び群Ｄ（Ｔｇ、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１、１ｍｇ／ｋｇ）に由来するｎ＝１６匹の動物、及び群Ｅ（Ｔｇ、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１、３ｍｇ／ｋｇ）に由来するｎ＝１５匹の動物の皮質ホモジネートの可溶性画分で評価された。ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１による処置は可溶性皮質ホモジネートにおいて全ＴＡＵ及びｐＴＡＵに有意には影響を与えなかった。しかし、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１の処置の際、全ＴＡＵ、ｐ２３１ＴＡＵ，及びｐ３９６ＴＡＵの平均に（有意性は無いが）わずかな増加が観察された。全ＴＡＵに対するｐ２３１ＴＡＵの比率として評価される２３１でのＴＡＵリン酸化は、３ｍｇ／ｋｇのＡＣＩ－３６－３Ａ８－ＡＢ１による処置後にわずかに減少した。

【０３７１】

８．２．２．２　皮質ホモジネートのサルコシル不溶性画分におけるＴＡＵ

全ＴＡＵ、ｐ２３１ＴＡＵ、ｐ３９６ＴＡＵ、及びｐＴＡＵの全ＴＡＵに対する比率は、群Ａ（ＴｇビヒクルＰＢＳ）及び群Ｄ（Ｔｇ、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１、１ｍｇ／ｋｇ）に由来するｎ＝１６匹の動物、及び群Ｅ（Ｔｇ、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１、３ｍｇ／ｋｇ）に由来するｎ＝１５匹の動物の皮質ホモジネートのサルコシル不溶性画分で評価された。ＡＣＩ－３６－３Ａ８－ＡＢ１による処置はサルコシル不溶性皮質ホモジネートにおいて全ＴＡＵ及びｐＴＡＵに有意には影響を与えなかった。１ｍｇ／ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１の処置の際、全ＴＡＵ、ｐ２３１ＴＡＵ，及びｐ３９６ＴＡＵの平均に（有意性は無いが）わずかな減少が観察された。更に、１ｍｇ／ｋｇのＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１で処置された動物の全ＴＡＵに対するｐ２３１ＴＡＵは、ヒヒクルで処置された動物に比べて、２つの群の全ＴＡＵに対するｐ２３１ＴＡＵの平均を変化させることなく、わずかに低いばらつきを（Ｆテスト：ｐ＝０．１８４において有意性を欠いてはいるが）示した。１ｍｇ／ｋｇ及び３ｍｇ／ｋｇでのＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１処置群において、ｐ３９６ＴＡＵリン酸化のわずかな増加が観察された。

【０３７２】

８．３．２．３　海馬ホモジネートの可溶性画分におけるＴＡＵ

全ＴＡＵ、ｐ２３１ＴＡＵ、ｐ３９６ＴＡＵ、及びｐＴＡＵの全ＴＡＵに対する比率は、群Ａ（ＴｇビヒクルＰＢＳ）及び群Ｄ（Ｔｇ、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１、１ｍｇ／ｋｇ）に由来するｎ＝１６匹の動物、及び群Ｅ（Ｔｇ、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１、３ｍｇ／ｋｇ）に由来するｎ＝１５匹の動物の海馬ホモジネートの可溶性画分で評価された。ＩＲＮ６３０１（群Ｄ）の可溶性海馬画分におけるＴＡＵ及びｐＴＡＵのレベルは異常値であり除外された。ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１による処置は可溶性海馬ホモジネートにおいて全ＴＡＵ及びｐＴＡＵに有意には影響を与えなかった。ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１の処置の際、全ＴＡＵに対するｐＴＡＵの比率として評価される、２３１でのＴＡＵのリン酸化のわずかな増加が（有意性は無いが）観察された。

【０３７３】

８．２．２．４　海馬ホモジネートのサルコシル不溶性画分におけるＴＡＵ

全ＴＡＵ、ｐ２３１ＴＡＵ、ｐ３９６ＴＡＵ、及びｐＴＡＵの全ＴＡＵに対する比率は群Ａ（ＴｇビヒクルＰＢＳ）、群Ｂ（Ｔｇ、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１、１ｍｇ／ｋｇ），及び群Ｃ（Ｔｇ、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１、３ｍｇ／ｋｇ）に由来する

ｎ＝１６匹の動物の海馬ホモジネートのサルコシル不溶性画分で評価された。ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１による処置はサルコシル不溶性海馬ホモジネートにおいて全ＴＡＵ及びｐＴＡＵに有意には影響を与えなかった。ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１の処置の際、全ＴＡＵ、ｐ２３１ＴＡＵ、並びにｐ３９６ＴＡＵの平均に（有意性は無いが）わずかな増加が観察された。全ＴＡＵに対するｐ２３１ＴＡＵの比率として評価されるＴＡＵのリン酸化は影響されず、１ｍｇ／ｋｇのＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１による処置は、全ＴＡＵに対するｐ３９６ＴＡＵの比率をわずかに減少させた。

【０３７４】

８．３．２．５水溶性の皮質のウェスタンブロット

１又は３ｍｇ／ｋｇのＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１で処置されたマウスの可溶性大脳皮質において、ｐＳ３９６／ｐＳ４０４　ｐＴａｕエピトープの有意な減少（図５Ｄ）。ヒト／トランスジェニックｐＴ１８１　ｐＴａｕエピトープの存在は、可溶性皮質画分で減少し、１ｍｇ／ｋｇで処置されたマウスで有意な作用と３ｍｇ／ｋｇで処置されたマウスで傾向を示した。減少傾向は内因性ｐＴ１８１　ｐＴａｕの量で観察された（図５Ｆ）。

【０３７５】

８．３．２．６　ｂｉＧＴタウバイジェニックマウスのＴＡＵ

３ヶ月間ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１で処置したｂｉＧＴマウスは、大脳皮質可溶性画分で総タウを有意に減少させた（図６Ａおよび６Ｂ）。ｐＴａｕエピトープのｐＴ２３１／ＡＴ１８０（図６Ｃ及び６Ｄ）、ｐＳ２０２／ＡＴ８（図６Ｅ）、及びｐＳ３９６（図６Ｆ及び６Ｇ）で有意な減少が観察された。有意な減少もまたｐＴａｕエピトープｐＳ４００（図６Ｈ及び６Ｉ）及びｐＳ４０４（図６Ｌ及び６Ｍ）の両方の総ホモジネート（ＴＨ）の両方で観察された。更に、ｐＴａｕエピトープｐＳ４００の可溶性画分で有意な減少も観察され（図６Ｊ及び６Ｋ）、ｐＴａｕエピトープｐＳ４０４について減少傾向がみられた（図６Ｎ及び６Ｏ）。

【０３７６】

８．３．３　組織学

８．３．３．１　形態計測－領域面積の決定

実施例８．２．３．１を参照。

【０３７７】

８．３．３．２　ＡＴ１８０　ＩＨの結果

ＡＴ１８０抗体は内因性及びヒトｐＴＡＵ（Ｔｈｒ２３１及びＳｅｒ２３５で２重リン酸化）を検出する。ｎＴｇコントロールにおける細胞体内のｐＴＡＵの量は、Ｔｇ群と比較して有意に低かった（ｐ＜０．００１）。扁桃体では、ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１［１ｍｇ／ｋｇ（群Ｄ）及び３ｍｇ／ｋｇ（群Ｅ）］の両方の用量が、ビヒクル処置動物に比べて細胞体ｐＴＡＵを有意に減少させた（図８、左）。類似の効果が海馬で観察可能であり、低用量のＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１はｐＴＡＵを減少させたが、しかしこの場合、高用量では有効性は少なく、減少傾向へと導くのみであった。この減少はまた、染色の領域の減少及び個々の神経細胞の細胞体における染色強度の減少として定性的に可視的であった。ニューロンの細胞体で測定されたＡＴ１８０　ＩＲ強度の規格化された合計の結果は、扁桃体において、ＡＴ１８０　ＩＲ面積の割合に匹敵したが、高用量においてのみ有意性に到達した。海馬では結果は、ＩＲ面積百分率に全く同等であった。

【０３７８】

８．３．４　要約

ＭＳＤで測定した脳のタウ病理には、有意な変化を示さなかったが、脳切片の免疫染色は、神経細胞体でＡＴ１８０（ｐＴ２３１／ｐＳ２３５）免疫染色の最大４０％の減少を伴う用量依存性を示した。

【０３７９】

本研究は、リン酸化部位特異的抗ｐＴａｕ抗体ＡＣＩ－３６－３Ａ８－Ａｂ１の１３回の投与を用いる受免疫化は、空間学習を改善し、脳のｐＴａｕ病理を著しく減少させるこ

とを示している。

【０３８０】

寄託

以下のハイブリドーマ細胞株がブダペスト条約の規定により、ブラウンシュワイクの微生物及び細胞培養のドイツコレクション有限責任会社（Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) in Braunschweig）、Inhoffenstrasse 7 B、38124 Braunschweigとともにエーシーイミューン（AC Immune） SA、PSE-EPFL Building B、1015 Lausanne、Switzerland 及びルーヴェン・カトリック大学（Katholieke Universiteit Leuven)、Minderbroedersstraat 8a - Box 5105、B-3000 Leuvenの名目で寄託された:

ハイブリドーマ名	寄託番号	寄託日
6C10F9C12A11	DSM ACC3079	2010年8月25日
6C10E5E9C12	DSM ACC3081	2010年8月25日
6H1A11C11	DSM ACC3080	2010年8月25日
6H1G6E6	DSM ACC3088	2010年8月25日
2B6A10C11	DSM ACC3084	2010年8月25日
2B6G7A12	DSM ACC3087	2010年8月25日
3A8A12G7	DSM ACC3086	2010年8月25日
3A8E12H8	DSM ACC3085	2010年8月25日
7C2(1)F10C10D3	DSM ACC3082	2010年8月25日
7C2(2)B9F11D5	DSM ACC3083	2010年8月25日
A4-4A6-48	DSM ACC3136	2010年8月30日
A6-2G5-30	DSM ACC3137	2010年8月30日
A6-2G5-41	DSM ACC3138	2010年8月30日
A4-2A1-18	DSM ACC3139	2010年8月30日
A4-2A1-40	DSM ACC3140	2010年8月30日
A6-1D2-12	DSM ACC3141	2011年9月6日

表 1. タウ配列、ワクチン及び抗体の記述

記述	ワクチン	配列*, 長さ (n), 配列 ID 番号	ハイブリドーマ	抗体
T1: タウ 5-20 [pY18]	ACI-33	RQEFEVMEDHAGTY(p)GL (n = 16) (配列番号:59)	6C10F9C12A11	ACI-33-6C10-Ab1
			6C10E5E9C12	ACI-33-6C10-Ab2
T8: タウ 206-221 [pT212, pS214] T9: タウ 196-211 [pS202, pT205]	ACI-41	PGSRSRT(p)PS(p)LPTPPTR (n = 16) (配列番号:60) GYSSPGS(p)PGT(p)PGSRSR (n = 16) (配列番号:61)	7C2(1)F10C10D3	ACI-41-7C2-Ab1
			7C2(2)B9F11D5	ACI-41-7C2-Ab1
T4: タウ 401-418 [pS404, pS409]	ACI-36	GDTS(p)PRHLS(p)NVSSTGSID (n = 18) (配列番号:63)	6H1A11C11	ACI-36-6H1-Ab1
			6H1G6E6	ACI-36-6H1-Ab2
			2B6A10C11	ACI-36-2B6-Ab1
			2B6G7A12	ACI-36-2B6-Ab2
			3A8A12G7	ACI-36-3A8-Ab1
			3A8E12H8	ACI-36-3A8-Ab2
T3: タウ 393-408 [pS396, pS404]	ACI-35	VYKS(p)PVVSGDTS(p)PRHL (n = 16) (配列番号:62)	A4-4A6-48	ACI-35-4A6-Ab2
			A6-2G5-30	ACI-35-2G5-Ab2
			A6-2G5-41	ACI-35-2G5-Ab3
			A4-2A1-18	ACI-35-2A1-Ab1
			A4-2A1-40	ACI-35-2A1-Ab2
			A6-1D2-12	ACI-35-1D2-Ab1
T5: Control sequence: タウ 379-408 [pS396, pS404]	ACI-37	RENAKAKTDHGAEIVYKS(p)PVVSGDTS(p)PRHL (n = 30) (配列番号:58)		
T8: タウ 206-221 [pT212, pS214]	ACI-39	PGSRSRT(p)PS(p)LPTPPTR (n = 16) (配列番号:60)		
T9 : タウ 196-211 [pS202, pT205]	ACI-40	GYSSPGS(p)PGT(p)PGSRSR (n = 16) (配列番号:61)		
T2: タウ200-216 [pS202+ pT205 & pT212+pS214]	ACI-34	PGS(p)PGT(p)PGSRSRT(p)PS(p)LP (n = 17) (配列番号:64)		
T10: タウ 407-418 [pS409]	ACI-42	HLS(p)NVSSTGSID (n = 12) (配列番号:65)		
T11: タウ 399-408 [pS404]	ACI-43	VSGDTS(p)PRHL (n = 10) (配列番号:66)		

*タウヒト（タウ４４１）の最長のアイソフォームに基づく。ｐはリン酸化残基を示す。

表 **2.** ACI-33 ハイブリドーマスクリーニングの結果

24 ウェルプレート スクリーニング		*T25* フラスコスクリーニング		
ELISA で陽性	**TAUPIR** で陽性	**IgG** スクリーニングで陽性	**ELISA** で陽性	**TAUPIR** で陽性
1A7		1A7		
	1A11			
	1C11	1C11		
2C9		2C9		
3C3		3C3	3C3	
3C5		3C5		
3E8		3E8		
3G10	3G10	3G10	3G10	
6C10	6C10	6C10	6C10	6C10
6F3		6F3		
6F8		6F8		

表 **3.** ACI-36 ハイブリドーマスクリーニングの結果

24 ウェルプレート スクリーニング		*T25* フラスコスクリーニング		
ELISA で陽性	**TAUPIR** で陽性	**IgG** スクリーニングで陽性	**ELISA** で陽性	**TAUPIR** で陽性
2B6	2B6	2B6	2B6	2B6
2F9	2F9	2F9	2F9	2F9
2G1		2G1	2G1	2G1
3A8	3A8	3A8	3A8	3A8
3B9		3B9	3B9	3B9
3F11	3F11	3F11		3F11
	4A3			4A3
4C1		4C1	4C1	4C1
4C12		4C12	4C12	4C12
4E12		4E12	4E12	4E12
5E10		5E10	5E10	
5F5		5F5	5F5	
7D6	7D6	7D6	7D6	7D6
6H1		6H1	6H1	6H1

表 **4.** ACI-36 の ELISA 及び TAUPIR における陽性クローンのランキング

ELISAのランキング	TAUPIRのランキング
3A8	6H1
2B6	4C1
4C1	3A8
6H1	4C12
4C12	2B6
2G1	2F9
2F9	3B9
7D6	2G1
3B9	7D6
4E12	4E12

表 5. ACI-41 ハイブリドーマスクリーニングの結果

24 ウェルプレート スクリーニング		*T25 フラスコスクリーニング*		
ELISA で陽性	**TAUPIR で陽性**	**IgG スクリーニングで陽性**	**ELISA で陽性**	**TAUPIR で陽性**
	3D11	3D11		3D11
4H6		4H6		4H6
5D10	5D10	5D10	5D10	5D10
5E6	5E6			
5F10		5F10		
6B7		6B7	6B7	
7C2	7C2	7C2	7C2	7C2
	8G8			8G8
	8H8	8H8		8H8

表 **6.** 標的に対する結合についてハイブリドーマのスクリーニング

ハイブリドーマ	抗体	ELISA				TAUPIR	ウエスタンブロット
		タウ *p-peptide*	タウ *peptide*	全長 *pTau*	全長 *Tau*		
6C10F9C12A11	ACI-33-6C10-Ab1	+	-	+/-	-	+	-
6C10E5E9C12	ACI-33-6C10-Ab2	+	-	+/-	-	+	-
6H1A11C11	ACI-36-6H1-Ab1	+	-	+	-	+	+
6H1G6E6	ACI-36-6H1-Ab2	+	-	+	-	+	+
2B6A10C11	ACI-36-2B6-Ab1	+	-	+	-	+	+
2B6G7A12	ACI-36-2B6-Ab2	+	-	+	-	+	+
3A8A12G7	ACI-36-3A8-Ab1	+	-	+	-	+	+
3A8E12H8	ACI-36-3A8-Ab2	+	-	+	-/+	+	+
7C2(1)F10C10D3	ACI-41-7C2-Ab1	+	-	+	-	+	-
7C2(2)B9F11D5	ACI-41-7C2-Ab2	+	-	+	-	+	-
A4-2A1-18	ACI-35-2A1-Ab1	+	-	+	-		
A4-2A1-40	ACI-35-2A1-Ab2	+	-	+	-		
A4-4A6-18	ACI-35-4A6-Ab1	+	-	-	+		
A4-4A6-48	ACI-35-4A6-Ab2						
A6-1D2-12	ACI-35-1D2-Ab1	+	-	+	-		
A6-2G5-08	ACI-35-2G5-Ab1	+	-	-	-		
A6-2G5-30	ACI-35-2G5-Ab2	+	-	+	-		
A6-2G5-41	ACI-35-2G5-Ab3	+	-	+	-		

表 7. 抗タウ抗体の結合親和性

ハイブリドーマ	抗体	会合速度定数(k_d) (1/Ms)	解離速度定数 (k_a) (1/s)	解離定数(K_D) (nM)
6C10F9C12A11	ACI-33-6C10-Ab1	9.46×10^{5}	3.27×10^{-3}	3.46
6H1A11C11	ACI-36-6H1-Ab1	3.53×10^{4}	6.80×10^{-5}	1.93
6H1G6E6	ACI-36-6H1-Ab2	9.99×10^{4}	9.58×10^{-5}	0.96
2B6A10C11	ACI-36-2B6-Ab1	6.90×10^{5}	1.63×10^{-4}	0.24
2B6G7A12	ACI-36-2B6-Ab2	9.11×10^{5}	1.11×10^{-4}	0.12
3A8A12G7	ACI-36-3A8-Ab1	1.01×10^{6}	1.09×10^{-4}	0.11
3A8E12H8	ACI-36-3A8-Ab2	8.43×10^{5}	1.43×10^{-4}	0.17
A4-4A6-18	ACI-35-4A6-Ab1	2.00×10^{5}	3.10×10^{-3}	16
A6-1D2-12	ACI-35-1D2-Ab1	1.60×10^{3}	9.30×10^{-6}	≤ 6
A6-2G5-08	ACI-35-2G5-Ab1	4.80×10^{5}	5.30×10^{-3}	10

表 8. エピトープマッピングに使用されたペプチドライブラリ

T1についてのペプチドライブラリー

	タウ(441)アミノ酸番号	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	アミノ酸	R	Q	E	F	E	V	M	E	D	H	A	G	T	Y (P)	G	L
リン酸化ペプチド	ペプチド番号																
	T1.18											A	G	T	Y(P)	G	L
	T1.17										H	A	G	T	Y(P)	G	L
	T1.16									D	H	A	G	T	Y(P)	G	L
	T1.15								E	D	H	A	G	T	Y(P)	G	L
	T1.14							M	E	D	H	A	G	T	Y(P)	G	L
	T1.13						V	M	E	D	H	A	G	T	Y(P)	G	L
	T1.12					E	V	M	E	D	H	A	G	T	Y(P)	G	L
	T1.11				F	E	V	M	E	D	H	A	G	T	Y(P)	G	L
	T1.10			E	F	E	V	M	E	D	H	A	G	T	Y(P)	G	L
	T1.9		Q	E	F	E	V	M	E	D	H	A	G	T	Y(P)	G	L
	T1.7	R	Q	E	F	E	V	M	E	D	H	A	G	T	Y(P)	G	L

	アミノ酸	R	Q	E	F	E	V	M	E	D	H	A	G	T	Y	G	L
非リン酸化ペプチド	ペプチド番号																
	T1.28											A	G	T	Y	G	L
	T1.27										H	A	G	T	Y	G	L
	T1.26									D	H	A	G	T	Y	G	L
	T1.25								E	D	H	A	G	T	Y	G	L
	T1.24							M	E	D	H	A	G	T	Y	G	L
	T1.23						V	M	E	D	H	A	G	T	Y	G	L
	T1.22					E	V	M	E	D	H	A	G	T	Y	G	L
	T1.21				F	E	V	M	E	D	H	A	G	T	Y	G	L
	T1.20			E	F	E	V	M	E	D	H	A	G	T	Y	G	L
	T1.19		Q	E	F	E	V	M	E	D	H	A	G	T	Y	G	L
	T1.8	R	Q	E	F	E	V	M	E	D	H	A	G	T	Y	G	L

表8. 続き

T4についてのペプチドライブラリー

	タウ(441)アミノ酸番号	401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415	416	417	418
	アミノ酸	G	D	T	S(p)	P	R	H	L	S(p)	N	V	S	S	T	G	S	I	D
リン酸化ペプチド	ペプチド番号																		
	T3.17	G	D	T	S(p)	P	R	H	L										
	T4.11		D	T	S(p)	P	R	H	L	S(p)									
	T4.12			T	S(p)	P	R	H	L	S(p)	N								
	T4.13				S(p)	P	R	H	L	S(p)	N	V							
	T4.14					P	R	H	L	S(p)	N	V	S						
	T4.15						R	H	L	S(p)	N	V	S	S					
	T4.16							H	L	S(p)	N	V	S	S	T				
	T4.17								L	S(p)	N	V	S	S	T	G			
	T4.18									S(p)	N	V	S	S	T	G	S		
	T4.19										N	V	S	S	T	G	S	I	
	T4.20											V	S	S	T	G	S	I	D

	アミノ酸	G	D	T	S	P	R	H	L	S	N	V	S	S	T	G	S	I	D
非リン酸化ペプチド	ペプチド番号																		
	T3.26	G	D	T	S	P	R	H	L										
	T4.21		D	T	S	P	R	H	L	S									
	T4.22			T	S	P	R	H	L	S	N								
	T4.23				S	P	R	H	L	S	N	V							
	T4.24					P	R	H	L	S	N	V	S						
	T4.25						R	H	L	S	N	V	S	S					
	T4.26							H	L	S	N	V	S	S	T				
	T4.27								L	S	N	V	S	S	T	G			
	T4.28									S	N	V	S	S	T	G	S		
	T4.19										N	V	S	S	T	G	S	I	
	T4.20											V	S	S	T	G	S	I	D

表8. 続き
T8についてのペプチドライブラリー

	タウ(441)アミノ酸番号	206	207	208	209	210	211	212	213	214	215	216	217	218	219	220	221
	アミノ酸	**P**	**G**	**S**	**R**	**S**	**R**	**T(p)**	**P**	**S(p)**	**L**	**P**	**T**	**P**	**P**	**T**	**R**
リン酸化ペプチド	ペプチド番号																
	T8.7	P	G	S	R	S	R	T(p)	P								
	T8.8		G	S	R	S	R	T(p)	P	S(p)							
	T8.9			S	R	S	R	T(p)	P	S(p)	L						
	T8.10				R	S	R	T(p)	P	S(p)	L	P					
	T8.11					S	R	T(p)	P	S(p)	L	P	T				
	T8.12						R	T(p)	P	S(p)	L	P	T	P			
	T8.13							T(p)	P	S(p)	L	P	T	P	P		
	T8.14								P	S(p)	L	P	T	P	P	T	
	T8.15									S(p)	L	P	T	P	P	T	R

	アミノ酸	**P**	**G**	**S**	**R**	**S**	**R**	**T**	**P**	**S**	**L**	**P**	**T**	**P**	**P**	**T**	**R**
非リン酸化ペプチド	ペプチド番号																
	T8.16	P	G	S	R	S	R	T	P								
	T8.17		G	S	R	S	R	T	P	S							
	T8.18			S	R	S	R	T	P	S	L						
	T8.19				R	S	R	T	P	S	L	P					
	T8.20					S	R	T	P	S	L	P	T				
	T8.21						R	T	P	S	L	P	T	P			
	T8.22							T	P	S	L	P	T	P	P		
	T8.23								P	S	L	P	T	P	P	T	
	T8.24									S	L	P	T	P	P	T	R

表8. 続き

T9についてのペプチドライブラリー

	タウ(441)アミノ酸番号	196	197	198	199	200	201	202	203	204	205	206	207	208	209	210	211
	アミノ酸	G	Y	S	S	P	G	S(p)	P	G	T(p)	P	G	S	R	S	R
リン酸化ペプチド	ペプチド番号																
	T9.7	G	Y	S	S	P	G	S(p)	P								
	T9.8		Y	S	S	P	G	S(p)	P	G							
	T9.9			S	S	P	G	S(p)	P	G	T(p)						
	T9.10				S	P	G	S(p)	P	G	T(p)	P					
	T9.11					P	G	S(p)	P	G	T(p)	P	G				
	T9.12						G	S(p)	P	G	T(p)	P	G	S			
	T9.13							S(p)	P	G	T(p)	P	G	S	R		
	T9.14								P	G	T(p)	P	G	S	R	S	
	T9.15									G	T(p)	P	G	S	R	S	R

	アミノ酸	G	Y	S	S	P	G	S	P	G	T	P	G	S	R	S	R
非リン酸化ペプチド	ペプチド番号																
	T9.16	G	Y	S	S	P	G	S	P								
	T9.17		Y	S	S	P	G	S	P	G							
	T9.18			S	S	P	G	S	P	G	T						
	T9.19				S	P	G	S	P	G	T	P					
	T9.20					P	G	S	P	G	T	P	G				
	T9.21						G	S	P	G	T	P	G	S			
	T9.22							S	P	G	T	P	G	S	R		
	T9.23								P	G	T	P	G	S	R	S	
	T9.24									G	T	P	G	S	R	S	R

表8. 続き

T3についてのペプチドライブラリー

	タウ(441)アミノ酸番号	393	394	395	396	397	398	399	400	401	402	403	404	405	406	407	408
	アミノ酸	V	Y	K	S(p)	P	V	V	S	G	D	T	S(p)	P	R	H	L
リン酸化ペプチド	ペプチド番号																
	T3.9	V	Y	K	S(p)	P	V	V	S								
	T3.10		Y	K	S(p)	P	V	V	S	G							
	T3.11			K	S(p)	P	V	V	S	G	D						
	T3.12				S(p)	P	V	V	S	G	D	T					
	T3.13					P	V	V	S	G	D	T	S(p)				
	T3.14						V	V	S	G	D	T	S(p)	P			
	T3.15							V	S	G	D	T	S(p)	P	R		
	T3.16								S	G	D	T	S(p)	P	R	H	
	T3.17									G	D	T	S(p)	P	R	H	L

	アミノ酸	V	Y	K	S	P	V	V	S	G	D	T	S	P	R	H	L
非リン酸化ペプチド	ペプチド番号																
	T3.18	V	Y	K	S	P	V	V	S								
	T3.19		Y	K	S	P	V	V	S	G							
	T3.20			K	S	P	V	V	S	G	D						
	T3.21				S	P	V	V	S	G	D	T					
	T3.22					P	V	V	S	G	D	T	S				
	T3.23						V	V	S	G	D	T	S	P			
	T3.24							V	S	G	D	T	S	P	R		
	T3.25								S	G	D	T	S	P	R	H	
	T3.26									G	D	T	S	P	R	H	L

表 **9**. 抗体結合に要求されるタウアミノ酸及びリン酸化残基

ワクチン	ハイブリドーマ	エピトープ*
ACI-33	6C10F9C12A11	タウ aa 15-20, pY18 を必要条件
ACI-33	6C10E5E9C12	タウ aa 15-20, pY18 を必要条件
ACI-36	6H1A11C11	タウ aa 405-412, pS409 を必要条件
ACI-36	6H1G6E6	タウ aa 405-412, pS409 を必要条件
ACI-36	2B6A10C11	タウ aa 405-411, pS409 を必要条件
ACI-36	2B6G7A12	タウ aa 405-411, pS409 を必要条件
ACI-36	3A8A12G7	タウ aa 405-411, pS409 を必要条件
ACI-36	3A8E12H8	タウ aa 405-411, pS409 を必要条件
ACI-41	7C2(1)F10C10D3	タウ aa 208-218, pT212 と pS214 を必要条件
ACI-35	A4-2A1-18	タウ aa 393-401, pS396 を必要条件
ACI-35	A4-2A1-40	タウ aa 393-401, pS396 を必要条件
ACI-35	A4-4A6-18	タウ aa 396-401, pS396 を必要条件
ACI-35	A6-1D2-12	タウ aa 394-400, pS396 を必要条件
ACI-35	A6-2G5-08	タウ aa 402-406, pS404 を必要条件
ACI-35	A6-2G5-30	タウ aa 393-400, pS396 を必要条件
ACI-35	A6-2G5-41	タウ aa 393-400, pS396 を必要条件

*ヒトタウ（タウ４４１）の最長アイソフォームに基づく。

表 **10.** 重鎖と軽鎖の可変領域(VH 及び VK)及び CDR のアミノ酸配列

ワクチン	ハイブリドーマ	**VH** プライマー(ミックス)	**VK** プライマー(ミックス)	**VH**	**VK**	**VH CDR1**	**VH CDR2**	**VH CDR3**	**VK CDR1**	**VK CDR2**	**VK CDR3**
ACI-36	3A8A12G7*	配列番号: 46 及び配列番号: 47	VK_AD (配列番号: 48/ 配列番号: 49/ 及び配列番号: 51)	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYMNWVKQSHGKSLEWIGDINPNRGGTTYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCASYYAVGYWGQGTTLTVSS (配列番号: 1)	DIVMTQSPSSLAMSVGQKVTMSCKSSQSVFNSGNQKNSLAWYQQKPGQSPKLLVYFASTRESGVPDRFIGSGSGTDFSLTISSVQAEDLADYFCQEHYTTPPTFGTGTKLELK (配列番号: 6)	GYTFTDYYMN (配列番号: 12)	DINPNRGGTTYNQKFKG (配列番号: 13)	YYAVGY (配列番号: 14)	KSSQSVFNSGNQKNSLA (配列番号: 21)	FASTRES (配列番号: 22)	QEHYTTPPT (配列番号: 23)
ACI-36	3A8A12G7*	配列番号: 46 及び配列番号: 47	VK_G (配列番号: 50 及び配列番号: 51)	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYMNWVKQSHGKSLEWIGDINPNRGGTTYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCASYYAVGYWGQGTTLTVSS (配列番号: 1	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQRLVHSHGKTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQTAHFPYTFGGGTKLEIK (配列番号: 7)	GYTFTDYYMN (配列番号: 12)	DINPNRGGTTYNQKFKG (配列番号: 13)	YYAVGY (配列番号: 14)	RSSQRLVHSHGKTYLH (配列番号: 24)	KVSNRFS (配列番号: 25)	SQTAHFPYT (配列番号: 26)
ACI-36	3A8E12H8*	配列番号: 46 及び配列番号: 47	VK_AD (配列番号: 48/ 配列番号: 49 及び配列番号: 51)	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYMNWVKQSHGKSLEWIGDINPNRGGTTYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCASYYAVGYWGQGTTLTVSS (配列番号: 1)	DIVMTQSPSSLAMSVGQKVTMSCKSSQSVFNSGNQKNSLAWYQQKPGQSPKLLVYFASTRESGVPDRFIGSGSGTDFSLTISSVQAEDLADYFCQEHYTTPPTFGTGTKLELK (配列番号: 6)	GYTFTDYYMN (配列番号: 12	DINPNRGGTTYNQKFKG (配列番号: 13)	YYAVGY (配列番号: 14)	KSSQSVFNSGNQKNSLA (配列番号: 21)	FASTRES (配列番号: 22)	QEHYTTPPT (配列番号: 23)
ACI-36	3A8E12H8*	配列番号: 46 及び配列番号: 47	VK_G (配列番号: 50 及び配列番号: 51)	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYMNWVKQSHGKSLEWIGDINPNRGGTTYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCASYYAVGYWGQGTTLTVSS (配列番号: 1)	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQRLVHSHGKTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQTAHFPYTFGGGTKLEIK (配列番号: 7)	GYTFTDYYMN (配列番号: 12	DINPNRGGTTYNQKFKG (配列番号: 13)	YYAVGY (配列番号: 14)	RSSQRLVHSHGKTYLH (配列番号: 24)	KVSNRFS (配列番号: 25)	SQTAHFPYT (配列番号: 26)

ワクチン	ハイブリドーマ	VH プライマー(ミックス)	VK プライマー(ミックス)	VH	VK	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VK CDR1	VK CDR2	VK CDR3
ACI-36	2B6A10C11	配列番号: 46/配列番号: 52及び配列番号: 47	配列番号: 50及び配列番号: 51	EVQLQQSGPELVKPGTSVKISCKASGYTFTDYYMNWVKQSHGKSLEWIGDINPNRGGTTYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCASYYAVGYWGQGTTLTVSS (配列番号: 2)	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSHGKTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQTAHFPYTFGGGTKLEIK (配列番号: 8)	GYTFTDYYMN (配列番号: 12)	DINPNRGGTTYNQKFKG (配列番号: 13)	YYAVGY (配列番号: 14)	RSSQSLVHSHGKTYLH (配列番号: 27)	KVSNRFS (配列番号: 25)	SQTAHFPYT (配列番号: 26)
ACI-36	2B6G7A12	配列番号: 46/配列番号: 52及び配列番号: 47	配列番号: 50及び配列番号: 51	EVQLQQSGPELVKPGTSVKISCKASGYTFTDYYMNWVKQSHGKSLEWIGDINPNRGGTTYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCASYYAVGYWGQGTTLTVSS (配列番号: 2)	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSHGKTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQTAHFPYTFGGGTKLEIK (配列番号: 8)	GYTFTDYYMN (配列番号: 12)	DINPNRGGTTYNQKFKG (配列番号: 13)	YYAVGY (配列番号: 14)	RSSQSLVHSHGKTYLH (配列番号: 27)	KVSNRFS (配列番号: 25)	SQTAHFPYT (配列番号: 26)
ACI-36	6H1A11C11	配列番号: 46及び配列番号: 47	配列番号: 50及び配列番号: 51	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYMNWVKQSHGKSLEWIGDINPNRGGTTYNQKFKGKATLTVDTSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCASYYAVGYWGQGTTLTVSS (配列番号: 3)	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLLHSHGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQTAHFPYTFGGGTKLEIK (配列番号: 9)	GYTFTDYYMN (配列番号: 12)	DINPNRGGTTYNQKFKG (配列番号: 13)	YYAVGY (配列番号: 14)	RSSQSLLHSHGNTYLH (配列番号: 28)	KVSNRFS (配列番号: 25)	SQTAHFPYT (配列番号: 26))
ACI-36	6H1G6E6	配列番号: 46及び配列番号: 47	配列番号: 50及び配列番号: 51	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYMNWVKQSHGKSLEWIGDINPNRGGTTYNQKFKGKATLTVDTSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCASYYAVGYWGQGTTLTVSS (配列番号: 3)	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLLHSHGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQTAHFPYTFGGGTKLEIK (配列番号: 9)	GYTFTDYYMN (配列番号: 12)	DINPNRGGTTYNQKFKG (配列番号: 13)	YYAVGY (配列番号: 14)	RSSQSLLHSHGNTYLH (配列番号: 28)	KVSNRF (配列番号: 25)	SQTAHFPYT (配列番号: 26)

ワクチン	ハイブリドーマ	VH プライマー(ミックス)	VK プライマー(ミックス)	VH	VK	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VK CDR1	VK CDR2	VK CDR3
ACI-33	6C10E5E9C12	配列番号: 53/配列番号:54 及び配列番号: 47	配列番号: 48/配列番号:49 及び配列番号: 51	EVQLVESGGGLVKPGGS LKLSCAPSGFTFSDYGM HWVRQAPEKGLEWVAYI SSGSSTIYYGDTVKGRFT ISRDNAKNTLFLQ MTSLRSEDTAMYYCARR GQLRLRLFAYWGQGTLV TVSA (配列番号: 4)	DIVMTQSHKFMSTSVGD RVSITCKASQDVSTAVA WYQQKPGQSPKLLIYSA SYRYTGVPDRFTGSGSG TDFTFTISSVQAEDLAVY YCQQHYTTPLTFGAGTK LELK (配列番号: 10)	GFTFSDY GMH (配列番号: 15)	YISSGSS TIYYGDT VKG (配列番号: 16)	RGQLR LRLFAY (配列番号: 17)	KASQDVS TAVA (配列番号: 29)	SASYRYT (配列番号: 30)	QQHYTT PLT (配列番号: 31)
ACI-33	6C10F9C12 A11	配列番号: 53/配列番号:54 及び配列番号: 47	配列番号: 54 及び配列番号: 51	EVQLVESGGGLVKPGGS LKLSCAPSGFTFSDYGM HWVRQAPEKGLEWVAYI SSGSSTIYYGDTVKGRFT ISRDNAKNTLFLQMTSLR SEDTAMYYCARRGQLRL RLFAYWGQGTLVTVSA (配列番号: 4)	DIVMTQSHKFMSTSVGD RVSITCKASQDVSTAVA WYQQKPGQSPKLLIYSA SYRYTGVPDRFTGSGSG TDFTFTISSVQAEDLAVY YCQQHYTTPLTFGAGTK LELK (配列番号: 10)	GFTFSDY GMH (配列番号: 15)	YISSGSS TIYYGDT VKG (配列番号: 16)	RGQLR LRLFAY (配列番号: 17)	KASQDVS TAVA (配列番号: 29)	SASYRYT (配列番号: 30)	QQHYTT PLT (配列番号: 31)
ACI-41	7C2(1)F10C 10D3	配列番号: 53/配列番号:55 及び配列番号: 47	配列番号: 49/配列番号:56/配列番号: 57 及び配列番号: 51	EVKLMESGGGLVHPGAS LRLYCAASGFTFTDYYM SWVRQPPGKAPEWLALI RNKANGYTTEYTASVKG RFTISRDNSQNILYLQMN TLRAEDSATYYCVKALG RYFDVWGTGTTVTVSS(配列番号: 5)	DIVMSQSPSSLAVSVGE KVTMSCKSSQSLLYSSN QKNYLAWYQQKPGQSP KLLIYWASTRESGVPDRF TGSGSGTDFTLTISSVKA EDLAVYYCQQYYSYPFT FGSGTKLEIK (配列番号: 11)	GFTFTDY YMS (配列番号: 18)	LIRNKAN GYTTEYT ASVKG (配列番号: 19)	ALGRYF DV (配列番号: 20)	KSSQSLL YSSNQKN YLA (配列番号: 32)	WASTRE S (配列番号: 33)	QQYYSY PFT (配列番号: 34)
ACI-41	7C2(2)B9F1 1D5	配列番号: 53/配列番号:55 及び配列番号: 47	配列番号: 57 及び配列番号: 51	EVKLMESGGGLVHPGAS LRLYCAASGFTFTDYYM SWVRQPPGKAPEWLALI RNKANGYTTEYTASVKG RFTISRDNSQNILYLQMN TLRAEDSATYYCVKALG RYFDVWGTGTTVTVSS (配列番号: 5)	DIVMSQSPSSLAVSVGE KVTMSCKSSQSLLYSSN QKNYLAWYQQKPGQSP KLLIYWASTRESGVPDRF TGSGSGTDFTLTISSVKA EDLAVYYCQQYYSYPFT FGSGTKLEIK (配列番号: 11)	GFTFTDY YMS (配列番号: 18)	LIRNKAN GYTTEYT ASVKG (配列番号: 19)	ALGRYF DV (配列番号: 20)	KSSQSLL YSSNQKN YLA(配列番号: 32)	WASTRE S (配列番号: 33)	QQYYSY PFT (配列番号: 34)

ワクチン	ハイブリドーマ	VH プライマー(ミックス)	VK プライマー(ミックス)	VH	VK	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VK CDR1	VK CDR2	VK CDR3
ACI-35	A4-4A6-18			QVQLQQPGAELLKPGAS VKLSCKASGYTFTSYWM HWVKQRPGRGLEWIGRI DPNSDRTKYNEKFKRKA TLTVDKSSSTAYMQLSSL TSEDSAVYYCARDDYAW FAYWGQGTLVTVSA (配列番号: 68)	DVLMTQTPLSLPVSLGD QASISCRSSQSIVHSNGN TYLEWYLQKPGQSPKLLI YKLSNRFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDL GVYYCFQGSHVPPTFGG GTKLEIK (配列番号: 69)	GYTFTSY WMH (配列番号: 70)	RIDPNSD RTKYNE KFKR (配列番号: 71)	DDYAW FAY (配列番号: 72)	RSSQSIVH SNGNTYL E (配列番号: 73)	KLSNRFS (配列番号: 74)	FQGSHVP PT (配列番号: 75)
ACI-35	A6-1D2-12			QVTLKESGPGILQSSQTL SLTCSFSGFSLSTSGMG VSWIRQPSGKGLEWLAH IYWDDDKRYNASLKSRL TISKDTSRNQVFLKITCV DTADTATYYCARLLRPYA LDYWGQGTSVTVSS (配列番号: 76)	NILMTQSPSSLAVSAGEK VTMSCKSSQSVLYSSNQ KNYLAWYQQKPGQSPKL LIYWASTRESGVPDRFT GSGSGTDFTLTISSVQAE DLAVYYCLQYLSSLTFGA GTKLELK (配列番号: 77)	GFSLSTS GMGVS (配列番号: 78)	HIYWDD DKRYNA SLKS (配列番号: 79)	LLRPYA LDY (配列番号: 80)	KSSQSVL YSSNQKN YLA (配列番号: 81)	WASTRE S (配列番号: 82)	LQYLSSL T (配列番号: 83)
ACI-35	A4-2A1-18			EVQLQQSGPELVKPGAS VKISCKASGYTFTDYYMN WVKQSHGKSLEWIGDIN PNNGGTSYNQKFKGKAT LTVDKSSSTAYMELRSLT SEDSAVYYCVREGRFAY WGHGTLVTVSA (配列番号: 88)	DIVMTQAAPSVPVTPGE SVSISCRSSKSLLHSNGN TYLYWFLQRPGQSPQLLI HRMSNLASGVPDRFSGS GSGTAFTLRISRVEAEDV GVYYCMQHLKSPYTFGG GTKLEIK (配列番号: 116)	GYTFTDY YMN (配列番号: 89)	DINPNNG GTSYNQ KFKG (配列番号: 90)	EGRFA Y (配列番号: 91)	RSSKSLL HSNGNTY LY (配列番号: 93)	RMSNLA S (配列番号: 94)	MQHLKS PYT (配列番号: 95)
ACI-35	A4-2A1-40			EVQLQQSGPELVKPGAS VKISCKASGYTFTDYYMN WVKQSHGKSLEWIGDIN PNNGGTSYNQKFKGKAT LTVDKSSSTAYMELRSLT SEDSAVYYCVREGRFAY WGHGTLVTVSA (配列番号: 88)	DIX*MTQAAPSVPVTPGE SVSISCRSSKSLLHSNGN TYLYWFLQRPGQSPQLLI YRMSNLASGVPDRFSGS GSGTAFTLRISRVEAEDV GVYYCMQHLKSPYTFGG GTKLEIK (配列番号: 92) *X = M or V	GYTFTDY YMN (配列番号: 89)	DINPNNG GTSYNQ KFKG (配列番号: 90)	EGRFA Y (配列番号: 91)	RSSKSLL HSNGNTY LY (配列番号: 93)	RMSNLA S (配列番号: 94)	MQHLKS PYT (配列番号: 95)

ワクチン	ハイブリドーマ	VH プライマー(ミックス)	VK プライマー(ミックス)	VH	VK	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VK CDR1	VK CDR2	VK CDR3
ACI-35	A4-4A6-48			EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYMNWVKQSHGKSLEWIGDINPNNGGTSYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCVREGRFAYWGHGTLVTVSA (配列番号: 88)	DIVMTQAAPSVPVTPGESVSISCRSSKSLLHSNGNTYLYWFLQRPGQSPQLLIYRMSNLASGVPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLKSPYTFGGGTKLEIK (配列番号: 118)	GYTFTDYYMN (配列番号: 89)	DINPNNGGTSYNQKFKG (配列番号: 90)	EGRFAY (配列番号: 91)	RSSKSLLHSNGNTYLY (配列番号: 93)	RMSNLAS (配列番号: 94)	MQHLKSPYT (配列番号: 95)
ACI-35	A6-2G5-08			QVQLKQSGAELVRPGASVKLSCKASGYTFTDYYINWVKQRPGQGLEWIARIYPGRGNIYYNEKFKGKATLTAEKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARFWDVTYWGQGTLVTVSA (配列番号: 96)	DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWFLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPYTFGGGTKLEIK (配列番号: 97)	GYTFTDYYIN (配列番号: 98)	RIYPGRGNIYYNEKFKG (配列番号: 99)	FWDVTY (配列番号: 100)	RSSQSIVHSNGNTYLE (配列番号: 101)	KVSNRFS (配列番号: 102)	FQGSHVPYT (配列番号: 103)
ACI-35	A6-2G5-30			EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGFTFTDYYMNWVKQSHGKSLEWIGDINPNNGGTSYHQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCVREGRFAYWGQGTLVTVSA (配列番号: 104)	DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVAWYQQKPGQSPKALIYSASYRYSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNSYPYTFGGGTKLEIK (配列番号: 105)	GFTFTDYYMN (配列番号: 89)	DINPNNGGTSYHQKFKG (配列番号: 115)	EGRFAY (配列番号: 91)	KASQNVGTNVA (配列番号: 106)	SASYRYS (配列番号: 107)	QQYNSYPYT (配列番号: 108)
ACI-35	A6-2G5-41			EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGFTFTDYYMNWVKQSHGKSLEWIGDINPNNGGTSYHQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCVREGRFAYWGQGTLVTVSA (配列番号: 104)	DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVAWYQQKPGQSPKALIYSASYRYSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNSYPYTFGGGTKLEIK (配列番号: 105)	GFTFTDYYMN (配列番号: 89)	DINPNNGGTSYHQKFKG (配列番号: 115)	EGRFAY (配列番号: 91)	KASQNVGTNVA (配列番号: 106)	SASYRYS (配列番号: 107)	QQYNSYPYT (配列番号: 108)

* 2つの生産 V_K配列（表１０の配列６及び７；表１１の配列４０及び４１）が細胞株 3A8A12G7 と 3A8E12H8 から単離された；“V_K_G”配列は“G”プライマーミックスを使用して作成されたクローンから調製され、“V_K_AD”配列は“A” と“D”プライマーミックスを使用して作成されたクローンから調製された。
従って、異なるカッパ配列を持つ２つの抗体がこれらのハイブリドーマにより産生される。

表 **11.** 重鎖及び軽鎖可変領域(VH 及び VK)のヌクレオチド配列

ワクチン	ハイブリドーマ	**VH** プライマー(ミックス)	**VK** プライマー(ミックス)	**VH**	**VK**
ACI-36	3A8A12G7*	配列番号: 46 及び配列番号: 47	VK_AD (配列番号: 48/配列番号: 49/及び配列番号: 51)	GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAACTGGTG AAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATATCCTGTAAGGCT TCTGGATATACGTTCACTGACTACTACATGAACTGGG TGAAGCAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTG GAGATATTAATCCTAACCGTGGTGGAACTACTTACAA CCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACGTTGACTGTAGA CAAGTCCTCCAGCACAGCCTACATGGAACTCCGCAG CCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCA AGTTACTACGCCGTGGGCTACTGGGGCCAAGGCAC CACTCTCACAGTCTCCTCA (配列番号: 35)	GACATTGTGATGACACAGTCTCCATCCTCCCTGGCTATGT CAGTAGGACAGAAGGTCACTATGAGCTGCAAGTCCAGTC AGAGTGTTTTTAATAGTGGCAATCAAAAGAACTCTTTGGC CTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGTCTCCTAAACTTCT GGTATACTTTGCATCCACTAGGGAATCTGGGGTCCCTGA TCGCTTCATAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCAGTCTT ACCATCAGCAGTGTGCAGGCTGAGGACCTGGCAGATTAC TTCTGTCAGGAACATTATACCACTCCTCCCACGTTCGGTA CTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA (配列番号: 40)
ACI-36	3A8A12G7*	配列番号: 46 及び配列番号: 47	VK_G (配列番号: 50 及び配列番号: 51)	GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAACTGGTG AAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATATCCTGTAAGGCT TCTGGATATACGTTCACTGACTACTACATGAACTGGG TGAAGCAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTG GAGATATTAATCCTAACCGTGGTGGAACTACTTACAA CCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACGTTGACTGTAGA CAAGTCCTCCAGCACAGCCTACATGGAACTCCGCAG CCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCA AGTTACTACGCCGTGGGCTACTGGGGCCAAGGCAC CACTCTCACAGTCTCCTCA (配列番号: 35)	GATGTTGTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCA GTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCA GAGGCTTGTACACAGTCATGGAAAAACCTATTTACATTGG TACCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATC TACAAAGTTTCCAACCGGTTTTCTGGGGTCCCAGACAGG TTCAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACACTCAAG ATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTTC TGTTCTCAAACTGCACATTTTCCGTACACGTTCGGAGGG GGGACCAAGCTGGAAATAAAA (配列番号: 41)
ACI-36	3A8E12H8*	配列番号: 46 及び配列番号: 47	VK_AD (配列番号: 48/配列番号: 49 及び配列番号: 51)	GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAACTGGTG AAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATATCCTGTAAGGCT TCTGGATATACGTTCACTGACTACTACATGAACTGGG TGAAGCAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTG GAGATATTAATCCTAACCGTGGTGGAACTACTTACAA CCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACGTTGACTGTAGA CAAGTCCTCCAGCACAGCCTACATGGAACTCCGCAG CCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCA AGTTACTACGCCGTGGGCTACTGGGGCCAAGGCAC CACTCTCACAGTCTCCTCA (配列番号: 35)	GACATTGTGATGACACAGTCTCCATCCTCCCTGGCTATGT CAGTAGGACAGAAGGTCACTATGAGCTGCAAGTCCAGTC AGAGTGTTTTTAATAGTGGCAATCAAAAGAACTCTTTGGC CTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGTCTCCTAAACTTCT GGTATACTTTGCATCCACTAGGGAATCTGGGGTCCCTGA TCGCTTCATAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCAGTCTT ACCATCAGCAGTGTGCAGGCTGAGGACCTGGCAGATTAC TTCTGTCAGGAACATTATACCACTCCTCCCACGTTCGGTA CTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA (配列番号: 40)

ワクチン	ハイブリドーマ	VH プライマー(ミックス)	VK プライマー(ミックス)	VH	VK
ACI-36	3A8E12H8*	配列番号: 46 及び配列番号: 47	VK_G (配列番号: 50 及び配列番号: 51)	GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAACTGGTG AAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATATCCTGTAAGGCT TCTGGATATACGTTCACTGACTACTACATGAACTGGG TGAAGCAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTG GAGATATTAATCCTAACCGTGGTGGAACTACTTACAA CCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACGTTGACTGTAGA CAAGTCCTCCAGCACAGCCTACATGGAACTCCGCAG CCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCA AGTTACTACGCCGTGGGCTACTGGGGCCAAGGCAC CACTCTCACAGTCTCCTCA (配列番号: 35)	GATGTTGTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCA GTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCA GAGGCTTGTACACAGTCATGGAAAAACCTATTTACATTGG TACCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATC TACAAAGTTTCCAACCGGTTTTCTGGGGTCCCAGACAGG TTCAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACACTCAAG ATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTTC TGTTCTCAAACTGCACATTTTCCGTACACGTTCGGAGGG GGGACCAAGCTGGAAATAAAA (配列番号: 41)
ACI-36	2B6A10C11	配列番号: 46/配列番号: 52 及び配列番号: 47	配列番号: 50 及び配列番号: 51	GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAACTGGTG AAGCCTGGGACTTCAGTGAAGATATCCTGTAAGGCT TCTGGATATACGTTCACTGACTACTACATGAACTGGG TGAAGCAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTG GAGATATTAATCCTAACCGTGGTGGAACTACTTACAA CCAGAAGTTTAAGGGCAAGGCCACGTTGACTGTAGA CAAGTCCTCCAGCACAGCCTACATGGAACTCCGCAG CCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCA AGTTACTACGCCGTGGGCTACTGGGGCCAAGGCAC CACTCTCACAGTCTCCTCA (配列番号: 36)	GATGTTGTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCA GTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCA GAGCCTTGTACACAGTCATGGAAAAACCTATTTACATTGG TACCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATC TACAAAGTTTCCAACCGGTTTTCTGGGGTCCCAGACAGG TTCAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACACTCAAG ATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTTC TGTTCTCAAACTGCACATTTTCCGTACACGTTCGGAGGG GGGACCAAGCTGGAAATAAAA (配列番号: 42)
ACI-36	2B6G7A12	配列番号: 46/配列番号: 52 及び配列番号: 47	配列番号: 50 及び配列番号: 51	GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAACTGGTG AAGCCTGGGACTTCAGTGAAGATATCCTGTAAGGCT TCTGGATATACGTTCACTGACTACTACATGAACTGGG TGAAGCAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTG GAGATATTAATCCTAACCGTGGTGGAACTACTTACAA CCAGAAGTTTAAGGGCAAGGCCACGTTGACTGTAGA CAAGTCCTCCAGCACAGCCTACATGGAACTCCGCAG CCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCA AGTTACTACGCCGTGGGCTACTGGGGCCAAGGCAC CACTCTCACAGTCTCCTCA (配列番号: 36)	GATGTTGTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCA GTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCA GAGCCTTGTACACAGTCATGGAAAAACCTATTTACATTGG TACCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATC TACAAAGTTTCCAACCGGTTTTCTGGGGTCCCAGACAGG TTCAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACACTCAAG ATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTTC TGTTCTCAAACTGCACATTTTCCGTACACGTTCGGAGGG GGGACCAAGCTGGAAATAAAA (配列番号: 42)

ワクチン	ハイブリドーマ	VH プライマー(ミックス)	VK プライマー(ミックス)	VH	VK
ACI-36	6H1A11C11	配列番号: 46 及び配列番号: 47	配列番号: 50 及び配列番号: 51	GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAACTGGTG AAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATATCCTGTAAGGCT TCTGGATACACGTTCACTGACTACTACATGAACTGGG TGAAGCAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTG GAGATATTAATCCTAACCGTGGTGGAACTACTTACAA CCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACGTTGACTGTAGA CACGTCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCCGCAG CCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCA AGTTACTACGGCCGTGGGCTACTGGGGCCAAGGCAC CACTCTCACAGTCTCCTCA (配列番号: 37)	GATGTTGTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCA GTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCA GAGCCTTCTACACAGTCATGGAAACACCTATTTACATTGG TACCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATC TACAAAGTTTCCAACCGGTTTTCTGGGGTCCCAGACAGG TTCAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACACTCAAG ATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTTC TGCTCTCAAACTGCACACATTTTCCGTACACGTTCGGAGGG GGGACCAAGCTGGAAATAAAA (配列番号: 43)
ACI-36	6H1G6E6	配列番号: 46 及び配列番号: 47	配列番号: 50 及び配列番号: 51	GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAACTGGTG AAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATATCCTGTAAGGCT TCTGGATACACGTTCACTGACTACTACATGAACTGGG TGAAGCAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTG GAGATATTAATCCTAACCGTGGTGGAACTACTTACAA CCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACGTTGACTGTAGA CACGTCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCCGCAG CCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCA AGTTACTACGGCCGTGGGCTACTGGGGCCAAGGCAC CACTCTCACAGTCTCCTCA (配列番号: 37)	GATGTTGTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCA GTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCA GAGCCTTCTACACAGTCATGGAAACACCTATTTACATTGG TACCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATC TACAAAGTTTCCAACCGGTTTTCTGGGGTCCCAGACAGG TTCAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACACTCAAG ATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTTC TGCTCTCAAACTGCACACATTTTCCGTACACGTTCGGAGGG GGGACCAAGCTGGAAATAAAA (配列番号: 43)
ACI-33	6C10E5E9C12	配列番号: 53/配列番号:54 及び配列番号: 47	配列番号: 48/配列番号:49 及び配列番号: 51	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGT GAAGCCTGGAGGGTCCCTGAAACTCTCCTGTGCACC CTCTGGATTCACTTTCAGTGACTATGGAATGCACTGG GTTCGTCAGGCTCCAGAGAAGGGACTGGAGTGGGT TGCATACATTAGTAGTGGCAGTAGTACCATCTACTAT GGAGACACAGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGA GACAATGCCAAGAACACCCTGTTCCTGCAAATGACC AGTCTGAGGTCTGAGGACACGGCCATGTATTACTGT GCAAGAAGGGGACAGCTCAGGCTACGCCTGTTTGCT TACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (配列番号: 38)	GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTCCACAT CAGTAGGAGACAGGGTCAGCATCACCTGCAAGGCCAGT CAGGATGTGAGTACTGCTGTAGCCTGGTATCAACAGAAA CCAGGACAATCTCCTAAACTACTGATTTACTCGGCATCCT ACCGGTACACTGGAGTCCCTGATCGCTTCACTGGCAGTG GATCTGGGACGGATTTCACTTTCACCATCAGCAGTGTGC AGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTCAGCAACATTA TACTACTCCGCTCACGTTCGGTGCTGGGACCAAGCTGGA GCTGAAA (配列番号: 44)

ワクチン	ハイブリドーマ	VHプライマー(ミックス)	VKプライマー(ミックス)	VH	VK
ACI-33	6C10F9C12A11	配列番号:53/配列番号:54及び配列番号:47	配列番号:54及び配列番号:51	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGT GAAGCCTGGAGGGTCCCTGAAACTCTCCTGTGCACC CTCTGGATTCACTTTCAGTGACTATGGAATGCACTGG GTTCGTCAGGCTCCAGAGAAGGGACTGGAGTGGGT TGCATACATTAGTAGTGGCAGTAGTACCATCTACTAT GGAGACACAGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGA GACAATGCCAAGAACACCCTGTTCCTGCAAATGACC AGTCTGAGGTCTGAGGACACGGCCATGTATTACTGT GCAAGAAGGGGACAGCTCAGGCTACGCCTGTTTGCT TACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (配列番号:38)	GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTCCACAT CAGTAGGAGACAGGGTCAGCATCACCTGCAAGGCCAGT CAGGATGTGAGTACTGCTGTAGCCTGGTATCAACAGAAA CCAGGACAATCTCCTAAACTACTGATTTACTCGGCATCCT ACCGGTACACTGGAGTCCCTGATCGCTTCACTGGCAGTG GATCTGGGACGGATTTCACTTTCACCATCAGCAGTGTGC AGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTCAGCAACATTA TACTACTCCGCTCACGTTCGGTGCTGGGACCAAGCTGGA GCTGAAA (配列番号:44)
ACI-41	7C2(1)F10C10D3	配列番号:53/配列番号:55及び配列番号:47	配列番号:49/配列番号:56/配列番号:57及び配列番号:51	GAGGTGAAGCTGATGGAATCTGGAGGAGGCTTGGTA CACCCTGGGGCTTCTCTGAGACTCTACTGTGCAGCT TCTGGATTCACCTTTACTGATTACTACATGAGCTGGG TCCGCCAGCCTCCAGGGAAGGCACCTGAGTGGTTG GCTTTGATTAGAAACAAAGCTAATGGTTACACAACAG AGTATACTGCATCTGTTAAGGGTCGGTTCACCATCTC CAGAGATAATTCCCAAAACATCCTCTATCTTCAAATG AACACCCTGAGGGCTGAGGACAGTGCCACTTATTAC TGTGTAAAAGCTCTGGGACGTTACTTCGATGTCTGG GGCACAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA (配列番号:39)	GACATTGTGATGTCACAGTCTCCATCCTCCCTAGCTGTGT CAGTTGGAGAGAAGGTTACTATGAGCTGCAAGTCCAGTC AGAGCCTTTTATATAGTAGCAATCAAAAGAACTACTTGGC CTGGTACCAGCAGAAACCAGGGCAGTCTCCTAAACTGCT GATTTACTGGGCATCCACTAGGGAATCTGGGGTCCCTGA TCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCT CACCATCAGCAGTGTGAAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTA TTACTGTCAGCAATATTATAGCTATCCATTCACGTTCGGC TCGGGGACAAAGTTGGAAATAAAA (配列番号:45)
ACI-41	7C2(2)B9F11D5	配列番号:53/配列番号:55及び配列番号:47	配列番号:57及び配列番号:51	GAGGTGAAGCTGATGGAATCTGGAGGAGGCTTGGTA CACCCTGGGGCTTCTCTGAGACTCTACTGTGCAGCT TCTGGATTCACCTTTACTGATTACTACATGAGCTGGG TCCGCCAGCCTCCAGGGAAGGCACCTGAGTGGTTG GCTTTGATTAGAAACAAAGCTAATGGTTACACAACAG AGTATACTGCATCTGTTAAGGGTCGGTTCACCATCTC CAGAGATAATTCCCAAAACATCCTCTATCTTCAAATG AACACCCTGAGGGCTGAGGACAGTGCCACTTATTAC TGTGTAAAAGCTCTGGGACGTTACTTCGATGTCTGG GGCACAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA (配列番号:39)	GACATTGTGATGTCACAGTCTCCATCCTCCCTAGCTGTGT CAGTTGGAGAGAAGGTTACTATGAGCTGCAAGTCCAGTC AGAGCCTTTTATATAGTAGCAATCAAAAGAACTACTTGGC CTGGTACCAGCAGAAACCAGGGCAGTCTCCTAAACTGCT GATTTACTGGGCATCCACTAGGGAATCTGGGGTCCCTGA TCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCT CACCATCAGCAGTGTGAAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTA TTACTGTCAGCAATATTATAGCTATCCATTCACGTTCGGC TCGGGGACAAAGTTGGAAATAAAA (配列番号:45)

ワクチン	ハイブリドーマ	VH プライマー(ミックス)	VK プライマー(ミックス)	VH	VK
ACI-35	A4-4A6-18			CAGGTCCAACTGCAGCAGCCTGGGGCTGAGCTTCT GAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAACTGTCCTGCAAGGC TTCTGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTG GGTGAAGCAGAGGCCTGGACGAGGCCTTGAGTGGA TTGGAAGGATTGATCCTAATAGTGATCGTACTAAGTA CAATGAGAAGTTCAAGCGCAAGGCCACACTGACTGT AGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAG CAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTATTGT GCAAGGGATGATTACGCCTGGTTTGCTTACTGGGGC CAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (配列番号: 84)	GATGTTTTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCA GTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCA GAGCATTGTACATAGTAATGGAAACACCTATTTAGAATGG TACCTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATC TACAAACTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGT TCAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACACTCAAGA TCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTACT GCTTTCAAGGTTCACATGTTCCTCCGACGTTCGGTGGAG GCACCAAGCTGGAAATCAAA (配列番号: 85)
ACI-35	A6-1D2-12			CAGGTTACTCTGAAAGAGTCTGGCCCTGGGATATTG CAGTCCTCCCAGACCCTCAGTCTGACTTGTTCTTTCT CTGGGTTTTCACTGAGCACTTCTGGTATGGGTGTGA GCTGGATTCGTCAGCCTTCAGGAAAGGGTCTGGAGT GGCTGGCACACATTTACTGGGATGATGACAAGCGCT ATAACGCATCCCTGAAGAGCCGGCTCACAATCTCCA AGGATACCTCCAGAAACCAGGTATTCCTCAAGATCA CCTGTGTGGACACTGCAGATACTGCCACATACTACT GTGCTCGGTTACTGCGTCCTTATGCTTTGGACTACTG GGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (配列番号: 86)	AACATTTTGATGACACAGTCGCCATCATCTCTGGCTGTGT CTGCAGGAGAAAAGGTCACTATGAGCTGTAAGTCCAGTC AAAGTGTTTTATACAGTTCAAATCAGAAGAACTACTTGGC CTGGTACCAGCAGAAACCAGGGCAGTCTCCTAAACTGCT GATCTACTGGGCATCCACTAGGGAATCTGGTGTCCCTGA TCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTCTT ACCATCAGCAGTGTGCAAGCTGAAGACCTGGCAGTTTATT ACTGTCTTCAATACCTCCTCGCTCACGTTCGGTGCTGG GACCAAGCTGGAGCTGAAA (配列番号: 87)
ACI-35	A4-2A1-18			GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAGCTGGTG AAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATATCCTGTAAGGCT TCTGGATACACGTTCACTGACTACTACATGAACTGGG TGAAGCAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTG GAGATATTAATCCTAACAATGGTGGTACTAGCTACAA CCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGA CAAGTCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCCGCAG TCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTATTGTGTA AGAGAGGGGCGGTTTGCTTACTGGGGTCATGGGAC TCTGGTCACTGTCTCTGCA (配列番号: 109)	GATATTGTGATGACTCAGGCTGCACCCTCTGTACCTGTCA CTCCTGGAGAGTCAGTATCCATCTCCTGCAGGTCTAGTA AGAGTCTCCTGCATAGTAATGGCAACACTTACTTGTATTTG GTTCCTGCAGAGGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCTCCTGAT ACATCGGATGTCCAACCTTGCCTCAGGAGTCCCAGACAG GTTCAGTGGCAGTGGGTCAGGAACTGCTTTCACACTGAG AATCAGTAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGTGTTTATTA CTGTATGCAACATCTAAAATCTCCGTACACGTTCGGAGG GGGGACCAAGCTGGAAATAAAA (配列番号: 117)

ワクチン	ハイブリドーマ	VH プライマー(ミックス)	VK プライマー(ミックス)	VH	VK
ACI-35	A4-2A1-40			GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAGCTGGTG AAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATATCCTGTAAGGCT TCTGGATACACGTTCACTGACTACTACATGAACTGGG TGAAGCAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTG GAGATATTAATCCTAACAATGGTGGTACTAGCTACAA CCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGA CAAGTCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCCGCAG TCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTATTGTGTA AGAGAGGGGCGGTTTGCTTACTGGGGTCATGGGAC TCTGGTCACTGTCTCTGCA (配列番号: 109)	GATATTR*TGATGACTCAGGCTGCACCCTCTGTACCTGTC ACTCCTGGGAGATCAGTATCCATCTCCTGCAGGTCTAGT AAGAGTCTCCTGCATAGTAATGGCAACACTTACTTGTATT GGTTCCTGCAGAGGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCTCCTGA TATATCGGATGTCCAACCTTGCCTCAGGAGTCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCAGGAACTGCTTTCACACTGA GAATCAGTAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGTGTTTATT ACTGTATGCAACATCTAAAATCTCCGTACACGTTCGGAGG GGGGACCAAGCTGGAAATAAAA (配列番号: 110) R* = A or G
ACI-35	A4-4A6-48			GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAGCTGGTG AAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATATCCTGTAAGGCT TCTGGATACACGTTCACTGACTACTACATGAACTGGG TGAAGCAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTG GAGATATTAATCCTAACAATGGTGGTACTAGCTACAA CCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGA CAAGTCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCCGCAG TCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTATTGTGTA AGAGAGGGGCGGTTTGCTTACTGGGGTCATGGGAC TCTGGTCACTGTCTCTGCA (配列番号: 109)	GATATTGTGATGACTCAGGCTGCACCCTCTGTACCTGTCA CTCCTGGAGAGTCAGTATCCATCTCCTGCAGGTCTAGTA AGAGTCTCCTGCATAGTAATGGCAACACTTACTTGTATTG GTTCCTGCAGAGGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCTCCTGAT ATATCGGATGTCCAACCTTGCCTCAGGAGTCCCAGACAG GTTCAGTGGCAGTGGGTCAGGAACTGCTTTCACACTGAG AATCAGTAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGTGTTTATTA CTGTATGCAACATCTAAAATCTCCGTACACGTTCGGAGG GGGGACCAAGCTGGAAATAAAA (配列番号: 119)
ACI-35	A6-2G5-08			CAGGTCCAGCTGAAGCAGTCTGGGGCTGAGCTGGT GAGGCCTGGGGCTTCAGTGAAACTGTCCTGCAAGG CTTCTGGCTACACTTTCACTGACTACTATATAAACTG GGTGAAGCAGAGGCCTGGACAGGGACTTGAGTGGA TTGCAAGGATTTATCCTGGAAGAGGTAATATTTACTA CAATGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACTGC AGAAAAATCCTCCAGCACTGCCTACATGCAGCTCAG CAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCTGTCTATTTCTGT GCAAGATTCTGGGACGTGACTTACTGGGGCCAAGG GACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (配列番号: 111)	GATGTTTTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCA GTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCA GAGCATTGTACATAGTAATGGAAACACCTATTTAGAATGG TTCCTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATC TACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGT TCAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACACTCAAGA TCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTACT GCTTTCAAGGTTCACATGTTCCGTACACGTTCGGAGGGG GGACCAAGCTGGAAATAAAA (配列番号: 112)

ワクチン	ハイブリドーマ	VH プライマー(ミックス)	VK プライマー(ミックス)	VH	VK
ACI-35	A6-2G5-30			GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAGCTGGTG AAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATATCCTGTAAGGCT TCTGGATTCACGTTCACTGACTACTACATGAACTGGG TGAAGCAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTG GAGATATTAATCCTAACAATGGTGGTACTAGCTACCA CCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGA CAAGTCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCCGCAG CCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGTA AGAGAGGGAAGATTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACT CTGGTCACTGTCTCTGCA (配列番号: 113)	GACATTGTGATGACCCAGTCTCAAAAATTCATGTCCACAT CAGTAGGAGACAGGGTCAGCGTCACCTGCAAGGCCAGT CAGAATGTGGGTACTAATGTAGCCTGGTATCAACAGAAA CCAGGGCAATCTCCTAAAGCACTGATTTACTCGGCATCCT ACCGGTACAGTGGAGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTG GATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAATGTGCA GTCTGAAGACTTGGCAGAGTATTTCTGTCAGCAATATAAC AGCTATCCGTACACGTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGA AATAAAA (配列番号: 114)
ACI-35	A6-2G5-41			GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAGCTGGTG AAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATATCCTGTAAGGCT TCTGGATTCACGTTCACTGACTACTACATGAACTGGG TGAAGCAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTG GAGATATTAATCCTAACAATGGTGGTACTAGCTACCA CCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGA CAAGTCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCCGCAG CCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGTA AGAGAGGGAAGATTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACT CTGGTCACTGTCTCTGCA (配列番号: 113)	GACATTGTGATGACCCAGTCTCAAAAATTCATGTCCACAT CAGTAGGAGACAGGGTCAGCGTCACCTGCAAGGCCAGT CAGAATGTGGGTACTAATGTAGCCTGGTATCAACAGAAA CCAGGGCAATCTCCTAAAGCACTGATTTACTCGGCATCCT ACCGGTACAGTGGAGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTG GATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAATGTGCA GTCTGAAGACTTGGCAGAGTATTTCTGTCAGCAATATAAC AGCTATCCGTACACGTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGA AATAAAA (配列番号: 114)

* 2つの生産 V_K 配列（表１０の配列４０及び４１）が細胞株 3A8A12G7 と 3A8E12H8 から単離された；“V_K_G”配列は“G”プライマーミックスを使用して作成されたクローンから調製され、“V_K AD”配列は“A”と“D”プライマーミックスを使用して作成されたクローンから調製された。
従って、異なるカッパ配列を持つ２つの抗体がこれらのハイブリドーマにより産生される。

表 **12.** 抗体可変領域の **CDR** 配列に対して使用されるプライマー

サブクローン	Ab アイソタイプ	プライマー配列			配列番号
3A8A 12G7	IgG2b	VH プライマー	5’	GGGAATTCATGRAATGSASCTGGGTYWTYCTCTT	46
			3’	CCCAAGCTTCCAGGGRCCARKGGATARACIGRTGG	47
		VK プライマー	5’	GGGAATTCATGRAGWCACAKWCYCAGGTCTTT	48
			AD	ACTAGTCGACATGGGCWTCAAGATGRAGTCACAKWYYCWGG	49
			5’ G	ACTAGTCGACATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCT	50
			3’	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
3A8E 12H8	IgG2b	VH プライマー	5’	GGGAATTCATGRAATGSASCTGGGTYWTYCTCTT	46
			3’	CCCAAGCTTCCAGGGRCCARKGGATARACIGRTGG	47
		VK プライマー	5’	GGGAATTCATGRAGWCACAKWCYCAGGTCTTT	48
			AD	ACTAGTCGACATGGGCWTCAAGATGRAGTCACAKWYYCWGG	49
			5’ G	ACTAGTCGACATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCT	50
			3’	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
2B6A 10C11	IgG2b	VH プライマー	5’	GGGAATTCATGRAATGSASCTGGGTYWTYCTCTT	46
				ACTAGTCGACATGGGATGGAGCTRTATCATSYTCTT	52
			3’	CCCAAGCTTCCAGGGRCCARKGGATARACIGRTGG	47
		VK プライマー	5’	ACTAGTCGACATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCT	50
			3’	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
2B6G 7A12	IgG2b	VH プライマー	5’	GGGAATTCATGRAATGSASCTGGGTYWTYCTCTT	46
				ACTAGTCGACATGGGATGGAGCTRTATCATSYTCTT	52
			3’	CCCAAGCTTCCAGGGRCCARKGGATARACIGRTGG	47
		VK プライマー	5’	ACTAGTCGACATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCT	50
			3’	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
6H1A11C11	IgG2b	VH プライマー	5’	GGGAATTCATGRAATGSASCTGGGTYWTYCTCTT	46
			3’	CCCAAGCTTCCAGGGRCCARKGGATARACIGRTGG	47
		VK プライマー	5’	ACTAGTCGACATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCT	50
			3’	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
6H1G 6E6	IgG2b	VH プライマー	5’	GGGAATTCATGRAATGSASCTGGGTYWTYCTCTT	46

サブクローン	Ab アイソタイプ	プライマー配列			配列番号
			3'	CCCAAGCTTCCAGGGRCCARKGGATARACIGRTGG	47
		VK プライマー	5'	ACTAGTCGACATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCT	50
			3'	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
6C10F9 C12A11	IgG3	VH プライマー	5'	GGGAATTCATGRASTTSKGGYTMARCTKGRTTT ACTAGTCGACATGGACTCCAGGCTCAATTTAGTTTTCCT	53 54
			3'	CCCAAGCTTCCAGGGRCCARKGGATARACIGRTGG	47
		VK プライマー	5'	ACTAGTCGACATGGACTCCAGGCTCAATTTAGTTTTCCT	54
			3'	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
6C10E5E 9C12	IgG3	VH プライマー	5'	GGGAATTCATGRASTTSKGGYTMARCTKGRTTT ACTAGTCGACATGGACTCCAGGCTCAATTTAGTTTTCCT	53 54
			3'	CCCAAGCTTCCAGGGRCCARKGGATARACIGRTGG	47
		VK プライマー	5'	GGGAATTCATGRAGWCACACAKWCYCAGGTCTTT ACTAGTCGACATGGGCWTCAAGATGRAGTCACACAKWYYCWGG	48 49
			3'	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
7C2(1)F10C 10D3	IgG2b	VH プライマー	5'	GGGAATTCATGRASTTSKGGYTMARCTKGRTTT ACTAGTCGACATGAAGWTGTGGBTRAACTGGRT	53 55
			3'	CCCAAGCTTCCAGGGRCCARKGGATARACIGRTGG	47
		VK プライマー	5'	ACTAGTCGACATGGAGWCAGACACACISCTGYTATGGGT ACTAGTCGACATGGGCWTCAAGATGRAGTCACACAKWYYCWGG ACTAGTCGACATGGTYCTYATVTTRCTGCTGCTATGG	56 49 57
			3'	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
7C2(2)B9F 11D5	IgG2b	VH プライマー	5'	GGGAATTCATGRASTTSKGGYTMARCTKGRTTT ACTAGTCGACATGAAGWTGTGGBTRAACTGGRT	53 55
			3'	CCCAAGCTTCCAGGGRCCARKGGATARACIGRTGG	47
		VK プライマー	5'	ACTAGTCGACATGGTYCTYATVTTRCTGCTGCTATGG	57
			3'	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51

サブクローン	Ab アイソタイプ	プライマー配列			配列番号
A6-2G5-08	IgG2a	VH プライマー	5'	GGGAATTCATGGAATGCAGCTGGGTTTTTCTCTT	120
				GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTCTTTCTCTT	121
				GGGAATTCATGGAATGCAGCTGGGTCATTCTCTT	122
				GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTTTTTCTCTT	123
				GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTTATTCTCTT	124
				GGGAATTCATGAAATGGAGCTGGGTCTTTTCTT	125
				GGGAATTCATGGAATGCAGCTGGGTCTTCCTCTT	126
				GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTTTTCCTCTTC	127
			3'	CCCAAGCTTCCAGGGACCAATGGATAACGGGTGG	128
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAATGGATAAACGATGG	129
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAATGGATAAACGGTGG	130
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAATGGATAAACGGATGG	131
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAGTGGATAGACGGGTGG	132
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAAGGGATAGATGATGG	133
				CCCAAGCTTCCAGGGGCCAATGGATAAACGGGTGG	134
				CCCAAGCTTCCAGGGGCCAATGGATAAACGATGG	135
		VK プライマー	5'	ACTAGTCGACATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCT	50
			3'	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
A4-2A1-18	IgG2b	VH プライマー	5'	GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTCATTCTCTT	136
				GGGAATTCATGGAATGCAGCTGGGTTTTTCTCTT	120
				GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTTTTTCTCTT	123
				GGGAATTCATGGAATGCACCTGGGTTTTCCTCTT	137
				GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTCTTCCTCTT	138
				GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTCATCCTCTT	139
				GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTTATTCTCTT	124
				ACTAGTCGACATGGGATGAGCTTATCATCCTCTT	140
			3'	CCCAAGCTTCCAGGGGCCAATGGATAACGGTGG	141
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAGTGGGATAAACGGGTGG	142
				CCCAAGCTTCCAGGGGCCAATGGATAAACGGGTGG	134
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAAGGGATAGACGGGTGG	143

サブクローン	Ab アイソタイプ	プライマー配列			配列番号
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAAGGGATAAACGGATGG	144
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAGGGGATAAACGGATGG	145
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAATGGATAAACGGATGG	131
				CCCAAGCTTCCAGGGGCCAGGGATAAACGGGTGG	146
				CCCAAGCTTCCAGGGGCCAATGGATAAACCGGTGG	147
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAGTGGATAAACGGTGG	148
		VK プライマー	5'	ACTAGTCGACATGGTGTCCACAGCTCAGTTCCTTG	149
			3'	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
A6-2G5-30	IgG2b	VH プライマー	5'	GGGAATTCATGAAATGGAGCTGGGTCTTCCTCTT	150
				GGGAATTCATGGAATGCAGCTGGGTTATTCTCTT	151
				GGGAATTTATGGAATGGAGCTGGGTCTTCCTCTT	152
				GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTTTTCCTCTT	127
				GGGAATTCATGGAATGCAGCTGGGTCATCCTCTT	153
				GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTTATTCTCTT	124
				GGGAATTCATGGAATGCAGCTGGGTTTTCCTCTT	154
				GGGAATTCATGGAATGCAGCTGGGTCTTTCTCTT	155
				ACTAGTCGACATGGGATGGAGCTATATCATCCTCTT	156
				ACTAGTCGACATGGGATGGAGCTTATCATCTTCTT	157
				ACTAGTCGACATGTAGATGTGGTTAAACTGGGT	158
			3'	CCCAAGCTTCCAGGGGCCAGGGGATAAACGGATGG	159
				CCCAAGCTTCCAGGGGCCAAGGGATAGACGGATGG	160
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAGGGGATAGACGGGTGG	161
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAGGGGATAGACGGATGG	162
				CCCAAGCTTCCAGGGGCCAGTGGATAAACGGATGG	163
				CCCAAGCTTCCAGGGGCCAATGGATAACGATGG	164
				CCCAAGCTTCCAGGGGCCAGTGGATAAACGATGG	165
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAATGGATAAACGGTGG	130
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAGTGGATAAACGATGG	166
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAATGGATAACGATGG	167
				CCCAAGCTTCCAGGGACCATGGATAAACGGGTGG	168

サブクローン	Ab アイソタイプ	プライマー配列			配列番号
		VK プライマー	5'	ACTAGTCGACATGGGCATCAAGATGAAGTCACATACTCTGG	169
				ACTAGTCGACATGGGCATCAAGATGAGTCACATACTCTGG	170
				ACTAGTCGACTGGGCATCAGATGAGTCACATACTCTGG	171
				ACTAGTCGACATGGGCATCAAGATGAAGTCACAGACCCAGG	172
				ACTAGTCGACATGGGCTTCAAGATGAAGTCACATTCTCTGG	173
				ACTAGTCGACATGGGCTTCAAGATGAAGTCACATATTCAGG	174
			3'	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
				CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
A4-2A1-40	IgG2b	VH プライマー	5'	GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTCATCCTCTT	139
				GGGAATTCATGGAATGCAGCTGGGTTTTCCTCTT	154
				GGGAATTCATGGAATGCAGCTGGGTCTTTCTCTT	155
				GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTTTTCCTCTT	127
				GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTCTTTCTCTT	121
				ACTAGTCGACATGGATGGAGCTTATCATCCTCTT	175
			3'	CCCAAGCTTCCAGGGACCAAGGGATAAACGGTGG	176
				CCCAAGCTTCCAGGGGCCAATGGATAAACCGGTGG	147
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAATGGATAAACGATGG	129
				CCCAAGCTTCCAGGGGCCAGTGGATAAACGGGTGG	177
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAATGGATAACGGGTGG	128
		VK プライマー	5'	ACTAGTCGACATGAGGTACTCGGCTCAGTTCCTGGG	178
				ACTAGTCGACATGAGGTCCCCGGCTCAGTTCCTGGG	179
				ACTAGTCGACATGAGGACGTCGATTCAGTTCTTGGG	180
			3'	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
A6-2G5-41	IgG2b	VH プライマー	5'	GGGAATTCATGGAATGGACCTGGGTCATCCTCTT	181
				GGGAATTCATGGAATGCAGCTGGGTTTTTCTCTT	120
				GGGAATTCATGGAATGCAGCTGGGTTATCCTCTT	182
				GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTTATTCTCTT	124
				GGGAATTCATGGAATGCAGCTGGGTCTTCCTCTT	126
				GGGAATTCATGAATGGATCTGGGTTATTCTCTT	183

サブクローン	Ab アイソタイプ	プライマー配列			配列番号
			3'	CCCAAGCTTCCAGGGACCAGGGGATAAACGGGTGG	184
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAAGGGACGGGTGG	185
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAATGGATAAACAGATGG	186
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAAGGGATAAACGGATGG	144
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAGGGGATAAACGGATGG	145
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAAGGGATAAACGGGTGG	187
		VK プライマー	5'	GGGAATTCATGGAGACACATTCCCAGGTCTTT	188
				GGGAATTCATGGAGTCACAGTCTCAGGTCTTT	189
				ACTAGTCGACATGGGCTTCAAGATGGAGTCACACATTTTCAGG	190
				ACTAGTCGACATGGGCATCAAGATGAAGTCACACATATTCAGG	191
				ACTAGTCGACATGGGCTTCAAGATGAAGTCACACATTCTCAGG	192
				CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
			3'	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
A4-4A6-48	IgG2b	VH プライマー	5'	ACTAGTCGACATGGGATGGAGCTTATCATGTTCTT	193
				ACTAGTCGACATGGGATGGAGCTTATCATGCTCTT	194
				GGGAATTCATGGAATGCACCTGGGTTTTCCTCTT	137
				GGGAATTCATGGAATGGACCTGGGTTTTCCTCTT	195
				GGGAATTCATGGAATGGACCTGGGTCTTTCTCTT	196
				GGGAATTCATGAAATGGAGCTGGGTTATTCTCTT	197
				GGGAATTCATGGAATGCAGCTGGGTTATTCTCTT	151
				GGGAATTCATGGAATGGAGCTGGGTCTTTCTCTT	121
			3'	CCCAAGCTTCCAGGGGCCAATGGATAGACGATGG	198
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAAGGGATAGACGGATGG	199
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAAGGGATAGACGATGG	200
				CCCAAGCTTCCAGGGGCCAATGGATAACGGTGG	141
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAGTGGATAAACGATGG	166
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAATGGATAAACGGATGG	131
				CCCAAGCTTCCAGGGACCAAGGGATAAACGGATGG	144

サブクローン	Ab アイソタイプ	プライマー配列			配列番号
		VK プライマー	5’	ACTAGTCGACATGATGTACCCGGCTCAGTTTCTGGG	201
				ACTAGTCGACATGAGGACTTCGATTCAGTTCTTGGG	202
				ACTAGTCTACATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCT	203
				ACTAGTCGACATGAAGTTGTCTGTTAGGCTGTTGGTGCT	204
				ACTAGTCGACATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCT	50
			3’	CCCAAGCTTACTGGATGGTGGGAAGATGGA	51
A4-4A6-18	IgG2b	VH プライマー	5’	ATGGGATGGAGCTRTATCATSYTCTT	205
				ATGAAGWTGTGGBTRAACTGGRT	206
				ATGGRATGGASCKKIRTCTTTMTCT	207
			3’	CCAGGGRCCARKGGATARACIGRTGG	208
		VK プライマー	5’	ATGGAGACAGACACACTCCTGCTAT	209
				ATGGAGWCAGACACACTSCTGYTATGGGT	210
				ATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCT	211
				ATGGATTTWCARGTGCAGATTWTCAGCTT	212
				ATGGTYCTYATVTCCTTGCTGTTCTGG	213
				ATGGTYCTYATVTTRCTGCTGCTATGG	214
			3’	ACTGGATGGTGGGAAGATGGA	215
A6-1D2-12	IgG2a	VH プライマー	5’	ATGAAATGCAGCTGGRTYATSTTCTT	216
				ATGGRCAGRCTTACWTYYTCATTCCT	217
				ATGATGGTGTTAAGTCTTCTGTACCT	218
			3’	CCAGGGRCCARKGGATARACIGRTGG	208

サブクローン	Ab アイソタイプ	プライマー配列			配列番号
		VK プライマー	5'	ATGRAGWCACAKWCYCAGGTCTTT	219
				ATGGAGACAGACACACTCCTGCTAT	209
				ATGGAGWCAGACACACTSCTGYTATGGGT	210
				ATGAGGRCCCCTGCTCAGWTTYTTGGIWTCTT	220
				ATGGGCWTCAAGATGRAGTCACAKWYYCWGG	221
				ATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCT	211
				ATGGATTTWCARGTGCAGATTWTCAGCTT	212
				ATGGTYCTYATVTCCTTGCTGTTCTGG	213
				ATGGTYCTYATVTTRCTGCTGCTATGG	214
			3'	ACTGGATGGTGGGAAGATGGA	215

縮重コドン:

R	= AまたはG	S	= CまたはG	D	= AまたはGまたはT	B	= CまたはGまたはT
Y	= CまたはT	M	= AまたはC	H	= AまたはCまたはT		
K	= GまたはT	W	= AまたはT	V	= AまたはGまたはC		

表 13. ヒトタウの最長アイソフォーム（４４１ａａ）、タウ４０とも称する。

ヒトタウの最長アイソフォーム（４４１ａａ）、タウ４０とも称する (配列番号: 67) 微小管結合タンパク質タウアイソフォーム 2 [ホモサピエンス] NCBI 参照配列: NP_005901.2	MAEPRQEFEV MEDHAGTYGL GDRKDQGGYT MHQDQEGDTD AGLKESPLQT PTEDGSEEPG SETSDAKSTP TAEDVTAPLV DEGAPGKQAA AQPHTEIPEG TTAEEAGIGD TPSLEDEAAG HVTQARMVSK SKDGTGSDDK KAKGADGKTK IATPRGAAPP GQKGQANATR IPAKTPPAPK TPPSSGEPPK SGDRSGYSSP GSPGTPGSRS RTPSLPTPPT REPKKVAVVR TPPKSPSSAK SRLQTAPVPM PDLKNVKSKI GSTENLKHQP GGGKVQIINK KLDLSNVQSK CGSKDNIKHV PGGGSVQIVY KPVDLSKVTS KCGSLGNIHH KPGGGQVEVK SEKLDFKDRV QSKIGSLDNI THVPGGGNKK IETHKLTFRE NAKAKTDHGA EIVYKSPVVS GDTSPRHLSN VSSTGSIDMV DSPQLATLAD EVSASLAKQG L (配列番号: 67)

【０３８１】

参考文献リスト

Alonso A.D., et al. (1997), Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A., 94, 298-303

Alving et al.,(1992) Infect. Immun. 60:2438-2444

Asuni et al., (2007) J Neurosc. 27 (34), 9115-29

Braak H., et al. (1993), Eur.Neurol., 33, 403-408

Gill et al., Nature Med. 9: 589-595 (2003)

Greenberg S.G., et al. (1992), J Biol.Chem., 267, 564-569.

Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory, New York 1988 555-612

Hodgson et al.,(1991) Bio/Technoloy, 9:421

Hoffmann R., et al (1997), Biochemistry, 36, 8114-8124.

Kabat EA, Wu TT, Perry HM, Gottesman KS, Foeller C. Sequences of proteins of Immunological Interest, US Department of Health and Human Services, 1991

Kennedy, J. H., et al., 1976 (Clin. Chim. Acta 70:1-31)

Khaw, B. A. et al. (1982) J. Nucl. Med. 23:1011-1019

Lewis et al., (2000) Nature Genetics, 25?:402-405

Masliah et al., (2005) Neuron, 46(6), 857-68

Masliah et al., (2011) PLoS ONE, Volume 6(4), e19338, pp- 1-17

Muhs et al., (2007) Proc Natl Acad Sci USA, 104(23), 9810-5

Muyllaert et al, (2006) Rev Neurol, 162(10), 903-907

Muyllaert et al, (2008) Genes Brain Behav., Suppl. 1, 57-66

Neuwelt, E. A., Implication of the Blood-Brain Barrier and its Manipulation, Vols 1 & 2, Plenum Press, N. Y. (1989))

Nicolau et. al. (2002) Proc Natl. Acad. Sci USA 99, 2332-2337

Nicoll et al., (2003) Nature Med, 9, 448-452

Oddo et al., (2004) Neuron, 43, 321-332

Queen et al.,(1989) Proc. Natl Acad Sci USA, 86:10029-10032

Papanastassiou et al., Gene Therapy 9: 398-406 (2002)

Reig S., et al. (1995), Acta Neuropathol., 90, 441-447

Ribe et al., (2005) Neurobiol Dis, 20(3), 814-22
Roberson et al, (2007) Science, 316 (5825), 750-4
Rosenmann et al., (2006) Arch Neurol, 63(10), 1459-67
Rousseaux et al. Methods Enzymology, (1986) , Academic Press 121:663-69
Schurs, A. H. W. M., et al. 1977 {Clin. Chim Acta 57:1-40
Terwel et al., (2006) J Biol Chem, 280, 3963-3973
Terwel et al, (2008) Am J pathol., 172(3), 786-98
Urushitiani et al., (2007) Proc. Natl Acad Sci USA, 104(79, 2495-500
Vandebroek et al., “Phosphorylation and Aggregation of Protein Tau in Humanized Yeast Cells and in Transgenic Mouse Brain”; 7th International Conference on Alzheimer’s and Parkinson’s Disease, Sorrento, Italy, March 9-13, 2005, pp 15-19
Wagner et al (2002) Journal of Liposome Research Vol 12(3), pp 259 - 270

国際公開第２００４／０５８２５８号
国際公開第９６／１３５９０号
国際公開第９６／２９６０５号
米国特許出願公開第２００２／００３８０８６号
米国特許出願公開第２００３／００８３２９９号
米国特許出願公開第２００２／００２５３１３号
米国特許出願公開第２００４／０２０４３５４号
米国特許出願公開第２００４／０１３１６９２号
米国特許出願公開第２００２／００６５２５９号
米国特許出願公開第２００３／０１６２６９５号
米国特許出願公開第２００５／０１２４５３３号
米国特許出願公開第２００５／００８９４７３号
米国特許出願公開第２００３／００７３７１３号
米国特許出願公開第２００３／０１２９１８６号
米国特許第５１１２５９６号
米国特許第５２６８１６４号
米国特許第５５０６２０６号
米国特許第５６８６４１６号
米国特許第５００４６９７号

【図３】

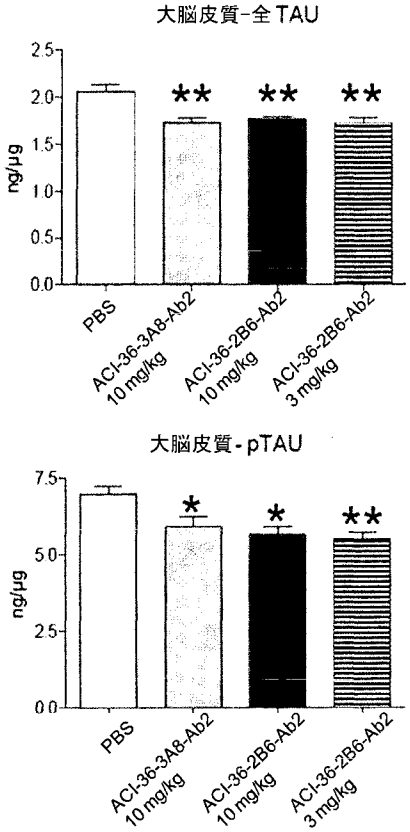


図 3

【図４－１】

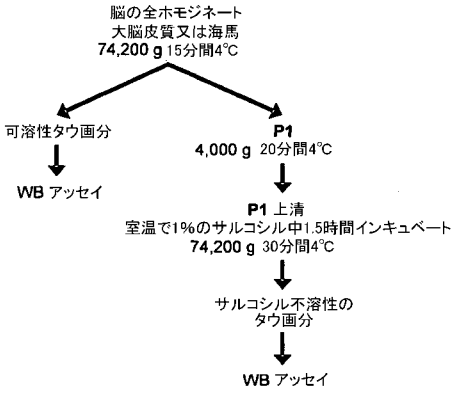


図 4-1

【図４－２】

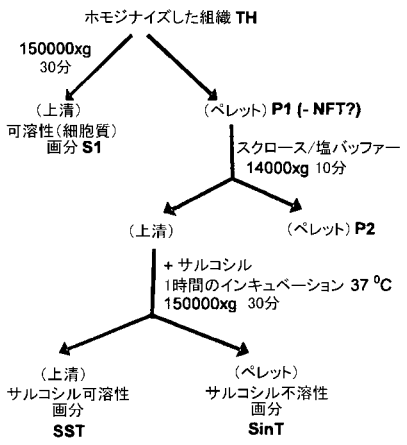


図 4-2

【図５－１】

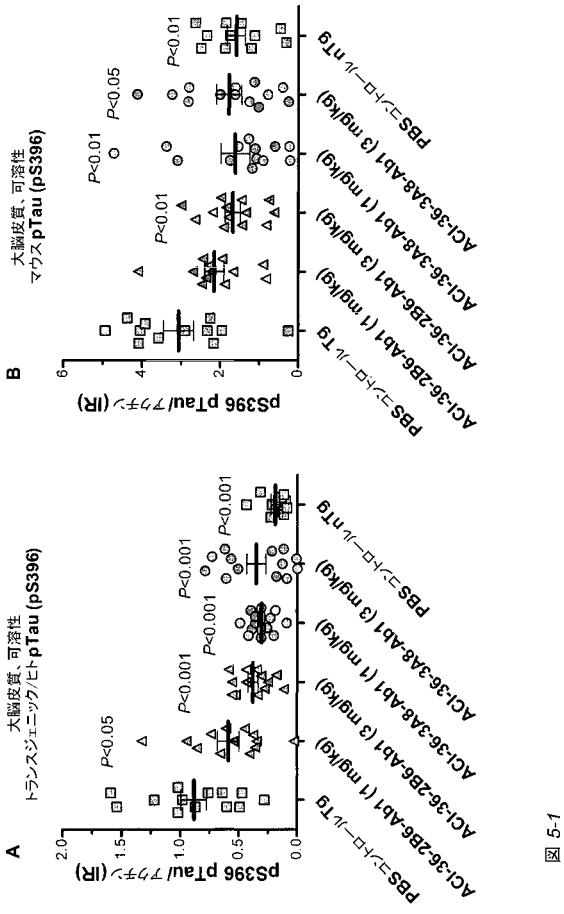


図 5-1

【図５－２】

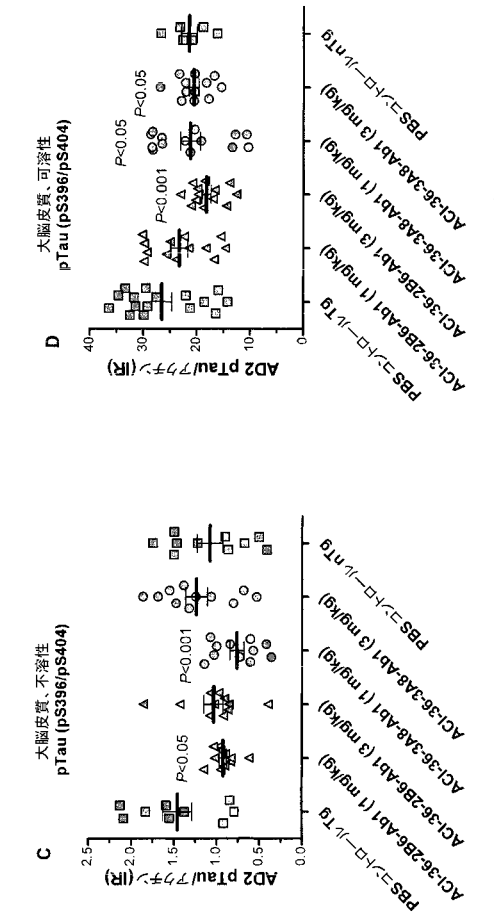


図 5-2

【図５－３】

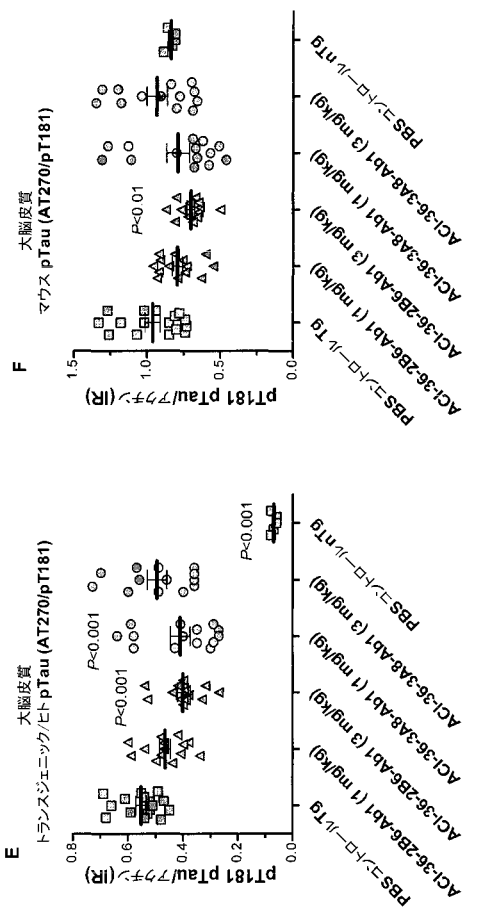


図 5-3

【図５－４】

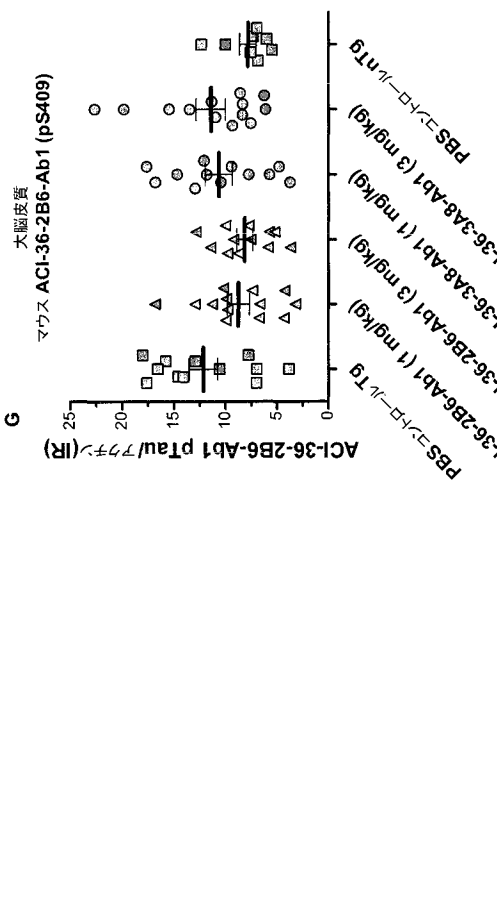


図 5-4

【図５－５】

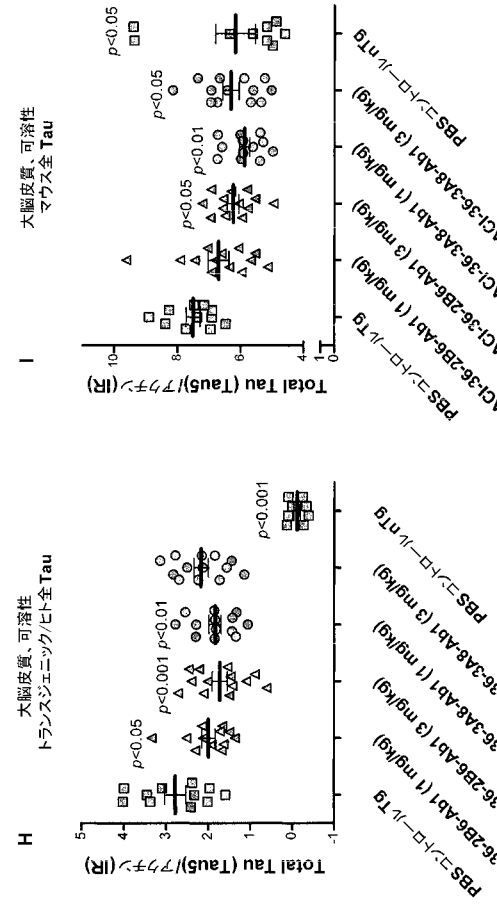


図 5-5

【図６－１】

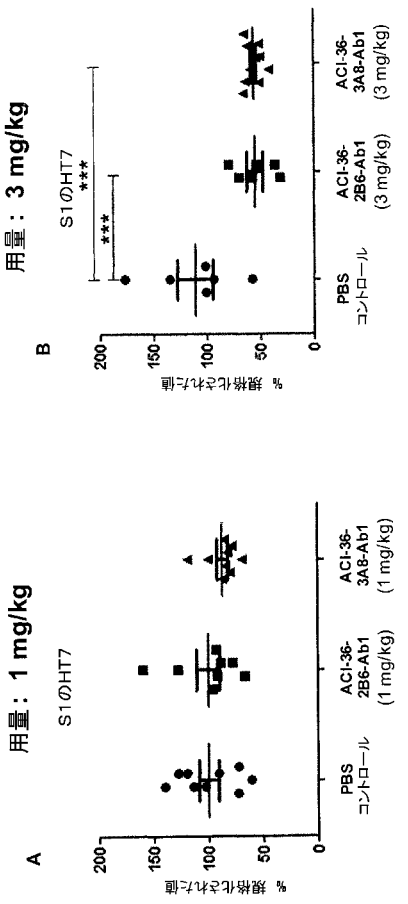


図 6-1

【図６－２】

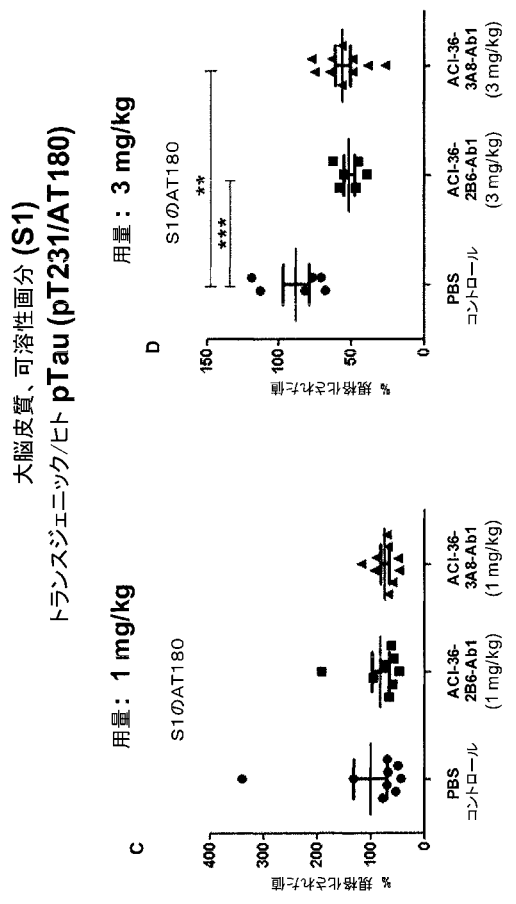


図 6-2

【図６－３】

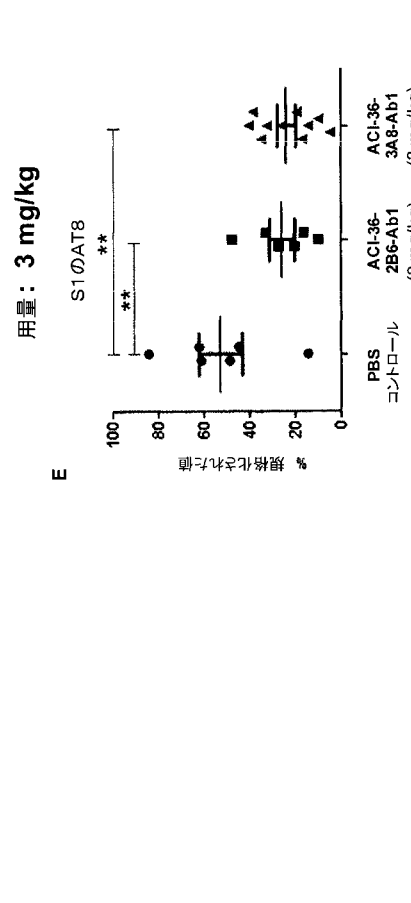


図 6-3

【図６－４】

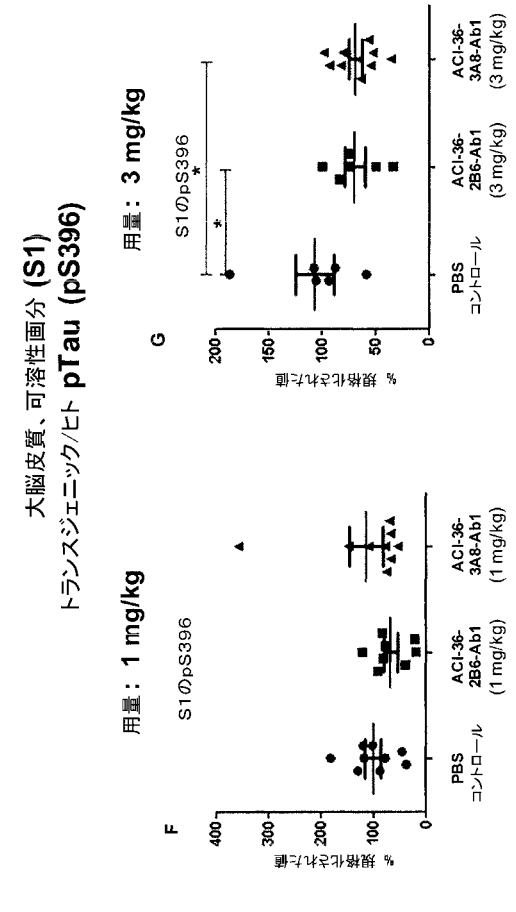


図 6-4

【図６－５】

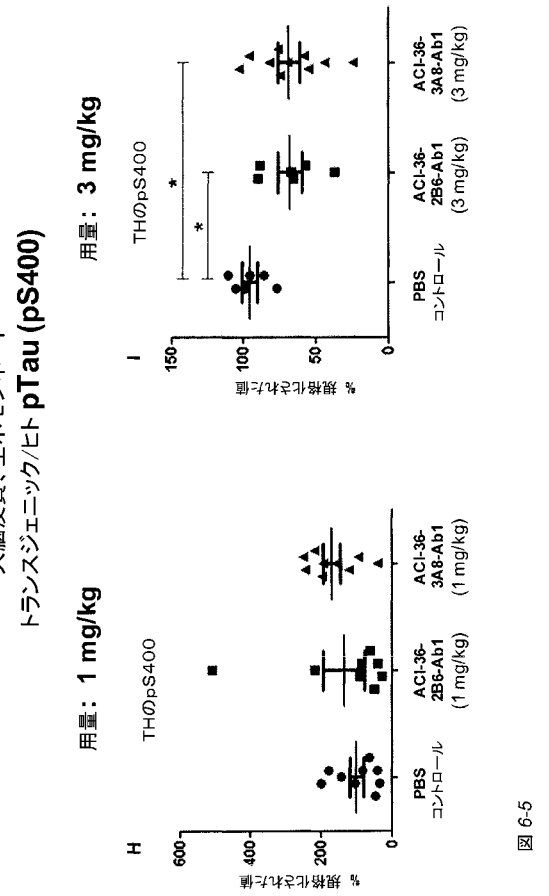


図 6-5

【図６－６】

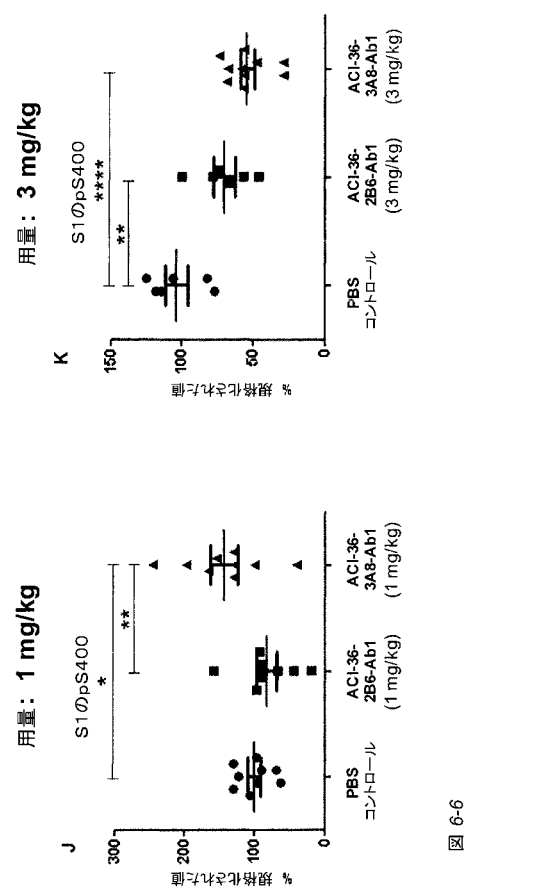


図 6-6

【図６－７】

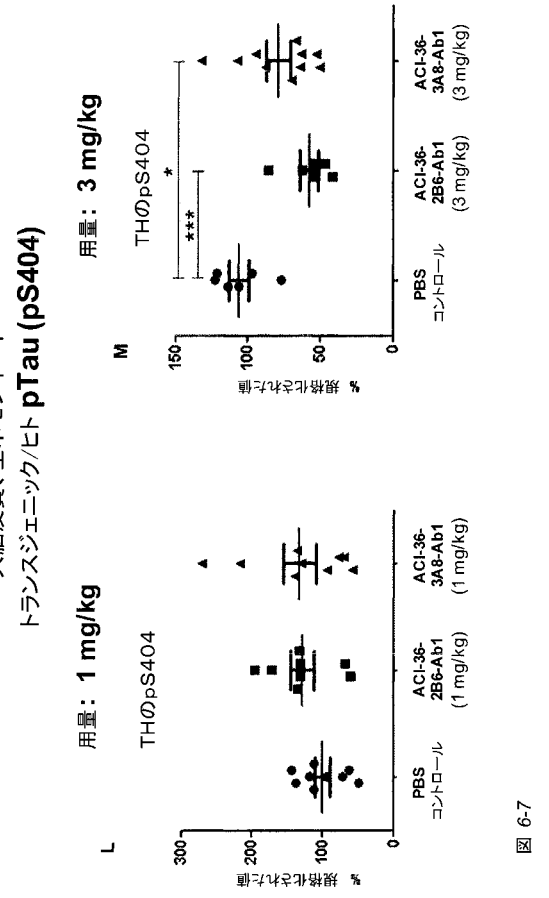


図 6-7

【図６－８】

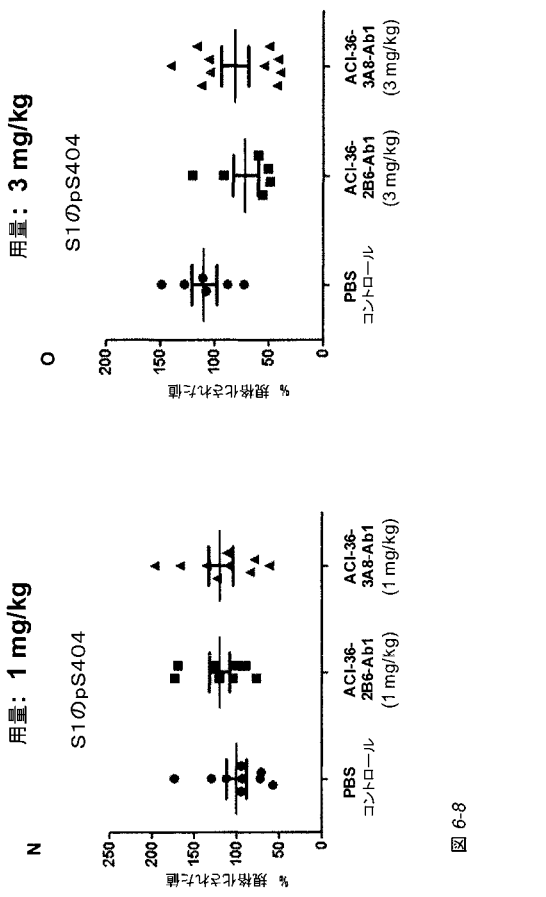


図 6-8

【図７】

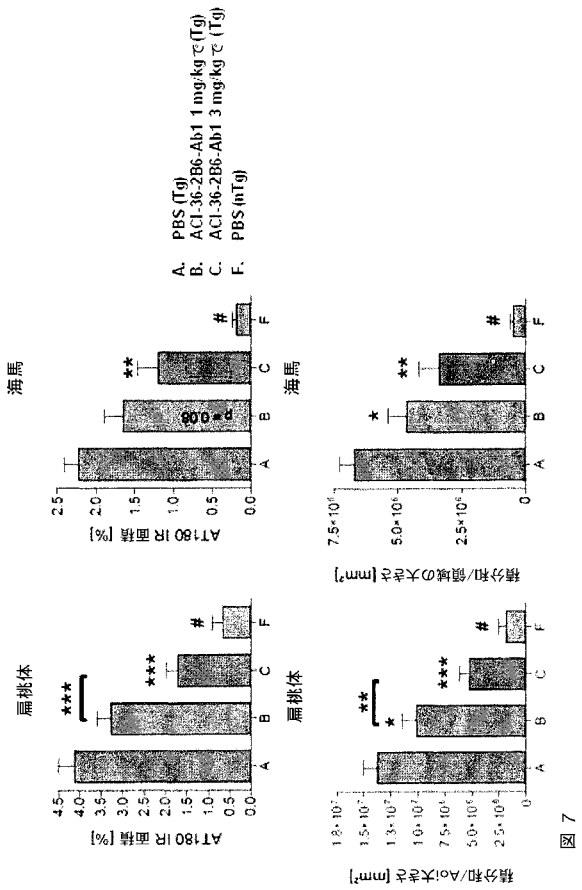


図 7

【図８】

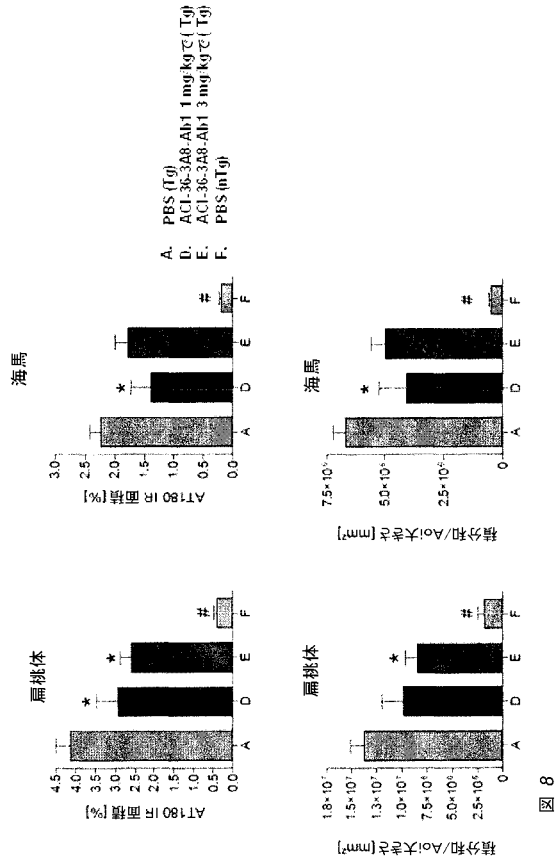
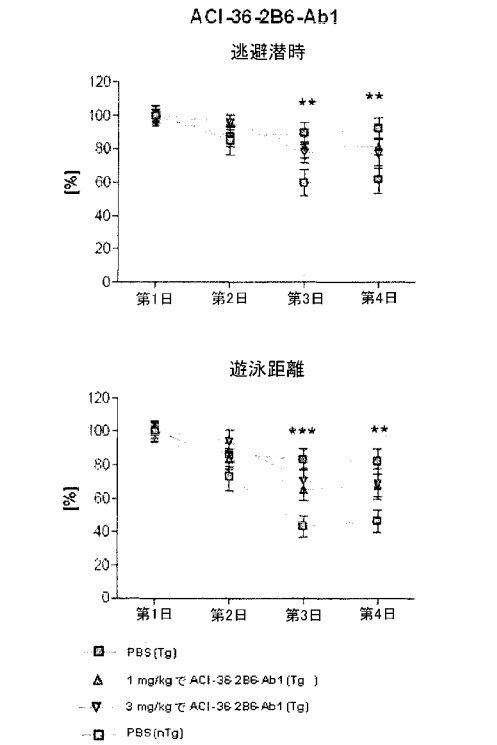


図 8

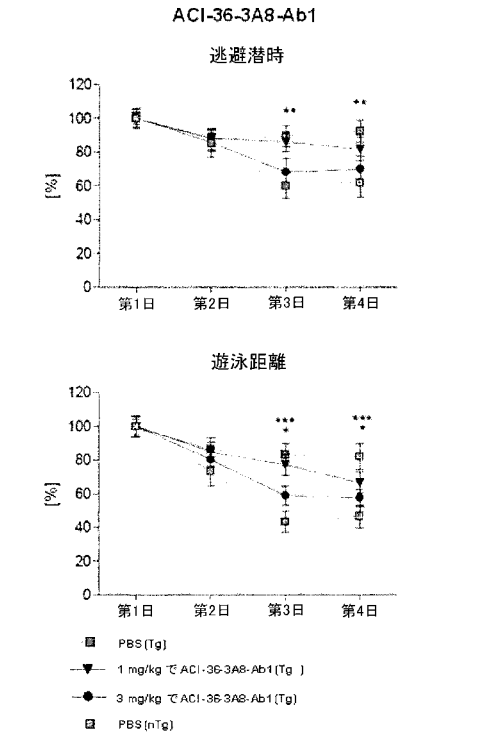
【図９】



	逃避潜時			遊泳距離		
	第2日	第3日	第4日	第2日	第3日	第4日
A対B	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
A対C	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
A対F	P > 0.05	P<0.01	P<0.01	P > 0.05	P<0.001	P<0.01

図 9

【図１０】



	逃避潜時			遊泳距離		
	第2日	第3日	第4日	第2日	第3日	第4日
A対D	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
A対E	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P < 0.05	P < 0.05
A対F	P > 0.05	P<0.01	P<0.01	P > 0.05	P<0.001	P<0.001

図 10

【図１－１】

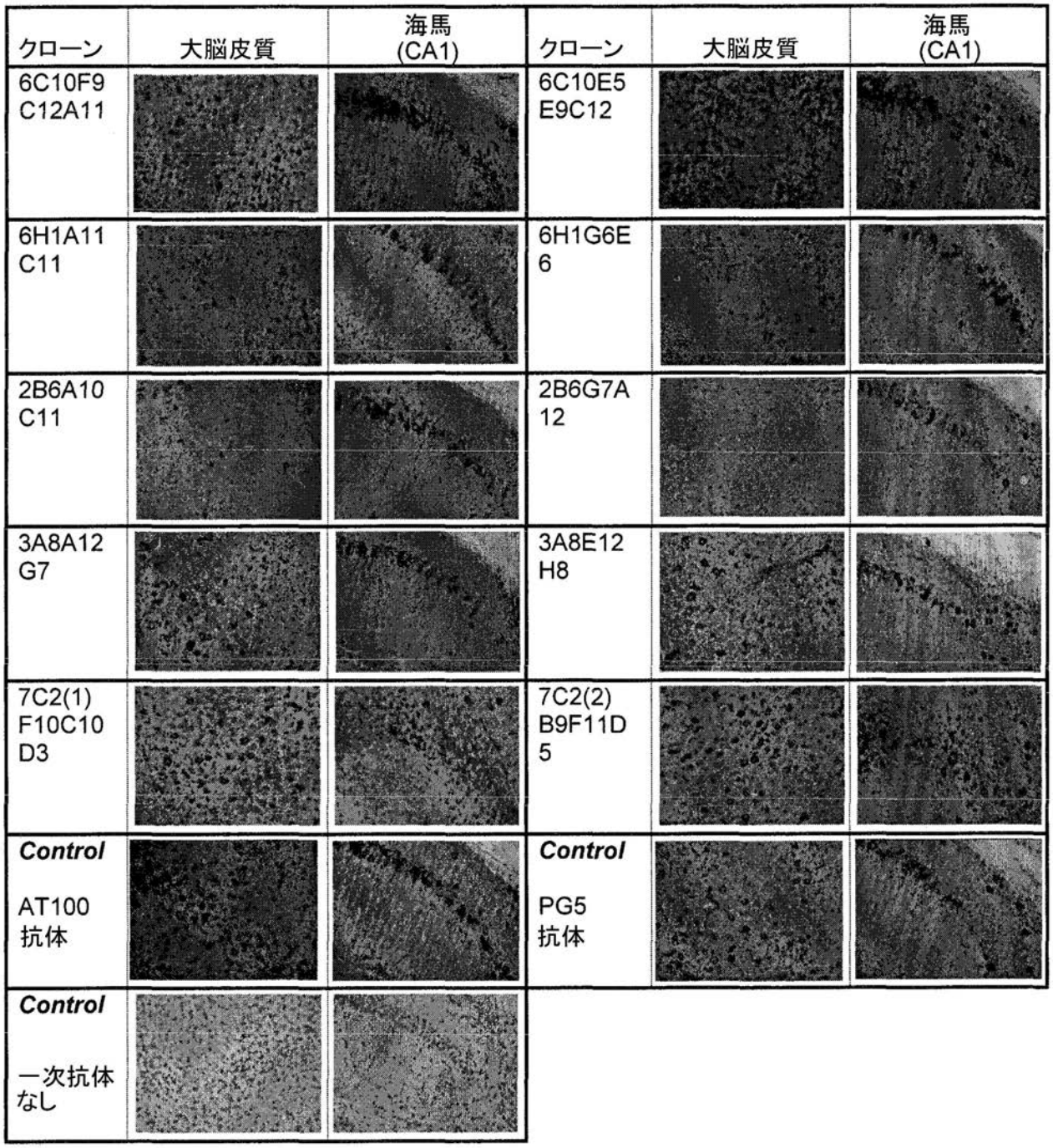

クローン
大脳皮質
海馬 (CA1)
クローン
大脳皮質
海馬 (CA1)
6C10F9 C12A11
6C10E5 E9C12
6H1A11 C11
6H1G6E 6
2B6A10 C11
2B6G7A 12
3A8A12 G7
3A8E12 H8
7C2(1) F10C10 D3
7C2(2) B9F11D 5
Control AT100 抗体
Control PG5 抗体
Control 一次抗体 なし

図 1-1

【図１－２】

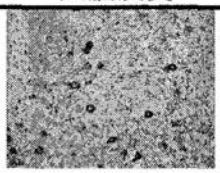
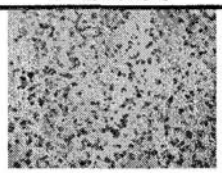
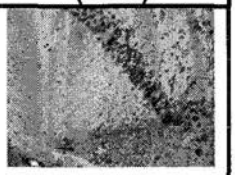
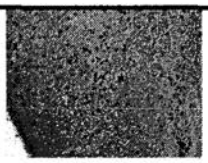
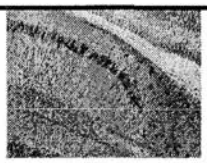
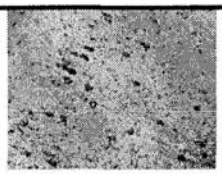
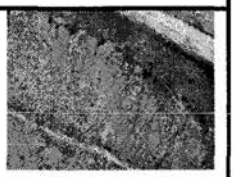
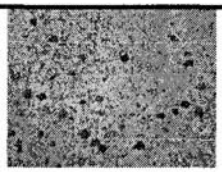
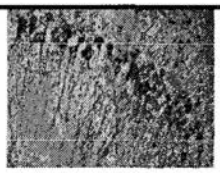
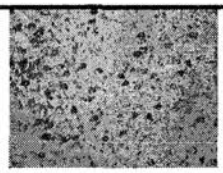
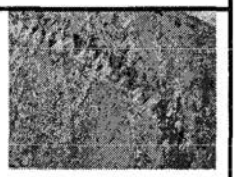
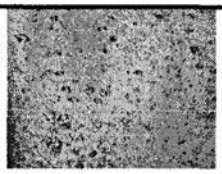
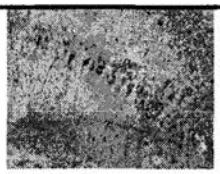
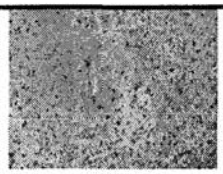
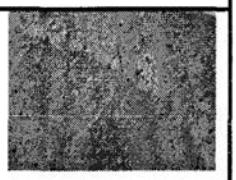
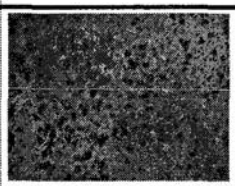
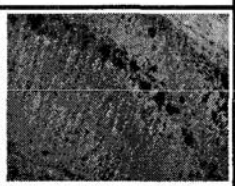
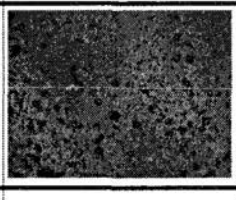
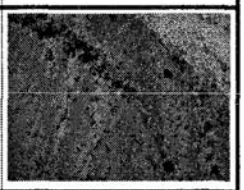
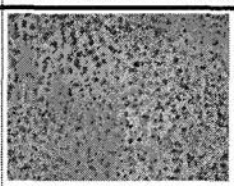
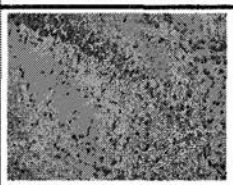
クローン	大脳皮質	海馬 (CA1)	クローン	大脳皮質	海馬 (CA1)
A4-2A1-18			A6-2G5-08		
A4-4A6-48			A6-2G5-30		
A4-2A1-40			A6-2G5-41		
A6-1D2-12			A4-4A6-18		
Control AT100 抗体			***Control*** PG5 抗体		
Control 一次抗体なし					

図 *1-2*

【図２】

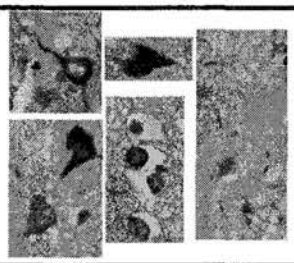
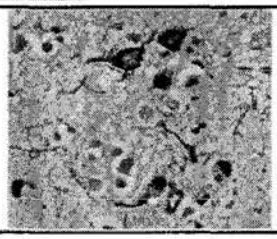
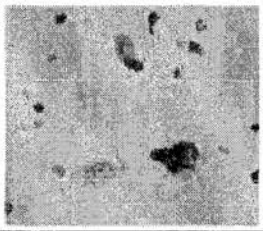
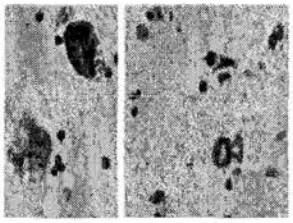
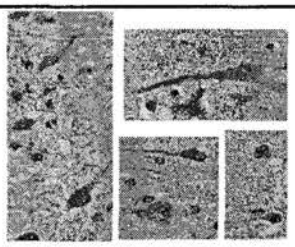
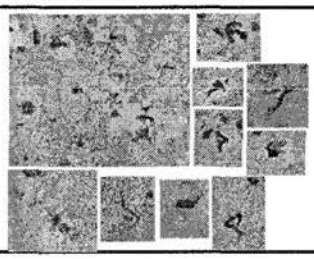
診断	領域	ACI-3A8-Ab1 TAUPIR 染色
AD	海馬	
FAD	前海馬	
AGD	前海馬	
PSP	淡蒼球	
FTDP-17	前頭皮質	
CBD	前頭皮質	
健常者 コントロール	海馬	

図 2

【配列表】

2014502141000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2011/067604

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K16/18 G01N33/68 A61K39/00
ADD.

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)
C07K G01N A61K

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data, Sequence Search

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	LEE G ET AL: "Phosphorylation of tau by fyn: implications for Alzheimer's disease", JOURNAL OF NEUROSCIENCE, THE SOCIETY, WASHINGTON, DC, US, vol. 24, no. 9, 3 March 2004 (2004-03-03), pages 2304-2312, XP002350398, ISSN: 1529-2401, DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4162-03.2004 the whole document page 2305, column 1 - column 2 figures 1-2,5-7 ----- -/--	1-120

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] 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 document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
26 March 2012	03/04/2012

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Jenkins, Gareth

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2011/067604

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	K. BHASKAR ET AL: "Tyrosine phosphorylation of tau accompanies disease progression in transgenic mouse models of tauopathy", NEUROPATHOLOGY AND APPLIED NEUROBIOLOGY, vol. 36, no. 6, 1 October 2010 (2010-10-01), pages 462-477, XP55016663, ISSN: 0305-1846, DOI: 10.1111/j.1365-2990.2010.01103.x the whole document page 475, column 1, paragraph 1	1-120
X	US 2008/050383 A1 (SIGURDSSON EINAR [US] ET AL) 28 February 2008 (2008-02-28) the whole document claims 1,6,31,37,38 page 11; sequence 6	1-120
X	WO 2010/106127 A2 (AC IMMUNE SA [CH]; PFEIFER ANDREA [CH]; MUHS ANDREAS [CH]; PIHLGREN MA) 23 September 2010 (2010-09-23) the whole document claims 1-62 pages 44,67 sequence 2	1-120
X,P	WO 2010/115843 A2 (AC IMMUNE SA [CH]; LEUVEN K U RES & DEV [BE]; PFEIFER ANDREA [CH]; MUH) 14 October 2010 (2010-10-14) the whole document page 52; table 1 page 77; table 10 claims 1-97	1-120
X	US 2005/221391 A1 (DAVIES PETER [US]) 6 October 2005 (2005-10-06) the whole document paragraph [0081]	1-120
X	US 2002/086009 A1 (ISHIGURO KOICHI [JP] ET AL) 4 July 2002 (2002-07-04) the whole document claims 1,2,7	1-120

-/--

3

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2011/067604

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JICHA: "cAMP-dependent protein kinase phosphorylations on tau in Alzheimer's disease", JOURNAL OF NEUROSCIENCE, vol. 19, no. 17, 1 January 1999 (1999-01-01), page 7486, XP55022354, ISSN: 0270-6474 the whole document abstract table 1 figure 1	1-120
X,P	THOMAS VANHELMONT ET AL: "Serine-409 phosphorylation and oxidative damage define aggregation of human protein tau in yeast", FEMS YEAST RESEARCH, vol. 10, no. 8, 1 December 2010 (2010-12-01), pages 992-1005, XP55022356, ISSN: 1567-1356, DOI: 10.1111/j.1567-1364.2010.00662.x the whole document abstract table 1	1-120
X	WO 98/22120 A1 (WISTAR INST [US]; UNIV PENNSYLVANIA [US]; OTVOS LASZLO [US]; HOFFMANN) 28 May 1998 (1998-05-28) the whole document claims 1,7,8,18,26	1-120
X	EP 2 210 901 A1 (IMMUNAS PHARMA INC [JP]; NAT CT FOR GERIATRICS AND GERO [JP]) 28 July 2010 (2010-07-28) the whole document claims 2,9 sequences 3,15,17,19	1-120
X,P	WO 2010/144711 A2 (UNIV NEW YORK [US]; SIGURDSSON EINAR M [US]) 16 December 2010 (2010-12-16) the whole document claim 1 table 1	1-120

-/--

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2011/067604

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	HOFFMANN R ET AL: "Unique Alzheimer's disease paired helical filament specific epitopes involve double phosphorylation at specific sites", BIOCHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, US, vol. 36, no. 26, 1 July 1997 (1997-07-01), pages 8114-8124, XP002625812, ISSN: 0006-2960, DOI: 10.1021/BI970380+ the whole document abstract tables 1,2	1-120
X	LICHTENBERG-KRAAG B ET AL: "'Phosphorylation-dependent epitopes of neurofilament antibodies on tau protein and relationship with Alzheimer tau", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, WASHINGTON, DC; US, vol. 89, no. 12, 1 June 1992 (1992-06-01), pages 5384-5388, XP002226003, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/PNAS.89.12.5384 the whole document figure 7	1-120
X	FRANCOIS TORREILLES ET AL: "Binding specificity of monoclonal antibody AD2: influence of the phosphorylation state of tau", MOLECULAR BRAIN RESEARCH, vol. 78, 1 January 2000 (2000-01-01), pages 181-185, XP55022594, the whole document figure 2B	1-120
X	L OTVOS ET AL: "Monoclonal Antibody PHF4 Recognizes Tau Protein Phosphorylated at Serine Residues 396 and 404", JOURNAL OF NEUROSCIENCE RESEARCH, vol. 39, 1 January 1994 (1994-01-01), pages 669-673, XP55022593, the whole document table 1 figure 1	1-120

-/--

3

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2011/067604

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DAVID SINGER ET AL: "Immuno-PCR-based quantification of multiple phosphorylated tau-epitopes linked to Alzheimerâ s disease", ANALYTICAL AND BIOANALYTICAL CHEMISTRY, SPRINGER, BERLIN, DE, vol. 395, no. 7, 11 October 2009 (2009-10-11), pages 2263-2267, XP019756726, ISSN: 1618-2650, DOI: 10.1007/S00216-009-3208-8 the whole document table 1	1-120
X	DAVID SINGER ET AL: "Characterization of Phosphorylation Dependent Antibodies To Study the Phosphorylation Status of the Tau Protein", INTERNATIONAL JOURNAL OF PEPTIDE RESEARCH AND THERAPEUTICS ; FORMERLY KNOWN AS LETTERS IN PEPTIDE SCIENCE, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, DO, vol. 11, no. 4, 1 December 2005 (2005-12-01), pages 279-289, XP019287635, ISSN: 1573-3904 the whole document table 1 figure 2	1-120
X	ZHENG-FISCHHOEFER QINGYI ET AL: "Sequential phosphorylation of Tau by glycogen synthase kinase-3beta and protein kinase A at Thr212 and Ser214 generates the Alzheimer-specific epitope of antibody AT100 and requires a paired-helical-filament-like conformation", EUROPEAN JOURNAL OF BIOCHEMISTRY, BLACKWELL PUBLISHING, BERLIN, DE, vol. 252, no. 3, 1 March 1998 (1998-03-01) , pages 542-552, XP002202096, ISSN: 0014-2956, DOI: 10.1046/J.1432-1327.1998.2520542.X the whole document figure 10	1-120
X,P	WO 2011/013034 A1 (PFIZER VACCINES LLC [US]; SMITH III GEORGE JOSEPH [US]; WILLS KENNETH) 3 February 2011 (2011-02-03) the whole document claim 1 page 8 pages 18-20 page 82; table 5	1-120

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2011/067604

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ZEMLAN F P ET AL: "MONOCLONAL ANTIBODY PHF-9 RECOGNIZES PHOSPHORYLATED SERINE 404 OF TAU PROTEIN AND LABELS PAIRED HELICAL FILAMENTS", JOURNAL OF NEUROSCIENCE RESEARCH, WILEY-LISS, US, vol. 46, no. 1, 1 October 1996 (1996-10-01), pages 90-97, XP000646724, ISSN: 0360-4012, DOI: 10.1002/(SICI)1097-4547(19961001)46:1<90::AID-JNR11>3.0.CO;2-G the whole document table 1 figure 3	1-120
X	RODER H M ET AL: "PHOSPHORYLATION-DEPENDENT MONOCLONAL TAU ANTIBODIES DO NOT RELIABLYREPORT PHOSPHORYLATION BY EXTRACELLULAR SIGNAL-REGULATED KINASE 2 AT SPECIFIC SITES", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, THE AMERICAN SOCIETY OF BIOLOGICAL CHEMISTS, INC, US, vol. 272, no. 7, 14 February 1997 (1997-02-14), pages 4509-4515, XP000979104, ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/JBC.272.34.21616 the whole document tables 1,2	1-120
X	HIRATA-FUKAE C ET AL: "Levels of soluble and insoluble tau reflect overall status of tau phosphorylation in vivo", NEUROSCIENCE LETTERS, LIMERICK, IE, vol. 450, no. 1, 23 January 2009 (2009-01-23), pages 51-55, XP025800599, ISSN: 0304-3940, DOI: 10.1016/J.NEULET.2008.11.023 [retrieved on 2008-11-13] the whole document figure 1	1-120
X	US 2008/220449 A1 (VASAN SARA [US] ET AL) 11 September 2008 (2008-09-11) the whole document paragraph [0071] example 6	1-120

-/--

3

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2011/067604

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	S. ODDO ET AL: "Reduction of Soluble Abeta and Tau, but Not Soluble Abeta Alone, Ameliorates Cognitive Decline in Transgenic Mice with Plaques and Tangles", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 281, no. 51, 1 January 2006 (2006-01-01), pages 39413-39423, XP55022863, ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/jbc.M608485200 the whole document page 39417 -----	1-120

3

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2011/067604

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

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

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

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

3. ☐ Claims Nos.:
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:

see additional sheet

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☒ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/ EP2011/ 067604

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 19, 36, 50, 79, 80, 89, 90(completely); 1-18, 24-31, 43-45, 53-78, 105-114(partially)

The claims in so far as they relate to the epitope comprising Tau 15-20, pY18.

2-5. claims: 1-18, 20-35, 37-49, 51-78, 81-88, 91-114(all partially)

The claims in so far as they relate to the epitopes comprising residue pS409, pT212+pS214, pS396, pS404, respectively.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2011/067604

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2008050383 A1	28-02-2008	US 2008050383 A1	28-02-2008
		US 2011318358 A1	29-12-2011
WO 2010106127 A2	23-09-2010	AU 2010224824 A1	22-09-2011
		CA 2755683 A1	23-09-2010
		EP 2408807 A2	25-01-2012
		KR 20120004994 A	13-01-2012
		SG 174871 A1	28-11-2011
		US 2010285108 A1	11-11-2010
		WO 2010106127 A2	23-09-2010
WO 2010115843 A2	14-10-2010	AU 2010233856 A1	27-10-2011
		CA 2757345 A1	14-10-2010
		CO 6390113 A2	29-02-2012
		CR 20110509 A	09-02-2012
		EP 2413957 A2	08-02-2012
		SG 175037 A1	28-11-2011
		WO 2010115843 A2	14-10-2010
US 2005221391 A1	06-10-2005	NONE	
US 2002086009 A1	04-07-2002	US 2002086009 A1	04-07-2002
		WO 9734145 A1	18-09-1997
WO 9822120 A1	28-05-1998	AU 5508798 A	10-06-1998
		WO 9822120 A1	28-05-1998
EP 2210901 A1	28-07-2010	AU 2008312802 A1	23-04-2009
		CA 2702880 A1	23-04-2009
		CN 101965365 A	02-02-2011
		EP 2210901 A1	28-07-2010
		KR 20100115340 A	27-10-2010
		US 2010260783 A1	14-10-2010
		WO 2009051220 A1	23-04-2009
WO 2010144711 A2	16-12-2010	CA 2765099 A1	16-12-2010
		EP 2440234 A2	18-04-2012
		US 2010316564 A1	16-12-2010
		WO 2010144711 A2	16-12-2010
WO 2011013034 A1	03-02-2011	AR 078085 A1	12-10-2011
		AU 2010277254 A1	09-02-2012
		CA 2768346 A1	03-02-2011
		TW 201106968 A	01-03-2011
		US 2011177109 A1	21-07-2011
		WO 2011013034 A1	03-02-2011
US 2008220449 A1	11-09-2008	US 2008220449 A1	11-09-2008
		WO 2008140639 A2	20-11-2008

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ　38/00	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ　37/02		４Ｃ０８６
Ａ６１Ｋ　39/395	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ　39/395	Ｄ	４Ｈ０４５
Ａ６１Ｋ　48/00	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ　39/395	Ｎ	
Ａ６１Ｋ　31/7088	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ　48/00		
Ａ６１Ｐ　25/00	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ　31/7088		
Ａ６１Ｐ　25/28	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ　25/00		
Ａ６１Ｐ　21/02	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ　25/28		
Ａ６１Ｐ　25/16	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ　21/02		
Ｇ０１Ｎ　33/53	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ　25/16		
		Ｇ０１Ｎ　33/53	Ｄ	

(81)指定国　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,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,QA,RO,RS,RU,RW,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN

（特許庁注：以下のものは登録商標）
１．テフロン

(74)代理人　100101199
弁理士　小林　義教
(72)発明者　ファイファー，　アンドレア
スイス国　ツェーハー－１８０６　サン－レジエ，　ルート　ドゥ　フニル　１６アー
(72)発明者　ムース，　アンドレアス
スイス国　ツェーハー－１００９　ピュリー，　アベニュー　デ　セリジエ　３９ベー
(72)発明者　ヴァン　ルーヴェン，　フレッド
ベルギー国　ベー－３２１０　リンデン，　ヘルトゲンラーン　１８
(72)発明者　ピルグレン，　マリア
スイス国　ツェーハー－１０５２　モン－シュル－ローザンヌ，　シュマン　デュ　テサン　６ベー
(72)発明者　アドルフソン，　オスカル
スイス国　ツェーハー－１０３８　ベルシェ，　シュマン　ドゥ　ラリー　１６

Ｆターム(参考)　4B024 AA01 BA44 BA61 CA01 GA11 HA01 HA17
4B064 AG26 AG27 BJ12 CA10 CA20 CC24 DA01 DA13
4B065 AA90Y AA93X AB04 AC14 BA08 CA24 CA25 CA45
4C084 AA01 AA02 AA13 BA01 BA21 CA28 NA14 ZA011 ZA021 ZA151 ZA161 ZA941
4C085 AA13 AA14 AA16 BB11 EE01
4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 NA14 ZA01 ZA02 ZA15 ZA16 ZA94
4H045 AA11 AA20 AA30 BA41 CA45 DA75 DA76 DA86 EA21 EA31 FA74

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2014502141A5	公开(公告)日	2016-06-23
申请号	JP2013532226	申请日	2011-10-07
[标]申请(专利权)人(译)	应用细胞μ利SA下跌 香取慎柯统一威赛引用了真正埃因霍温		
申请(专利权)人(译)	应用细胞免疫ES呃. Katorike统一威赛施塌忒鲁汶		
[标]发明人	ファイファーアンドレア ムースアンドレアス ヴァンルーヴェンフレッド ピルグレンマリア アドルフソンオスカル		
发明人	ファイファー, アンドレア ムース, アンドレアス ヴァン ルーヴェン, フレッド ピルグレン, マリア アドルフソン, オスカル		
IPC分类号	C12N15/09 C07K16/18 C07K14/47 C12N5/10 C12P21/02 A61K38/00 A61K39/395 A61K48/00 A61K31/7088 A61P25/00 A61P25/28 A61P21/02 A61P25/16 G01N33/53		
CPC分类号	A61K39/0005 A61K2039/505 A61P21/02 A61P25/00 A61P25/16 A61P25/28 C07K16/18 C07K2317/34 C07K2317/76 G01N33/6896 G01N2800/2821 C07K2317/56 C07K2317/565 C07K2317/92 G01N2800/52		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C07K16/18 C07K14/47 C12N5/00.102 C12P21/02.C A61K37/02 A61K39/395.D A61K39/395.N A61K48/00 A61K31/7088 A61P25/00 A61P25/28 A61P21/02 A61P25/16 G01N33/53.D		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/BA44 4B024/BA61 4B024/CA01 4B024/GA11 4B024/HA01 4B024/HA17 4B064/AG26 4B064/AG27 4B064/BJ12 4B064/CA10 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA90Y 4B065/AA93X 4B065/AB04 4B065/AC14 4B065/BA08 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA45 4C084/AA01 4C084/AA02 4C084/AA13 4C084/BA01 4C084/BA21 4C084/CA28 4C084/NA14 4C084/ZA011 4C084/ZA021 4C084/ZA151 4C084/ZA161 4C084/ZA941 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA16 4C085/BB11 4C085/EE01 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/NA14 4C086/ZA01 4C086/ZA02 4C086/ZA15 4C086/ZA16 4C086/ZA94 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA41 4H045/CA45 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA21 4H045/EA31 4H045/FA74		
优先权	2011174248 2011-07-15 EP 2010186810 2010-10-07 EP		
其他公开文献	JP2014502141A JP6371526B2		

摘要(译)

本发明涉及用于治疗和诊断用于治疗由神经原纤维缠结引起或与神经原纤维缠结有关的疾病和病症的方法和组合物。特别地，本发明涉及特异性识别并结合磷酸化病理性蛋白质tau构象异构体的抗体，以及涉及所述抗体的方法和组合物，其用于治疗包括阿尔茨海默氏病（AD）在内的τ蛋白病的治疗和诊断用途。