(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2014-523742
(P2014-523742A)
(43)公表日　平成26年9月18日(2014.9.18)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	A	4B024
C07K 16/18	(2006.01)	C07K	16/18	ZNA	4B064
C12N 15/02	(2006.01)	C12N	15/00	C	4B065
C07K 19/00	(2006.01)	C07K	19/00		4C085
C12N 5/10	(2006.01)	C12N	5/00	102	4H045

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 81 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2014-519581 (P2014-519581)
(86)(22)出願日　平成24年7月16日 (2012.7.16)
(85)翻訳文提出日　平成26年3月14日 (2014.3.14)
(86)国際出願番号　PCT/EP2012/063924
(87)国際公開番号　WO2013/007839
(87)国際公開日　平成25年1月17日 (2013.1.17)
(31)優先権主張番号　1112056.5
(32)優先日　平成23年7月14日 (2011.7.14)
(33)優先権主張国　英国(GB)

(71)出願人　514013428
カソリック　ウニヴェルシテイト　ルーヴェン
ベルギー　ベー－３０００　ルーヴェン　ワーイストラート　６－ボックス　５１０５　カーユー　ルーヴェン　リサーチ　アンド　デベロップメント
(74)代理人　100092093
弁理士　辻居　幸一
(74)代理人　100082005
弁理士　熊倉　禎男
(74)代理人　100084663
弁理士　箱田　篤
(74)代理人　100093300
弁理士　浅井　賢治

最終頁に続く

(54)【発明の名称】リン酸化タウ凝集体に対する抗体

(57)【要約】
本発明は、オリゴマー形態のタウタンパク質のための親和性ツールに関する。本発明は、神経変性の分野、より具体的には、タウ関連疾患及びタウオパチーの分野に関する。本発明は、新規のタウ抗体及び抗体断片、そのような抗体及び抗体断片をコードする核酸、そのような抗体及び抗体断片を産生する細胞株、抗体組成物、並びに凝集タウの検出のための及び凝集タウを伴う疾患の診断のためのキットを提供する。本発明は更に、凝集タウの検出のための、凝集タウを伴う疾患の診断のための、並びにタウ凝集体の形成及び／又は安定性を妨げる組成物の同定のための方法を提供する。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
リン酸化タウ凝集体に結合することを特徴とする、単離されたタウ抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片。
【請求項２】
軽鎖可変領域が、ＣＤＲ１領域中に配列番号９に記載のアミノ酸配列を、ＣＤＲ２領域中に配列番号１０に記載のアミノ酸配列を、及びＣＤＲ３領域中に配列番号１１に記載のアミノ酸配列を更に含み；かつ重鎖可変領域が、ＣＤＲ１領域中に配列番号１２に記載のアミノ酸配列を、ＣＤＲ２領域中に配列番号１３に記載のアミノ酸配列を、及びＣＤＲ３領域中に配列番号１４に記載のアミノ酸配列を含む、請求項１に記載の抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片。
【請求項３】
配列番号１２～配列番号１４及び配列番号９～配列番号１１からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号９～配列番号１１及び配列番号１２～配列番号１４からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つの相補性決定領域（ＣＤＲ）を含むことを更に特徴とする、請求項１に記載の抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片。
【請求項４】
配列番号１２～配列番号１４及び配列番号９～配列番号１１からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号９～配列番号１１及び配列番号１２～配列番号１４からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つの相補性決定領域（ＣＤＲ）を含むことを更に特徴とする、請求項１に記載の抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片。
【請求項５】
配列番号１５、１６、１７、及び１８からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１５、１６、１７、及び１８からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つの可変ドメインを含むことを更に特徴とする、請求項１に記載の抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片。
【請求項６】
配列番号１５、１６、１７、及び１８からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つの可変ドメインを含むことを更に特徴とする、請求項１に記載の抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片。
【請求項７】
配列番号１５、１６、１７、及び１８からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つの可変ドメインを含むことを更に特徴とする、請求項１に記載の抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片。
【請求項８】
配列番号１５及び１７からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１５及び１７からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つの重鎖可変ドメインを含むことを更に特徴とする、請求項１に記載の抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片。
【請求項９】
配列番号１６及び１８からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１６及び１８からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つの軽鎖可変ドメインを含むことを更に特徴とする、請求項１に記載の抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片。
【請求項１０】
配列番号１５及び１７からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１５及び１７からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つの重鎖可変ドメインを含むことを更に特徴とする、請求

項１に記載の抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片。
【請求項１１】
配列番号１６及び１８からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１６及び１８からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つの軽鎖可変ドメインを含むことを更に特徴とする、請求項１に記載の抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片。
【請求項１２】
モノクローナル抗体である、請求項１～１１のいずれか一項に記載の抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片。
【請求項１３】
マウスモノクローナルＩｇＧ１サブタイプである、請求項１～１１のいずれか一項に記載の抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片。
【請求項１４】
例えば、単鎖抗体、Ｆｖ”断片、Ｆａｂ断片（例えば、Ｆａｂ’断片もしくはＦ（ａｂ’）断片）、又は単一ドメイン抗体のヒト化抗体又はその断片である、請求項１～１１のいずれか一項に記載の抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片。
【請求項１５】
ヒト抗体又はその断片である、請求項１～１１のいずれか一項に記載の抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片。
【請求項１６】
リン酸化タウ凝集体に優先的に結合する、請求項１に記載のタウ抗体、抗体様スカフォード、又は抗体。
【請求項１７】
リン酸化タウ凝集体及び非リン酸化タウに結合する、請求項１に記載のタウ抗体、抗体様スカフォード、又は抗体。
【請求項１８】
－ブダペスト条約の下、ベルギー・コーディネイティッド・コレクションズ・オブ・マイクロオーガニズムズＢＣＣＭ（商標）／ＬＭＢＰコレクションに、番号ＬＭＢＰ　８３４７ＣＢの下で寄託されたハイブリドーマ細胞株ＡＤｘ２１０、及び
－ブダペスト条約の下、ベルギー・コーディネイティッド・コレクションズ・オブ・マイクロオーガニズムズＢＣＣＭ（商標）／ＬＭＢＰコレクションに、番号ＬＭＢＰ　８３４８ＣＢの下で寄託されたハイブリドーマ細胞株ＡＤｘ２１１、及び
－ブダペスト条約の下、ベルギー・コーディネイティッド・コレクションズ・オブ・マイクロオーガニズムズＢＣＣＭ（商標）／ＬＭＢＰコレクションに、番号ＬＭＢＰ　９６７９ＣＢの下で寄託されたハイブリドーマ細胞株ＡＤｘ２１５
からなる群から選択される細胞株によって分泌されることを更に特徴とする、請求項１に記載の抗体又は抗体断片。
【請求項１９】
ブダペスト条約の下、ベルギー・コーディネイティッド・コレクションズ・オブ・マイクロオーガニズムズＢＣＣＭ（商標）／ＬＭＢＰコレクションに、番号ＬＭＢＰ　８３４７ＣＢの下で寄託されたハイブリドーマ細胞株ＡＤｘ２１０によって分泌されることを更に特徴とする、請求項１に記載の抗体又は抗体断片。
【請求項２０】
ブダペスト条約の下、ベルギー・コーディネイティッド・コレクションズ・オブ・マイクロオーガニズムズＢＣＣＭ（商標）／ＬＭＢＰコレクションに、番号ＬＭＢＰ　８３４８ＣＢの下で寄託されたハイブリドーマ細胞株ＡＤｘ２１１によって分泌されることを更に特徴とする、請求項１に記載の抗体又は抗体断片。
【請求項２１】
ブダペスト条約の下、ベルギー・コーディネイティッド・コレクションズ・オブ・マイクロオーガニズムズＢＣＣＭ（商標）／ＬＭＢＰコレクションに、番号ＬＭＢＰ　９６７

９ＣＢの下で寄託されたハイブリドーマ細胞株ＡＤｘ２１５によって分泌されることを更に特徴とする、請求項１に記載の抗体又は抗体断片。

【請求項２２】

タンパク質形質導入ドメイン（ＰＴＤ）を更に含む、請求項１～２１のいずれか一項に記載のタウ抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片。

【請求項２３】

タンパク質送達系、例えば、細胞形質膜を横断して、タウ抗体、タウ抗体様スカフォード、又はタウ抗体断片を細胞内に送達するペプチド又はタンパク質モチーフを更に含む、請求項１～２１のいずれか一項に記載のタウ抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片。

【請求項２４】

該タウ抗体、タウ抗体様スカフォード、又はタウ抗体断片の細胞内への送達を媒介するタンパク質形質導入ドメイン（ＰＴＤ）を更に含む、請求項１～２１のいずれか一項に記載のタウ抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片。

【請求項２５】

タウ抗体、タウ抗体様スカフォード、又はタウ抗体断片と複合体化することができる、該タウ抗体、タウ抗体様スカフォード、又はタウ抗体断片の細胞内への送達を促進するための、キャリア試薬、例えば、脂質リポソームなどを更に含む、請求項１～２１のいずれか一項に記載のタウ抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片。

【請求項２６】

タウ抗体、タウ抗体様スカフォード、又はタウ抗体断片の細胞内への送達を促進し、それにより、該細胞をトランスフェクトするためのキャリア試薬を更に含み、例えば、キャリア試薬が、生体活性細胞膜透過試薬、又はタンパク質形質導入ドメイン（ＰＴＤ）（すなわち、約１５～約３０残基を含む単一ペプチド配列）を含有する他のペプチドであり、かつそのような膜形質導入ペプチドが、Ｔｒｏｊａｎペプチド、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）－１転写アクチベーター（ＴＡＴ）タンパク質又はその機能ドメインペプチド、並びに転移タンパク質、例えば、ショウジョウバエホメオティック転写因子アンテナペディア（Ａｎｔｐ）及び単純ヘルペスウイルスＤＮＡ結合タンパク質ＶＰ２２などに由来するタンパク質形質導入ドメイン（ＰＴＤ）を含有する他のペプチドからなる群のものである、請求項１～２１のいずれか一項に記載のタウ抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片。

【請求項２７】

タウ抗体、タウ抗体様スカフォード、又はタウ抗体断片の細胞内への送達を促進し、それにより、該細胞をトランスフェクトするためのキャリア試薬を更に含み、例えば、キャリア試薬が、生体活性細胞膜透過試薬、又はタンパク質形質導入ドメイン（ＰＴＤ）（すなわち、約１５～約３０残基を含む単一ペプチド配列）を含有する他のペプチドであり、かつそのような膜形質導入ペプチドが、ペネトラチン１、Ｐｅｐ－１（Ｃｈａｒｉｏｔ試薬、Ａｃｔｉｖｅ　Ｍｏｔｉｆ社、ＣＡ）、及びＨＩＶ　ＧＰ４１断片（５１９－５４１）からなる群のものである、請求項１～２１のいずれか一項に記載のタウ抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片。

【請求項２８】

該タウ抗体、タウ抗体様スカフォード、又はタウ抗体断片の細胞内への送達の効率を高めるためのヘルパー試薬を更に含み、例えば、そのようなヘルパー試薬が、ＤＥＡＥ－デキストラン、デキストラン、ポリリジン、ポリエチルアミン、ポリエチレングリコール、アクリルアミド、ＲＤＧペプチド、例えば、Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ａｓｐ－Ｓｅｒ（配列番号５２）、Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ａｓｐ－Ｓｅｒ－Ｐｒｏ－Ａｌａ－Ｓｅｒ－Ｓｅｒ－Ｌｙｓ－Ｐｒｏ（配列番号５３）、及びヒドロゲルとＲＤＧペプチドの混合物などである、請求項１～２１のいずれか一項に記載のタウ抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片。

【請求項２９】

請求項１～２１のいずれか一項に記載の抗体又は抗体断片をコードするポリヌクレオチドを含む単離された核酸。

【請求項３０】
請求項１～２１のいずれか一項に記載の抗体又は抗体断片を産生する単離された細胞株。
【請求項３１】
－ブダペスト条約の下、ベルギー・コーディネイティッド・コレクションズ・オブ・マイクロオーガニズムズＢＣＣＭ（商標）／ＬＭＢＰコレクションに、番号ＬＭＢＰ　８３４７ＣＢの下で寄託されたハイブリドーマ細胞株ＡＤｘ２１０、及び
－ブダペスト条約の下、ベルギー・コーディネイティッド・コレクションズ・オブ・マイクロオーガニズムズＢＣＣＭ（商標）／ＬＭＢＰコレクションに、番号ＬＭＢＰ　８３４８ＣＢの下で寄託されたハイブリドーマ細胞株ＡＤｘ２１１、及び
－ブダペスト条約の下、ベルギー・コーディネイティッド・コレクションズ・オブ・マイクロオーガニズムズＢＣＣＭ（商標）／ＬＭＢＰコレクションに、番号ＬＭＢＰ　９６７９ＣＢの下で寄託されたハイブリドーマ細胞株ＡＤｘ２１５
からなる群から選択される、請求項３０に記載の細胞株。
【請求項３２】
動物においてリン酸化タウ凝集体に対する免疫応答を誘導する方法であって、該動物に、ｐｈｏ８５Δ酵母株におけるタウの発現を含む方法によって得られるリン酸化タウ凝集体を投与することを含む、方法。
【請求項３３】
リン酸化タウ凝集体に優先的に結合するタウ特異的抗体又は抗体断片を得るための、請求項３２に記載の方法。
【請求項３４】
リン酸化タウ凝集体の検出における又はタウオパチーのインビトロ診断における請求項１～２１のいずれか一項に記載の抗体又は抗体断片の使用。
【請求項３５】
試料中のリン酸化タウ凝集体を検出するための又は対象におけるタウオパチーのインビトロ診断もしくはモニタリングのための方法であって、以下の工程：
－請求項１～２１のいずれか一項に記載の抗体又は抗体断片と試料とを抗原－抗体複合体を生成させるのに好適な条件下で接触させる工程、及び
－該抗原－抗体複合体の形成を検出する工程、
を含む、方法。
【請求項３６】
リン酸化タウ凝集体の検出のための又は対象におけるタウオパチーのインビトロ診断もしくはモニタリングのためのキットであって、請求項１～２１のいずれか一項に記載の抗体又は抗体断片を含む、キット。
【請求項３７】
初期のアルツハイマー認知症を、とりわけ、対象におけるその他のタイプの認知症と区別するためのキットであって、請求項１～２１のいずれか一項に記載の抗体又は抗体断片を含む、キット。
【請求項３８】
そのようなリン酸化タウ凝集体の形成又は安定性を妨げる組成物を同定するための、請求項１～２１のいずれか一項に記載の抗体又は抗体断片を含むキット。
【請求項３９】
リン酸化凝集タウの検出のための及び凝集タウを伴う疾患の診断のための、請求項１～２１のいずれか一項に記載の抗体又は抗体断片を含む、キット。
【請求項４０】
リン酸化タウ凝集体の形成又は安定性を妨げる組成物の同定のための方法であって、以下の工程：
－タウを、被検組成物の存在下で、リン酸化タウ凝集体の形成を可能にすることが知られている条件下でインキュベートする工程、又はリン酸化タウ凝集体を被検組成物の存在下

でインキュベートする工程、
－リン酸化タウ凝集体を請求項３５に記載の方法に従って検出する工程、
－前工程で検出されるリン酸化タウ凝集体の量を被検組成物の非存在下でのインキュベーション後に検出されるリン酸化タウ凝集体の量と比較する工程、
－前工程の比較から、該被検組成物がリン酸化タウ凝集体の形成又は安定性を妨げるかどうかを結論付ける工程、
を含むことを特徴とする方法。
【請求項４１】
疾患の治療で使用するための、請求項１～２１のいずれか一項に記載の抗体又は抗体断片。
【請求項４２】
疾患の治療で使用するための、例えば、ｐｈｏ８５Δ酵母株におけるタウの発現を含む方法によって得られる、リン酸化タウ凝集体。
【請求項４３】
請求項１～２８のいずれか一項に記載の抗体、抗体様断片、又は抗体断片を含む、タウオパチーの予防又は治療のための予防的又は治療的組成物。
【請求項４４】
リン酸化タウ凝集体、例えば、ｐｈｏ８５Δ酵母株におけるタウの発現を含む方法によって得られるものを含む、タウオパチーの予防又は治療のための予防的又は治療的組成物。
【請求項４５】
タウ関連疾患又はタウオパチーの治療で使用するための、請求項１～２８のいずれか一項に記載の抗体、抗体様断片、又は抗体断片を含む、タウオパチーの予防又は治療のための予防的又は治療的組成物。
【請求項４６】
請求項１～２１のいずれか一項に記載のそのような抗体、抗体様断片、又は抗体断片をコードする核酸。
【請求項４７】
タウタンパク質のエピトープを表すペプチドであって、該エピトープが、請求項１～２１のいずれか一項に記載の抗体によって認識される、ペプチド。
【請求項４８】
配列番号２７によって表される配列を含むか、該配列から本質的になるか、又は該配列からなる、請求項４７に記載のペプチド。
【請求項４９】
配列番号２９によって表される配列を含むか、該配列から本質的になるか、又は該配列からなる、請求項４７に記載のペプチド。
【請求項５０】
９～１９アミノ酸長である、請求項４７に記載のペプチド。
【請求項５１】
リン酸化タウ凝集体に結合する抗体によって特異的に認識される、配列番号２７又は２８によって表される配列からなる請求項４７に記載のペプチド。
【請求項５２】
抗体ＡＤｘ２１５によって特異的に認識される、配列番号２７又は２８によって表される配列からなる請求項４７に記載のペプチド。
【請求項５３】
配列番号２７又は配列番号２９によって表されるアミノ酸配列から本質的になるか、又は該アミノ酸配列からなるペプチドを含むキット。
【請求項５４】
前記ペプチドが、陽性対照、内部標準、キャリブレータ、又は定量目的のためのものである、請求項５３に記載のキット。

【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、オリゴマー形態のタウタンパク質のための親和性ツールに関する。本発明は、神経変性の分野、より具体的には、タウ関連疾患及びタウオパチーの分野に関する。本発明は、新規のタウ抗体及び抗体断片、そのような抗体及び抗体断片をコードする核酸、そのような抗体及び抗体断片を産生する細胞株、抗体組成物、並びに凝集タウの検出のための及び凝集タウを伴う疾患の診断のためのキットを提供する。本発明は更に、凝集タウの検出のための、凝集タウを伴う疾患の診断のための、並びにタウ凝集体の形成及び／又は安定性を妨げる組成物の同定のための方法を提供する。
【背景技術】
【０００２】
アルツハイマー認知症（ＡＤ）は、６５歳までの人口の約２～５％及び８５歳までの３５％超を冒す、最も一般的な神経変性障害である。この疾患は、全認知症症例の７５％超を含む。世界中で推定１８００万人のＡＤ患者が存在しており、この数は、次の２０年で２倍になると予想されている。治療法の他に、早期かつ客観的な診断が依然として主な臨床問題となっている。ＡＤの診断は、アミロイド斑として知られるβ－アミロイド（Ａβ）ペプチドの細胞外沈着、並びに対らせん状線維（ＰＨＦ）及び神経原線維のもつれ（ＮＦＴ）の形態の過剰リン酸化タンパク質タウの細胞内凝集体の存在についての脳の死後病理解析によって初めて、決定的かつ確定的となる。臨床検査及び認識力テストに基づいて、診断は、軽度認知機能障害（ＭＣＩ）からＡＤの可能性及びＡＤの高い可能性へと進展する。後期には、熟練した臨床医が、８０～８５％の確実性でしかＡＤを診断することができず、多数の偽陽性及び偽陰性症例が残る。従って、早期かつ正確な診断が適切かつ有効な治療を可能にするので、これが緊急に必要とされている。そのような治療はまだ利用可能でないが、それは、一つには、実験薬を、脳が不可逆的損傷に悩まされる前の初期のＡＤで試験しなければならないという事実のためである（Ｔａｒｄｉｔｉ ｅｔ ａｌ．，２００９）。ＭＲＩ又はＰＥＴなどの脳のイメージングに基づく診断は、過去１０年間で非常に向上したが、それでもやはり、これらの診断システムも後期のＡＤでしか正確ではなく、従って、初期のＡＤ症例の認識に有用ではない（ｖａｎ Ｂｅｒｃｋｅｌ ａｎｄ Ｓｃｈｅｌｔｅｎｓ，２００７）。そのため、血漿又は脳脊髄液（ＣＳＦ）などの体液中での客観的鑑別測定を可能にし得るバイオマーカーの探索に多大な努力が注がれている。
【０００３】
後者について、Ｉｎｎｏｇｅｎｅｔｉｃｓ ＮＶ（ＩＮＮＸ）により、それぞれ、ＥＬＩＳＡキットＩＮＮＯＴＥＳＴ（登録商標）ｈタウ、ＩＮＮＯＴＥＳＴ（登録商標）ホスホ－タウ（Ｐ－Ｔｈｒ１８１）、及びＩＮＮＯＴＥＳＴ（登録商標）β－アミロイド（１－４２）の形態の全タウタンパク質、リン酸化タウタンパク質、及びアミロイドペプチドＡβ４２、並びにマルチパラメトリック免疫検査ＩＮＮＯ－ＢＩＡ ＡｌｚＢｉｏ３の測定に基づく臨床診療用の診断キットが提供されている。これらのキットは、ＣＳＦ測定に基づいてＡＤ患者を健常者と区別することに関しては、最大８３％の精度で満足の行く結果を与える。しかしながら、それらは、特に初期のＡＤをその他のタイプの認知症と区別するか、又は血漿試料中のバイオマーカーを測定することに関しては、不十分である。
【０００４】
今日まで、ＡＤに利用可能な有効な治療剤はなく、現在の治療は、コリンエステラーゼ阻害剤レミニール（登録商標）又はＮＭＤＡ拮抗薬メマンチン（登録商標）などの、症状を一時的に抑制する薬物の投与に限られている。治療的介入のために、過去１０年間の研究は、主に、Ａβ沈着の予防又は除去に焦点を合わせていた。しかしながら、ますます多くのデータにより、これが最良のアプローチではない可能性があることが示されている。Ａβ斑病変とＡＤの臨床的進行との相関が乏しいだけでなく、いくつかの報告により、トランスジェニック（Ｔｇ）マウス及びＡＤ患者の脳におけるＡβ沈着を免疫学的に除去し

たときに顕著な臨床的利益がないことも示された（Ｗｅｉｎｅｒ ａｎｄ Ｆｒｅｎｋｅｌ，２００６；Ｊｏｓｅｐｈｓ ｅｔ ａｌ．，２００８；Ｔａｒａｗｎｅｈ ａｎｄ Ｈｏｌｔｚｍａｎ，２００９）。対照的に、ＡＤ脳における対らせん状線維（ＰＨＦ又はＰＨＦタウ）及び神経原線維のもつれ（ＮＦＴ）の蓄積は疾患進行と高度に相関し、それは、死後の組織病理検査によってＡＤの病期を判定するために、一般に使用されている（Ｂｒａａｋ ａｎｄ Ｂｒａａｋ，１９９１）。更に、遺伝学的な、又は免疫学的干渉による、Ｔｇマウスモデルにおけるタンパク質タウの抑制により、脳病変の減少と機能改善とがもたらされた（Ｓａｎｔａｃｒｕｚ ｅｔ ａｌ．，２００５；Ｏｄｄｏ ｅｔ ａｌ．，２００６；Ａｓｕｎｉ ｅｔ ａｌ．，２００７；Ｓｉｇｕｒｄｓｓｏｎ，２００８）。従って、タンパク質タウは、単独で、又は毒性のあるＡβペプチドの除去との組合せで、治療的介入の良好な標的となり得るように思われる。残念なことに、タンパク質タウにＰＨＦ及びＮＦＴを形成させる経路及び分子機構について限られた知識しかなく、配座異性体、オリゴマー、対らせん状線維（ＰＨＦ）、及び神経原線維のもつれ（ＮＦＴ）であり得る、実際の毒性のあるタウ作用因子の構造に関する深い洞察もない。

【０００５】

プリオン、シヌクレインなどの小さいタンパク質、並びに比較的少ない翻訳後修飾及び病理学的突然変異が疾患及びオリゴマー化と関連しているＡβなどのペプチドとは対照的に、微小管関連タンパク質タウは難解である。多くの異なる翻訳後修飾、選択的スプライシング、及び多くの異なる突然変異が、パーキンソン病から前頭側頭葉認知症を超えてアルツハイマー病に至るまでの幅広い疾患関連性を規定している。タンパク質タウの生化学及び病原性を調べるために、Ｔｇマウスの他、ハエ及び線虫並びに細胞株を含む、いくつかのモデル系が開発されている。

【０００６】

酵母は、その細胞生物学が、分子の観点から十分に説明されており、かつ特定のタンパク質の特定の分子形態を時宜にかなった形で発現させ、精製し、特徴付けるために使用することができる、十分に特徴付けられた単純な系である。最近、タウオパチーの重要な側面を再現する、いわゆるヒト化酵母モデルが開発された。これらの酵母モデルは、タウ（過剰）リン酸化、タウ立体構造変化、及びタウ自己凝集を示した。重要なことに、ＡＤ２（Ｐ－Ｓｅｒ３９６／Ｐ－Ｓｅｒ４０４）及びＰＧ５（Ｐ－Ｓｅｒ４０９）エピトープなどの、ヒトタウ上の主要な病原性ホスホ－エピトープの生成は、それぞれ、２つの最も重要な哺乳動物タウキナーゼ、すなわち、グリコーゲン合成酵素キナーゼ３β（ＧＳＫ－３β）及びサイクリン依存性キナーゼ５（ｃｄｋ５）の酵母オルソログである、Ｍｄｓ１及びＰｈｏ８５によって調節されることが分かった。それぞれ、ＭＤＳ１及びＰＨＯ８５欠失株での発現によるタンパク質タウのリン酸化状態の負又は正の調節により、過剰リン酸化が、立体構造依存的抗体ＭＣ１に対するタウの免疫反応性及びサルコシル不溶性タウの量と相関することを確認することが可能となった（Ｖａｎｄｅｂｒｏｅｋ ｅｔ ａｌ．，２００５）。タウの過剰リン酸化と、タウがその正常な生理機能を果たす、すなわち、微小管（ｍｉｃｒｏｔｕｂｕｌｉ）に結合し、それを安定化する能力との逆相関も示すことができた（Ｖａｎｄｅｂｒｏｅｋ ｅｔ ａｌ．，２００６）。

【０００７】

これらのヒト化酵母モデルで産生されるいくつかの臨床的タウ突然変異体の詳細な解析により、突然変異体タウ－Ｐ３０１Ｌ及びタウ－Ｒ４０６Ｗが、Ｓｅｒ４０９においてあまりリン酸化されていないこと、及びこれが、サルコシル不溶性画分の顕著により低いレベルと一致することが示され、ＰＧ５エピトープが、タウ凝集の重要な決定因子であることが示唆された。この知見は、合成的タウ－Ｓ４０９Ａ突然変異体が、それほど多くの量のサルコシル不溶性タウを産生しないのに対し、その偽リン酸化対応物のタウ－Ｓ４０９Ｅが、野生型タウよりも多く又はそれと同程度のサルコシル不溶性タウを生じさせるという観察により実証された。酸化ストレス及びミトコンドリア機能障害が、リン酸化状態とは無関係に、タウ不溶性を強く誘導することが更に示された（Ｖａｎｈｅｌｍｏｎｔ ｅｔ ａｌ．，２０１０）。

【０００８】
更に、ヒト化酵母株は、タンパク質タウの病態生理学におけるペプチジル－プロリルシス／トランスイソメラーゼＰｉｎ１の役割を更に解明することも可能にした。哺乳動物系で最近得られたデータに似て（Ｈａｍｄａｎｅ　ｅｔ　ａｌ．，２００６）、Ｐｉｎ１及びその酵母オルソログＥｓｓ１が、Ｔｈｒ２３１におけるタウのリン酸化を低下させ、かつＭＣ１により検出可能な病的なタウ立体構造のレベルを低下させることが分かった（Ｄｅ　Ｖｏｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ　Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ａｌｚｈｅｉｍｅｒ’ｓ　ＤｉｓｅａｓｅＶｏｌｕｍｅ　２０１１（２０１１），Ａｒｔｉｃｌｅ　ＩＤ　４２８９７０，１６ページ）。

【０００９】
病原性形態のタウを特異的に検出するために、いくつかの戦略が試みられている。（過剰）リン酸化タウの特異的検出は、開発された手法のうちの１つである。これらの抗体は、リン酸化状態のそのエピトープのみを認識する。（過剰）リン酸化タウに特異的な抗体の例は、Ｐ－Ｓｅｒ２０２／Ｐ－Ｓｅｒ２０５に特異的なＡＴ８（ＷＯ１９９３／００８３０２号）（Ｍｅｒｃｋｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，１９９２）、Ｐ－Ｔｈｒ２１２／Ｐ－Ｓｅｒ２１４に特異的なＡＴ１００（Ｚｈｅｎｇ－Ｆｉｓｃｈｈｏｆｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，１９９８）、Ｐ－Ｔｈｒ２３１／Ｐ－Ｓｅｒ２３５に特異的なＡＴ１８０（ＷＯ１９９５／０１７４２９号）、Ｐ－Ｔｈｒ１８１に特異的なＡＴ２７０（ＷＯ１９９５／０１７４２９号）、Ｐ－Ｓｅｒ３９６／Ｐ－Ｓｅｒ４０４に特異的なＡＤ２（Ｂｕｅｅ－Ｓｃｈｅｒｒｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，１９９６）、及びＰ－Ｓｅｒ４０９に特異的なＰＧ５（Ｊｉｃｈａ　ｅｔ　ａｌ．，１９９９）、Ｐ－Ｓｅｒ４２２に特異的な抗タウｐＳ４２２（ＷＯ２０１２／１４２４２３号）である。

【００１０】
代わりの手法は、病原性タウの立体構造エピトープを認識する抗体による病原性タウ種の検出である。そのような抗体の例は、その立体構造エピトープが、１つのタウ分子のＮ末端及び１以上の微小管結合リピートを包含するＡｌｚ５０（Ｃａｒｍｅｌ　ｅｔ　ａｌ．，１９９６）、並びにアミノ酸５－１５及び３１２－３２２を含む立体構造エピトープを有するＭＣ１（Ｊｉｃｈａ　ｅｔ　ａｌ．，１９９７）である。立体構造エピトープは、連続的であっても、そうでなくてもよいが、通常、それらは、例えば、ＳＤＳ－ＰＡＧＥでの変性によって破壊される。

【００１１】
また別の戦略は、特異的抗体によるプロセッシングされたタウの検出である。そのような抗体の例としては、Ｇｌｕ３９１で切断されたタウを認識するｍＡｂ　４２３（Ｎｏｖａｋ　ｅｔ　ａｌ．，１９９３）、及びＡＤ脳には存在するが、正常脳には存在しない、Ｎ末端とＣ末端の両方で切断されたタウに特異的に結合するＤＣ１１（Ｖｅｃｈｔｅｒｏｖａ　ｅｔ　ａｌ．，２００３）が挙げられる。

【００１２】
また更なる手法において、抗体が、タウ－リポソームワクチンに対して作製され、リン酸化タウペプチドに特異的に結合することが示された（ＷＯ２０１０／１１５８４３号及びＷＯ２０１２／０４５８８２号）。

【００１３】
Ａβの場合、オリゴマー及び／又は凝集体、例えば、プロトフィブリル凝集体（ＷＯ２００４／０２４０９０号；ＷＯ２００５／１２３７７５号；（Ｋａｙｅｄ　ｅｔ　ａｌ．，２０１０））、アミロスフェロイド（ＷＯ２００６／０１６６４４号）、二量体及び高次オリゴマーＡβ（ＷＯ２００７／０６２０８８号）、二量体（ＷＯ２００８／０８４４０２号）、オリゴマー及び原線維（ＷＯ２００７／０９６０７６号）、並びにＡβ由来拡散性リガンドと呼ばれる小さい可溶性オリゴマー（ＡＤＤＬ；ＷＯ２００３／１０４４３７号；ＷＯ２００６／０１４４７８号；ＷＯ２００６／０５５１７８号）を優先的に認識する抗体が開発されている。また、その凝集が、レヴィー小体として知られる神経細胞質内封入体において、パーキンソン病の顕著な特徴である、α－シヌクレインについて、オ

リゴマー形態を特異的に検出する抗体が開示されている（Ｅｍａｄｉ　ｅｔ　ａｌ．，２００７；Ｅｍａｄｉ　ｅｔ　ａｌ．，２００９）。

【００１４】

今日まで、タウ凝集に関する数年間に及ぶ研究にもかかわらず、凝集タウに優先的に結合する抗体は利用可能でない。本発明は、リン酸化タウ凝集体(phosphorylated tau aggregate)に優先的に結合するタウ抗体又は抗体断片、そのような抗体又は抗体断片を含む組成物、そのような抗体又は抗体断片をコードする核酸、並びにそのような抗体又は抗体断片を分泌する細胞株及びハイブリドーマを提供する。動物においてリン酸化タウ凝集体に対する免疫応答を誘導する方法、及び本発明の抗体又は抗体断片を得る方法も提供される。本発明は更に、凝集タウの検出のための、及びこれらの抗体又は抗体断片を用いたタウオパチーのインビトロ診断のための方法及びキットを提供する。そのようなタウ凝集体の形成又は安定性を妨げる組成物を同定する方法が更に提供される。本発明の抗体又は抗体断片を含む、タウオパチーの予防又は治療のための予防的又は治療的組成物も提供される。

【発明の概要】

【００１５】

本発明は、リン酸化タウ並びにリン酸化タウ凝集体及び／又はタウ断片を測定するための改良された方法及び／又はアッセイに関する。本発明は更に、リン酸化タウ及びリン酸化タウ凝集体をその身体部分において発現している又は発生させていることが確認された患者の治療に基づくある種の治療法に関する。本発明は、リン酸化タウ並びに／又はリン酸化タウ凝集体及び／もしくはタウ断片に結合するモノクローナル抗体、並びにそのようなモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマを提供する。本発明は、本発明のモノクローナル抗体に結合するエピトープも提供する。本発明のいくつかの実施形態をクレーム形式で以下に直接示す。

【００１６】

一実施形態（１）は、リン酸化タウ凝集体に結合することを特徴とする、単離されたタウ抗体、抗体様スカフォード(scaffold)、又は抗体断片に関する。

【００１７】

一実施形態（２）は、軽鎖可変領域が、ＣＤＲ１領域中に配列番号９に記載のアミノ酸配列を、ＣＤＲ２領域中に配列番号１０に記載のアミノ酸配列を、及びＣＤＲ３領域中に配列番号１１に記載のアミノ酸配列を更に含み；かつ重鎖可変領域が、ＣＤＲ１領域中に配列番号１２に記載のアミノ酸配列を、ＣＤＲ２領域中に配列番号１３に記載のアミノ酸配列を、及びＣＤＲ３領域中に配列番号１４に記載のアミノ酸配列を含む、実施形態１による抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片に関する。

【００１８】

一実施形態（３）は、配列番号１２～配列番号１４及び配列番号９～配列番号１１からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号９～配列番号１１及び配列番号１２～配列番号１４からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つの相補性決定領域（ＣＤＲ）を含むことを更に特徴とする、実施形態１による抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片に関する。

【００１９】

一実施形態（４）は、配列番号１２～配列番号１４及び配列番号９～配列番号１１からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号９～配列番号１１及び配列番号１２～配列番号１４からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つの相補性決定領域（ＣＤＲ）を含むことを更に特徴とする、実施形態１による抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片に関する。

【００２０】

一実施形態（５）は、配列番号１５、１６、１７、及び１８からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１５、１６、１７、及び１８からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つの

可変ドメインを含むことを更に特徴とする、実施形態１による抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片に関する。

【００２１】

一実施形態（６）は、配列番号１５、１６、１７、及び１８からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つの可変ドメインを含むことを更に特徴とする、実施形態１による抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片に関する。

【００２２】

一実施形態（７）は、配列番号１５、１６、１７、及び１８からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つの可変ドメインを含むことを更に特徴とする、実施形態１による抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片に関する。

【００２３】

一実施形態（８）は、配列番号１５及び１７からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１５及び１７からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つの重鎖可変ドメインを含むことを更に特徴とする、実施形態１による抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片に関する。

【００２４】

一実施形態（９）は、配列番号１６及び１８からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１６及び１８からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つの軽鎖可変ドメインを含むことを更に特徴とする、実施形態１による抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片に関する。

【００２５】

一実施形態（１０）は、配列番号１５及び１７からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１５及び１７からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つの重鎖可変ドメインを含むことを更に特徴とする、実施形態１による抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片に関する。

【００２６】

一実施形態（１１）は、配列番号１６及び１８からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１６及び１８からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つの軽鎖可変ドメインを含むことを更に特徴とする、実施形態１による抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片に関する。

【００２７】

一実施形態（１２）は、軽鎖可変領域が、ＣＤＲ１領域中に配列番号２２に記載のアミノ酸配列を、ＣＤＲ２領域中に配列番号２３に記載のアミノ酸配列を、及びＣＤＲ３領域中に配列番号２４に記載のアミノ酸配列を更に含み；かつ重鎖可変領域が、ＣＤＲ１領域中に配列番号１９に記載のアミノ酸配列を、ＣＤＲ２領域中に配列番号２０に記載のアミノ酸配列を、及びＣＤＲ３領域中に配列番号２１に記載のアミノ酸配列を含む、実施形態１による抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片に関する。

【００２８】

一実施形態（１３）は、配列番号１９～配列番号２１及び配列番号２２～配列番号２４からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１９～配列番号２１及び配列番号２２～配列番号２４からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも８０％もしくは９０％もしくは９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つの相補性決定領域（ＣＤＲ）を含むことを更に特徴とする、実施形態１による抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片に関する。

【００２９】

一実施形態（１４）は、配列番号２５及び配列番号２６からなる群から選択されるアミ

ノ酸配列、又は配列番号２５及び配列番号２６からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも８０％もしくは９０％もしくは９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つの可変ドメインを含むことを更に特徴とする、実施形態１による抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片に関する。

【００３０】

一実施形態（１５）は、モノクローナル抗体である、実施形態１～１４のいずれか１つによる抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片に関する。

【００３１】

一実施形態（１６）は、マウスモノクローナルＩｇＧ１サブタイプである、実施形態１～１４のいずれか１つによる抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片に関する。

【００３２】

一実施形態（１７）は、例えば、単鎖抗体、Ｆｖ”断片、Ｆａｂ断片（例えば、Ｆａｂ’断片もしくはＦ（ａｂ’）断片）、又は単一ドメイン抗体のヒト化抗体又はその断片である、実施形態１～１４のいずれか１つによる抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片に関する。

【００３３】

一実施形態（１８）は、ヒト抗体又はその断片である、実施形態１～１４のいずれか１つによる抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片に関する。

【００３４】

一実施形態（１９）は、リン酸化タウ凝集体に優先的に結合することを特徴とする、実施形態１による単離されたタウ抗体、抗体様スカフォード、又は抗体に関する。

【００３５】

一実施形態（２０）は、リン酸化タウ凝集体及び非リン酸化タウに結合することを特徴とする、実施形態１による単離されたタウ抗体、抗体様スカフォード、又は抗体に関する。

【００３６】

一実施形態（２１）は、

－ブダペスト条約の下、ベルギー・コーディネイティッド・コレクションズ・オブ・マイクロオーガニズムズＢＣＣＭ（商標）／ＬＭＢＰコレクションに、番号ＬＭＢＰ ８３４７ＣＢの下で寄託されたハイブリドーマ細胞株ＡＤｘ２１０（寄託者の名前：Ｄｒ Ｅｕｇｅｅｎ Ｖａｎｍｅｃｈｅｌｅｎ；寄託時（２０１１年４月７日）の寄託者の住所：Ｉｎｎｏｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｎ．Ｖ．，Ｉｎｄｕｓｔｒｉｅｐａｒｋ ７，ｂｏｘ ４，Ｂ－９０５２ Ｚｗｉｊｎａａｒｄｅ；寄託者の現住所：ＡＤｘ ＮｅｕｒｏＳｃｉｅｎｃｅｓ，Ｉｎｄｕｓｔｒｉｅｐａｒｋ Ｚｗｉｊｎａａｒｄｅ ４，９０５２ Ｇｅｎｔ－Ｚｗｉｊｎａａｒｄｅ）、及び

－ブダペスト条約の下、ベルギー・コーディネイティッド・コレクションズ・オブ・マイクロオーガニズムズＢＣＣＭ（商標）／ＬＭＢＰコレクションに、番号ＬＭＢＰ ８３４８ＣＢの下で寄託されたハイブリドーマ細胞株ＡＤｘ２１１（寄託者の名前：Ｄｒ Ｅｕｇｅｅｎ Ｖａｎｍｅｃｈｅｌｅｎ；寄託時（２０１１年４月７日）の寄託者の住所：Ｉｎｎｏｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｎ．Ｖ．，Ｉｎｄｕｓｔｒｉｅｐａｒｋ ７，ｂｏｘ ４，Ｂ－９０５２ Ｚｗｉｊｎａａｒｄｅ；寄託者の現住所：ＡＤｘ ＮｅｕｒｏＳｃｉｅｎｃｅｓ，Ｉｎｄｕｓｔｒｉｅｐａｒｋ Ｚｗｉｊｎａａｒｄｅ ４，９０５２ Ｇｅｎｔ－Ｚｗｉｊｎａａｒｄｅ）、及び

－ブダペスト条約の下、ベルギー・コーディネイティッド・コレクションズ・オブ・マイクロオーガニズムズＢＣＣＭ（商標）／ＬＭＢＰコレクションに、番号ＬＭＢＰ ９６７９ＣＢの下で寄託されたハイブリドーマ細胞株ＡＤｘ２１５

からなる群から選択される細胞株によって分泌されることを更に特徴とする、実施形態１の抗体又は抗体断片に関する。

【００３７】

一実施形態（２２）は、ブダペスト条約の下、ベルギー・コーディネイティッド・コレ

クションズ・オブ・マイクロオーガニズムズＢＣＣＭ（商標）／ＬＭＢＰコレクションに、番号ＬＭＢＰ　８３４７ＣＢの下で寄託されたハイブリドーマ細胞株ＡＤｘ２１０によって分泌されることを更に特徴とする、実施形態１～１９のいずれか１つによる抗体又は抗体断片に関する。

【００３８】

一実施形態（２３）は、ブダペスト条約の下、ベルギー・コーディネイティッド・コレクションズ・オブ・マイクロオーガニズムズＢＣＣＭ（商標）／ＬＭＢＰコレクションに、番号ＬＭＢＰ　８３４８ＣＢの下で寄託されたハイブリドーマ細胞株ＡＤｘ２１１によって分泌されることを更に特徴とする、実施形態１～１９による抗体又は抗体断片に関する。

【００３９】

一実施形態（２４）は、ブダペスト条約の下、ベルギー・コーディネイティッド・コレクションズ・オブ・マイクロオーガニズムズＢＣＣＭ（商標）／ＬＭＢＰコレクションに、番号ＬＭＢＰ　９６７９ＣＢの下で寄託されたハイブリドーマ細胞株ＡＤｘ２１５によって分泌されることを更に特徴とする、実施形態１２～１８及び２０による抗体又は抗体断片に関する。

【００４０】

一実施形態（２５）は、タンパク質形質導入ドメイン（ＰＴＤ）を更に含む、先の実施形態１～２４のいずれか１つによるタウ抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片に関する。

【００４１】

一実施形態（２６）は、タンパク質送達系、例えば、細胞形質膜を横断して、タウ抗体、タウ抗体様スカフォード、又はタウ抗体断片を細胞内に送達するペプチド又はタンパク質モチーフを更に含む、先の実施形態１～２４のいずれか１つによるタウ抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片に関する。

【００４２】

一実施形態（２７）は、該タウ抗体、タウ抗体様スカフォード、又はタウ抗体断片の細胞内への送達を媒介するタンパク質形質導入ドメイン（ＰＴＤ）を更に含む、先の実施形態１～２４のいずれか１つによるタウ抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片に関する。

【００４３】

一実施形態（２８）は、タウ抗体、タウ抗体様スカフォード、又はタウ抗体断片と複合体化することができる、該タウ抗体、タウ抗体様スカフォード、又はタウ抗体断片の細胞内への送達を促進するための、キャリア試薬、例えば、脂質リポソームなどを更に含む、先の実施形態１～２４のいずれか１つによるタウ抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片に関する。

【００４４】

一実施形態（２９）は、タウ抗体、タウ抗体様スカフォード、又はタウ抗体断片の細胞内への送達を促進し、それにより、該細胞をトランスフェクトするためのキャリア試薬を更に含み、例えば、キャリア試薬が、生体活性細胞膜透過試薬、又はタンパク質形質導入ドメイン（ＰＴＤ）（すなわち、約１５～約３０残基を含む単一ペプチド配列）を含有する他のペプチドであり、かつそのような膜形質導入ペプチドが、Ｔｒｏｊａｎペプチド、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）－１転写アクチベーター（ＴＡＴ）タンパク質又はその機能ドメインペプチド、並びに転移タンパク質、例えば、ショウジョウバエホメオティック転写因子アンテナペディア（Ａｎｔｐ）及び単純ヘルペスウイルスＤＮＡ結合タンパク質ＶＰ２２などに由来するタンパク質形質導入ドメイン（ＰＴＤ）を含有する他のペプチドからなる群のものである、先の実施形態１～２４のいずれか１つによるタウ抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片に関する。

【００４５】

一実施形態（３０）は、タウ抗体、タウ抗体様スカフォード、又はタウ抗体断片の細胞

内への送達を促進し、それにより、該細胞をトランスフェクトするためのキャリア試薬を更に含み、例えば、キャリア試薬が、生体活性細胞膜透過試薬、又はタンパク質形質導入ドメイン（ＰＴＤ）（すなわち、約１５～約３０残基を含む単一ペプチド配列）を含有する他のペプチドであり、かつそのような膜形質導入ペプチドが、ペネトラチン１、Ｐｅｐ－１（Ｃｈａｒｉｏｔ試薬、Ａｃｔｉｖｅ　Ｍｏｔｉｆ社、ＣＡ）、及びＨＩＶ　ＧＰ４１断片（５１９－５４１）からなる群のものである、先の実施形態１～２４のいずれか１つによるタウ抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片に関する。

【００４６】

一実施形態（３１）は、該タウ抗体、タウ抗体様スカフォード、又はタウ抗体断片の細胞内への送達の効率を高めるためのヘルパー試薬を更に含み、例えば、そのようなヘルパー試薬が、ＤＥＡＥ－デキストラン、デキストラン、ポリリジン、ポリエチルアミン、ポリエチレングリコール、アクリルアミド、ＲＤＧペプチド、例えば、Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ａｓｐ－Ｓｅｒ（配列番号５２）、Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ａｓｐ－Ｓｅｒ－Ｐｒｏ－Ａｌａ－Ｓｅｒ－Ｓｅｒ－Ｌｙｓ－Ｐｒｏ（配列番号５３）、及びヒドロゲルとＲＤＧペプチドの混合物などである、先の実施形態１～２４のいずれか１つによるタウ抗体、抗体様スカフォード、又は抗体断片に関する。

【００４７】

一実施形態（３２）は、実施形態１～２４のいずれか１つによる抗体又は抗体断片をコードするポリヌクレオチドを含む単離された核酸に関する。

【００４８】

一実施形態（３３）は、実施形態１～２４のいずれか一項による抗体又は抗体断片を産生する単離された細胞株に関する。

【００４９】

一実施形態（３４）は、

－ブダペスト条約の下、ベルギー・コーディネイティッド・コレクションズ・オブ・マイクロオーガニズムズＢＣＣＭ（商標）／ＬＭＢＰコレクションに、番号ＬＭＢＰ　８３４７ＣＢの下で寄託されたハイブリドーマ細胞株ＡＤｘ２１０、及び

－ブダペスト条約の下、ベルギー・コーディネイティッド・コレクションズ・オブ・マイクロオーガニズムズＢＣＣＭ（商標）／ＬＭＢＰコレクションに、番号ＬＭＢＰ　８３４８ＣＢの下で寄託されたハイブリドーマ細胞株ＡＤｘ２１１、及び

－ブダペスト条約の下、ベルギー・コーディネイティッド・コレクションズ・オブ・マイクロオーガニズムズＢＣＣＭ（商標）／ＬＭＢＰコレクションに、番号ＬＭＢＰ　９６７９ＣＢの下で寄託されたハイブリドーマ細胞株ＡＤｘ２１５

からなる群から選択される、実施形態３３の細胞株に関する。

【００５０】

一実施形態（３５）は、動物においてリン酸化タウ凝集体に対する免疫応答を誘導する方法であって、該動物に、ｐｈｏ８５Δ酵母株におけるタウの発現を含む方法によって得られるリン酸化タウ凝集体を投与することを含む、方法に関する。

【００５１】

一実施形態（３６）は、リン酸化タウ凝集体に結合するタウ特異的抗体又は抗体断片を得るための、実施形態３５による方法に関する。

【００５２】

一実施形態（３７）は、リン酸化タウ凝集体の検出における又はタウオパチーのインビトロ診断における実施形態１～２４のいずれか１つによる抗体又は抗体断片の使用に関する。

【００５３】

一実施形態（３８）は、試料中のリン酸化タウ凝集体を検出するための又は対象におけるタウオパチーのインビトロ診断もしくはモニタリングのための方法であって、以下の工程：

－実施形態１～２４のいずれか１つによる抗体又は抗体断片と試料とを抗原－抗体複合体

を生成させるのに好適な条件下で接触させる工程；及び
－該抗原－抗体複合体の形成を検出する工程
を含む、方法に関する。
【００５４】
一実施形態（３９）は、リン酸化タウ凝集体の検出のための又は対象におけるタウオパチーのインビトロ診断もしくはモニタリングのためのキットであって、実施形態１～２４のいずれか１つによる抗体又は抗体断片を含む、キットに関する。
【００５５】
一実施形態（４０）は、初期のアルツハイマー認知症を、とりわけ、対象におけるその他のタイプの認知症と区別するためのキットであって、実施形態１～２４のいずれか１つによる抗体又は抗体断片を含む、キットに関する。
【００５６】
一実施形態（４１）は、そのようなリン酸化タウ凝集体の形成又は安定性を妨げる組成物を同定するための、実施形態１～２４のいずれか１つによる抗体又は抗体断片を含む、キットに関する。
【００５７】
一実施形態（４２）は、リン酸化凝集タウの検出のための及びリン酸化凝集タウを伴う疾患の診断のための、実施形態１～２４のいずれか１つによる抗体又は抗体断片を含む、キットに関する。
【００５８】
一実施形態（４３）は、リン酸化タウ凝集体の形成又は安定性を妨げる組成物の同定のための方法であって、以下の工程：
－タウを、被検組成物の存在下で、リン酸化タウ凝集体の形成を可能にすることが知られている条件下でインキュベートする工程、又はリン酸化タウ凝集体を被検組成物の存在下でインキュベートする工程；
－リン酸化タウ凝集体を実施形態３８の方法に従って検出する工程；
－前工程で検出されるリン酸化タウ凝集体の量を被検組成物の非存在下でのインキュベーション後に検出されるリン酸化タウ凝集体の量と比較する工程；
－前工程の比較から、該被検組成物がリン酸化タウ凝集体の形成又は安定性を妨げるかどうかを結論付ける工程
を含む、方法に関する。
【００５９】
一実施形態（４４）は、疾患の治療で使用するための、実施形態１～２４のいずれか１つによる抗体又は抗体断片に関する。
【００６０】
一実施形態（４０）は、疾患の治療で使用するための、例えば、ｐｈｏ８５Δ酵母株におけるタウの発現を含む方法によって得られる、リン酸化タウ凝集体に関する。
【００６１】
一実施形態（４５）は、実施形態１～３１のいずれか１つによる抗体、抗体様断片、又は抗体断片を含む、タウオパチーの予防又は治療のための予防的又は治療的組成物に関する。
【００６２】
一実施形態（４６）は、リン酸化タウ凝集体、例えば、ｐｈｏ８５Δ酵母株におけるタウの発現を含む方法によって得られるものを含む、タウオパチーの予防又は治療のための予防的又は治療的組成物に関する。
【００６３】
一実施形態（４７）は、タウ関連疾患又はタウオパチーの治療で使用するための、実施形態１～３１のいずれか１つによる抗体、抗体様断片、又は抗体断片を含む、タウオパチーの予防又は治療のための予防的又は治療的組成物に関する。
【００６４】

一実施形態（４８）は、１～２４のいずれか一項によるそのような抗体、抗体様断片、又は抗体断片をコードする核酸に関する。

【００６５】

一実施形態（４９）は、タウタンパク質のエピトープを表すペプチドであって、該エピトープが、実施形態１～２４のいずれか１つによる抗体によって認識される、ペプチドに関する。

【００６６】

一実施形態（５０）は、配列番号２７によって表される配列を含むか、該配列から本質的になるか、又は該配列からなる、実施形態４９によるペプチドに関する。

【００６７】

一実施形態（５１）は、配列番号２９によって表される配列を含むか、該配列から本質的になるか、又は該配列からなる、実施形態４９によるペプチドに関する。

【００６８】

一実施形態（５２）は、９～１９アミノ酸長である、実施形態４９によるペプチドに関する。

【００６９】

一実施形態（５３）は、リン酸化タウ凝集体に結合する抗体によって特異的に認識される、配列番号２７又は２８によって表される配列からなる実施形態４９によるペプチドに関する。

【００７０】

一実施形態（５４）は、抗体ＡＤｘ２１５によって特異的に認識される、配列番号２７又は２８によって表される配列からなる実施形態４９によるペプチドに関する。

【図面の簡単な説明】

【００７１】

【図１】オリゴマータウの蓄積は、酵母の成長特性に依存的である。ＨＩＳ６－ＰＧ－ＴＥＶ－ｈＴａｕ（２Ｎ／４Ｒ）プラスミドで形質転換されたｐｈｏ８５Δ酵母株をＳＤ－ＵＲＡ培地に植菌した。様々なＯＤでの後続のサンプリングに続いて、タンパク質抽出及び非還元ＳＤＳ－ＰＡＧＥを行なった。タウをＡＤｘ２１５モノクローナル抗体で検出した。単量体タウ（～７５ｋＤａ）の他に、より大きい質量の二量体種及び高次オリゴマー種のタウを検出することができる。

【図２】本発明の抗タウｍＡｂのタウ凝集体に対する選択性及びリン酸化依存性。Ａ）表示された市販の汎タウ抗体Ｔａｕ－５及びＡＤｘ２１０　ｍＡｂを用いた、大腸菌から得られた組換えＨＩＳタグ化タウ並びに対照及びヒト化酵母株から得られたタンパク質抽出物のウェスタンブロット解析。カッコ内の数字は、露光時間を指す。黒い棒は、高分子質量かつオリゴマーのタウを指し、ＡＤｘ２１０の図中の小さい矢印は、推定上のタウ二量体を指す。Ｂ）表示された様々な時間間隔の後のエビアルカリホスファターゼ（ＳＡＰ）による処理の前及び後のｐｈｏ８５Δ株から得られた精製タウのウェスタンブロット解析。大腸菌から得られた組換えＨＩＳタグ化タウは、対照としての役割を果たす。新規のｍＡｂであるＡＤｘ２１５及びＡＤｘ２１０に加えて、汎タウ抗体Ｔａｕ－５、リン酸化特異的抗体ＡＴ２７０、及び非リン酸化タウを認識する抗体ＢＴ２を使用した。

【図３】トランスジェニックマウス及びヒトの脳の試料に対する新規のｍＡｂの解析。Ａ）対照マウス（ＦＶＢ）、ノックアウトマウス、及びヒトタウの臨床的突然変異体（Ｔａｕ－Ｐ３０１Ｌ）を発現するトランスジェニック（Ｔｇ）マウス由来の脳抽出物のウェスタンブロット解析。マウスの年齢はカッコ内に表示されている。第二のブロット上の矢印は、高分子質量タウ複合体を示す。使用された抗体は、ＡＤｘ２１５（ＹＴ１．１５）、ＡＤｘ２１０（ＹＴ１．１０）、及び市販のリン酸化特異的抗体ＡＴ１００である（ＡＤｘ２１０（ＹＴ１．１０）及びＡＴ１００については３０分間の露光時間、並びにＡＤｘ２１５（ＹＴ１．１５）については３０秒間の露光時間）。Ｂ）ＡＤｘ２０１（ＹＴ１．１）及びＡＤｘ２１５（ＹＴ１．１５）によって認識されるタウエピトープ配列。Ｃ）Ｍａｂ　ＡＤｘ２１５（ＹＴ１．１５）（露光時間２分）を用いた、健常者（非ＡＤ）及び

ＡＤ患者から得られた脳抽出物のウェスタンブロット解析。抽出物が調製された脳領域が表示されている。タウＴｇマウスＴａｕ２２の海馬及び皮質から得られた脳抽出物は、対照としての役割を果たした。矢印は、ＡＤ脳由来の試料中に存在する高分子質量タウ複合体を示す。Ｄ）ＡＤｘ２１５（ＹＴ１．１５）及びＡＤＸ２１０（ＹＴ１．１０）を免疫検出に用いた、Ｔａｕ－Ｐ３０１Ｌ　Ｔｇマウスの様々な領域の免疫組織化学的解析。
【図４】汎タウ抗体ＡＤｘ２０１及び抗体ＡＤｘ２１０を用いたＥＬＩＳＡにおけるｐｈｏ８５ｄ酵母由来の凝集タウの免疫検出。
【図５】モノクローナル抗体ＡＤｘ２１５のエピトープマッピング。Ａ）ウェスタンブロットの結果に基づく様々なタウコンストラクトと比べたエピトープの可視化。Ｂ）Ｐｅｐｓｃａｎ後にモノクローナル抗体ＡＤｘ２１５によって認識される最小エピトープ。
【図６】（図面のシート６／１１～１１／１１）：本明細書の全体を通して参照される配列番号１～配列番号２９の配列。
【発明を実施するための形態】
【００７２】
本発明は、一般に、リン酸化タウ、並びにリン酸化タウ及びリン酸化タウ凝集体に対する抗体に関する。本発明は、方法、アッセイ、キット、及び物質の組成物としてのものを含む、いくつかのやり方で実施することができる。一般に、開示された方法の工程の順序は、本発明の範囲内で変更することができる。実施形態は、１以上の例示的実施形態を示す添付の図面を参照して論じられる。実施形態は、多くの異なる形態で具体化されることができ、本明細書に示され、図面に示され、及び／又は以下に記載される実施形態に限定されるものと解釈されるべきではない。それどころか、これらの例示的実施形態は、特許請求の範囲に示されるような本発明の原理を当業者に伝達する完全な開示を可能にするために提供される。明確にするために、本発明に関する技術分野で公知である技術資料は、本発明が不必要に曖昧にならないように、詳細には記載されていない。別途表示又は定義されない限り、使用される用語は全て、当業者には明らかである、当技術分野におけるその通常の意味を有する。標準的な手引き書、例えば、（１９９４；Ｓａｍｂｒｏｏｋ　ａｎｄ　Ｒｕｓｓｅｌｌ，２００１；Ｄｅｌｖｅｓ　ｅｔ　ａｌ．，２００６；Ｋｒｅｂｓ　ｅｔ　ａｌ．，２００９）、及び本明細書に引用される一般的な背景技術を更に参照する。
【００７３】
本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用されるように、「１つの（ａ）」、「１つの（ａｎ）」、及び「その（ｔｈｅ）」の使用は、文脈からそうでないことが明らかに示されない限り、言及された複数の主題に対する言及を含む。従って、例えば、「タンパク質（ａ　ｐｒｏｔｅｉｎ）」に対する言及は、単一の触媒及び２種以上のタンパク質の組合せ又は混合物を含み、「抗原（ａｎ　ａｎｔｉｇｅｎ）」に対する言及は、異なる抗原の組合せ又は混合物及び単一の抗原を包含し、などである。
【００７４】
別の用語に従属する用語は、その用語が使用される文脈の範囲内で適切である場合、より広い用語に、又はより狭い特定の用語に包含されることができる。本発明を説明するために使用される用語は全て、文脈内で使用される。
【００７５】
本発明は、リン酸化タウ凝集体に優先的に結合することを特徴とする、単離されたタウ抗体及び抗体断片を提供する。本発明は、リン酸化タウ凝集体に結合するが、非リン酸化タウには結合しないことを特徴とする単離されたタウ抗体及び抗体断片を提供する。本発明はまた、リン酸化タウ凝集体及び非リン酸化タウに結合することを特徴とする単離されたタウ抗体及び抗体断片を提供する。本発明は更に、単離されたタウ抗体及び抗体断片によって認識されるエピトープを提供する。
【００７６】
本明細書で使用されるように、「タウ」、「タウタンパク質」、「タウアイソフォーム」、「タウ分子」、「タウ変異体」、「タウ突然変異体」、「タウホモログ」、及び「タ

ウアイソフォーム」は、翻訳後修飾が存在するかどうかを問わず、タウ遺伝子の少なくとも１つのエキソンによってコードされるポリペプチド又はタンパク質を示すために互換的に使用される。そのような遺伝子は、上述のタウタンパク質ファミリーのタンパク質及びその誘導体をコードすることができる。そのようなタンパク質は、繰り返される会合及び分解のサイクルの間に微小管と共精製される多くの数のタンパク質ファミリーの中の１つのファミリーとして特徴付けられており（Ｓｈｅｌａｎｓｋｉ　ｅｔ　ａｌ．，１９７３）、微小管関連タンパク質（ＭＡＰ）として知られている。タウファミリーは更に、このファミリーの全てのメンバーによって共有される特徴的なＮ末端セグメント、脳において発生的に調節されている、Ｎ末端セグメント中に挿入された～５０アミノ酸の配列、３１～３２アミノ酸の３つ又は４つのタンデムリピートからなる特徴的なタンデムリピート領域、及びＣ末端尾部の存在によって特徴付けられる。タウタンパク質は、一実施形態において、Ｇｏｅｄｅｒｔ　ｅｔ　ａｌ．，１９８９に記載されている配列を有する「Ｔ４０」のアミノ酸配列を含む実施形態で用いることができる。

【００７７】

「タウ遺伝子」、「タウ核酸」、「タウポリヌクレオチド」、「タウ遺伝子コンストラクト」、「タウ遺伝子変異体」、「タウ遺伝子ホモログ」という用語は互換的に使用され、タウ、タウアイソフォーム、タウ変異体、タウホモログ、タウ突然変異体、又はこれらの部分をコードする、一本鎖ＤＮＡ（ｓｓＤＮＡ）、相補的ＤＮＡ（ｃＤＮＡ）、合成ＤＮＡ、メッセンジャーＲＮＡを含むが、これらに限定されない、天然のタウ遺伝子、そのアレル変異体、そのホモログ、その突然変異した変異体、その転写物、その部分、又はその組換え誘導体を意味する。

【００７８】

タウは、ニューロンで合成される微小管関連タンパク質（ＭＡＰ）である。異なる生理的役割を有するタウの６つの主なアイソフォームは、選択的スプライシングによって単一の遺伝子から生じる（Ｇｏｅｄｅｒｔ　ｅｔ　ａｌ．，１９８９）。これらのアイソフォームは、エキソン２及び３によってコードされる０、１、又は２個のＮ末端挿入（それぞれ、０Ｎ、１Ｎ、及び２Ｎアイソフォームと表される）、並びにエキソン１０によってコードされる更に０又は１個の余分なＣ末端微小管結合ドメイン（それぞれ、３Ｒ及び４Ｒと表される）を含有することができる。従って、これらのアイソフォームは、０Ｎ／３Ｒ、０Ｎ／４Ｒ、１Ｎ／３Ｒ、１Ｎ／４Ｒ、２Ｎ／３Ｒ、及び２Ｎ／４Ｒと表される。例えば、本発明の一実施形態において、アイソフォームは、２０１１年６月２６日にアクセッション番号ＮＰ＿０５８５１９　ｗで寄託されたＮＣＢＩ参照配列：ＮＰ＿０５８５１９．３を有する微小管関連タンパク質タウアイソフォーム１［ホモ・サピエンス］（本出願中、配列番号１）である。例えば、本発明の別の実施形態において、アイソフォームは、２０１１年６月２６日付けで、アクセッション番号ＮＰ＿００５９０１　ＮＰ＿７７６０８８の下で寄託されたＮＣＢＩ参照配列：ＮＰ＿００５９０１．２を有する微小管関連タンパク質タウアイソフォーム２［ホモ・サピエンス］（本出願中、配列番号２）である。例えば、本発明の別の実施形態において、アイソフォームは、２０１１年６月２６日付けで、アクセッション番号ＮＰ＿０５８５１８、バージョンＮＰ＿０５８５１８．１　ＧＩ：８４００７１１で寄託されたＮＣＢＩ参照配列：ＮＰ＿０５８５１８．１を有する微小管関連タンパク質タウアイソフォーム３［ホモ・サピエンス］（本出願中、配列番号：３）である。例えば、本発明の別の実施形態において、アイソフォームは、２０１１年６月２６日付けで、アクセッション番号ＮＰ＿０５８５２５、バージョンＮＰ＿０５８５２５．１　ＧＩ：８４００７１５で寄託されたＮＣＢＩ参照配列：ＮＰ＿０５８５２５．１を有する微小管関連タンパク質タウアイソフォーム４［ホモ・サピエンス］（本出願中、配列番号４）である。例えば、本発明の別の実施形態において、アイソフォームは、２０１１年６月２６日付けで、アクセッション番号ＮＰ＿００１１１６５３９　バージョンＮＰ＿００１１１６５３９．１　ＧＩ：１７８５５７７３６で寄託されたＮＣＢＩ参照配列：ＮＰ＿００１１１６５３９．１を有する微小管関連タンパク質タウアイソフォーム５［ホモ・サピエンス］（本出願中の参照番号：５）である。例えば、本発明の別の実施形態に

おいて、アイソフォームは、２０１１年６月２６日付けで、アクセッション番号ＮＰ＿００１１１６５３８　バージョンＮＰ＿００１１１６５３８．２　ＧＩ：２９４８６２２５８で寄託されたＮＣＢＩ参照配列：ＮＰ＿００１１１６５３８．２を有する微小管関連タンパク質タウアイソフォーム６［ホモ・サピエンス］（本出願中、配列番号６）である。例えば、本発明の別の実施形態において、アイソフォームは、２０１１年６月２６日付けで、アクセッション番号ＮＰ＿００１１９０１８０　バージョンＮＰ＿００１１９０１８０．１　ＧＩ：３２２３０３７２０で寄託されたＮＣＢＩ参照配列：ＮＰ＿００１１９０１８０．１を有する微小管関連タンパク質タウアイソフォーム７［ホモ・サピエンス］（本出願中、配列番号７）である。例えば、本発明の別の実施形態において、アイソフォームは、２０１１年６月２６日付けで、アクセッション番号ＮＰ＿００１１９０１８１　バージョンＮＰ＿００１１９０１８１．１　ＧＩ：３２２３０３７４７で寄託されたＮＣＢＩ参照配列：ＮＰ＿００１１９０１８１．１を有する微小管関連タンパク質タウアイソフォーム８［ホモ・サピエンス］（本出願中、配列番号８）である。

【００７９】

タウの生理的機能はリン酸化によって更に調節される。最も長いアイソフォームであるタウ－２Ｎ／４Ｒは４４１アミノ酸長であり、８５個の推定リン酸化部位を有し、その大部分は、微小管結合ドメインの中及びその付近に位置する。タウオパチーでは、対らせん状線維（ＰＨＦ又はＰＨＦタウ）及び神経原線維のもつれ（ＮＦＴ）などのタウ凝集体のニューロン内沈着の形成をもたらす、タウの過剰リン酸化及び凝集が認められる（Ｍａｎｄｅｌｋｏｗ　ｅｔ　ａｌ．，２００３；Ｄｒｅｗｅｓ，２００４）。

【００８０】

本明細書で使用されるように、「リン酸化タウ」及び「ホスホ－タウ」は、少なくとも１つのアミノ酸がリン酸化されているタウタンパク質を表すために互換的に使用される。「過剰リン酸化タウ」とは、少なくとも２つのアミノ酸がリン酸化されているタウタンパク質を意味する。

【００８１】

「タウ凝集体」、「凝集タウ」、「タウオリゴマー」、「オリゴマータウ」、「オリゴマー形態のタウ」、及び「タウ配座異性体」は、「単量体タウ」及び「タウ単量体」とは対照的に、２以上のタウ分子を含むタンパク質構造を表すために互換的に使用される。従って、これらの用語は、限定されないが、タウの二量体、三量体、四量体、五量体、六量体、七量体、八量体、九量体（ｅｎｎｅａｍｅｒ）、十量体、十二量体、二十量体、三十量体、四十量体、又は高次オリゴマー及び多量体を含み、その非限定的な例は、粒状凝集体、ＰＨＦ、直線状フィラメント、及びＮＦＴである。タウ凝集体中の単量体は、上記のような、タウの任意の形態であることができる。タウ凝集体中の個々の単量体は、凝集体の全ての単量体が似ているという点において、均質であることができ、又は個々の凝集体が異なる形態のタウを含むという点において、不均質であり得る。タウ凝集体中の単量体は、互いに共有結合的に結合し得、或いは限定されないが、疎水性もしくは親水性相互作用、水素結合、塩架橋、又はファンデルワールス力を含む、弱い分子間力によって非共有結合的に結合することができる。凝集体の集団は、その集団内の全ての個々の凝集体が似ているという点において、均質であることができ、又はその集団内の個々の凝集体が他のものと異なり得るという点において、不均質であることができる。

【００８２】

「リン酸化タウ凝集体」とは、リン酸化タウの凝集体を意味する。

【００８３】

タウ凝集体は、可溶性又は不溶性であることができる。特定の実施形態において、リン酸化タウ凝集体は、可溶性である。「可溶性」とは、タウ凝集体が流体中で溶解することを意味する。「流体」という用語は、ＣＳＦ、血液、血漿、血清、尿などのような体液、当業者に公知であり、かつ限定されないが、生理的塩溶液を含む、生理的溶液を含み、緩衝剤、洗剤、界面活性剤、糖類、キレート剤、酵素阻害剤、還元剤、酸化剤などのような追加の薬剤を含むことができる。「不溶性」とは、タウ凝集体が流体から沈殿することを

意味する。

【００８４】

従って、タウ凝集体の溶解性は、生理的条件下で、又は例えば、サルコシル（同義語：Ｎ－ラウロイルサルコシンナトリウム塩及びＮ－ドデカノイル－Ｎ－メチルグリシンナトリウム塩）もしくはＳＤＳ（同義語：ラウリル硫酸ナトリウム塩）のような洗剤の存在下で決定することができる。当業者は、サルコシル含有流体中でのタウ凝集体の溶解性を決定するための、並びにサルコシル可溶性及びサルコシル不溶性タウ凝集体を単離するための既存のプロトコルを知っている。そのようなプロトコルの例は、実施例及び（Ｇｒｅｅｎｂｅｒｇ ａｎｄ Ｄａｖｉｅｓ，１９９０；Ｖａｎｄｅｂｒｏｅｋ ｅｔ ａｌ．，２００５）に見出される。

【００８５】

更に、タウ凝集体は、ＳＤＳ及び／又はβ－メルカプトエタノール（β－ＭＥ）のような還元剤の存在下で安定であることができ、或いはそれらは、より低次のオリゴマーもしくは単量体に分解することができ、並びに／又はＳＤＳ及び／もしくはβ－ＭＥの存在下で可溶化することができる。タウ凝集体の分解及び／又は可溶化は、還元剤の存在下又は非存在下、０．１～１０％の範囲、又はそれより多くのＳＤＳで起こることができる。好ましくは、それは、還元剤の存在下又は非存在下、０．１、０．２、０．４、０．６、０．８、１．０、１．２、１．５、２．０、２．５、３．０、４．０、５．０、７．５、１０％、又はそれより多くのＳＤＳで起こることができる。タウ凝集体の分解及び／又は可溶化は、ＳＤＳの存在下又は非存在下、０．１、０．２、０．４、０．６、０．８、１．０、１．２、１．５、２．０、２．５、３．０、４．０、５．０、７．５、１０ｍＭ、又はそれより多くの還元剤で起こることができる。タウ凝集体の分解及び／又は可溶化は、煮沸なしで又は煮沸後に起こることができる。

【００８６】

本発明の特定の実施形態において、リン酸化タウ凝集体は、ＰＨＯ８５遺伝子が欠失している酵母株（ｐｈｏ８５Δ株）におけるタウの産生によって得られる。リン酸化タウ凝集体は、産生酵母の全抽出物中で、又は精製後に使用することができる。リン酸化タウ凝集体の精製のためのあり得るプロトコルは、（Ｖａｎｄｅｂｒｏｅｋ ｅｔ ａｌ．，２００５）に記載されており、また更に、実施例に記載されている。より好ましい実施形態において、産生されるタウは、ヒトタウである。更により好ましい実施形態において、産生されるタウは、ヒトタウの２Ｎ／４Ｒアイソフォームである。

【００８７】

特定の実施形態において、リン酸化タウ凝集体は、電気泳動移動度によって推定される、単量体タウの分子質量よりも大きい見かけの分子質量を有する。より好ましい実施形態において、リン酸化タウ凝集体は、リン酸化タウの二量体及び／又は三量体を含む。更により好ましい実施形態において、タウは、ヒトタウの２Ｎ／４Ｒアイソフォームであり、リン酸化タウ凝集体は、７５ｋＤａよりも大きい、より好ましくは、８０、９０、１００、１１０、１２０、１３０、又は１４０ｋＤａよりも大きい見かけの分子質量を有する。

【００８８】

タウオパチーは、神経変性の場合はヒトの脳細胞における、及び２型糖尿病タウオパチーの場合はβ－細胞における、タウタンパク質の病的凝集に起因する変性疾患群である。最近、２型糖尿病（Ｔ２ＤＭ）とアルツハイマー病（ＡＤ）の同時発症が頻発することが、疫学的研究によって示された。β－細胞とニューロンの間には、極めて特異的な分子の厳しく制御された様式での必要に応じた分泌などの、機能的類似性がある。更なる類似性は、ＡＤ患者における過剰リン酸化タウの加齢に関連した変化である。同様に、Ｔ２ＤＭ患者のβ－細胞において変化が確認されている。島アミロイドポリペプチドは、β－細胞アポトーシスと関連付けられている。加齢の結果として、高度に修飾されたタンパク質の蓄積は、再生能の減少とともに、アポトーシスの割合の増加をもたらし得る。更に、β－細胞複製能力の低下は、哺乳動物におけるβ－細胞集団の減少をもたらし、耐糖能異常を同時に伴う。新しい課題は、加齢に関連したタンパク質修飾についてより一層多くのこと

を学ぶことである。これは、Ｔ２ＤＭ及びＡＤの発生率を低下させるための新しい治療戦略につながり得る（Ｍａｊ　ｅｔ　ａｌ．，２０１１）。最もよく知られているタウオパチーは、アルツハイマー病（ＡＤ）であり、この場合、タウタンパク質は、神経原線維のもつれ（ＮＦＴ）の形態でニューロン内に沈着している。神経原線維のもつれは、名祖アロイス・アルツハイマーにより、この障害に罹患した彼の患者の一人において最初に記載された。もつれは、タウとして知られる微小管関連タンパク質の過剰リン酸化により形成され、それを不溶性形態で凝集させる。もつれ形成の正確なメカニズムは完全には理解されておらず、もつれが、この疾患における主要な原因であるのか、それとも、より周辺的な役割を果たしているのかについては、今なお意見が分かれている。老人斑が存在するため、ＡＤは、アミロイドーシスにも分類される。ＡＤにおける過剰リン酸化タウタンパク質（ＰＨＦ）の凝集、又は「対らせん状線維」病変の度合いは、ブラークステージによって定義される。ブラークステージＩ及びＩＩは、ＮＦＴ病変が、主に脳の移行嗅内（ｔｒａｎｓｅｎｔｏｒｈｉｎａｌ）領域に限定されている場合に、ステージＩＩＩ及びＩＶは、海馬などの辺縁領域の病変もある場合に、Ｖ及びＶＩは、広範な新皮質病変がある場合に使用される。これは、異なる形で進行する老人斑病変の度合いと混同されるべきではない。神経原線維のもつれが一般に観察される他の疾病としては：ボクサー認知症（慢性外傷性脳症）、前頭側頭認知症、及び１７番染色体と連鎖するが、検出可能なβ－アミロイド斑を伴わないパーキンソニズム、リティコ・ボディング病（グアム島のパーキンソン認知症複合）、ＡＤと類似したＮＦＴを伴うが、斑は伴わず、超高齢者で見られる傾向にあるもつれ優位型認知症、神経節膠腫及び神経節細胞腫、髄膜血管腫症、亜急性硬化性汎脳炎、並びに鉛脳症、結節硬化症、ハレルフォルデン・スパッツ病、及びリポフスチン症が挙げられる。ピック病及び大脳皮質基底核変性症では、タウタンパク質は、腫脹した又は「膨脹した」ニューロン内に封入体の形態で沈着する。別のタイプの認知症である嗜銀性顆粒病（ＡＧＤ）は、脳組織の顕微鏡検査での大量の嗜銀性顆粒及びコイル体の存在を特徴とする。それをアルツハイマー病の一種と考える人もいる。それは、進行性核上まひ及び大脳皮質基底核変性症などの他のタウオパチーと共存することができる。いくつかの他のタウオパチーとしては：前頭側頭認知症、前頭側頭葉変性症が挙げられる。非アルツハイマー型タウオパチーは、「ピック複合」としてグループ化されることもある。

【００８９】

「抗体（ａｎｔｉｂｏｄｙ）」及び「抗体（ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ）」という用語は、当技術分野で認められており、抗原に結合する免疫グロブリンとしても知られるタンパク質を指す。これらの用語は、少なくとも２つの重鎖及び２つの軽鎖から構成される、ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ、ＩｇＭ、ＩｇＴ、ＩｇＸ、及びＩｇＹのような従来の脊椎動物抗体、並びに２つの重鎖からのみ構成される抗体（V_{HH}抗体、ＩｇＮＡＲ、重鎖抗体、単一ドメイン抗体、又はナノボディ）、及び単鎖抗体を包含することが理解されるべきである。従来の抗体の場合、抗原結合部位は、重鎖と軽鎖の両方の可変ドメイン（V_H及びV_L）によって寄与されている。「可変ドメイン」という用語は、部分的に又は完全に抗原結合に関与する抗体の部分又はドメインを指す。一般に、可変ドメインは、４つのフレームワーク領域（それぞれ、ＦＲ１～ＦＲ４）及び３つの相補性決定領域（それぞれ、ＣＤＲ１～ＣＤＲ３）から本質的になるアミノ酸配列、又は通常、これらのＣＤＲのうちの少なくとも１つを形成するアミノ酸残基の少なくとも一部を含有するそのようなアミノ酸配列の任意の好適な断片である。そのような可変ドメイン及び断片は、それらが、免疫グロブリンフォールドを含み、又は好適な条件の下で、免疫グロブリンフォールドを形成することができるようなものであることが最も好ましい。各々のＣＤＲは、多かれ少なかれ、抗体による抗原結合に寄与することができる。単一ドメイン抗体又は重鎖抗体は、ラクダ科動物及びサメに見出すことができ、これらの抗体の抗原結合部位の各々は、単一の重鎖可変ドメイン（V_{HH}）のみによって形成される。従って、３つのＣＤＲだけが、多かれ少なかれ、各々の抗原結合部位に寄与する。単鎖抗体（ｓｃＦｖ）は、柔軟なリンカーで分離されたV_HドメインとV_Lドメインを単一の抗原結合ドメインへと翻訳融合することにより、従来の抗体から誘導される。抗体のフレームワーク配列は、抗体の抗原特異性を改

変しないで、又は抗体の結合親和性を変化させるために、改変することができる。更に、従来の抗体は、抗原結合特性に実質的に影響を及ぼさないで、クラス又はアイソタイプをスイッチさせることができる。

【００９０】

「抗体断片」という用語により、それが由来する抗体の抗原結合能力を大部分保持する抗体の断片を意味する。従って、本発明のタウ特異的抗体断片は、リン酸化タウ凝集体に優先的に結合することができる。抗原結合能力は、１つ又は複数の可変ドメイン、より具体的には、従来の単鎖抗体の場合、V_H及び／又はV_Lドメインに位置する１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、又は６つのＣＤＲ、並びに単一ドメイン抗体の場合、１つ、２つ、又は３つのＣＤＲによって決定される。従って、本発明の好ましい抗体断片は、１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、又は６つのＣＤＲを含む抗原結合部位を含む。２つ以上のＣＤＲは、ＣＤＲにフレームワーク構造を提供する領域を接続することにより、互いに物理的に分離されることができる。本発明のより好ましい抗体断片は、１つ又は２つの可変ドメインを含む抗原結合部位を含む。抗体断片の例は、当業者に周知であり、一価抗原結合断片（Ｆａｂ）、二価Ｆ（ａｂ’）$_2$断片、Ｆｖ断片（例えば、単鎖抗体ｓｃＦｖ）、小型化抗体、ナノボディのような単一ドメイン抗体断片（Ｎｅｌｓｏｎ，２０１０）を含む。本発明の抗体断片は、酵素的もしくは化学的タンパク質分解によって、又は当業者に周知の組換えＤＮＡ技術の手法によって得ることができる。

【００９１】

本発明の抗体及び抗体断片を更に、他のタンパク質に化学的にコンジュゲートするか、非共有結合的に結合させるか、又は翻訳によって融合させることができる。単鎖抗体ｓｃＦｖは、V_HドメインとV_Lドメインの翻訳融合の一例である。更なる例は、アルブミンコンジュゲート抗体又は抗体断片、二価ダイアボディ、並びに単一特異性及び二重特異性タンデムｓｖＦｃ（Ｎｅｌｓｏｎ，２０１０）である。

【００９２】

本発明の抗体及び抗体断片を更に修飾することができる。そのような修飾の例としては、ストレプトアビジンなどの、検出において作用する検出可能な酵素、蛍光、発光、又は放射性マーカー基又は分子の付加が挙げられる。他の例としては、ＰＥＧ化などの、抗体及び抗体断片の半減期を改変するための化学修飾が挙げられる。更に他の例では、抗体及び抗体断片に、毒素、放射性アイソトープ、酵素、サイトカイン、及び抗原などの、エフェクター部分が付加される（Ｎｅｌｓｏｎ，２０１０）。

【００９３】

抗体又は抗体断片を更に、それが由来する抗体又は抗体断片の抗原結合能力を大部分保持する抗体由来スカフォード又は抗体様スカフォードへと修飾することができる。抗体由来スカフォード又は抗体様スカフォードの例は、天然の抗体と同じエピトープに選択的又は優先的に結合するドメイン抗体（ｄＡｂ）、例えば、完全にヒトのフレームワークを有するｄＡｂ、例えば、ヒトＦｃドメインに融合したｄＡｂ、又は例えば、ヒトでＩｇＧ様の循環半減期を有する分子中で改変されたナノボディもしくは保持された抗原結合能力を有する抗体断片もしくは制御送達及び細胞送達のための活性スカフォードを有するドメイン抗体についてのものである。

【００９４】

一実施形態において、本発明の抗体及び抗体断片をヒト化する。ヒト化抗体及び抗体断片を得るために、本発明の抗体に由来する抗体断片をヒト抗体のＦｃ領域に融合させることができる。ヒト化抗体又は抗体断片は、１以上のＣＤＲ、又はその特異性決定残基（ＳＤＲ）のみを、任意に最適なＣＤＲ機能性に重要な、所望の抗原結合特異性を有する非ヒト抗体の、１以上のフレームワーク残基とともに、ヒト抗体又は抗体断片のフレームワークポリペプチド配列に、又は更には、普遍的なヒト化ナノボディスカフォードに移植することによって得ることもできる。抗体をヒト化する方法は、当業者に周知である（例えば、（Ｄｅ Ｐａｓｃａｌｉｓ ｅｔ ａｌ．，２００２；Ｋａｓｈｍｉｒｉ ｅｔ ａｌ．，２００５；Ａｌｍａｇｒｏ ａｎｄ Ｆｒａｎｓｓｏｎ，２００８；Ｖｉｎｃｋｅ

ｅｔ ａｌ．，２００９；Ｂｏｒｒａｓ ｅｔ ａｌ．，２０１０；Ｈａｒｄｉｎｇ ｅｔ ａｌ．，２０１０）を参照されたい）。

【００９５】

本発明の抗体断片は、当技術分野で公知の様々なファージディスプレイ法を用いて作製することもできる。ファージディスプレイ法では、機能的抗体ドメインが、それらをコードするポリヌクレオチド配列を担持するファージ粒子の表面に提示される。特に、そのようなファージを利用して、レパートリー又はコンビナトリアル抗体ライブラリ（例えば、ヒト又はマウス）から発現されるエピトープ結合ドメインを提示することができる。関心対象の抗原に結合するエピトープ結合ドメインを発現するファージは、抗原で、例えば、固体表面又はビーズに結合した又は捕捉された標識抗原を用いて選択又は同定することができる。これらの方法で使用されるファージは、通常、ファージ遺伝子ＩＩＩ又は遺伝子ＶＩＩＩタンパク質のいずれかに組換えによって融合された抗原結合抗体ドメインを有するファージから発現されるｆｄ及びＭ１３結合ドメインを含む糸状ファージである。本発明の抗体又は抗体断片を作製するために使用することができるファージディスプレイ法の例としては、（Ｋｅｔｔｌｅｂｏｒｏｕｇｈ ｅｔ ａｌ．，１９９４；Ｂｕｒｔｏｎ ａｎｄ Ｂａｒｂａｓ，ＩＩＩ，１９９４；Ｂｒｉｎｋｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，１９９５；Ａｍｅｓ ｅｔ ａｌ．，１９９５；Ｐｅｒｓｉｃ ｅｔ ａｌ．，１９９７）；ＷＯ／１９９２／００１０４７号；ＷＯ５９０１０２８０９号；ＷＯ９１／１０７３７号；ＷＯ９２／０１０４７号；ＷＯ９２／１８６１９号；ＷＯ９３／１１２３６号；ＷＯ９５／１５９８２号；ＷＯ９５／２０４０１号；並びに米国特許第５，６９８，４２６号；５，２２３，４０９号；第５，４０３，４８４号；第５，５８０，７１７号；第５，４２７，９０８号；第５，７５０，７５３号；第５，８２１，０４７号；第５，５７１，６９８号；第５，４２７，９０８号；第５，５１６，６３７号；第５，７８０，２２５号；第５，６５８，７２７号；第５，７３３，７４３号及び第５，９６９，１０８号に開示されているものが挙げられる。

【００９６】

ファージ選択の後、これらの断片をコードするファージの領域を単離し、使用し、組換えＤＮＡ技術を用いた哺乳動物細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵母、及び細菌を含む選択された宿主内での発現によって、エピトープ結合断片を作製することができる。例えば、組換えによって抗原結合断片を産生する技術は、当技術分野で公知の方法、例えば、ＷＯ９２／２２３２４号；（Ｂｅｔｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９８８；Ｍｕｌｌｉｎａｘ ｅｔ ａｌ．，１９９２；Ｓａｗａｉ ｅｔ ａｌ．，１９９５）に開示されている方法を用いて利用することもできる。単鎖Ｆｖ及び抗体を産生するために使用することができる技術の例としては、米国特許第４，９４６，７７８号及び第５，２５８，４９８号；（Ｓｋｅｒｒａ ａｎｄ Ｐｌｕｃｋｔｈｕｎ，１９８８；Ｈｕｓｔｏｎ ｅｔ ａｌ．，１９９１；Ｓｈｕ ｅｔ ａｌ．，１９９３）に記載されているものが挙げられる。

【００９７】

抗体がそのコグネートなエピトープを認識し、それに結合する能力を妨げることなく、ＣＤＲを含む残基を変化させることができる。例えば、エピトープ認識に影響を及ぼさないが、エピトープに対する抗体の結合親和性を増大させる変化を生じさせることができる。いくつかの研究により、一次抗体配列の知識に基づく、抗体の配列中の様々な位置への１以上のアミノ酸変化の導入の、その特性、例えば、結合及び発現レベルに対する効果が調査されている（Ｙａｎｇ ｅｔ ａｌ．，１９９５；Ｖａｕｇｈａｎ ｅｔ ａｌ．，１９９８；Ｒａｄｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９９８）。これらの研究（いわゆる、親和性成熟技術）では、オリゴヌクレオチド介在性部位特異的突然変異誘発、カセット突然変異誘発、エラーを起こしやすいＰＣＲ、ＤＮＡシャッフリング、又は大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）のミューテーター株などの方法を用いて、ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、ＣＤＲ３、又はフレームワーク領域中のコード遺伝子の配列を変化させることにより、改変型の抗体が作製されている（Ｖａｕｇｈａｎ ｅｔ ａｌ．，１９９８）。抗体の配列を変化させるこれらの方法により、得られる抗体の親和性の改善がもたらされている（Ｇｒａｍ ｅｔ ａｌ．，

１９９２；Ｄａｖｉｅｓ ａｎｄ Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ，１９９６；Ｔｈｏｍｐｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，１９９６；Ｂｏｄｅｒ ｅｔ ａｌ．，２０００；Ｆｕｒｕｋａｗａ ｅｔ ａｌ．，２００１；Ｓｈｏｒｔ ｅｔ ａｌ．，２００２）。

【００９８】

「タウ抗体」及び「タウ抗体断片」とは、それぞれ、タウに結合する抗体及び抗体断片を意味する。従って、本発明のタウ抗体及びタウ抗体断片は、タウに結合し、かつリン酸化タウ凝集体に優先的に結合する抗体及び抗体断片である。当業者が認識するように、これは、本発明の抗体又は抗体断片が、これらの凝集体中のタウのリン酸化エピトープを介してリン酸化タウ凝集体に結合するということを必ずしも意味するものではない。

【００９９】

ペプチドに言及する場合の「好ましく結合する」又は「特異的に結合する（ｓｐｅｃｉｆｉｃａｌｌｙ ｂｉｎｄ（ｓ））」又は「特異的に結合する（ｂｉｎｄ（ｓ） ｓｐｅｃｉｆｉｃａｌｌｙ）」という語句は、標的分子に対する、排他的な又は優先的な、中間の又は高い結合親和性を有するペプチド分子を指す。「に好ましく結合する」又は「に特異的に結合する」という語句は、不均質なタンパク質集団及び他の生物製剤の存在下で標的タンパク質の存在を決定する結合反応を指す。従って、指定されたアッセイ条件下で、特定の結合部分は、特定の標的タンパク質に優先的に結合し、被検試料中に存在する他の成分にそれほど多くの量では結合しない。そのような条件下での標的タンパク質に対する特異的結合は、特定の標的抗原に対するその特異性について選択されている結合部分を必要とする場合がある。種々のアッセイ形式を用いて、特定のタンパク質と特異的に反応するリガンドを選択することができる。例えば、固相ＥＬＩＳＡ免疫アッセイ、免疫沈降、典型的には、特異的又は選択的反応は、バックグラウンドシグナル又はノイズの少なくとも２倍であり、より典型的には、バックグラウンドの１０倍を超える。例えば、本発明の抗体及び抗体断片は、リン酸化タウ凝集体に優先的に結合し、そのため、「優先的に結合する」、「優先的に認識する」、又は「と優先的に反応する」とは、これらの抗体又は抗体断片が、リン酸化及び非リン酸化タウ単量体を含む任意の他の抗原と比較して、リン酸化タウ凝集体に対するより大きい結合能力を示すことを意味する。抗体又は抗体断片の抗原に対する結合能力は、その抗原に対するその親和性及び／又は結合力を反映する。

【０１００】

本発明の好ましい実施形態において、本発明の抗体はモノクローナルである。「モノクローナル抗体」という用語は、当技術分野で十分に認識されており、単一のクローンに由来する抗体又は均質な抗体集団を指す。モノクローナル抗体集団に由来する個々の抗体は、小規模な天然の突然変異が存在し得るという点において、本質的に同一である。モノクローナル抗体集団由来の抗体は、特定のエピトープに対する均質な結合特異性及び親和性を示す。

【０１０１】

物に適用される場合の「天然の」という用語は、物を天然に見出すことができるという事実を指す。例えば、天然の源から単離することができ、実験室で人間によって意図的に修飾されていない生物体（ウイルスを含む）に存在するポリペプチド又はポリヌクレオチド配列は、天然である。

【０１０２】

「再編成された」という用語は、Ｖセグメントが、それぞれ、完全なＶＨ又はＶＬドメインを本質的にコードする構造においてＤ－Ｊ又はＪセグメントに直接隣接して位置している、重鎖又は軽鎖免疫グロブリン座の配置を指す。再編成された免疫グロブリン遺伝子座は、生殖系列ＤＮＡとの比較によって同定することができ；再編成された座は、少なくとも１つの組み換えられたヘプタマー／ノナマー相同エレメントを有する。

【０１０３】

Ｖセグメントとの関連における「再編成されていない」又は「生殖系列配置」という用語は、Ｖセグメントが、Ｄ又はＪセグメントに直接隣接するように組換えられていない配置を指す。

【０１０４】
そのような抗体又は再編成された抗体を取得するためのマニュアルは、当業者に利用可能である。概説は、近著Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，Ｓｔｅｆａｎ Ｄｕｂｅｌ，Ｗｉｌｅｙ－ＶＣＨ Ｖｅｒｌａｇ ＧｍＢＨ ＆ Ｃｏ，ＫＧａＡ編に提供されている。

【０１０５】
「核酸」という用語は、ＤＮＡ分子及びＲＮＡ分子を含むことが意図される。核酸は、一本鎖又は二本鎖であることができる。

【０１０６】
２つの核酸又はポリペプチドの文脈における「実質的に同一な」という用語は、最大の対応について比較し、整列させたとき、以下の配列比較法を用いて及び／又は目視検査によって測定される、少なくとも約８０％、約９０、約９５％、又はそれより高いヌクレオチド又はアミノ酸残基同一性を有する２以上の配列又はサブ配列を指す。そのような「実質的に同一な」配列は、通常、相同であると考えられる。「実質的同一性」は、比較されるべき２つの配列の少なくとも約５０残基長である配列の領域にわたって、該２つの配列の少なくとも約１００残基の領域にわたって、又は該２つの配列の少なくとも約１５０残基の領域にわたって、又は該２つの配列の全長の領域にわたって存在することができる。抗体の場合、任意の２つの抗体配列は、Ｋａｂａｔの付番方式を用いることによって、一方向に整列させることしかできない（下記参照）。従って、抗体について、パーセント同一性は、独特のかつ明確に定義された意味を有する。

【０１０７】
免疫グロブリンの成熟した重鎖及び軽鎖の可変領域由来のアミノ酸は、それぞれ、Ｈｘ及びＬｘと表され、ここで、ｘは、Ｋａｂａｔ、Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔの方式に従ったアミノ酸の位置を表す番号である（Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，Ｍｄ．，１９８７及び１９９１）。Ｋａｂａｔは、各々のサブグループの抗体について多くのアミノ酸配列を記載し、そのサブグループにおける各々の残基位置についての最もよく見られるアミノ酸を記載して、コンセンサス配列を生成させた。Ｋａｂａｔは、残基番号を記載された配列中の各々のアミノ酸に割り当てる方法を使用し、残基番号を割り当てるこの方法は、この分野で標準となった。Ｋａｂａｔの方式は、問題になっている抗体を、保存されたアミノ酸に関してＫａｂａｔのコンセンサス配列のうちの１つと整列させることにより、その一覧表に含まれない他の抗体に拡張可能である。Ｋａｂａｔ付番方式の使用により、異なる抗体中の等価な位置のアミノ酸が容易に特定される。例えば、ヒト抗体のＬ５０の位置のアミノ酸は、マウス抗体のアミノ酸位置Ｌ５０と等価な位置を占める。同様に、抗体鎖をコードする核酸は、それぞれの核酸によってコードされるアミノ酸配列をＫａｂａｔの付番慣習に従って整列させたときに整列される。

【０１０８】
「に選択的に（又は特異的に）ハイブリダイズする」という語句は、その配列が複合混合物（例えば、全細胞ＤＮＡもしくはＲＮＡ又はライブラリーＤＮＡもしくはＲＮＡ）中に存在するとき、分子が、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で特定のヌクレオチド配列に結合するか、該配列と二重鎖を形成するか、又は該配列にハイブリダイズすることを指し、ここで、この特定のヌクレオチド配列は、バックグラウンドの少なくとも約１０倍で検出される。一実施形態において、核酸は、別の方法で本発明の範囲内にあると決定される核酸（例えば、本明細書に記載の例示的な配列）にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするその能力によって本発明の範囲内にあると決定することができる。

【０１０９】
「ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件」という語句は、プローブが、通常、核酸の複合混合物中で、その標的部分配列にハイブリダイズするが、他の配列に顕著な

量ではハイブリダイズしない条件を指す（陽性シグナル（例えば、本発明の核酸の同定）は、バックグラウンドハイブリダイゼーションの約１０倍である）。ストリンジェントな条件は配列依存的であり、異なる状況下で異なる。より長い配列は、より高い温度で特異的にハイブリダイズする。核酸のハイブリダイゼーションに関する広範な指針は、例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ編，ＭＯＬＥＣＵＬＡＲ ＣＬＯＮＩＮＧ：Ａ ＬＡＢＯＲＡＴＯＲＹ ＭＡＮＵＡＬ（第２版），第１～３巻，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，（１９８９）；ＣＵＲＲＥＮＴ ＰＲＯＴＯＣＯＬＳ ＩＮ ＭＯＬＥＣＵＬＡＲ ＢＩＯＬＯＧＹ，Ａｕｓｕｂｅｌ編．Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９９７）；ＬＡＢＯＲＡＴＯＲＹ ＴＥＣＨＮＩＱＵＥＳ ＩＮ ＢＩＯＣＨＥＭＩＳＴＲＹ ＡＮＤ ＭＯＬＥＣＵＬＡＲ ＢＩＯＬＯＧＹ：ＨＹＢＲＩＤＩＺＡＴＩＯＮ ＷＩＴＨ ＮＵＣＬＥＩＣ ＡＣＩＤ ＰＲＯＢＥＳ，第Ｉ部．Ｔｈｅｏｒｙ ａｎｄ Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｐｒｅｐａｒａｔｉｏｎ，Ｔｉｊｓｓｅｎ編．Ｅｌｓｅｖｉｅｒ，Ｎ．Ｙ．（１９９３）に見出される。

【０１１０】

通常、ストリンジェントな条件は、規定されたイオン強度ｐＨでの特定の配列の熱的融点（Ｔｍ）よりも約５～１０℃低い温度となるように選択される。Ｔｍは、標的に相補的なプローブの５０％が平衡状態で標的配列にハイブリダイズする（規定されたイオン強度、ｐＨ、及び核酸濃度下での）温度である（標的配列が過剰に存在するとき、Ｔｍでは、プローブの５０％が平衡状態で占められている）。ストリンジェントな条件は、塩濃度が、ｐＨ７．０～８．３で、約１．０Ｍ未満のナトリウムイオン、通常、約０．０１～１．０Ｍのナトリウムイオン濃度（又は他の塩）であり、かつ温度が、短いプローブ（例えば、１０～５０ヌクレオチド）については少なくとも約３０℃、及び長いプローブ（例えば、５０ヌクレオチド超）については少なくとも約６０℃である条件である。ストリンジェントな条件は、（以下に引用される）Ｓａｍｂｒｏｏｋに記載されているような、ホルムアミドなどの脱安定化剤の添加によって達成することもできる。高ストリンジェンシーハイブリダイゼーションについて、陽性シグナルは、バックグラウンドの少なくとも２倍、好ましくは、バックグラウンドハイブリダイゼーションの１０倍である。例示的な高ストリンジェンシーハイブリダイゼーション又はストリンジェントなハイブリダイゼーション条件は：５０％ホルムアミド、５×ＳＳＣ、及び１％ＳＤＳ、４２℃でのインキュベーション、又は５×ＳＳＣ及び１％ＳＤＳ、６５℃でのインキュベーション、０．２×ＳＳＣ及び０．１％ＳＤＳ中、６５℃での洗浄を含む。選択的又は特異的ハイブリダイゼーションについて、陽性シグナル（例えば、本発明の核酸の同定）は、バックグラウンドハイブリダイゼーションの約１０倍である。本発明の範囲内の核酸を同定するために使用されるストリンジェントなハイブリダイゼーション条件は、例えば、５０％ホルムアミド、５×ＳＳＣ、及び１％ＳＤＳを含むバッファー中、４２℃でのハイブリダイゼーション、又は５×ＳＳＣ及び１％ＳＤＳを含むバッファー中、６５℃でのハイブリダイゼーションを含み、どちらも０．２×ＳＳＣ及び０．１％ＳＤＳによる、６５℃での洗浄を含む。本発明において、本発明の核酸を含むゲノムＤＮＡ又はｃＤＮＡは、本明細書に開示される核酸配列を用いて、ストリンジェントな条件下、標準的なサザンブロットで同定することができる。（本発明の範囲内の核酸を同定する）そのようなハイブリダイゼーションのための更なるストリンジェントな条件は、４０％ホルムアミド、１Ｍ ＮａＣｌ、１％ＳＤＳのバッファー中、３７℃でのハイブリダイゼーションを含む条件である。

【０１１１】

しかしながら、ハイブリダイゼーション形式の選択は重要ではない－－核酸が本発明の範囲内にあるかどうかを決定する条件を示すのは、洗浄条件のストリンジェンシーである。本発明の範囲内の核酸を同定するために使用される洗浄条件は、例えば：約０．０２モル濃度の塩濃度、ｐＨ７、及び少なくとも約５０℃もしくは約５５℃～約６０℃の温度；又は約０．１５Ｍ ＮａＣｌの塩濃度、７２℃、約１５分間；又は約０．２×ＳＳＣの塩濃度、少なくとも約５０℃もしくは約５５℃～約６０℃の温度、約１５～約２０分間；又はハイブリダイゼーション複合体を、０．１％ＳＤＳを含む約２×ＳＳＣの塩濃度の溶液

で、室温で１５分間、２回洗浄し、その後、０．１％ＳＤＳを含む０．１×ＳＳＣで、６８℃で１５分間、２回洗浄すること；又は同等の条件を含む。ＳＳＣバッファー及び同等の条件の説明については、Ｓａｍｂｒｏｏｋ、Ｔｉｊｓｓｅｎ、及びＡｕｓｕｂｅｌを参照されたい。

【０１１２】

本発明の核酸は、全細胞中に、細胞溶解物中に、又は部分的に精製された形態もしくは実質的に純粋な形態で存在する。核酸は、アルカリ／ＳＤＳ処理、ＣｓＣｌバンディング、カラムクロマトグラフィー、アガロースゲル電気泳動、及び当技術分野で周知の他のものを含む標準的な技術によって、他の細胞成分又は他の夾雑物、例えば、他の細胞核酸又はタンパク質から精製分離されたときに、「単離された」又は「実質的に純粋にされた」ものとなる。例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ、Ｔｉｊｓｓｅｎ、及びＡｕｓｕｂｅｌを参照されたい。本発明の核酸配列及び本発明を実施するために使用される他の核酸は、ＲＮＡであれ、ｃＤＮＡであれ、ゲノムＤＮＡであれ、これらのハイブリッドであれ、種々の供給源から単離し、遺伝的に改変し、増幅させ、及び／又は組換えにより発現させることができる。細菌の他に、例えば、酵母、昆虫、又は哺乳動物系を含む、任意の組換え発現系を使用することができる。或いは、これらの核酸は、インビトロで化学的に合成することができる。例えば、発現ベクター中へのサブクローニング、プローブの標識、シークエンシング、及びハイブリダイゼーションなどの核酸の操作のための技術は、科学文献及び特許文献に十分に記載されており、例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ、Ｔｉｊｓｓｅｎ、及びＡｕｓｕｂｅｌを参照されたい。核酸は、当業者に周知のいくつかの一般的な手段のいずれかによって解析及び定量することができる。これらには、例えば、分析的な生化学的方法、例えば、ＮＭＲ、分光光度法、ラジオグラフィー、電気泳動、キャピラリー電気泳動、高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）、薄層クロマトグラフィー（ＴＬＣ）、及び超拡散クロマトグラフィー、様々な免疫学的方法、例えば、流体又はゲル沈降反応、免疫拡散（一元又は二元）、免疫電気泳動、放射免疫アッセイ（ＲＩＡ）、酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）、免疫蛍光アッセイ、サザン解析、ノーザン解析、ドットブロット解析、ゲル電気泳動（例えば、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ）、ＲＴ－ＰＣＲ、定量ＰＣＲ、他の核酸又は標的又はシグナル増幅法、放射性標識法、シンチレーション計測、並びに親和性クロマトグラフィーが含まれる。

【０１１３】

本発明の核酸組成物は、ｃＤＮＡ、ゲノム、又はこれらの混合物のいずれかに由来するネイティブ配列（修飾された制限部位などを除く）中にあることが多いが、これを、標準的な技術に従って突然変異させて、遺伝子配列を提供することができる。コード配列について、これらの突然変異は、望ましいように、アミノ酸配列に影響を及ぼすことができる。特に、本明細書に記載のそのような配列と実質的に相同な又は該配列に由来するＤＮＡ配列が企図される（この場合、「由来する」とは、配列が同一であるか、又は別の配列から修飾されていることを示す）。

【０１１４】

核酸は、それが別の核酸配列と機能的関係に置かれているとき、「機能的に連結されている」。例えば、プロモーター又はエンハンサーは、配列の転写に影響を及ぼす場合、このコード配列に機能的に連結されている。転写調節配列に関して、機能的に連結されているとは、連結されているＤＮＡ配列が連続的であり、また、２つのタンパク質コード領域を接続する必要がある場合、連続的でかつリーディングフレーム中にあることを意味する。スイッチ配列について、機能的に連結されているとは、配列がスイッチ組換えをもたらすことができることを示す。

【０１１５】

「ベクター」という用語は、それが連結されている別の核酸を運搬することができる核酸分子を指すことが意図される。１つのタイプのベクターは、「プラスミド」であり、これは、その中に追加のＤＮＡセグメントを連結し得る環状二本鎖ＤＮＡループを指す。別のタイプのベクターは、追加のＤＮＡセグメントをウイルスゲノム中に連結し得るウイル

スベクターである。ある種のベクターは、それらが導入される宿主細胞内で自律複製することができる（例えば、細菌複製起点を有する細菌ベクター、及びエピソーム性哺乳動物ベクター）。他のベクター（例えば、非エピソーム性哺乳動物ベクター）は、宿主細胞内への導入によって、宿主細胞のゲノム中に組み込まれることができ、それにより、宿主ゲノムとともに複製される。更に、ある種のベクターは、それらが機能的に連結されている遺伝子の発現を導くことができる。そのようなベクターは、本明細書において、「組換え発現ベクター」（又は単に、「発現ベクター」）と称される。一般に、組換えＤＮＡ技術で有用な発現ベクターは、プラスミドの形態であることが多い。本明細書において、「プラスミド」及び「ベクター」は互換的に使用することができるが、それは、プラスミドが最も一般的に使用されるベクター形態であるからである。しかしながら、本発明は、等価な機能を果たす、他の形態の発現ベクター、例えば、ウイルスベクター（例えば、複製欠損レトロウイルス、アデノウイルス、及びアデノ随伴ウイルス）を含むことが意図される。

【０１１６】

「組換え宿主細胞」（又は単に「宿主細胞」）という用語は、組換え発現ベクターが導入されている細胞を指す。そのような用語は、特定の対象細胞だけでなく、そのような細胞の子孫も指すことが意図されることが理解されるべきである。突然変異か、又は環境の影響のどちらかが理由で、ある種の修飾が後続の世代で起こり得るので、そのような子孫は、実際、親細胞と同一でなくてもよいが、それでも、本明細書で使用される「宿主細胞」という用語の範囲内に含まれる。

【０１１７】

「ミニ遺伝子座（ｍｉｎｉｌｏｃｕｓ）トランス遺伝子」という用語は、ゲノム免疫グロブリン座の一部を含む、又は天然の生殖系列Ｉｇ遺伝子座と比較したとき、非必須ＤＮＡ部分（例えば、介在配列；イントロンもしくはその部分）の少なくとも１つの内部（すなわち、その部分の末端にない）欠失を有する選択された疾患抗原の遺伝子座上のトランス遺伝子を指す。

【０１１８】

「標識」は、分光学的、光化学的、生化学的、免疫化学的、又は化学的手段で検出可能な組成物である。例えば、有用な標識としては、３２Ｐ、蛍光色素、高電子密度試薬、酵素（例えば、ＥＬＩＳＡで一般に使用されるもの）、ビオチン、ジゴキシゲニン、又はそれに対する抗血清もしくはモノクローナル抗体が利用可能であるハプテン及びタンパク質が挙げられる（例えば、本発明のポリペプチドを、例えば、放射性標識をペプチド中に組み込むことによって検出可能なものとし、このペプチドと特異的に反応する抗体を検出するために使用することができる）。

【０１１９】

「ソーティング」という用語は、本明細書で使用される細胞との関連において、例えば、蛍光活性化細胞ソーターを用いて達成することができるような、細胞の物理的ソーティングと、細胞表面マーカーの発現に基づく細胞の解析、例えば、ソーティングの非存在下でのＦＡＣＳ解析の両方を指す。

【０１２０】

特記する場合を除き、「患者」又は「対象」という用語は互換的に使用され、ヒト患者を指す。

【０１２１】

「治療する」又は「治療」という用語は、疾患を予防するか、又はその症状、合併症、もしくは生化学的兆候の発症を遅延させるか、症状を緩和するか、或いは疾患、疾病、又は障害（例えば、自己免疫疾患）の更なる進展を停止させるか、又はそれらを阻害するための本発明の化合物又は薬剤の投与を含む。治療は、疾患の発症後の症状の予防的な（疾患を予防するか、もしくはその発症を遅延させるための、又はその臨床的もしくは亜臨床的症状の発症を予防するための）、或いは治療的な抑制又は緩和であってもよい。

【０１２２】

「遺伝子送達ビヒクル」は、１以上の望ましい特性を有する核酸分子を生物体内の宿主細胞に送達することができる、組換えビヒクル、例えば、組換えウイルスベクター、核酸ベクター（例えば、プラスミド）、裸の核酸分子、例えば、遺伝子、核酸分子上の負電荷を中和し、この核酸分子を凝集させて、コンパクトな分子にすることができるポリカチオン性分子と複合体化した核酸分子、リポソームと関連した核酸（Ｗａｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，ＰＮＡＳ　８４：７８５１，１９８７）、細菌、及び特定の真核細胞、例えば、プロデューサー細胞を指す。

【０１２３】

本明細書で使用される「ヒト化抗体」という用語は、相補性決定領域（ＣＤＲ）の残基の少なくとも一部が、所望の特異性、親和性、及び能力を有する非ヒト動物の抗体（ドナー抗体）、例えば、マウス、ラット、及びウサギの抗体のＣＤＲに由来する残基と置換されているヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）を意味する。場合により、ヒト免疫グロブリン中のＦｖフレームワーク（ＦＲ）の残基は、対応する非ヒト抗体の残基と置換されている。ヒト化抗体は、レシピエント抗体又は導入されたＣＤＲもしくはフレームワーク中には見られない残基を更に含むことができる。これらの変化は、得られる抗体の特性を最適化又は改善するために行なわれる。これらの変化に関するより詳細な情報は、Ｊｏｎｅｓ　ｅｔ　ａｌ．，１９８６；Ｒｅｉｃｈｍａｎｎ　ｅｔ　ａｌ．，１９８８；ＥＰ－Ｂ－２３９４００；Ｐｒｅｓｔａ，１９９２；及びＥＰ－Ｂ－４５１２１６に言及されている。

【０１２４】

単鎖抗体（「ｓｃＦｖ」とも称される）は、抗体の重鎖Ｖ領域と軽鎖Ｖ領域を連結することによって調製することができる（ｓｃＦｖの総説については、Ｐｌｕｃｋｔｈｕｎ“Ｔｈｅ　Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ　ｏｆ　Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ”第１１３巻，Ｒｏｓｅｎｂｕｒｇ　ａｎｄ　Ｍｏｏｒｅ編，Ｓｐｒｉｎｇｅｒ　Ｖｅｒｌａｇ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，ｐｐ．２６９－３１５（１９９４）を参照されたい）。単鎖抗体を調製する方法は当技術分野で公知である（例えば、米国特許第４，９４６，７７８号、第５，２６０，２０３号、第５，０９１，５１３号、及び第５，４５５，０３０号を参照されたい）。そのようなｓｃＦｖにおいて、重鎖Ｖ領域と軽鎖Ｖ領域は、リンカー、好ましくは、ポリペプチドリンカーを介して連結されている（Ｈｕｓｔｏｎ，１９８８）。ｓｃＦｖ中の重鎖Ｖ領域及び軽鎖Ｖ領域は、同じ抗体に、又は異なる抗体に由来することができる。

【０１２５】

「Ｆｖ」断片は最小の抗体断片であり、完全な抗原認識部位及び結合部位を含有する。この領域は、重鎖と軽鎖の各々の可変領域が非共有結合で強く接続されている二量体（ＶＨ－ＶＬ二量体）である。可変領域の各々の３つのＣＤＲが互いに相互作用して、ＶＨ－ＶＬ二量体の表面に抗原結合部位を形成する。言い換えると、重鎖及び軽鎖由来の合計６つのＣＤＲが一緒になって、抗体の抗原結合部位として機能する。しかしながら、可変領域（又は３つの抗原特異的ＣＤＲしか含有しない半分のＦｖ）のみでも、抗原を認識し、それに結合することができることが知られているが、その親和性は、結合部位全体の親和性よりも小さい。従って、本発明の好ましい抗体断片はＦｖ断片であるが、それに限定されない。

【０１２６】

そのような抗体断片は、保存されている、及びその抗原を認識し、それに結合することができる、重鎖又は軽鎖ＣＤＲの抗体断片を含むポリペプチドであることができる。

【０１２７】

Ｆａｂ断片（Ｆ（ａｂ）とも称される）もまた、軽鎖定常領域及び重鎖定常領域（ＣＨ１）を含有する。例えば、抗体のパパイン消化によって、２種類の断片：重鎖及び軽鎖の可変領域を含有し、単一の抗原結合ドメインとしての役割を果たす、Ｆａｂ断片と呼ばれる抗原結合断片；及び容易に結晶化されるので「Ｆｃ」と呼ばれる、残りの部分が生じる。Ｆａｂ’断片は、Ｆａｂ’断片が、抗体のヒンジ領域に由来する１以上のシステイン残

基を含有する、重鎖ＣＨ１領域のカルボキシル末端に由来するいくつかの残基も有するという点で、Ｆａｂ断片と異なる。

【０１２８】

しかしながら、両方とも、重鎖及び軽鎖の可変領域を含み、単一の抗原結合ドメインとしての役割を果たす抗原結合断片であるという点で、Ｆａｂ’断片は、Ｆａｂと構造的に等価である。本明細書において、単一の抗原結合ドメインとしての役割を果たす重鎖及び軽鎖の可変領域を含む抗原結合断片であって、パパイン消化によって得られるものと等価である抗原結合断片は、プロテアーゼ消化によって生じる抗体断片と同一ではない場合でも、「Ｆａｂ様抗体」と称される。Ｆａｂ’－ＳＨは、その定常領域中に遊離チオール基を有する１以上のシステイン残基を有するＦａｂ’である。Ｆ（ａｂ’）断片は、Ｆ（ａｂ’）２のヒンジ領域中のシステイン残基間のジスルフィド結合を切断することによって生じる。他の化学的に架橋された抗体断片も当業者に公知である。

【０１２９】

抗体のペプシン消化によって、２つの断片が生じる；１つは、２つの抗原結合ドメインを含み、かつ抗原と交差反応することができるＦ（ａｂ’）２断片であり、もう１つは、残りの断片（ｐＦｃ’と称される）である。本明細書において、ペプシン消化によって得られるものと等価な抗体断片は、それが、２つの抗原結合ドメインを含み、かつ抗原と交差反応することができる場合、「Ｆ（ａｂ’）２様抗体」と称される。そのような抗体断片は、例えば、遺伝子工学によって生じさせることもできる。そのような抗体断片は、例えば、上記の抗体ファージライブラリーから単離することもできる。或いは、Ｆ（ａｂ’）２－ＳＨ断片を、宿主、例えば、大腸菌から直接回収し、その後、化学架橋によってＦ（ａｂ’）２断片を形成させることができる（Ｃａｒｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １０：１６３－１６７（１９９２））。

【０１３０】

単一ドメイン抗体を抗体様断片に人為改変することができる。単一ドメイン抗体は、相補性決定領域が単一ドメインポリペプチドの一部である抗体である。例としては、重鎖抗体、軽鎖を天然に欠いている抗体、従来の４鎖抗体から誘導される単一ドメイン抗体、人為改変抗体、及び抗体から誘導されるもの以外の単一ドメインスカフォードが挙げられるが、これらに限定されない。単一ドメイン抗体は、当技術分野のものの全て、又は任意の今後の単一ドメイン抗体であることができる。単一ドメイン抗体は、限定されないが、マウス、ヒト、ラクダ、ラマ、ヤギ、ウサギ、ウシを含む、任意の種に由来することができる。本発明の一態様によれば、本明細書で使用される単一ドメイン抗体は、軽鎖を欠く重鎖抗体として知られる天然の単一ドメイン抗体である。そのような単一ドメイン抗体は、例えば、ＷＯ９４０４６７８号に開示されている。明確にするために、軽鎖を天然に欠く重鎖抗体に由来するこの可変ドメインは、本明細書では、それを４鎖免疫グロブリンの従来型ＶＨと区別するＶＨＨ又はナノボディとして知られる。そのようなＶＨＨ分子は、ラクダ科種、例えば、ラクダ、ラマ、ヒトコブラクダ、アルパカ、及びグアナコ、又は板鰓亜綱種、例えば、ガンギエイ、エイ（ｒａｙ）（エイ（ｂａｔｏｉｄｅａ））、及びサメ（軟骨魚類）で惹起された抗体に由来することができる。ラクダ科以外の他の種が、軽鎖を天然に欠く重鎖抗体を産生する場合もあり；そのようなＶＨＨは、本発明の範囲内にある。単鎖ポリペプチドは、遺伝子工学技術及び化学合成などの当技術分野で周知の様々な方法によって産生することができる。遺伝子工学技術は、複製可能クローニングベクター又は発現ベクターを構築すること、宿主細胞をこのベクターで形質転換すること、形質転換された宿主細胞を培養して、その中で核酸を発現させること、単鎖ポリペプチドを回収及び精製することを含む。ベクターは、通常、本発明によるダイアボディ型二重特異性抗体を構成する２つの単鎖ポリペプチドのうちの１つをコードする核酸を含む。そのような場合、得られる２種類のベクターは、同じ宿主細胞に導入されることが好ましい。或いは、互いに異なる単鎖ポリペプチドをコードする２種類の核酸を同じベクターに含めることができる。

【０１３１】

本明細書で使用される「複製可能発現ベクター」又は「発現ベクター」という用語は、その中に挿入された外来ＤＮＡ断片の断片を含み得る（通常、二本鎖の）ＤＮＡ片を指す。外来ＤＮＡは、関心のある宿主細胞内に天然には見出すことができない「異種ＤＮＡ」としても定義される。ベクターは、外来又は異種ＤＮＡを適当な宿主細胞に運搬又は伝達するために使用される。ひとたびベクターが宿主細胞に導入されると、それは、宿主細胞の染色体ＤＮＡとは独立に複製して、ベクター及びその中に挿入された外来ＤＮＡのコピーを産生することができる。ベクターは、外来ＤＮＡによってコードされるポリペプチド分子が非常に速やかに合成されるように、外来ＤＮＡをポリペプチドに翻訳するのに不可欠なエレメントも含む。

【０１３２】

上記のベクターは、機能的に連結されている（すなわち、外来ＤＮＡを発現することができるように連結されている）適当な制御配列及びＤＮＡ配列を含むＤＮＡコンストラクトを意味する。制御配列には、転写用のプロモーター、転写を調節するための任意のオペレーター配列、適当なｍＲＮＡリボソーム結合部位をコードする配列、エンハンサー、ポリアデニル化配列、並びに転写及び翻訳の終結を制御する配列が含まれる。ベクターは、制限酵素切断部位、マーカー遺伝子（選択遺伝子）、例えば、薬剤耐性遺伝子、シグナル配列、及びリーダー配列などの、当技術分野で公知の様々な配列を更に含むことができる。これらの配列及びエレメントは、外来ＤＮＡ及び宿主細胞の種類、並びに培養培地の条件に応じて、当業者により任意に選択されてもよい。

【０１３３】

ベクターは、任意の形態、例えば、プラスミド、ファージ粒子、又はただ単にゲノム挿入物であることができる。ひとたび適当な宿主細胞がベクターで形質転換されると、ベクターは、宿主細胞のゲノムとは独立に複製され、もしくは機能し、又はベクターは、その代わりに、細胞のゲノムに組み込まれる。

【０１３４】

当技術分野で公知の任意の細胞を宿主細胞として使用することができ、例えば、大腸菌を含む原核細胞、真核細胞、例えば、哺乳動物細胞、例えば、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞及びヒト細胞、酵母、並びに昆虫細胞を挙げることができる。

【０１３５】

宿主細胞内での発現によって得られる単鎖ポリペプチドは、通常、分泌され、培養培地から回収されるが、それが分泌シグナルなしで直接発現されるとき、それを細胞溶解物から回収することもできる。単鎖ポリペプチドが膜結合特性を有する場合、それをＴｒｉｔｏｎ－Ｘ１００などの適当な界面活性剤で膜から放出させることができる。

【０１３６】

ポリペプチドの精製は、当業者に公知の任意の方法、例えば、遠心分離、ハイドロキシアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、イオン交換クロマトグラフィーでの分離、エタノール沈殿、逆相ＨＰＬＣ、シリカクロマトグラフィー、ヘパリン－セファロースクロマトグラフィー、陰イオン又は陽イオン樹脂クロマトグラフィー、例えば、ポリアスパラギン酸カラム、クロマトフォーカシング、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ、硫安沈殿、及び親和性クロマトグラフィーにより実施することができる。単鎖ポリペプチドのペプチドタグとの親和性を利用する親和性クロマトグラフィーは、高い効率を有する好ましい精製技術のうちの１つである。

【０１３７】

回収された単鎖ポリペプチドは、多くの場合、不溶性画分に含まれ得るので、ポリペプチドは、可溶化し、変性させた後に精製されることが好ましい。可溶化処理は、エタノールなどのアルコール、塩酸グアニジン及び尿素などの溶解剤を含む、当技術分野で公知の任意の薬剤の使用により実施することができる。

【０１３８】

本発明による抗体様断片は、単鎖ポリペプチドを、最終的に、スカフォード上にアセンブルさせ、このようにして形成された抗体様断片を分離し、回収することによって産生さ

れる。

【０１３９】

アセンブリング処理により、単鎖ポリペプチドは、所望の生物学的活性が示される適当な空間的配置に戻る。従って、この処理により、ポリペプチド又はドメインがアセンブリング状態に戻るので、それを「再アセンブリング」と考えてもよい。また、所望の生物学的活性の獲得を考慮して、それを「再構築」又は「再フォールディング」と呼んでもよい。

【０１４０】

アセンブリング処理は、当技術分野で公知の任意の方法により、好ましくは、単鎖ポリペプチドを含む溶液中の変性剤、例えば、塩酸グアニジンの濃度を、透析によって徐々に低下させることにより実施することができる。これらのプロセスにおいて、酸化を促進するために、抗凝固剤又は酸化剤を反応系に任意に添加してもよい。形成された抗体様断片の分離及び回収も同様に、当技術分野で公知の任意の方法により行なうことができる。

【０１４１】

本発明による、及び当業者に公知のＶＨＨは、ＷＯ９４０４６７８号に記載されている、ラクダ科に由来する免疫グロブリンなどの、軽鎖を天然に欠く免疫グロブリンに由来する重鎖可変ドメインである（以後、ＶＨＨドメイン又はナノボディと称される）。ＶＨＨ分子は、ＩｇＧ分子よりも約１０倍小さい。それらは、単一のポリペプチドであり、非常に安定で、極端なｐＨ及び温度条件に耐える。更に、それらはプロテアーゼの作用に耐性があり、これは、従来型抗体には当てはまらない。更に、ＶＨＨのインビトロ発現は、高収率の、適切にフォールディングされた、機能的ＶＨＨを産生する。更に、ラクダ科動物で作製される抗体は、インビトロで抗体ライブラリーの使用によって、又はラクダ科動物もしくは板鰓亜綱種以外の哺乳動物の免疫化によって作製される抗体によって認識されるエピトープ以外のエピトープを認識する（ＷＯ９７４９８０５号）。従って、抗アルブミンＶＨＨは、キャリアタンパク質であることが知られている血清アルブミンとより効率的な形で相互作用することができる。キャリアタンパク質として、血清アルブミンのエピトープのいくつかは、結合したタンパク質、ペプチド、及び小さい化学的化合物によるアクセスが不可能である場合がある。ＶＨＨは、「稀な」又は非従来型のエピトープ、例えば、キャビティに結合することが知られているので（ＷＯ９７４９８０５号）、循環アルブミンに対するそのようなＶＨＨの親和性は、増大し得る。

【０１４２】

一実施形態において、本発明の抗体又は抗体断片は、配列番号９～１４からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号９～１４からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つのＣＤＲを含む。

【０１４３】

代わりの実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号９～１４からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号９～１４からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９、もしくは１００％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つのＣＤＲを含む。

【０１４４】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、

－ＣＤＲトリプレットＨ１／Ｈ２／Ｈ３；及び

－ＣＤＲトリプレットＬ１／Ｌ２／Ｌ３；

からなる群から選択される少なくとも１つのＣＤＲトリプレットを含み、

ここで、Ｈ１は、配列番号１２から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１２との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ２は、配列番号１３から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１３との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ３は、配列番号１４から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１４との少

なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ１は、配列番号９から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号９との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ２は、配列番号１０から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１０との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、及びＬ３は、配列番号１１から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１１との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する。

【０１４５】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、

－ＣＤＲトリプレットＨ１／Ｈ２／Ｈ３；及び

－ＣＤＲトリプレットＬ１／Ｌ２／Ｌ３；

からなる群から選択される少なくとも１つのＣＤＲトリプレットを含み、

ここで、Ｈ１は、配列番号１２との少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ２は、配列番号１３との少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ３は、配列番号１４との少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ１は、配列番号９との少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ２は、配列番号１０との少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、及びＬ３は、配列番号１１との少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を有する。

【０１４６】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、

－ＣＤＲトリプレットＨ１／Ｈ２／Ｈ３；及び

－ＣＤＲトリプレットＬ１／Ｌ２／Ｌ３；

からなる群から選択される少なくとも１つのＣＤＲトリプレットを含み、

ここで、Ｈ１は、配列番号１２との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ２は、配列番号１３との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ３は、配列番号１４との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ１は、配列番号９との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ２は、配列番号１０との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、及びＬ３は、配列番号１１との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する。

【０１４７】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、

－ＣＤＲトリプレットＨ１／Ｈ２／Ｈ３；及び

－ＣＤＲトリプレットＬ１／Ｌ２／Ｌ３；

からなる群から選択される少なくとも１つのＣＤＲトリプレットを含み、

ここで、Ｈ１は、配列番号１２との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ２は、配列番号１３との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ３は、配列番号１４との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ１は、配列番号９との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ２は、配列番号１０との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、及びＬ３は、配列番号１１との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有する。

【０１４８】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、

－ＣＤＲトリプレットＨ１／Ｈ２／Ｈ３；及び

－ＣＤＲトリプレットＬ１／Ｌ２／Ｌ３；

からなる群から選択される少なくとも１つのＣＤＲトリプレットを含み、

ここで、Ｈ１は、配列番号１２との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ２は、配列番号１３との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ３は、配列番号１４との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ１は、配列番号９との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ２は、配列番号１０との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、及びＬ３は、配列番号１１との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有する。

【０１４９】
特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号１５、１６、１７、及び１８からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１５、１６、１７、及び１８からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つの可変ドメインを含む。
【０１５０】
特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号１５のアミノ酸配列、又は配列番号１５のアミノ酸配列との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。
【０１５１】
特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号１６のアミノ酸配列、又は配列番号１６のアミノ酸配列との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。
【０１５２】
特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号１５のアミノ酸配列、又は配列番号１５のアミノ酸配列との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。
【０１５３】
特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号１６のアミノ酸配列、又は配列番号１６のアミノ酸配列との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。
【０１５４】
特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号１５のアミノ酸配列、又は配列番号１５のアミノ酸配列との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。
【０１５５】
特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号１６のアミノ酸配列、又は配列番号１６のアミノ酸配列との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。
【０１５６】
特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号１５のアミノ酸配列、又は配列番号１５のアミノ酸配列との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。
【０１５７】
特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号１６のアミノ酸配列、又は配列番号１６のアミノ酸配列との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。
【０１５８】
代わりの実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号１５及び１６からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１５及び１６からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９、もしくは１００％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つの可変ドメインを含む。
【０１５９】
一実施形態において、抗体又は抗体断片は、リン酸化タウ凝集体に優先的に結合することを特徴とする、配列番号９～１４からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号９～１４からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つのＣＤＲを含む。
【０１６０】
代わりの実施形態において、抗体又は抗体断片は、リン酸化タウ凝集体に優先的に結合

することを特徴とする、配列番号９～１４からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号９～１４からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９、もしくは１００％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つのＣＤＲを含む。

【０１６１】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、リン酸化タウ凝集体に優先的に結合することを特徴とする

－ＣＤＲトリプレットＨ１／Ｈ２／Ｈ３；及び

－ＣＤＲトリプレットＬ１／Ｌ２／Ｌ３；

からなる群から選択される少なくとも１つのＣＤＲトリプレットを含み、

ここで、Ｈ１は、配列番号１２から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１２との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ２は、配列番号１３から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１３との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ３は、配列番号１４から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１４との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ１は、配列番号９から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号９との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ２は、配列番号１０から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１０との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、及びＬ３は、配列番号１１から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１１との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する。

【０１６２】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、リン酸化タウ凝集体に優先的に結合することを特徴とする

－ＣＤＲトリプレットＨ１／Ｈ２／Ｈ３；及び

－ＣＤＲトリプレットＬ１／Ｌ２／Ｌ３；

からなる群から選択される少なくとも１つのＣＤＲトリプレットを含み、

ここで、Ｈ１は、配列番号１２との少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ２は、配列番号１３との少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ３は、配列番号１４との少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ１は、配列番号９との少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ２は、配列番号１０との少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、及びＬ３は、配列番号１１との少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を有する。

【０１６３】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、リン酸化タウ凝集体に優先的に結合することを特徴とする

－ＣＤＲトリプレットＨ１／Ｈ２／Ｈ３；及び

－ＣＤＲトリプレットＬ１／Ｌ２／Ｌ３；

からなる群から選択される少なくとも１つのＣＤＲトリプレットを含み、

ここで、Ｈ１は、配列番号１２との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ２は、配列番号１３との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ３は、配列番号１４との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ１は、配列番号９との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ２は、配列番号１０との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、及びＬ３は、配列番号１１との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する。

【０１６４】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、リン酸化タウ凝集体に優先的に結合することを特徴とする

－ＣＤＲトリプレットＨ１／Ｈ２／Ｈ３；及び

－ＣＤＲトリプレットＬ１／Ｌ２／Ｌ３；

からなる群から選択される少なくとも１つのＣＤＲトリプレットを含み、
ここで、Ｈ１は、配列番号１２との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ２は、配列番号１３との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ３は、配列番号１４との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ１は、配列番号９との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ２は、配列番号１０との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、及びＬ３は、配列番号１１との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有する。
【０１６５】
特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、リン酸化タウ凝集体に優先的に結合することを特徴とする
－ＣＤＲトリプレットＨ１／Ｈ２／Ｈ３；及び
－ＣＤＲトリプレットＬ１／Ｌ２／Ｌ３；
からなる群から選択される少なくとも１つのＣＤＲトリプレットを含み、
ここで、Ｈ１は、配列番号１２との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ２は、配列番号１３との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ３は、配列番号１４との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ１は、配列番号９との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ２は、配列番号１０との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、及びＬ３は、配列番号１１との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有する。
【０１６６】
特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、リン酸化タウ凝集体に優先的に結合することを特徴とする、配列番号１５、１６、１７、及び１８からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１５、１６、１７、及び１８からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つの可変ドメインを含む。
【０１６７】
特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、リン酸化タウ凝集体に優先的に結合することを特徴とする、配列番号１５のアミノ酸配列、又は配列番号１５のアミノ酸配列との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。
【０１６８】
特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、リン酸化タウ凝集体に優先的に結合することを特徴とする、配列番号１６のアミノ酸配列、又は配列番号１６のアミノ酸配列との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。
【０１６９】
特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、リン酸化タウ凝集体に優先的に結合することを特徴とする、配列番号１５のアミノ酸配列、又は配列番号１５のアミノ酸配列との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。
【０１７０】
特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、リン酸化タウ凝集体に優先的に結合することを特徴とする、配列番号１６のアミノ酸配列、又は配列番号１６のアミノ酸配列との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。
【０１７１】
特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、リン酸化タウ凝集体に優先的に結合することを特徴とする、配列番号１５のアミノ酸配列、又は配列番号１５のアミノ酸配列との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。
【０１７２】
特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、リン酸化タウ凝集体に優先的に結合することを特徴とする、配列番号１６のアミノ酸配列、又は配列番号１６のアミノ酸配列との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。
【０１７３】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、リン酸化タウ凝集体に優先的に結合することを特徴とする、配列番号１５のアミノ酸配列、又は配列番号１５のアミノ酸配列との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。

【０１７４】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、リン酸化タウ凝集体に優先的に結合することを特徴とする、配列番号１６のアミノ酸配列、又は配列番号１６のアミノ酸配列との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【０１７５】

代わりの実施形態において、抗体又は抗体断片は、リン酸化タウ凝集体に優先的に結合することを特徴とする、配列番号１５及び１６からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１５及び１６からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９、もしくは１００％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つの可変ドメインを含む。

【０１７６】

一実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号１９～配列番号２４からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１９～配列番号２４からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つのＣＤＲを含む。

【０１７７】

代わりの実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号１９～配列番号２４からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１９～配列番号２４からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９、もしくは１００％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つのＣＤＲを含む。

【０１７８】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、
－ＣＤＲトリプレットＨ１／Ｈ２／Ｈ３；及び
－ＣＤＲトリプレットＬ１／Ｌ２／Ｌ３；
からなる群から選択される少なくとも１つのＣＤＲトリプレットを含み、

ここで、Ｈ１は、配列番号１９から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１９との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ２は、配列番号２０から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号２０との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ３は、配列番号２１から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号２１との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ１は、配列番号２２から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号２２との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ２は、配列番号２３から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号２３との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、及びＬ３は、配列番号２４から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号２４との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する。

【０１７９】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、
－ＣＤＲトリプレットＨ１／Ｈ２／Ｈ３；及び
－ＣＤＲトリプレットＬ１／Ｌ２／Ｌ３；
からなる群から選択される少なくとも１つのＣＤＲトリプレットを含み、

ここで、Ｈ１は、配列番号１９との少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ２は、配列番号２０との少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ３は、配列番号２１との少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ１は、配列番号２２との少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ２は、配列番号２３との少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、及びＬ３は

、配列番号２４との少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を有する。
【０１８０】
特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、
－ＣＤＲトリプレットＨ１／Ｈ２／Ｈ３；及び
－ＣＤＲトリプレットＬ１／Ｌ２／Ｌ３；
からなる群から選択される少なくとも１つのＣＤＲトリプレットを含み、
ここで、Ｈ１は、配列番号１９との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ２は、配列番号２０との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ３は、配列番号２１との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ１は、配列番号２２との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ２は、配列番号２３との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、及びＬ３は、配列番号２４との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する。
【０１８１】
特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、
－ＣＤＲトリプレットＨ１／Ｈ２／Ｈ３；及び
－ＣＤＲトリプレットＬ１／Ｌ２／Ｌ３；
からなる群から選択される少なくとも１つのＣＤＲトリプレットを含み、
ここで、Ｈ１は、配列番号１９との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ２は、配列番号２０との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ３は、配列番号２１との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ１は、配列番号２２との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ２は、配列番号２３との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、及びＬ３は、配列番号２４との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有する。
【０１８２】
特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、
－ＣＤＲトリプレットＨ１／Ｈ２／Ｈ３；及び
－ＣＤＲトリプレットＬ１／Ｌ２／Ｌ３；
からなる群から選択される少なくとも１つのＣＤＲトリプレットを含み、
ここで、Ｈ１は、配列番号１９との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ２は、配列番号２０との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ３は、配列番号２１との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ１は、配列番号２２との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ２は、配列番号２３との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、及びＬ３は、配列番号２４との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有する。
【０１８３】
特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号２５及び２６からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号２５及び２６からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つの可変ドメインを含む。
【０１８４】
特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号２５のアミノ酸配列、又は配列番号２５のアミノ酸配列との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。
【０１８５】
特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号２６のアミノ酸配列、又は配列番号２６のアミノ酸配列との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。
【０１８６】
特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号２５のアミノ酸配列、又は配列番号２５のアミノ酸配列との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する

重鎖可変領域を含む。

【０１８７】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号２６のアミノ酸配列、又は配列番号２６のアミノ酸配列との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【０１８８】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号２５のアミノ酸配列、又は配列番号２５のアミノ酸配列との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。

【０１８９】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号２６のアミノ酸配列、又は配列番号２６のアミノ酸配列との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【０１９０】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号２５のアミノ酸配列、又は配列番号２５のアミノ酸配列との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。

【０１９１】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号２６のアミノ酸配列、又は配列番号２６のアミノ酸配列との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【０１９２】

代わりの実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号２５及び２６からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号２５及び２６からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９、もしくは１００％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つの可変ドメインを含む。

【０１９３】

一実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号１９～配列番号２４からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１９～配列番号２４からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つのＣＤＲを含み、かつ該抗体又は抗体断片は、それが、例えば、ヒトタウアイソフォームｈＴＡＵ４０の高分子質量タウ複合体及びエピトープ１６－ＧＴＹＧＬＧＤＲＫ－２４（配列番号２７）を認識することを特徴とする（そのような抗体を以後ＡＤｘ２１５と称することができる）。これは、それがはるかにより高い親和性（短縮された露光時間）を有することを更に特徴とする。これは、該抗体又は断片が、３０ｎＭ以下のＫｄ、好ましくは１０ｎＭ以下のＫｄ、及び更により好ましくは３ｎＭ未満のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は（高分子質量タウ複合体）上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。これは、該抗体又は断片が、１０ｎＭ～１ｎＭの値のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は（高分子質量タウ複合体）上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。

【０１９４】

代わりの実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号１９～配列番号２４からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１９～２４からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９、もしくは１００％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つのＣＤＲを含み、かつ該抗体又は抗体断片は、それが、例えば、ヒトタウアイソトープｈＴＡＵ４０の高分子質量タウ複合体及びエピトープ１６－ＧＴＹＧＬＧＤＲＫ－２４（配列番号２７）を認識することを特

徴とする（そのような抗体を以後ＡＤｘ２１５と称することができる）。これは、それがはるかにより高い親和性（短縮された露光時間）を有することを更に特徴とする。これは、該抗体又は断片が、３０ｎＭ以下のＫｄ、好ましくは１０ｎＭ以下のＫｄ、及び更により好ましくは３ｎＭ未満のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は高分子質量タウ複合体上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。これは、該抗体又は断片が、１０ｎＭ～１ｎＭの値のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は高分子質量タウ複合体上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。

【０１９５】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、

－ＣＤＲトリプレットＨ１／Ｈ２／Ｈ３；及び

－ＣＤＲトリプレットＬ１／Ｌ２／Ｌ３；

からなる群から選択される少なくとも１つのＣＤＲトリプレットを含み、

ここで、Ｈ１は、配列番号１９から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号１９との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ２は、配列番号２０から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号２０との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ３は、配列番号２１から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号２１との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ１は、配列番号２２から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号２２との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ２は、配列番号２３から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号２３との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、及びＬ３は、配列番号２４から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号２４との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、かつ該抗体又は抗体断片は、それが、例えば、ヒトタウアイソトープｈＴＡＵ４０の高分子質量タウ複合体及びエピトープ１６－ＧＴＹＧＬＧＤＲＫ－２４（配列番号２７）を認識することを特徴とする（そのような抗体を以後ＡＤｘ２１５と称することができる）。これは、それがはるかにより高い親和性（短縮された露光時間）を有することを更に特徴とする。これは、該抗体又は断片が、３０ｎＭ以下のＫｄ、好ましくは１０ｎＭ以下のＫｄ、及び更により好ましくは３ｎＭ未満のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は高分子質量タウ複合体上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。これは、該抗体又は断片が、１０ｎＭ～１ｎＭの値のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は（高分子質量タウ複合体）上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。

【０１９６】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、

－ＣＤＲトリプレットＨ１／Ｈ２／Ｈ３；及び

－ＣＤＲトリプレットＬ１／Ｌ２／Ｌ３；

からなる群から選択される少なくとも１つのＣＤＲトリプレットを含み、

ここで、Ｈ１は、配列番号１９との少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ２は、配列番号２０との少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ３は、配列番号２１との少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ１は、配列番号２２との少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ２は、配列番号２３との少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、及びＬ３は、配列番号２４との少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、かつ該抗体又は抗体断片は、それが、例えば、ヒトタウアイソトープｈＴＡＵ４０の高分子質量タウ複合体及びエピトープ１６－ＧＴＹＧＬＧＤＲＫ－２４（配列番号２７）を認識することを特徴とする（そのような抗体を以後ＡＤｘ２１５と称することができる）。これは、それがはるかにより高い親和性（短縮された露光時間）を有することを更に特徴とする。これは、該抗体又は断片が、３０ｎＭ以下のＫｄ、好ましくは１０ｎＭ以下のＫｄ、及び更により好ましくは３ｎＭ未満のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は高分子質量タウ複合体上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とす

ることができる。これは、該抗体又は断片が、１０ｎＭ～１ｎＭの値のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は高分子質量タウ複合体上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。

【０１９７】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、

－ＣＤＲトリプレットＨ１／Ｈ２／Ｈ３；及び

－ＣＤＲトリプレットＬ１／Ｌ２／Ｌ３；

からなる群から選択される少なくとも１つのＣＤＲトリプレットを含み、

ここで、Ｈ１は、配列番号１９との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ２は、配列番号２０との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ３は、配列番号２１との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ１は、配列番号２２との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ２は、配列番号２３との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、及びＬ３は、配列番号２４との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、かつ該抗体又は抗体断片は、それが、例えば、ヒトタウアイソトープｈＴＡＵ４０の高分子質量タウ複合体及びエピトープ１６－ＧＴＹＧＬＧＤＲＫ－２４（配列番号２７）を認識することを特徴とする（そのような抗体を以後ＡＤｘ２１５と称することができる）；これは、それがはるかにより高い親和性（短縮された露光時間）を有することを更に特徴とする。これは、該抗体又は断片が、３０ｎＭ以下のＫｄ、好ましくは１０ｎＭ以下のＫｄ、及び更により好ましくは３ｎＭ未満のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は高分子質量タウ複合体上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。これは、該抗体又は断片が、１０ｎＭ～１ｎＭの値のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は高分子質量タウ複合体上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。

【０１９８】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、

－ＣＤＲトリプレットＨ１／Ｈ２／Ｈ３；及び

－ＣＤＲトリプレットＬ１／Ｌ２／Ｌ３；

からなる群から選択される少なくとも１つのＣＤＲトリプレットを含み、

ここで、Ｈ１は、配列番号１２との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ２は、配列番号１９との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ３は、配列番号２０との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ１は、配列番号２１との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ２は、配列番号２２との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、及びＬ３は、配列番号２３との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、かつ該抗体又は抗体断片は、それが、例えば、ヒトタウアイソトープｈＴＡＵ４０の高分子質量タウ複合体及びエピトープ１６－ＧＴＹＧＬＧＤＲＫ－２４（配列番号２７）を認識することを特徴とする（そのような抗体を以後ＡＤｘ２１５と称することができる）。これは、それがはるかにより高い親和性（短縮された露光時間）を有することを更に特徴とする。これは、該抗体又は断片が、３０ｎＭ以下のＫｄ、好ましくは１０ｎＭ以下のＫｄ、及び更により好ましくは３ｎＭ未満のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は高分子質量タウ複合体上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。これは、該抗体又は断片が、１０ｎＭ～１ｎＭの値のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は高分子質量タウ複合体上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。

【０１９９】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、

－ＣＤＲトリプレットＨ１／Ｈ２／Ｈ３；及び

－ＣＤＲトリプレットＬ１／Ｌ２／Ｌ３；

からなる群から選択される少なくとも１つのＣＤＲトリプレットを含み、

ここで、Ｈ１は、配列番号１９との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ２は、配列番号２０との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｈ３は、配列番号２１との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ１は、配列番号２２との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、Ｌ２は、配列番号２３との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、及びＬ３は、配列番号２４との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有し、かつ該抗体又は抗体断片は、それが、例えば、ヒトタウアイソトープｈＴＡＵ４０の高分子質量タウ複合体及びエピトープ１６－ＧＴＹＧＬＧＤＲＫ－２４（配列番号２７）を認識することを特徴とする（そのような抗体を以後ＡＤｘ２１５と称することができる）。これは、それがはるかにより高い親和性（短縮された露光時間）を有することを更に特徴とする。これは、該抗体又は断片が、３０ｎＭ以下のＫｄ、好ましくは１０ｎＭ以下のＫｄ、及び更により好ましくは３ｎＭ未満のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は高分子質量タウ複合体上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。これは、該抗体又は断片が、１０ｎＭ～１ｎＭの値のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は高分子質量タウ複合体上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。

【０２００】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号２５及び２６からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号２５及び２６からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つの可変ドメインを含み、かつ該抗体又は抗体断片は、それが、例えば、ヒトタウアイソトープｈＴＡＵ４０の高分子質量タウ複合体及びエピトープ１６－ＧＴＹＧＬＧＤＲＫ－２４（配列番号２７）を認識することを特徴とする（そのような抗体を以後ＡＤｘ２１５と称することができる）。これは、それがはるかにより高い親和性（短縮された露光時間）を有することを更に特徴とする。これは、該抗体又は断片が、３０ｎＭ以下のＫｄ、好ましくは１０ｎＭ以下のＫｄ、及び更により好ましくは３ｎＭ未満のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は高分子質量タウ複合体上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。これは、該抗体又は断片が、１０ｎＭ～１ｎＭの値のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は（高分子質量タウ複合体）上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。

【０２０１】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号２５のアミノ酸配列、又は配列番号２５のアミノ酸配列との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含み、かつ該抗体又は抗体断片は、それが、例えば、ヒトタウアイソトープｈＴＡＵ４０の高分子質量タウ複合体及びエピトープ１６－ＧＴＹＧＬＧＤＲＫ－２４（配列番号２７）を認識することを特徴とする（そのような抗体を以後ＡＤｘ２１５と称することができる）。これは、それがはるかにより高い親和性（短縮された露光時間）を有することを更に特徴とする。これは、該抗体又は断片が、３０ｎＭ以下のＫｄ、好ましくは１０ｎＭ以下のＫｄ、及び更により好ましくは３ｎＭ未満のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は高分子質量タウ複合体上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。これは、該抗体又は断片が、１０ｎＭ～１ｎＭの値のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は高分子質量タウ複合体上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。

【０２０２】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号２６のアミノ酸配列、又は配列番号２６のアミノ酸配列との少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含み、かつ該抗体又は抗体断片は、それが、例えば、ヒトタウアイソトープｈＴＡＵ４０の高分子質量タウ複合体及びエピトープ１６－ＧＴＹＧＬＧＤＲＫ－２４

（配列番号２７）を認識することを特徴とする（そのような抗体を以後ＡＤｘ２１５と称することができる）。これは、それがはるかにより高い親和性（短縮された露光時間）を有することを更に特徴とする。これは、該抗体又は断片が、３０ｎＭ以下のＫｄ、好ましくは１０ｎＭ以下のＫｄ、及び更により好ましくは３ｎＭ未満のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は高分子質量タウ複合体上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。これは、該抗体又は断片が、１０ｎＭ～１ｎＭの値のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は高分子質量タウ複合体上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。

【０２０３】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号２５のアミノ酸配列、又は配列番号２５のアミノ酸配列との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含み、かつ該抗体又は抗体断片は、それが、例えば、ヒトタウアイソトープｈＴＡＵ４０の高分子質量タウ複合体及びエピトープ１６－ＧＴＹＧＬＧＤＲＫ－２４（配列番号２７）を認識することを特徴とする（そのような抗体を以後ＡＤｘ２１５と称することができる）。これは、それがはるかにより高い親和性（短縮された露光時間）を有することを更に特徴とする。これは、該抗体又は断片が、３０ｎＭ以下のＫｄ、好ましくは１０ｎＭ以下のＫｄ、及び更により好ましくは３ｎＭ未満のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は高分子質量タウ複合体上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。これは、該抗体又は断片が、１０ｎＭ～１ｎＭの値のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は高分子質量タウ複合体上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。

【０２０４】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号２６のアミノ酸配列、又は配列番号２６のアミノ酸配列との少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含み、かつ該抗体又は抗体断片は、それが、例えば、ヒトタウアイソトープｈＴＡＵ４０の高分子質量タウ複合体及びエピトープ１６－ＧＴＹＧＬＧＤＲＫ－２４（配列番号２７）を認識することを特徴とする（そのような抗体を以後ＡＤｘ２１５と称することができる）。これは、それがはるかにより高い親和性（短縮された露光時間）を有することを更に特徴とする。これは、該抗体又は断片が、３０ｎＭ以下のＫｄ、好ましくは１０ｎＭ以下のＫｄ、及び更により好ましくは３ｎＭ未満のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は高分子質量タウ複合体上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。これは、該抗体又は断片が、１０ｎＭ～１ｎＭの値のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は高分子質量タウ複合体上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。

【０２０５】

特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号２５のアミノ酸配列、又は配列番号２５のアミノ酸配列との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含み、かつ該抗体又は抗体断片は、それが、例えば、ヒトタウアイソトープｈＴＡＵ４０の高分子質量タウ複合体及びエピトープ１６－ＧＴＹＧＬＧＤＲＫ－２４（配列番号２７）を認識することを特徴とする（そのような抗体を以後ＡＤｘ２１５と称することができる）。これは、それがはるかにより高い親和性（短縮された露光時間）を有することを更に特徴とする。これは、該抗体又は断片が、３０ｎＭ以下のＫｄ、好ましくは１０ｎＭ以下のＫｄ、及び更により好ましくは３ｎＭ未満のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は高分子質量タウ複合体上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。これは、該抗体又は断片が、１０ｎＭ～１ｎＭの値のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は高分子質量タウ複合体上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる

。
【０２０６】
特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号２６のアミノ酸配列、又は配列番号２６のアミノ酸配列との少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含み、かつ該抗体又は抗体断片は、それが、例えば、ヒトタウアイソトープｈＴＡＵ４０の高分子質量タウ複合体及びエピトープ１６－ＧＴＹＧＬＧＤＲＫ－２４（配列番号２７）を認識することを特徴とする（そのような抗体を以後ＡＤｘ２１５と称することができる）。これは、それがはるかにより高い親和性（短縮された露光時間）を有することを更に特徴とする。これは、該抗体又は断片が、３０ｎＭ以下のＫｄ、好ましくは１０ｎＭ以下のＫｄ、及び更により好ましくは３ｎＭ未満のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は高分子質量タウ複合体上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。これは、該抗体又は断片が、１０ｎＭ～１ｎＭの値のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は高分子質量タウ複合体上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。
【０２０７】
特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号２５のアミノ酸配列、又は配列番号２５のアミノ酸配列との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含み、かつ該抗体又は抗体断片は、それが、例えば、ヒトタウアイソトープｈＴＡＵ４０の高分子質量タウ複合体及びエピトープ１６－ＧＴＹＧＬＧＤＲＫ－２４（配列番号２７）を認識することを特徴とする（そのような抗体を以後ＡＤｘ２１５と称することができる）。これは、それがはるかにより高い親和性（短縮された露光時間）を有することを更に特徴とする。これは、該抗体又は断片が、３０ｎＭ以下のＫｄ、好ましくは１０ｎＭ以下のＫｄ、及び更により好ましくは３ｎＭ未満のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は高分子質量タウ複合体上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。これは、該抗体又は断片が、１０ｎＭ～１ｎＭの値のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は高分子質量タウ複合体上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。
【０２０８】
特定の実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号２６のアミノ酸配列、又は配列番号２６のアミノ酸配列との少なくとも９８％の同一性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含み、かつ該抗体又は抗体断片は、それが、例えば、ヒトタウアイソトープｈＴＡＵ４０の高分子質量タウ複合体及びエピトープ１６－ＧＴＹＧＬＧＤＲＫ－２４（配列番号２７）を認識することを特徴とする（そのような抗体を以後ＡＤｘ２１５と称することができる）。これは、それがはるかにより高い親和性（短縮された露光時間）を有することを更に特徴とする。これは、該抗体又は断片が、３０ｎＭ以下のＫｄ、好ましくは１０ｎＭ以下のＫｄ、及び更により好ましくは３ｎＭ未満のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は高分子質量タウ複合体上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。これは、該抗体又は断片が、１０ｎＭ～１ｎＭの値のＫｄを特徴とする配列番号２７のエピトープ又は高分子質量タウ複合体上の配列番号２７のエピトープに対する結合親和性を有することを特徴とすることができる。
【０２０９】
代わりの実施形態において、抗体又は抗体断片は、配列番号２５及び２６からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号２５及び２６からなる群から選択されるアミノ酸配列との少なくとも８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９、もしくは１００％の同一性を有するアミノ酸配列を有する少なくとも１つの可変ドメインを含む。
【０２１０】

「相補性決定領域」又は「ＣＤＲ」という用語は、Ｈ（重）鎖又はＬ（軽）鎖のいずれかの可変領域（それぞれ、V_H及びV_Lと略される）を指し、抗原性標的に特異的に結合することができるアミノ酸配列を含有する。これらのＣＤＲ領域が、特定の抗原性決定構造に対する抗体の特異性の主要因である。そのような領域は、「超可変領域」とも称される。ＣＤＲは、可変領域内のアミノ酸の不連続なストレッチを表すが、種を問わず、可変重鎖及び軽鎖領域内のこれらの重要なアミノ酸配列の位置的配置は、可変鎖のアミノ酸配列内で同様の配置を有することが分かっている。抗体の認められているＣＤＲ領域及び可変ドメインは、当業者に公知であり、（Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．，１９９１）及び（Ｐａｄｌａｎ　ｅｔ　ａｌ．，１９９５）に記載されている。

【０２１１】

当業者は、同様の抗原特異性を有する異なる抗体の対応するＣＤＲのアラインメントにより、アラインメント中の全ての配列で保存されている、すなわち、同一であるアラインメント中の位置が、抗体の抗原特異性に重要であるという概念をよく知っている。これらの重要な位置における特定のＣＤＲの残基は、「特異性決定残基」又は「ＳＤＲ」として知られている。結果として、保存されていない位置は、抗体の特異性にはそれほど寄与せず、抗体の抗原特異性に実質的に影響を及ぼすことなく置換することができる。従って、当業者は、抗体又は抗体断片の抗原特異性に実質的に影響を及ぼすことなく、どの残基を置換することができるかを決定することができる。同様に、当業者は、特定のＣＤＲが本発明の抗体の対応するＣＤＲと同様の抗原特異性を有するために必要とされる抗体の特定のＣＤＲと本発明の抗体の対応するＣＤＲの間の最小配列同一性を決定することができる。可変領域についても同じことが言える。

【０２１２】

本明細書で使用されるように、２以上のアミノ酸配列又は２以上のヌクレオチド配列間の「パーセンテージ同一性」又は「％同一性」は、％で表された：

－両方の配列で同一である（すなわち、一致する）アミノ酸配列又はヌクレオチド配列の最適なアラインメント中のアミノ酸又はヌクレオチドの数

－アラインメントの長さ、すなわち、もしあれば、ギャップを含めて、アラインされた位置の数

の割合を指す。

【０２１３】

好ましい実施形態において、本発明の抗体は、ブダペスト条約の下、ベルギー・コーディネイティッド・コレクションズ・オブ・マイクロオーガニズムズＢＣＣＭ（商標）／ＬＭＢＰコレクションに、番号ＬＭＢＰ　８３４７ＣＢで寄託されたハイブリドーマ細胞株によって分泌される。このハイブリドーマ細胞株及び分泌されたモノクローナル抗体を、以後、ＡＤｘ２１０、ＩＧＨ－５９３、及び／又は７Ｇ１Ｇ３と称する。本発明の別の好ましいモノクローナル抗体は、ブダペスト条約の下、ベルギー・コーディネイティッド・コレクションズ・オブ・マイクロオーガニズムズＢＣＣＭ（商標）／ＬＭＢＰコレクションに、番号ＬＭＢＰ　８３４８ＣＢで寄託されたハイブリドーマ細胞株によって分泌される。このハイブリドーマ細胞株及び分泌されたモノクローナル抗体を、以後、ＡＤｘ２１１、ＩＧＨ－６０３、及び／又は２３Ｈ５Ｇ１１と称する。本発明の別の好ましい抗体は、ブダペスト条約の下、ベルギー・コーディネイティッド・コレクションズ・オブ・マイクロオーガニズムズＢＣＣＭ（商標）／ＬＭＢＰコレクションに、番号ＬＭＢＰ　９６７９ＣＢの下で寄託されたハイブリドーマ細胞株ＡＤｘ２１５によって分泌される。このハイブリドーマ細胞株及び分泌されたモノクローナル抗体を、以後、ＡＤｘ２１０と称する。「ハイブリドーマ」という用語は、当技術分野で十分に認識されており、単一の抗体産生細胞クローンと不死細胞又は腫瘍細胞の融合によって得られる細胞株を指す。本テキストの全体を通じて使用されるように、ＡＤｘ及びＡＤＸという用語は互換的に使用される。

【０２１４】

タンパク質送達を用いて、本発明のタウ抗体、タウ抗体様スカフォード、又はタウ抗体

断片を細胞内に送達することができる。タンパク質送達、すなわち、タンパク質形質導入は、ペプチド又はタンパク質モチーフが細胞形質膜を横断するプロセスである。送達タンパク質としては、細胞内タンパク質、細胞表面タンパク質、生体活性ペプチド、タンパク質－核酸コンジュゲート、ペプチド－核酸コンジュゲート、融合タンパク質、合成ペプチド、タンパク質－ナノ粒子コンジュゲート、タンパク質－ポリマーコンジュゲート、タンパク質－有機化学物質もしくはタンパク質－無機化学物質のコンジュゲート、多タンパク質複合体、又は任意のアミノ酸含有部分を挙げることができる。研究者により、細胞内へのタンパク質送達を媒介するいくつかのタンパク質形質導入ドメイン（ＰＴＤ）が開発されている。これらのＰＴＤ又はシグナルペプチド配列は、細胞内でのタンパク質分泌を通常媒介する１５～３０アミノ酸の天然のポリペプチドである。それらは、正電荷を有するアミノ末端、中央の疎水性コア、及びシグナルペプチダーゼによって認識されるカルボキシル末端切断部位から構成される。最近、研究者により、いくつかの膜転移ペプチドが、溶液ベースのタンパク質トランスフェクションプロトコルを用いて、抗体を含む、ポリペプチド、タンパク質ドメイン、及び全長タンパク質の細胞内への送達をうまく媒介することができることが示された。最近、研究者により、タンパク質送達のための脂質リポソームなどの使用も示された。これらの技術は、本発明のタウ抗体、タウ抗体様スカフォード、又はタウ抗体断片を細胞に送達するために有用である。

【０２１５】

本発明はまた、表面媒介性送達を用いて生細胞を本発明のタウ抗体、タウ抗体様スカフォード、又はタウ抗体断片でトランスフェクトする方法を開示している。本方法の一実施形態によれば、細胞に導入されるべき本発明のタウ抗体、タウ抗体様スカフォード、又はタウ抗体断片を有する基質表面を、細胞の培養に使用する。細胞に導入されるべき本発明のタウ抗体、タウ抗体様スカフォード、又はタウ抗体断片を、表面に適用する前に、キャリア試薬と予め複合体化させる。その後、細胞を調製した表面に重層する。キャリア試薬は、関心対象のタンパク質の細胞内への送達を促進し、それにより、細胞をトランスフェクトする。或いは、本発明のタウ抗体、タウ抗体様スカフォード、又はタウ抗体断片を好適な基質表面に付着させ、その後、キャリア試薬をタンパク質に添加し、この表面上で複合体化させる。別の実施形態において、融合タンパク質を直接使用する。融合タンパク質は、自発的な細胞内浸透の特性を示す任意の種類のタンパク質又はペプチド（例えば、単純ヘルペスタンパク質、ＶＰ２２）と共有結合的に融合した、本発明のタウ抗体、タウ抗体様スカフォード、又はタウ抗体断片を含有する。好ましくは、本発明のタウ抗体、タウ抗体様スカフォード、又はタウ抗体断片及びキャリア試薬を含有する混合物は、タンパク質送達効率を高めるためのヘルパー試薬を含む。本方法は、タンパク質の細胞取込みのための最適化された条件下で９０％を超える効率をもたらす。本表面媒介性タンパク質送達技術は、「逆タンパク質送達」とも称される。そのような送達をインビボ又はインビトロで使用することができる。

【０２１６】

本発明の特定の実施形態をキャリア試薬に関して説明する。キャリア試薬は、種々の種を含むことができる。一実施形態において、キャリア試薬は、生体活性細胞膜透過試薬、又はタンパク質形質導入ドメイン（ＰＴＤ）（すなわち、約１５～約３０残基を含む単一ペプチド配列）を含有する他のペプチドである。タンパク質形質導入ドメイン（ＰＴＤ）は、タンパク質分泌を媒介し、正電荷を有するアミノ末端、中央の疎水性コア、及びシグナルペプチダーゼによって認識されるカルボキシル末端切断部位から構成される。そのような膜形質導入ペプチドの例としては、Ｔｒｏｊａｎペプチド、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）－１転写アクチベーター（ＴＡＴ）タンパク質又はその機能ドメインペプチド、並びに転移タンパク質、例えば、ショウジョウバエホメオティック転写因子アンテナペディア（Ａｎｔｐ）及び単純ヘルペスウイルスＤＮＡ結合タンパク質、ＶＰ２２などに由来するタンパク質形質導入ドメイン（ＰＴＤ）を含有する他のペプチドが挙げられる。いくつかの市販のペプチド、例えば、ペネトラチン１、Ｐｅｐ－１（Ｃｈａｒｉｏｔ試薬，Ａｃｔｉｖｅ　Ｍｏｔｉｆ社，ＣＡ）、及びＨＩＶ　ＧＰ４１断片（５１９－５４１）を使

用することができる。他のキャリア試薬としては、タンパク質を原核細胞と真核細胞の両方における特定の場所にターゲッティングするために効率良く使用されているシグナル配列、及びいくつかの膜転移ペプチドが挙げられる。膜転移ペプチドは、膜転移、及び標準的な溶液ベースのトランスフェクションプロトコルを用いた細胞内へのポリペプチド、タンパク質ドメイン、全長タンパク質、又は抗体の導入を媒介するためにうまく適用されている。キャリア試薬は、細胞表面受容体に特異的に結合し、それを活性化することができる生体活性ペプチド又はリガンドである。細胞表面受容体に結合した後、受容体及び結合したキャリア－タウ抗体複合体、キャリア－タウ抗体様スカフォード複合体、又はキャリア－タウ抗体断片複合体は、内在化を受けて、リガンド－抗体、リガンド－抗体断片、又はリガンド－抗体様スカフォード複合体を細胞内に送達する。タンパク質を、事前に又はインサイチュでリガンドと複合体化させることができる。リガンドを、非共有結合的相互作用、例えば、疎水性相互作用もしくは静電相互作用もしくはその両方によって、細胞に導入されるべきタウ抗体、タウ抗体様スカフォード、又はタウ抗体断片と複合体化させるか、又は共有結合的に、もしくはリガンド－受容体結合相互作用によってタンパク質と共役させることができる。例えば、キャリア試薬を、関心対象のタンパク質に特異的に結合することができるリガンドで修飾することができる。例を示すと、「Ｓｔｒｅｐｔａｐｈａｇｅ」と呼ばれる合成リガンドは、細胞形質膜のコレステロール及びスフィンゴ脂質に富む脂質ラフトサブドメインとの非共有結合的相互作用を促進することにより、ストレプトアビジンを哺乳動物細胞に効率良く送達した（Ｈｕｓｓｅｙ，Ｓ．Ｌ．＆ Ｐｅｔｅｒｓｏｎ，Ｂ．Ｒ．，Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，１２４，６２６５－６２７３（２００２））。

【０２１７】

別の実施形態において、キャリア試薬は、本発明のタウ抗体、タウ抗体様スカフォード、又はタウ抗体断片と複合体化し、細胞内へのタンパク質の送達を促進することができる脂質リポソームなどである。例えば、製剤中にカプセル化されたタンパク質は、送達用の負の電荷を有するビヒクルに結合する（Ｏ．Ｚｅｌｐｈａｔｉ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏ．Ｃｈｅｍ．，２７６，３５１０３－１９（２００１））。ＢｉｏＰＯＲＴＥＲ（Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ）、又はＰｒｏＶｅｃｔｉｎ（Ｉｍｇｅｎｅｘ，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，Ｃａｌｉｆ．）などの、市販の製品を使用することができる。

【０２１８】

タンパク質送達試薬（例えば、Ａｃｔｉｖｅ Ｍｏｔｉｆ製のＣｈａｒｉｏｔ（商標）、又はＧｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ製のＢｉｏＰＯＲＴＥＲ（登録商標））は、遺伝子発現と関連する従来のＤＮＡトランスフェクション、転写、及びタンパク質翻訳プロセスを迂回することにより、時間の節約を助けることができる。利用される特定の試薬の性質によっては、いくつかの実施形態において、融合タンパク質又は化学的結合は、必要とされない。試薬は、タンパク質との複合体を形成し、この巨大分子を安定化し、それが送達中に分解するのを防止する。ひとたび細胞内に内在化されると、複合体は解離し、巨大分子が生物学的に活性のある状態になり、その標的オルガネラへと自由に向かうことができる。これは、本発明のタウ抗体、タウ抗体様スカフォード、又はタウ抗体断片を標的細胞内に送達する代替システムである。

【０２１９】

本発明の特定の実施形態についてヘルパー試薬に関して説明する。一実施形態において、ヘルパー試薬は、ＤＥＡＥ－デキストラン、デキストラン、ポリリジン、及びポリエチルアミンなどのポリマーである。別の実施形態において、ヘルパー試薬は、フィブロネクチン及びゼラチンなどの細胞接着増強タンパク質であることもできる。ヘルパー試薬は、糖に基づくゼラチン（例えば、ポリエチレングリコール）又は合成もしくは化学物質に基づくゼラチン、例えば、アクリルアミドであることができる。更なる実施形態において、ヘルパー試薬は、ＲＧＤペプチド、例えば、Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ａｓｐ－Ｓｅｒ（配列番号５２）、Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ａｓｐ－Ｓｅｒ－Ｐｒｏ－Ａｌａ－Ｓｅｒ－Ｓｅｒ－Ｌｙｓ－Ｐｒｏ（配列番号５３）などであることができる。或いは、ヘルパー試薬は、ヒドロゲル

とＲＧＤペプチドの混合物、及び前述の分子のいずれかの組合せであることができる。ヘルパー試薬の使用は、細胞内へのタンパク質送達の効率を高める。

【０２２０】

本発明の抗体又は抗体断片を産生する単離された細胞株も提供される。遺伝的に安定であり、培養することができる真核細胞の均質な集団が「細胞株」に含まれることが理解されるべきである。好ましくは、細胞株は、動物起源である。より好ましくは、細胞株は、不死化されている。或いは、細胞株は、植物又は真菌起源である。一実施形態において、本発明の細胞株は、本発明の抗体又は抗体断片をコードするポリヌクレオチドを、この抗体又は抗体断片の効率的な産生を可能にするための当業者に公知の好適な転写及び翻訳制御エレメントの下に含む核酸による遺伝的形質転換によって得られる。別の実施形態において、細胞株は、

－ブダペスト条約の下、ベルギー・コーディネイティッド・コレクションズ・オブ・マイクロオーガニズムズＢＣＣＭ（商標）／ＬＭＢＰコレクションに、番号ＬＭＢＰ　８３４７ＣＢの下で寄託されたハイブリドーマ細胞株ＡＤＸ２１０、及び

－ブダペスト条約の下、ベルギー・コーディネイティッド・コレクションズ・オブ・マイクロオーガニズムズＢＣＣＭ（商標）／ＬＭＢＰコレクションに、番号ＬＭＢＰ　８３４８ＣＢの下で寄託されたハイブリドーマ細胞株ＡＤＸ２１１、及び

－ブダペスト条約の下、ベルギー・コーディネイティッド・コレクションズ・オブ・マイクロオーガニズムズＢＣＣＭ（商標）／ＬＭＢＰコレクションに、番号ＬＭＢＰ　９６７９ＣＢの下で寄託されたハイブリドーマ細胞株ＡＤｘ２１５

からなる群から選択されるハイブリドーマ細胞株である。

【０２２１】

本発明の抗体又は抗体断片をコードするポリヌクレオチドを含む単離された核酸が更に提供される。好ましい実施形態において、該ポリヌクレオチドは、配列番号１５～配列番号１８及び配列番号１９～配列番号２６の抗体断片をコードするヌクレオチド配列を含むか、又は該配列から本質的になるか、又は該配列からなる。より好ましい実施形態において、該ポリヌクレオチドは、配列番号１５～配列番号１８又は配列番号２５～配列番号２６又は配列番号９～配列番号１４又は配列番号１９～配列番号２４又は配列番号２５～配列番号２６の抗体断片をコードするヌクレオチド配列を含むか、又は該配列から本質的になるか、又は該配列からなる。更により好ましい実施形態において、該ポリヌクレオチドは、配列番号９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、及び２６から選択される抗体断片をコードするヌクレオチド配列を含むか、又は該配列から本質的になるか、又は該配列からなる。

【０２２２】

重鎖及び軽鎖から構成される従来型抗体について、個々の鎖をコードするポリヌクレオチドを、本発明の抗体を産生する成熟Ｂ細胞又はハイブリドーマから、例えば、重鎖及び軽鎖遺伝子又はｃＤＮＡの増幅に好適である、当業者に公知の、プライマーを用いたポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）又は逆転写（ＲＴ）－ＰＣＲによって単離することができる。重鎖抗体について、単一の鎖をコードするポリヌクレオチドを、本発明の抗体を産生する成熟Ｂ細胞又はハイブリドーマから、例えば、重鎖遺伝子又はｃＤＮＡの増幅に好適であるプライマーを用いたポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）又は逆転写（ＲＴ）－ＰＣＲによって単離することができる。

【０２２３】

得られたポリヌクレオチドを更に操作して、本発明の抗体断片をコードする別のポリヌクレオチドを得るか、又は本明細書に記載されるような、本発明の抗体及び抗体断片をコードする組換え遺伝子コンストラクトを作製することができることが当業者には明らかである。本発明のポリヌクレオチドをランダムな又は部位特異的な突然変異誘発によって更に改変し、コードされる抗体又は抗体断片の特異性又は親和性を改善することができる。当業者は、原核及び真核発現に好適な遺伝子コンストラクトを得るための、すなわち、遺伝子コンストラクトへのプロモーター及びターミネーターなどの転写制御エレメントの付

加、並びにリボソーム侵入部位などの翻訳制御エレメントの付加による、組換えＤＮＡ技術にも十分に精通している。従って、本発明の核酸を、本発明の抗体及び抗体断片の異種産生を得るために、原核又は真核宿主細胞、例えば、細胞株又は生殖系列細胞に導入することができる。

【０２２４】

本発明の抗体のうちの１つに結合するタウ抗原断片をコードするポリヌクレオチドを含む単離された核酸が更に提供される。好ましい実施形態において、該ポリヌクレオチドは、ブダペスト条約の下、ベルギー・コーディネイティッド・コレクションズ・オブ・マイクロオーガニズムズＢＣＣＭ（商標）／ＬＭＢＰコレクションに、番号ＬＭＢＰ　９６７９ＣＢの下で寄託された細胞株ＡＤｘ２１５によって産生された抗体に結合するタウ抗原断片をコードするヌクレオチド配列を含む。好ましくは、ポリヌクレオチドは、配列番号２７のタウ抗原断片をコードするヌクレオチド配列を含むか、又は該配列から本質的になるか、又は該配列からなる。好ましくは、ポリヌクレオチドは、配列番号２８のタウ抗原断片をコードするヌクレオチド配列を含むか、又は該配列から本質的になるか、又は該配列からなる。

【０２２５】

動物においてリン酸化タウ凝集体に対する免疫応答を誘導する方法であって、該動物にリン酸化タウ凝集体を投与することを含む、方法も本発明によって提供される。好ましい実施形態において、リン酸化タウ凝集体は、（Ｖａｎｄｅｂｒｏｅｋ　ｅｔ　ａｌ．，２００５）及び実施例に記載されているような、ＰＨＯ８５遺伝子が欠失している酵母株（ｐｈｏ８５Δ株）における２Ｎ／４Ｒタウの産生によって得られる。より好ましい実施形態において、リン酸化タウ凝集体は可溶性である。更により好ましい実施形態において、リン酸化タウ凝集体は、リン酸化タウの二量体及び／又は三量体を含む。

【０２２６】

免疫原性リン酸化タウ凝集体は、単独で又は好適なアジュバントと組み合わせて投与することができる。好適なアジュバントは、免疫原性リン酸化タウ凝集体の投与の前、その後、又はそれと同時に投与することができる。好ましいアジュバントは、アルミニウム塩（ミョウバン）、例えば、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、及び硫酸アルミニウムである。アジュバントは、他の特定の免疫刺激剤、例えば、３－ｄｅ－Ｏ－アセチル化モノホスホリル脂質Ａ（３－ＤＭＰ）、ポリマーアミノ酸もしくは単量体アミノ酸、例えば、ポリグルタミン酸もしくはポリリジンとともに、又はこれらなしで使用することができる。そのようなアジュバントは、他の特定の免疫刺激剤、例えば、ムラミルペプチド（例えば、Ｎ－アセチルムラミル－Ｌ－トレオニル－Ｄ－イソグルタミン（ｔｈｒ－ＭＤＰ）、Ｎ－アセチル－ノルムラミル－Ｌ－アラニル－Ｄ－イソグルタミン（ｎｏｒ－ＭＤＰ）、リポソーム性ムラミルトリペプチドホスファチジルエタノールアミン（ＭＴＰ－ＰＥ）、Ｎ－アセチルグルコサミニル－Ｎ－アセチルムラミル－Ｌ－Ａｌａ－Ｄ－ｉｓｏＧｌｕ－Ｌ－Ａｌａ－ジパルミトキシプロピルアミド（ＤＴＰ－ＤＰＰ、Ｔｈｅｒａｍｉｄｅ（商標））、もしくは他の細菌細胞壁成分とともに、又はこれらなしで使用することができる。水中油型エマルジョンとしては、微小流動化装置を用いてサブミクロン粒子に製剤化される、５％スクアレン、０．５％Ｔｗｅｅｎ　８０、及び０．５％Ｓｐａｎ　８５を含有する（任意に様々な量のＭＴＰ－ＰＥを含有する）ＭＦ５９（その全体が参照により本明細書に組み込まれる、Ｖａｎ　Ｎｅｓｔ　ｅｔ　ａｌ．に対するＷＯ９０／１４８３７号を参照されたい）；サブミクロンエマルジョンになるように微小流動化されているか、又はより大きい粒径のエマルジョンを生成するようにボルテックス処理されているかのいずれかの、１０％スクアレン、０．４％Ｔｗｅｅｎ　８０、５％プルロニックブロック化ポリマーＬ１２１、及びｔｈｒ－ＭＤＰを含有するＳＡＦ；並びに２％スクアレン、０．２％Ｔｗｅｅｎ　８０、並びにモノホスホリル脂質Ａ（ＭＰＬＡ）、ジミコール酸トレハロース（ＴＤＭ）、及び細胞壁骨格（ＣＷＳ）からなる群から選択される１以上の細菌細胞壁成分、好ましくは、ＭＰＬ＋ＣＷＳ（Ｄｅｔｏｘ（商標））を含有するＲｉｂｉ（商標）アジュバント系（ＲＡＳ）（Ｒｉｂｉ　ＩｍｍｕｎｏＣｈｅｍ、Ｈａｍｉｌｔｏ

ｎ、Ｍｏｎｔ．）が挙げられる。他のアジュバントとしては、完全フロイントアジュバント（ＣＦＡ）、不完全フロイントアジュバント（ＩＦＡ）、及びサイトカイン、例えば、インターロイキン（ＩＬ－１、ＩＬ－２、及びＩＬ－１２）、マクロファージコロニー刺激因子（Ｍ－ＣＳＦ）、並びに腫瘍壊死因子（ＴＮＦ）が挙げられる。アジュバントの選択は、アジュバントを含有する免疫原性製剤の安定性、投与の経路、投与スケジュール、ワクチン接種されている種に対するアジュバントの効力によって決まり、ヒトにおいて、薬学的に許容されるアジュバントは、関連規制機関によってヒト投与が承認されているか、又は承認され得るアジュバントである。例えば、ミョウバン、ＭＰＬ、又は不完全フロイントアジュバント（その全体が参照により本明細書に組み込まれる、Ｃｈａｎｇ ｅｔ ａｌ，Ａｄｖａｎｃｅｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｒｅｖｉｅｗｓ ３２：１７３－１８６（１９９８））単独又は任意にこれらの全ての組合せは、ヒト投与に好適である。

【０２２７】

好ましい実施形態において、リン酸化タウ凝集体に対する免疫応答を誘導する方法は、リン酸化タウ凝集体に優先的に結合するタウ特異的抗体又は抗体断片を得るためのものである。免疫化後に抗体を得る方法は、当業者に公知である。

【０２２８】

代替法として、本発明の抗体及び抗体断片を、当技術分野で公知の様々なファージディスプレイ法を用いて得ることができる。ファージディスプレイ法において、機能的抗体ドメインは、それらをコードするポリヌクレオチド配列を担持するファージ粒子の表面に提示される。特に、そのようなファージを利用して、レパートリー又はコンビナトリアル抗体ライブラリー（例えば、ヒト又はマウス）から発現されるエピトープ結合ドメインを提示することができる。関心対象の抗原に結合するエピトープ結合ドメインを発現するファージは、抗原を用いて、例えば、固体表面又はビーズに結合した又は捕捉された標識抗原を用いて選択又は同定することができる。これらの方法で使用されるファージは、通常、ファージ遺伝子ＩＩＩ又は遺伝子ＶＩＩＩタンパク質のいずれかに組換えによって融合された抗原結合抗体ドメインを有するファージから発現されるｆｄ及びＭ１３結合ドメインを含む糸状ファージである。本発明の抗体又は抗体断片を作製するために使用することができるファージディスプレイ法の例としては、（Ｋｅｔｔｌｅｂｏｒｏｕｇｈ ｅｔ ａｌ．，１９９４；Ｂｕｒｔｏｎ ａｎｄ Ｂａｒｂａｓ，ＩＩＩ，１９９４；Ｂｒｉｎｋｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，１９９５；Ａｍｅｓ ｅｔ ａｌ．，１９９５；Ｐｅｒｓｉｃ ｅｔ ａｌ．，１９９７）；ＷＯ／１９９２／００１０４７号；ＷＯ５９０１０２８０９号；ＷＯ９１／１０７３７号；ＷＯ９２／０１０４７号；ＷＯ９２／１８６１９号；ＷＯ９３／１１２３６号；ＷＯ９５／１５９８２号；ＷＯ９５／２０４０１号；並びに米国特許第５，６９８，４２６号；第５，２２３，４０９号；第５，４０３，４８４号；第５，５８０，７１７号；第５，４２７，９０８号；第５，７５０，７５３号；第５，８２１，０４７号；第５，５７１，６９８号；第５，４２７，９０８号；第５，５１６，６３７号；第５，７８０，２２５号；第５，６５８，７２７号；第５，７３３，７４３号及び第５，９６９，１０８号）に開示されているものが挙げられる。

【０２２９】

ファージ選択後、断片をコードするファージの領域を単離し、組換えＤＮＡ技術を用いて、哺乳動物細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵母、及び細菌を含む、選択された宿主内での発現によってエピトープ結合断片を作製するために使用することができる。例えば、抗原結合断片を組換えによって産生する技術を、当技術分野で公知の方法、例えば、ＷＯ９２／２２３２４号；（Ｂｅｔｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９８８；Ｍｕｌｌｉｎａｘ ｅｔ ａｌ．，１９９２；Ｓａｗａｉ ｅｔ ａｌ．，１９９５）に開示されている方法を用いて利用することもできる。単鎖Ｆｖ及び抗体を産生するために使用することができる技術の例としては、米国特許第４，９４６，７７８号及び第５，２５８，４９８号；（Ｓｋｅｒｒａ ａｎｄ Ｐｌｕｃｋｔｈｕｎ，１９８８；Ｈｕｓｔｏｎ ｅｔ ａｌ．，１９９１；Ｓｈｕ ｅｔ ａｌ．，１９９３）に記載のものが挙げられる。

【０２３０】
本発明の抗体は、リン酸化タウポリペプチドもしくはその機能断片及び／又はオリゴマー形態のリン酸化タウポリペプチドを検出することによる、アルツハイマー病などの神経学的障害の診断又は検出方法で使用することができる。
【０２３１】
タウ関連疾患もしくは状態又は個体におけるタウ関連疾患もしくは状態の素因の診断又は検出は、試料中で又はインサイチュでタウタンパク質のエピトープに対するモノクローナル抗体又はその機能断片の免疫特異的結合を検出することによって達成することができ、該診断又は検出には、タウ抗原を含むことが疑われる試料又は特定の身体部分もしくは身体領域をタウタンパク質のエピトープに結合する抗体と接触させること、抗体をタウ抗原と結合させて、免疫学的複合体を形成させること、免疫学的複合体の形成を検出すること、及び免疫学的複合体の有無を試料又は特定の身体部分もしくは身体領域中のタウ抗原の有無と関連付けること、任意に該免疫学的複合体の量を正常対照値と比較することが含まれ、ここで、正常対照値と比較した該複合体の量の増加は、該個体が、タウ関連疾患もしくは状態に罹患しているか、又はそれを発症するリスクがあることを示す。好ましい実施形態において、タウ関連疾患もしくは状態又は個体におけるタウ関連疾患もしくは状態の素因の診断又は検出は、凝集タウに対する本発明のモノクローナル抗体の免疫特異的結合を検出することによって達成される。好ましくは、本検出方法で使用するための抗体は、ＡＤＸ２１０又はその機能断片である。好ましくは、本検出方法で使用するための抗体は、ＡＤＸ２１５又はその機能断片である。
【０２３２】
「診断」は、本明細書において、疾患の状態及び進行をモニタリングすること、治療後の疾患の再発をチェックすること、及び特定の治療の成功をモニタリングすることを含むものと定義される。検査は、予後値を有する場合もある。検査の予後値は、タウオパチーに対する潜在的感受性のマーカーとして使用することができる。従って、リスクのある患者を、患者において同定可能な症状に関して、疾患が発症する前に同定することができる。
【０２３３】
従って、本発明は、本発明の抗体及び抗体断片が使用されるリン酸化タウ凝集体の検出方法を提供する。一実施形態において、本方法は、以下の工程：
－本発明の抗体又は抗体断片を試料と抗原－抗体複合体を産生するのに好適な条件下で接触させる工程；及び
－該抗原－抗体複合体の形成を検出する工程
を含む。
【０２３４】
免疫特異的結合を検出するための免疫学的方法には、流体もしくはゲル沈降反応、免疫拡散（一元もしくは二元）、凝集アッセイ、免疫電気泳動、放射免疫アッセイ（ＲＩＡ）、酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）、ウェスタンブロット、ドットブロット、スロットブロット、リポソーム免疫アッセイ、ライン免疫アッセイ（ＬＩＡ）、補体固定アッセイ、蛍光免疫アッセイ、Ｌｕｍｉｎｅｘ（商標）ｘＭＡＰ（商標）、免疫蛍光フローサイトメトリー、プロテインＡ免疫アッセイ、又は免疫ＰＣＲが含まれるが、これらに限定されない。様々な免疫アッセイの概説は、（Ｗｉｌｄ Ｄ.（２００１），Ｔｈｅ Ｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ Ｈａｎｄｂｏｏｋ 第２版. Ｎａｔｕｒｅ Ｐｒ.，Ｌｏｎｄｏｎ，ＵＫ）及び（Ｇｈｉｎｄｉｌｉｓ Ａ. Ｌ.，Ｐａｖｌｏｖ Ａ. Ｒ.，Ａｔａｎａｓｓｏｖ Ｐ. Ｂ.（編）（２００２）Ｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ. Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ，ＵＳ）に示されている。免疫学的検出方法は、免疫組織化学、免疫蛍光顕微鏡法、及び免疫電子顕微鏡法を更に含む。
【０２３５】
一実施形態において、本発明の抗体又は抗体断片は、捕捉抗体として使用され、固相、

例えば、ビーズ、プレート、膜、又はチップに（例えば、共有結合的もしくは非共有結合的に、疎水性もしくは親水性相互作用、水素結合、又はファンデルワールス力を介して）結合することができる。生体分子、例えば、抗体又は抗原を固相にカップリングさせる方法は、当技術分野で周知である。それらは、例えば、二官能性連結剤を利用することができ、又は固相を、接触時に分子に結合することができる、反応基、例えば、エポキシドもしくはイミダゾールで処理することができる。リン酸化タウ凝集体を捕捉するために、２種以上の本発明の抗体又は抗体断片を同時に使用することができることが理解されるべきである。その後、固定化された本発明の抗体又は抗体断片を、リン酸化タウ凝集体について検査されるべき試料と接触させる。検査されるべき試料には、体試料、例えば、ＣＳＦ、血液、血漿、血清、尿などだけでなく、インビトロで作製された試料も含まれてよい。未結合の試料を除去した後、抗原－抗体複合体を、結合したリン酸化タウ凝集体の検出によって検出することができる。この検出は、凝集タウ、リン酸化タウ、又はタウに結合することができる抗体を用いることによって実施することができる。或いは、抗体－抗原複合体全体を検出する。

【０２３６】

代わりの実施形態において、捕捉は、凝集タウ、リン酸化タウ、又はタウに結合することができる抗体を用いて行なわれ、検出は、本発明の抗体又は抗体断片を用いることによって実施される。いずれの場合も、リン酸化タウ凝集体のアッセイの特異性は、捕捉用又は検出用のいずれかの本発明の抗体又は抗体断片を用いることによって得られる。

【０２３７】

抗原－抗体複合体の検出は、当業者に公知の様々な方法によって実施することができる。

【０２３８】

アッセイで使用される特定の標識又は検出可能基は、通常、それが、抗原に対する抗体又は抗体断片の特異的結合を顕著に妨げない限り、本発明の重要な側面ではない。検出可能基は、検出可能な物理的又は化学的特性を有する任意の材料であることができる。そのような検出可能標識は、免疫アッセイの分野において十分に開発されており、一般に、そのような方法で有用なほとんど全ての標識を本発明の方法に適用することができる。従って、標識は、分光学的、光化学的、生化学的、免疫化学的、電気的、光学的、放射線学的、又は化学的手段によって検出可能な任意の組成物である。本発明における有用な標識としては、磁気ビーズ（例えば、Ｄｙｎａｂｅａｄｓ（商標））、蛍光色素（例えば、フルオレセインイソチオシアネート、テキサスレッド、ローダミン）、放射性標識（例えば、３Ｒ、１２５１、３５Ｓ、１４Ｃ、又は３２ｐ）、酵素（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、ルシフェラーゼ、及びＥＬＩＳＡで一般に使用される他のもの）、並びに比色標識、例えば、コロイド金、色ガラス、又はプラスチック（例えば、ポリスチレン、ポリプロピレン、ラテックスなど）製のビーズが挙げられるが、これらに限定されない。上に示したように、多種多様な標識を使用することができ、標識の選択は、必要とされる感度、化合物とのコンジュゲーションの容易さ、安定性要件、利用可能な機器、及び使い捨ての設備によって決まる。非放射性標識は、間接的手段によって結合していることが多い。通常、リガンド分子（例えば、ビオチン）は、抗体に共有結合している。その結果、リガンドは、そもそも検出可能であるか、又はシグナル系、例えば、検出可能な酵素、蛍光化合物、もしくは化学発光化合物に共有結合しているかのいずれかである、抗リガンド（例えば、ストレプトアビジン）分子に結合する。いくつかのリガンド及び抗リガンドを使用することができる。リガンドが、天然の抗リガンド、例えば、ビオチン、チロキシン、及びコルチゾールを有する場合、それを、標識された天然の抗リガンドとともに使用することができる。或いは、ハプテン性又は抗原性化合物を抗体と組み合わせて使用することができる。抗体を、例えば、酵素又はフルオロフォアとのコンジュゲーションによって、シグナル発生化合物に直接コンジュゲートすることもできる。関心対象の酵素は、主に、ヒドロラーゼ、特に、ホスファターゼ、エステラーゼ、及びグリコシダーゼ、又はオキシドレダクターゼ、特に、ペルオキシダーゼである。蛍光化合物には

、フルオレセイン及びその誘導体、ローダミン及びその誘導体、ダンシル、ウンベリフェロンなどが含まれる。化学発光化合物には、ルシフェリン、及び２，３－ジヒドロフタラジンジオン、例えば、ルミノールが含まれる。他の標識又はシグナル発生系の総説は、米国特許第４，３９１，９０４号において入手可能である。標識を検出する手段は、当技術分野で周知である。従って、例えば、標識が放射性標識である場合、検出手段には、オートラジオグラフィーで見られるような、シンチレーションカウンター又は写真フィルムが含まれる。標識が蛍光標識である場合、それを、適当な波長の光でフルオロフォアを励起し、結果として生じる蛍光を検出することによって検出することができる。蛍光は、目視によって、写真フィルムによって、電子検出器、例えば、電荷結合素子（ＣＣＤ）又は光電子倍増管の使用によって、及び同様の方法によって検出することができる。同様に、酵素標識を、酵素の適当な基質を提供し、結果として生じる反応生成物を検出することによって検出することができる。最後に、簡単な比色標識は、標識と関連する色を単に観察することによって検出することができる。

【０２３９】

本明細書で使用されるように、「タウオパチー」又は「タウ関連疾患」は、脳内での微小管タンパク質タウの病的凝集を伴う任意の神経変性疾患を包含する。従って、家族性アルツハイマー病と孤発性アルツハイマー病の両方に加えて、本発明の方法を用いて治療することができる他のタウオパチーには、限定されないが、前頭側頭認知症、第１７番染色体と連鎖するパーキンソニズム（ＦＴＤＰ－１７）、進行性核上まひ、大脳皮質基底核変性症、ピック病、進行性皮質下グリオーシス、もつれのみの認知症、石灰化を伴うびまん性の神経原線維のもつれ、嗜銀顆粒性認知症、筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン－認知症症候群、ボクサー認知症、ダウン症、ゲルストマン・シュトロイスラー・シャインカー病、ハーラーフォルデン・スパッツ病（Ｈａｌｌｅｒｗｏｒｄｅｎ－Ｓｐａｔｚ ｄｉｓｅａｓｅ）、封入体筋炎、クロイツフェルト・ヤコブ病、多系統萎縮症（ｍｕｌｔｉｐｌｅ ｓｙｓｔｅｍ ａｔｒｏｐｙ）、ニーマン・ピック病Ｃ型、プリオンタンパク質脳アミロイド血管症、亜急性硬化性全脳炎、筋強直性ジストロフィー、神経原線維のもつれを伴う非グアム型（ｎｏｎ－ｇｕａｎａｍｉａｎ）運動ニューロン疾患、脳炎後パーキンソニズム、及び慢性外傷性脳症が含まれる。

【０２４０】

本発明の抗体は、ワクチン組成物による治療の後に、アルツハイマー病などの残存疾患をモニタリングする方法で使用することができる。ワクチン組成物による治療の後の個体における最小残存疾患のモニタリングは、試料中で又はインサイチュでタウタンパク質のエピトープに対するモノクローナル抗体又はその機能断片の免疫特異的結合を検出することによって達成することができ、該モニタリングには、タウ抗原を含むことが疑われる試料又は特定の身体部分もしくは身体領域をタウタンパク質のエピトープに結合する抗体と接触させること、抗体をタウ抗原と結合させて、免疫学的複合体を形成させること、免疫学的複合体の形成を検出すること、及び免疫学的複合体の有無を試料又は特定の身体部分もしくは身体領域中のタウ抗原の有無と関連付けること、任意に該免疫学的複合体の量を正常対照値と比較することが含まれ、ここで、正常対照値と比較した該凝集体の量の増加は、該個体が依然として最小残存疾患に罹患していることを示す。好ましい実施形態において、ワクチン組成物による治療の後の個体における最小残存疾患のモニタリングは、凝集タウに対する本発明のモノクローナル抗体の免疫特異的結合を検出することによって達成される。好ましくは、本検出方法で使用するための抗体は、ＡＤＸ２１０又はその機能断片である。好ましくは、本検出方法で使用するための抗体は、ＡＤＸ２１５又はその機能断片である。

【０２４１】

本発明の抗体は、ワクチン組成物による治療に対する患者の応答性を予測する方法で使用することもできる。ワクチン組成物による治療に対する患者の応答性の予測は、試料中で又はインサイチュでタウタンパク質のエピトープに対するモノクローナル抗体又はその機能断片の免疫特異的結合を検出することによって達成することができ、該予測には、タ

ウ抗原を含むことが疑われる試料又は特定の身体部分もしくは身体領域をタウタンパク質のエピトープに結合する抗体と接触させること、抗体をタウ抗原と結合させて、免疫学的複合体を形成させること、免疫学的複合体の形成を検出すること、及び免疫学的複合体の有無を試料又は特定の身体部分もしくは身体領域中のタウ抗原の有無と関連付けること、任意に治療の開始前及び開始後の該免疫学的複合体の量を比較することが含まれ、ここで、該複合体の量の減少は、該個体が治療に応答性である可能性が高いことを示す。代わりに、ワクチン組成物による治療に対する患者の応答性を予測する方法は、治療の開始前及び開始後の免疫学的複合体の量の減少がないことを検出し、従って、個体が治療に応答性である可能性が低いことを示すことができる。好ましい実施形態において、個体におけるワクチン組成物による治療に対する応答性の予測は、凝集タウに対する本発明のモノクローナル抗体の免疫特異的結合を検出することによって達成される。好ましくは、本検出方法で使用するための抗体は、ＡＤｘ２１０又はその機能断片である。好ましくは、本検出方法で使用するための抗体は、ＡＤｘ２１５又はその機能断片である。

【０２４２】

本発明は、タウタンパク質のエピトープを表すペプチドも提供し、このエピトープは、本発明による抗体によって認識される。好ましい実施形態において、ペプチドは、配列番号２７によって表されるアミノ酸配列を含むか、該配列から本質的になるか、又は該配列からなる。免疫反応性を改善するために、好適な追加のアミノ酸配列を付加する必要がある場合もある。実際、実施例のパートで示されるように、配列番号２７によって表される最小エピトープの最適な認識のために、配列番号２８によって表されるような、α－ヘリックスを形成すると予測されるタウのＮ末端部分（ＤｅＬｅｙｓ，Ｒ．ｅｔ　ａｌ．，１９９５）が必要とされる。従って、キャリブレータとしてのＹＴ１．１５のエピトープとしての役割を果たすために合成ペプチド中で必要とされる配列は、E_7ＦＥＶＭＥＤＨＡG_{16}ＴＹＧＬＧＤＲK_{24}（配列番号２９）である。従って、一実施形態において、ペプチドは、配列番号２７によって表されるアミノ酸配列を含み、９～１９アミノ酸長である。好ましくは、ペプチドは、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、又は２３アミノ酸長であり、配列番号２７によって表されるアミノ酸配列を含むか、又は該配列から本質的になるか、又は該配列からなる。好ましい実施形態において、ペプチドは、配列番号２９によって表される配列から本質的になり、又は該配列からなる。

【０２４３】

本発明のペプチドは、限定されないが、タウ関連疾患もしくは状態又は個体におけるタウ関連疾患もしくは状態の素因の診断又は検出方法、ワクチン組成物による治療の後にアルツハイマー病などの残存疾患をモニタリングする方法、或いはワクチン組成物による治療に対する患者の応答性を予測する方法などの、様々な方法及び検査においてその用途を見出す。ペプチドは、これらの方法及び検査が適切に機能することを保証するために、好適な対照として使用することができる。ペプチドは、例えば、陽性対照として、内部標準として、キャリブレータとして、又は定量目的で使用することができる。

【０２４４】

本発明は、本発明の方法を実施するために使用し得るキットも提供する。キットは、本明細書に記載の本発明の様々な方法及び使用に関して言及された好ましい特徴のいずれかを組み込むことができる。従って、本発明は、タウ関連疾患もしくは状態又は個体の体試料におけるタウ関連疾患もしくは状態の素因を検出するためのキットを提供し、少なくとも１つ又は複数の本発明の抗体、好ましくは、抗体ＡＤｘ２１０及び／又はＡＤｘ２１５を含む。特に、検査キットは、診断アッセイを実施するための取扱説明書とともに、所定量の試薬、例えば、本発明による１以上の抗体の包装された組合せを収容する容器を含む。抗体が酵素で標識されている場合、キットは、酵素によって必要とされる基質及び共因子を含む。更なる添加物、例えば、安定化剤、緩衝剤などを含めることができる。１以上の本発明の抗体を含むキットを用いて、例えば、個体における初期のアルツハイマー認知症をその他のタイプの認知症と区別することができる。１以上の本発明の抗体を含むキッ

トを用いて、リン酸化タウ凝集体の形成又は安定性を妨げる組成物を同定することができる。キットは、この方法及び検査が適切に機能することを保証するために、好適な対照を組み込むことができる。キットは、その目的のために、１以上の本発明のペプチドを組み込むことができる。好ましくは、キットは、ペプチドを組み込む。１以上の抗体及び１以上のペプチドの特徴は、詳細な説明及び下記の実験のパート中の別所にまとめられている。

【実施例】

【０２４５】

１．ヒト化タウモデル

ヒト化酵母株から精製されたとき、タンパク質タウは、示されたようなその（過剰）リン酸化状態及びタウ線維の形成をシードするその傾向を維持している（Ｖａｎｄｅｂｒｏｅｋ　ｅｔ　ａｌ．，２００５）。質量分析研究により、酵母から精製されたヒトタウ内の１３の異なるリン酸化部位が確認され、これらは全て、ＡＤ脳で以前に報告されていた（Ｊ．Ｇｏｂｏｍ，Ｕ．Ｇｏｔｅｂｏｒｇ，Ｓｗｅｄｅｎによって提供されたデータ；データは示さない）。

【０２４６】

２．凝集タウに特異的な抗体の作製

酵母から精製されたタウをＢＡＬＢ／Ｃマウスの免疫化に使用した。モノクローナル抗体（ｍＡｂ）の融合及びスクリーニングの後、細菌から精製された組換え非リン酸化タウ及び酵母から単離されたタウに対する免疫反応性の違いに基づいて１５のクローンを選択した。

【０２４７】

３．凝集タウに特異的な抗体のリン酸化特異性

リン酸化特異性は、当初、ヒト化野生型酵母株、並びにタウリン酸化の低下及び増大を示すそのコンジェニックなｍｄｓ１Δ及びｐｈｏ８５Δ突然変異体から得られた抽出物で検査された。大腸菌によって産生された組換えタウは、対照としての役割を果たした。

【０２４８】

図２Ａに示すように、ＡＤＸ２１０などのｍＡｂは、ｐｈｏ８５Δ突然変異体中に存在する過剰リン酸化タウに対する増大した親和性を示し、その場合、それは、高分子質量の、おそらくはオリゴマーのタウ複合体を特異的に認識した。抗体は、大腸菌によって産生された組換えタウと反応せず、そのリン酸化依存性を示した。対照的に、ＡＤｘ２１５は、酵母から得られたタウと大腸菌から得られたタウの両方を検出し、従って、このｍＡｂは、リン酸化非依存的であることが知られている市販の汎タウｍＡｂ　Ｔａｕ－５で得られる免疫反応性と同様の免疫反応性を示した。しかしながら、ＡＤｘ２１５が、はるかにより高い親和性（短縮された露光時間）を有すること、及びそれが、酵母試料中の高分子質量タウ複合体の一部をはっきりと認識することに留意されたい。

【０２４９】

新規のｍＡｂのリン酸化特異性の確認は、図２Ｂに示すようなアルカリホスファターゼで処理したヒト化酵母抽出物の解析によって得られた。ＡＤＸ２１０について得られた結果は、脱リン酸化がタウ複合体を解体して単量体形態に戻すことを示し、タウ（過剰）リン酸化がタウ凝集に必要とされるという仮説を裏付けている。

【０２５０】

４．４．ヒト脳及びヒトタウトランスジェニックマウスモデルにおけるオリゴマータウの検出

ヒトタウは、ＡＤ脳における高次オリゴマー複合体の形成を推進するのに必要とされるリン酸化エピトープ及び立体構造変化を獲得しなければならない。そのような選択されたＭａｂ、すなわち、ＡＤＸ２１０及びＡＤｘ２１５を用いて、過剰リン酸化タウタンパク質の神経原線維のもつれの脳領域を染色することができ、高親和性ｍＡｂ　ＡＤｘ２１５は、後期ＡＤ患者由来の脳抽出物由来の高分子質量タウ複合体を特異的に検出することができる。

【０２５１】
対照マウス（野生型、すなわち、ＦＶＢ、及びタウ－ＫＯ）並びにヒトタウ－Ｐ３０１Ｌを発現するトランスジェニック体から得られた脳抽出物のウェスタンブロット解析は、Ｍａｂ　ＡＤｘ２１５（ＹＴ１．１５）、ＡＤｘ２１０（ＹＴ１．１０）、及びＡＴ１００が、ヒトタウを特異的に認識し、内在性マウスタウを認識しないことを示した（Ｆ．Ｖａｎ　Ｌｅｕｖｅｎ，Ｋ．Ｕ．Ｌｅｕｖｅｎによって提供されたデータ；図Ａ）。ＡＤｘ２１５（ＹＴ１．１５）について、この結果は、図Ｂに示すようなエピトープマッピングによって確認された。免疫組織化学的解析により、選択されたＭａｂのうちの２つ、すなわち、ＡＤｘ２１０（ＹＴ１．１０）及びＡＤｘ２１５（ＹＴ１．１５）が、年老いたＴｇマウスの脳の様々な領域におけるもつれを染色することが明らかになった（Ｆ．Ｖａｎ　Ｌｅｕｖｅｎ，Ｋ．Ｕ．Ｌｅｕｖｅｎによって提供されたデータ；図Ｄ）。更に、高親和性Ｍａｂ　ＡＤｘ２１５（ＹＴ１．１５）は、Ｔｇマウス（図Ａ、Ｃ）と後期ＡＤ患者の両方の脳抽出物中の高分子質量タウ複合体を特異的に検出した（Ｌ．Ｂｕｅｅ，Ｉｎｓｅｒｍ　Ｕ８３７，Ｕ．Ｌｉｌｌｅ，Ｆｒａｎｃｅによって提供されたデータ；図Ｃ）。これらのデータを合わせて、酵母で発現されたとき、ヒトタウが、ＡＤ脳で見られるような高次オリゴマー複合体の形成を推進するのに必要とされるリン酸化エピトープ及び立体構造変化を獲得しなければならないことが確認された。

【０２５２】
５．ＥＬＩＳＡにおける凝集タウの免疫検出
凝集タウ特異的ＥＬＩＳＡの調製のために、プレートを、凝集タウに特異的な１以上の異なる捕捉抗体でコーティングする。

【０２５３】
ＥＬＩＳＡ検査を実施するために、検査されるべき試料をプレートに添加する。任意に、陽性対照として、精製凝集タウをＥＬＩＳＡプレートの個別のウェルに添加する。任意に、標準として、既知の量の精製凝集タウをＥＬＩＳＡプレートの個別のウェルに添加する。次に、プレートを洗浄した後、結合した凝集タウを、凝集タウに結合することができる二次抗体を用いて検出する。これは、ｔａｕ－５もしくはＨＴ－７などの全タウを認識する抗体、ＡＴ２７０などのリン酸化特異的抗タウ抗体、又は第二の凝集タウ特異的抗体、或いは２以上のそのような抗体の組合せであることができる。

【０２５４】
或いは、プレートをコーティングするために使用される捕捉抗体は、ｔａｕ－５もしくはＨＴ－７などの全タウを認識する抗体、ＡＴ２７０などのリン酸化特異的抗タウ抗体、又は凝集タウ特異的抗体、或いは２以上のそのような抗体の組合せであり、結合した凝集タウは、凝集タウ特異的抗体又は２以上のそのような抗体の組合せを用いて検出される。

【０２５５】
二次抗体の結合は、二次抗体に直接的に又は間接的に（例えば、ストレプトアビジン－ビオチン結合によって）結合している、アルカリホスファターゼ又はルシフェラーゼなどの、酵素の活性を測定することによって可視化することができる。或いは、二次抗体の結合は、フィコエリスリンなどの蛍光色素、又は二次抗体に直接的にもしくは間接的に結合している蛍光タンパク質によって放出される蛍光を測定することによって可視化することができる。また、二次抗体の結合は、二次抗体に特異的に結合する三次抗体を使用し、次いで、二次抗体に対するこれらの三次抗体の結合を可視化することによって間接的に可視化することができる。

【０２５６】
検査されるべき試料は、脳脊髄液（ＣＳＦ）、全血、血漿、もしくは血清、又は任意の他の試料であることができる。

【０２５７】
Ｎｕｎｃ　ＥＬＩＳＡプレートに１００μｌ／ウェルの５μｇ／ｍｌ　ＡＤｘ２１５を３７℃で１時間コーティングした。その後、コーティング媒体を、ブロッキング用のＰＢＳ中の０．５％カゼイン（３００μｌ／ウェル）と３７℃で１時間交換した。その一方で

、ｐｈｏ８５ｄ酵母タウ抽出物の希釈系列を５０００ｎｇ／ｍｌから３２０ｐｇ／ｍｌまで調製し、これを、ＡＤｘ２１５がコーティングされたプレートに３７℃で１時間入れた。０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０－ＰＢＳで３回洗浄した後、ビオチン化検出抗体（ＡＤｘ２０１－ｂｉｏ又はＡＤｘ２１０－ｂｉｏ、ＡＤｘ２０１は、汎タウ抗体である）を３７℃で１時間添加した。３回洗浄した後、ストレプトアビジン－ＨＲＰコンジュゲート（Ｊａｃｋｓｏｎ）を３７℃で３０分間プレートに入れた。洗浄（３回）後、ペルオキシダーゼの量を、Ｈ２Ｏ２／ＴＭＢ基質溶液を用いて、室温で３０分間測定した。最後に、反応を１００μｌの１Ｎ　Ｈ２ＳＯ４で停止させ、４５０ｎｍで読み取った。

【０２５８】

解釈：ｐｈｏ８５ｄ酵母タウ抽出物のこの調製物は、ＡＤ２１０－ｂｉｏによって検出されるのに十分なオリゴマータウを含有していなかった。

【０２５９】

６．ｘＭＡＰ技術を用いた凝集タウの免疫検出

ＥＬＩＳＡの代替法として、ＩＮＮＯ－ＢＩＡ　ＡｌｚＢｉｏ３（Ｏｌｓｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，２００５）について記載されているような同時マルチパラメトリック解析を可能にする、Ｌｕｍｉｎｅｘ（登録商標）ｘＭＡＰ（登録商標）技術のようなビーズに基づくアッセイで凝集タウの免疫検出を実施することができる。

【０２６０】

凝集タウ特異的ｘＭＡＰ（登録商標）アッセイの調製のために、ビーズに、凝集タウに特異的な１以上の異なる捕捉抗体をコーティングする。

【０２６１】

ｘＭＡＰ（登録商標）アッセイを実施するために、検査されるべき試料を、抗体がコーティングされたビーズに添加する。次に、ビーズを洗浄した後、結合した凝集タウを、凝集タウに結合することができる二次抗体を用いて検出する。これは、ｔａｕ－５もしくはＨＴ－７などの全タウを認識する抗体、ＡＴ２７０などのリン酸化特異的抗タウ抗体、又は第二の凝集タウ特異的抗体、或いは２以上の抗体の組合せであることができる。

【０２６２】

或いは、ビーズをコーティングするために使用される捕捉抗体は、ｔａｕ－５もしくはＨＴ－７などの全タウを認識する抗体、ＡＴ２７０などのリン酸化特異的抗タウ抗体、又は凝集タウ特異的抗体、或いは２以上のそのような抗体の組合せであり、結合した凝集タウは、凝集タウ特異的抗体又は２以上のそのような抗体の組合せを用いて検出される。

【０２６３】

二次抗体の結合は、フィコエリスリンなどの蛍光色素、又は二次抗体に直接的にもしくは間接的に結合している蛍光タンパク質によって放出される蛍光を測定することによって可視化することができる。また、二次抗体の結合は、二次抗体に結合する三次抗体を使用し、次いで、これらの三次抗体の結合を可視化することによって間接的に可視化することができる。

【０２６４】

検査されるべき試料は、脳脊髄液（ＣＳＦ）、全血、血漿、もしくは血清、又は任意の他の試料であることができる。

【０２６５】

７．凝集タウに特異的な抗体を用いたタウオパチーの診断

タウオパチーに罹患している患者及び対照対象の試料を、本発明の凝集タウ特異的抗体を用いて、凝集タウの有無について検査する。凝集タウは、上記の方法のいずれか、又は本発明の凝集タウ特異的抗体を利用する任意の他の方法によって検出される。

【０２６６】

凝集タウは、タウオパチーに罹患している患者の試料の多数のｘ％で検出することができるが、対照対象由来の試料の少数のｙ％でしか検出することができない。その場合、疾患マーカーとしての凝集タウに基づくタウオパチーの診断検査の感度は、ｘ／１００であり、一方、診断検査の特異性は、（１００－ｙ）／１００である。

【０２６７】
代替法として、タウオパチーに罹患している患者及び対照対象の試料を、本発明の凝集タウ特異的抗体を用いて凝集タウの量について検査する。凝集タウを上記の方法のいずれか、又は本発明の凝集タウ特異的抗体を利用する任意の他の方法によって定量する。
【０２６８】
平均して、対照対象の試料中よりもより多くの凝集タウがタウオパチーに罹患している患者の試料中に存在する。従って、それを超えると対象がタウオパチーに罹患していると分類される閾値の慎重な選択によって、診断検査の所望の感度及び／又は特異性を得ることが可能になる。
【０２６９】
測定される凝集タウの各々の量について、感度及び１－特異性を、この値が、それを超えると対象がタウオパチーに罹患していると分類される閾値となる検査について計算する。測定される凝集タウの各々の量について、感度（Ｙ軸）を１－特異性（Ｘ軸）に対してプロットする曲線は、受信者動作特性（ＲＯＣ）曲線である。特異性^2＋感度^{2}が１に最も近い閾値をこの検査の最良の閾値と考えることができる。或いは、より高い感度又は特異性が望ましい場合があり、これは、それぞれ、閾値を下げる又は上げることによって得られる。
【０２７０】
８．タウ凝集を妨げる組成物の同定
本発明の抗体は、試料中の凝集タウの検出、定性、及び／又は定量を可能にし、従って、タウの凝集及び／又は凝集タウの安定性を妨げる組成物を同定することを可能にする。
【０２７１】
凝集タウを、以前に記載されたヒト化酵母モデル（Ｖａｎｄｅｂｒｏｅｋ　ｅｔ　ａｌ．，２００５）からの精製によって得ることができる。その後、凝集タウを、検査されるべき組成物とともにインキュベートする。インキュベーション後、インキュベートされた試料中の凝集タウの量を、本発明の抗体を用いて決定し、組成物とともにインキュベートされていない試料中の凝集タウの量と比較する。インキュベートされた試料中の凝集タウの量が、組成物とともにインキュベートされていない試料中の凝集タウの量と異なる場合、検査された組成物が凝集タウの安定性を妨げたと結論付けることができる。図２Ｂに示すように、そのような組成物の１つの例は、アルカリホスファターゼである。
【０２７２】
タウ凝集体を、上記のヒト化酵母モデルから精製されたタウのインキュベーションによってインビトロで形成させることができる（Ｖａｎｄｅｂｒｏｅｋ　ｅｔ　ａｌ．，２００５）。このインビトロ凝集体形成では、検査されるべき組成物を添加する。インキュベーション後、凝集タウの量を、本発明の抗体を用いて決定し、組成物に暴露されなかったインビトロ凝集タウの量と比較する。暴露された試料中の凝集タウの量が、組成物に暴露されていない試料中の凝集タウの量と異なる場合、検査された組成物が凝集タウの形成を妨げたと結論付けることができる。
【０２７３】
９．タウモノクローナル抗体のエピトープマッピング
標準的な技術を用いて、全長ヒトタウ、２つのＮ末端突然変異体、及び１つのＣ末端突然変異体を大腸菌で発現させた。全てのコンストラクトは、抗ｈｉｓモノクローナル体による発現の制御を可能にするｍＴＮＦ－Ｈｉｓ６融合体であった。細胞上清をゲル上で泳動し、ウェスタンブロットを行なった。モノクローナル体のいくつかについて、エピトープ又は領域は既知であり（ＢＴ２、ＡＴ１２０、及びＢＴ３）、これらのモノクローナル体を用いて、方法を制御し、最適化した。表１は、検査されたモノクローナル抗体によって認識されるヒトタウ（全長タウ、Ｎ末端が短いタウ、Ｎ末端が長いタウ、Ｃ末端タウ）中のエピトープの位置の概観を提供する。

【表１】

ｍａｂ	全長	Ｎ末端が短い	Ｎ末端が長い	Ｃ末端
Ｈｉｓ６	＋	＋	＋	＋
ＢＴ２	＋	－	＋	＋
ＹＴ１．１	＋	－	＋	＋
ＹＴ１．１５	＋	＋	＋	－
ＡＴ１２０	＋	－	＋	＋
ＢＴ３	＋	＋	＋	－

表１．検査されたモノクローナル抗体によって認識されるものにおけるエピトープの位置

【０２７４】

これらの実験から、本発明者らは、それを結論付けることができた（図５Ａ）。エピトープマッピングを更に精緻化するために、本発明者らは、Ｐｅｐｓｃａｎを行ない、小さい重複ペプチドに対して抗体を検査することによってエピトープを更に詳細に記述した。

【０２７５】

短いバージョンのヒトタウの最初の１６３ａａにわたるアミノ酸配列をＰｅｐｓｃａｎに伝達した。この配列は、１つの既知のエピトープ、ＨＴ７（Ｖａｎｍｅｃｈｅｌｅｎ，Ｅ．ｅｔ　ａｌ．，２０００）と、タウのＮ末端にマッピングされた、３つの抗体のエピトープを含有し、これらの抗体は、ＹＴ　１．１５を含み、全てＩｇＧ１サブタイプのモノクローナル抗体である。重複する１５－ｍｅｒを有するｍｉｎｉＰＥＰＳＣＡＮカードを用いて、Ｓｌｏｏｔｓｔｒａ　ｅｔ　ａｌ，１９９５に記載されている通りにエピトープマッピングを実施した。コメントとして、本発明者らは、このＰｅｐｓｃａｎについて、通常は１ｎｇ／ｍｌで十分であるシグナルの取得のために、１０μｇ／ｍｌのモノクローナル体を使用しなければならなかったということを指摘しておかなければならない。これは、固定されたキャリア上でのペプチドの提示によるものである可能性があり、又は正確な立体構造を欠く（短い）長さのペプチドと関係している可能性がある。結果を図５Ｂに示す。

【０２７６】

ＡＤｘ２１５（ＹＴ１．１５）は、ａａ１６－２４又はＧＴＹＧＬＧＤＲＫ（配列番号２７）であると同定された。これは、文献にまだ記載されていない新しいエピトープである。最小エピトープ要件は、Ｐｅｐｓｃａｎとは異なる供給源由来の新たに合成されたペプチドで確認された。他のタウ抗体と同様に（Ｇａｍｂｌｉｎ，Ｔ．Ｃ．，２００５）、最小エピトープG_{16}－K_{18}の最適な認識のために、α－ヘリックスを形成すると予測されるタウのＮ末端部分（ＤｅＬｅｙｓ，Ｒ．ｅｔ　ａｌ．，１９９５）が必要とされ、従って、キャリブレータとしてのＹＴ１．１５のエピトープとしての役割を果たすために合成ペプチド中で必要とされる配列は、E_{7}ＦＥＶＭＥＤＨＡＧ$_{16}$ＴＹＧＬＧＤＲＫ$_{24}$（配列番号２９）である。

【０２７７】

参考文献リスト

(1994). Current protocols in Human Genetics., N.C.Dracapoli, J.L.Haines, B.R.Korf, D.T.Moir, C.C.Morton, C.E.Seidman, J.G.Seidman, and D.R.Smith, eds. John Wiley & Sons, Inc.).

Almagro, J. C. and Fransson, J. Humanization of antibodies. Front.Biosci. 13:1619-33., 1619-1633. 1-1-2008.

Ref Type: Journal

Ames, Robert S., Tornetta, Mark A., Deen, Keith, Jones, Christopher S., Swift, Ann M., and Ganguly, Subinay. Conversion of murine Fabs isolated from a combinatorial phage display library to full length immunoglobulins. Journal of Immunological Methods 184[2], 177-186. 18-8-1995.

Ref Type: Journal

Asuni, A. A., Boutajangout, A., Quartermain, D., and Sigurdsson, E. M. Immunotherapy targeting pathological tau conformers in a tangle mouse model reduces brain pathology with associated functional improvements. J Neurosci. 27[34], 9115-9129. 22-8-2007.

Ref Type: Journal

Better, M., Chang, C. P., Robinson, R. R., and Horwitz, A. H. Escherichia coli secretion of an active chimeric antibody fragment. Science. %20;240[4855], 1041-1043. 1988.

Ref Type: Journal

Boder, E. T., Midelfort, K. S., and Wittrup, K. D. Directed evolution of antibody fragments with monovalent femtomolar antigen-binding affinity. Proc Natl Acad Sci U S.A. 97[20], 10701-10705. 26-9-2000.

Ref Type: Journal

Borras, L., Gunde, T., Tietz, J., Bauer, U., Hulmann-Cottier, V., Grimshaw, J. P., and Urech, D. M. Generic approach for the generation of stable humanized single-chain Fv fragments from rabbit monoclonal antibodies. J Biol Chem. %19;285[12], 9054-9066. 2010.

Ref Type: Journal

Braak, H. and Braak, E. Neuropathological stageing of Alzheimer-related changes. Acta Neuropathol. 82[4], 239-259. 1991.

Ref Type: Journal

Brinkmann, Ulrich, Chowdhury, Partha S., Roscoe, Donna M., and Pastan, Ira. Phage display of disulfide-stabilized Fv fragments. Journal of Immunological Methods 182[1], 41-50. 1995.
Ref Type: Journal

Buée-Scherrer, V., Condamines, O., Mourton-Gilles, C., Jakes, R., Goedert, M., Pau, B., and Delacourte, A. AD2, a phosphorylation-dependent monoclonal antibody directed against tau proteins found in Alzheimer's disease. Brain Res Mol Brain Res. 39[1-2], 79-88. 1996.
Ref Type: Journal

Burton, D. R. and Barbas, C. F., III. Human antibodies from combinatorial libraries. Adv.Immunol. 57:191-280., 191-280. 1994.
Ref Type: Journal

Carmel, G., Mager, E. M., Binder, L. I., and Kuret, J. The structural basis of monoclonal antibody Alz50's selectivity for Alzheimer's disease pathology. J Biol Chem 271[51], 32789-32795. 20-12-1996.
Ref Type: Journal

Davies, J. and Riechmann, L. Affinity improvement of single antibody VH domains: residues in all three hypervariable regions affect antigen binding. Immunotechnology. 2[3], 169-179. 1996.

DeLeys, R. et al. Mapping and Sequence Requirements of the Phosphorylation-Sensitive Epitopes Recognized by the Monoclonal Antibodies Tau1, BT2, and AT8. Peptides in Immunology. Edited by C.H. Schneider, 1995 John Wiley & Sons. Ltd pp 239-244
Ref Type: Journal

De Pascalis, R., Iwahashi, M., Tamura, M., Padlan, E. A., Gonzales, N. R., Santos, A. D., Giuliano, M., Schuck, P., Schlom, J., and Kashmiri, S. V. Grafting of "abbreviated" complementarity-determining regions containing specificity-determining residues essential for ligand contact to engineer a less immunogenic humanized monoclonal antibody. J Immunol. 169[6], 3076-3084. 15-9-2002.
Ref Type: Journal

Delves,P., Martin,S., Burton,D., and Roitt,I. (2006). Roitt's Essential Immunology. Wiley-Blackwell).

Drewes, G. MARKing tau for tangles and toxicity. Trends Biochem Sci. 29[10], 548-555. 2004.
Ref Type: Journal

Emadi, S., Barkhordarian, H., Wang, M. S., Schulz, P., and Sierks, M. R. Isolation of a human single chain antibody fragment against oligomeric alpha-synuclein that inhibits aggregation and prevents alpha-synuclein-induced toxicity. J Mol Biol. 368[4], 1132-1144. 11-5-2007.
Ref Type: Journal

Emadi, S., Kasturirangan, S., Wang, M. S., Schulz, P., and Sierks, M. R. Detecting morphologically distinct oligomeric forms of alpha-synuclein. J Biol Chem. 284[17], 11048-11058. 24-4-2009.
Ref Type: Journal

Furukawa, K., Shirai, H., Azuma, T., and Nakamura, H. A role of the third complementarity-determining region in the affinity maturation of an antibody. J Biol Chem. %20;276[29], 27622-27628. 2001.

Gamblin,T.C. Potential structure/function relationships of predicted secondary structural elements of tau. Biochim. Biophys. Acta 1739, 140-149 (2005)
Ref Type: Journal

Goedert, M., Spillantini, M. G., Jakes, R., Rutherford, D., and Crowther, R. A. Multiple isoforms of human microtubule-associated protein tau: sequences and localization in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. Neuron. 3[4], 519-526. 1989.
Ref Type: Journal

Gram, H., Marconi, L. A., Barbas, C. F., III, Collet, T. A., Lerner, R. A., and Kang, A. S. *In vitro* selection and affinity maturation of antibodies from a naive combinatorial immunoglobulin library. Proc Natl Acad Sci U S.A. 89[8], 3576-3580. 15-4-1992.
Ref Type: Journal

Greenberg, S. G. and Davies, P. A preparation of Alzheimer paired helical filaments that displays distinct tau proteins by polyacrylamide gel electrophoresis. Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. 87[15], 5827-5831. 1990.
Ref Type: Journal

Hamdane, M., Dourlen, P., Bretteville, A., Sambo, A. V., Ferreira, S., Ando, K., Kerdraon, O., Begard, S., Geay, L., Lippens, G., Sergeant, N., Delacourte, A., Maurage, C. A., Galas, M. C., and Buee, L. Pin1 allows for differential Tau dephosphorylation in neuronal cells. Mol Cell Neurosci. 32[1-2], 155-160. 2006.
Ref Type: Journal

Harding, F. A., Stickler, M. M., Razo, J., and DuBridge, R. B. The immunogenicity of humanized and fully human antibodies: residual immunogenicity resides in the CDR regions. MAbs. 2[3], 256-265. 2010.
Ref Type: Journal
Huston, J. S., Mudgett-Hunter, M., Tai, M. S., McCartney, J., Warren, F., Haber, E., and Oppermann, H. Protein engineering of single-chain Fv analogs and fusion proteins. Methods Enzymol. 203:46-88., 46-88. 1991.
Ref Type: Journal
Jicha, G. A., Bowser, R., Kazam, I. G., and Davies, P. Alz-50 and MC-1, a new monoclonal antibody raised to paired helical filaments, recognize conformational epitopes on recombinant tau. J Neurosci Res. 48[2], 128-132. 15-4-1997.
Ref Type: Journal
Jicha, G. A., Weaver, C., Lane, E., Vianna, C., Kress, Y., Rockwood, J., and Davies, P. cAMP-dependent protein kinase phosphorylations on tau in Alzheimer's disease. J Neurosci 19[17], 7486-7494. 1-9-1999.
Jones, P., Dear, P., Foote, J., Neuberger, M., Winter, G. Replacing the complementarity-determining regions in a human antibody with those from a mouse. Nature 321 [6069]: 522-525. 1986.
Ref Type: Journal
Josephs, K. A., Whitwell, J. L., Ahmed, Z., Shiung, M. M., Weigand, S. D., Knopman, D. S., Boeve, B. F., Parisi, J. E., Petersen, R. C., Dickson, D. W., and Jack, C. R., Jr. Beta-amyloid burden is not associated with rates of brain atrophy. Ann Neurol. 63[2], 204-212. 2008.
Ref Type: Journal
Kabat,E.A., Te Wu,T., Perry,H.M., Gottesman,K.S., and Foeller,C. (1991). Sequences of proteins of immunological interest. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda).
Kashmiri, S. V., De Pascalis, R., Gonzales, N. R., and Schlom, J. SDR grafting--a new approach to antibody humanization. Methods. 36[1], 25-34. 2005.
Ref Type: Journal
Kayed, R., Canto, I., Breydo, L., Rasool, S., Lukacsovich, T., Wu, J., Albay, R., III, Pensalfini, A., Yeung, S., Head, E., Marsh, J. L., and Glabe, C. Conformation dependent monoclonal

antibodies distinguish different replicating strains or conformers of prefibrillar abeta oligomers. Mol Neurodegener. 5[1], 57. 13-12-2010.
Ref Type: Journal
Kettleborough, C. A., Ansell, K. H., Allen, R. W., Rosell-Vives, E., Gussow, D. H., and Bendig, M. M. Isolation of tumor cell-specific single-chain Fv from immunized mice using phage-antibody libraries and the re-construction of whole antibodies from these antibody fragments. Eur.J Immunol. 24[4], 952-958. 1994.
Ref Type: Journal
Krebs,J.E., Goldstein,E.S., and Kilpatrick,S.T. (2009). Lewin's Genes X. Jones & Bartlett Publishers).
Mandelkow, E. M., Stamer, K., Vogel, R., Thies, E., and Mandelkow, E. Clogging of axons by tau, inhibition of axonal traffic and starvation of synapses. Neurobiol.Aging. 24[8], 1079-1085. 2003.
Ref Type: Journal
Mercken, M., Vandermeeren, M., Lubke, U., Six, J., Boons, J., Van, de, V, Martin, J. J., and Gheuens, J. Monoclonal antibodies with selective specificity for Alzheimer Tau are directed against phosphatase-sensitive epitopes. Acta Neuropathol.(Berl.) 84[3], 265-272. 1992.
Ref Type: Journal
Mullinax, R. L., Gross, E. A., Hay, B. N., Amberg, J. R., Kubitz, M. M., and Sorge, J. A. Expression of a heterodimeric Fab antibody protein in one cloning step. Biotechniques. 12[6], 864-869. 1992.
Ref Type: Journal
Nelson, A. L. Antibody fragments: hope and hype. MAbs. 2[1], 77-83. 2010.
Ref Type: Journal
Novak, M., Kabat, J., and Wischik, C. M. Molecular characterization of the minimal protease resistant tau unit of the Alzheimer's disease paired helical filament. EMBO J. 12[1], 365-370. 1993.
Ref Type: Journal
Oddo, S., Vasilevko, V., Caccamo, A., Kitazawa, M., Cribbs, D. H., and LaFerla, F. M. Reduction of soluble Abeta and tau, but not soluble Abeta alone, ameliorates cognitive decline in transgenic mice with plaques and tangles. J Biol Chem. 281[51], 39413-39423. 22-12-2006.
Ref Type: Journal

Olsson, A., Vanderstichele, H., Andreasen, N., De Meyer, G., Wallin, A., Holmberg, B., Rosengren, L., Vanmechelen, E., and Blennow, K. Simultaneous measurement of beta-amyloid(1-42), total tau, and phosphorylated tau (Thr181) in cerebrospinal fluid by the xMAP technology. Clin Chem 51[2], 336-345. 2005.
Ref Type: Journal
Padlan, E. A., Abergel, C., and Tipper, J. P. Identification of specificity-determining residues in antibodies. FASEB J. 9[1], 133-139. 1995.
Ref Type: Journal
Persic, L., Roberts, A., Wilton, J., Cattaneo, A., Bradbury, A., and Hoogenboom, H. R. An integrated vector system for the eukaryotic expression of antibodies or their fragments after selection from phage display libraries. Gene. 187[1], 9-18. 10-3-1997.
Ref Type: Journal
Rader, C., Cheresh, D. A., and Barbas, C. F., III. A phage display approach for rapid antibody humanization: designed combinatorial V gene libraries. Proc Natl Acad Sci U S.A. 95[15], 8910-8915. 21-7-1998.
Ref Type: Journal
Sambrook,J. and Russell,D.W. (2001). Molecular cloning: A Laboratory Manual., F.Ausubel, ed. (Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press).
Santacruz, K., Lewis, J., Spires, T., Paulson, J., Kotilinek, L., Ingelsson, M., Guimaraes, A., DeTure, M., Ramsden, M., McGowan, E., Forster, C., Yue, M., Orne, J., Janus, C., Mariash, A., Kuskowski, M., Hyman, B., Hutton, M., and Ashe, K. H. Tau suppression in a neurodegenerative mouse model improves memory function. Science. 309[5733], 476-481. 15-7-2005.
Ref Type: Journal
Sawai, H., Yamasaki, N., Shigeta, M., Komori, S., Karasuyama, H., Koyama, K., and Isojima, S. Direct production of the Fab fragment derived from the sperm immobilizing antibody using polymerase chain reaction and cDNA expression vectors. Am J Reprod.Immunol. 34[1], 26-34. 1995.
Ref Type: Journal
Short, M. K., Krykbaev, R. A., Jeffrey, P. D., and Margolies, M. N. Complementary combining site contact residue mutations of the anti-digoxin Fab 26-10 permit high affinity wild-type binding. J Biol Chem. 277[19], 16365-16370. 10-5-2002.

Ref Type: Journal
Shu, L., Qi, C. F., Schlom, J., and Kashmiri, S. V. Secretion of a single-gene-encoded immunoglobulin from myeloma cells. Proc Natl Acad Sci U S.A. 90[17], 7995-7999. 1-9-1993.
Ref Type: Journal
Sigurdsson, E. M. Immunotherapy targeting pathological tau protein in Alzheimer's disease and related tauopathies. J Alzheimers.Dis. 15[2], 157-168. 2008.
Ref Type: Journal
Skerra, A. and Pluckthun, A. Assembly of a functional immunoglobulin Fv fragment in Escherichia coli. Science. %20;240[4855], 1038-1041. 1988.
Slootstra,J.W. et al. Screening of a small set of random peptides: a new strategy to identify synthetic peptides that mimic epitopes. J Mol Recognit. 10, 217-224 (1997)
Ref Type: Journal
Tarawneh, R. and Holtzman, D. M. Critical issues for successful immunotherapy in Alzheimer's disease: development of biomarkers and methods for early detection and intervention. CNS.Neurol Disord.Drug Targets. 8[2], 144-159. 2009.
Ref Type: Journal
Tarditi, A., Caricasole, A., and Terstappen, G. Therapeutic targets for Alzheimer's disease. Expert Opin.Ther Targets. 13[5], 551-567. 2009.
Ref Type: Journal
Thompson, J., Pope, T., Tung, J. S., Chan, C., Hollis, G., Mark, G., and Johnson, K. S. Affinity maturation of a high-affinity human monoclonal antibody against the third hypervariable loop of human immunodeficiency virus: use of phage display to improve affinity and broaden strain reactivity. J Mol Biol. 256[1], 77-88. 16-2-1996.
Ref Type: Journal
van Berckel, B. N. and Scheltens, P. Getting a grip on Alzheimer's disease: imaging amyloid in the brain. Lancet Neurol. 6[3], 204-206. 2007.
Ref Type: Journal
Vandebroek, T., Terwel, D., Vanhelmont, T., Gysemans, M., Van Haesendonck, C., Engelborghs, Y., Winderickx, J., and Van Leuven, F. Microtubule binding and clustering of human Tau-4R and Tau-P301L proteins isolated from yeast deficient in orthologues of glycogen synthase kinase-3beta or cdk5. J Biol Chem. 281[35], 25388-25397. 1-9-2006.
Ref Type: Journal

Vandebroek, T., Vanhelmont, T., Terwel, D., Borghgraef, P., Lemaire, K., Snauwaert, J., Wera, S., Van Leuven, F., and Winderickx, J. Identification and isolation of a hyperphosphorylated, conformationally changed intermediate of human protein tau expressed in yeast. Biochemistry. 44[34], 11466-11475. 30-8-2005.
Ref Type: Journal

Vanhelmont, T., Vandebroek, T., De Vos, A., Terwel, D., Lemaire, K., Anandhakumar, J., Franssens, V., Swinnen, E., Van Leuven, F., and Winderickx, J. Serine-409 phosphorylation and oxidative damage define aggregation of human protein tau in yeast. FEMS.Yeast.Res. 10[8], 992-1005. 2010.

Vanmechelen,E. et al. Quantification of tau phosphorylated at threonine 181 in human cerebrospinal fluid: a sandwich ELISA with a synthetic phosphopeptide for standardization. Neurosci Lett 285, 49-52 (2000
Ref Type: Journal

Vaughan, T. J., Osbourn, J. K., and Tempest, P. R. Human antibodies by design. Nat Biotechnol. 16[6], 535-539. 1998.
Ref Type: Journal

Vechterova, L., Kontsekova, E., Zilka, N., Ferencik, M., Ravid, R., and Novak, M. DC11: a novel monoclonal antibody revealing Alzheimer's disease-specific tau epitope. Neuroreport. %20;14[1], 87-91. 2003.
Ref Type: Journal

Vincke, C., Loris, R., Saerens, D., Martinez-Rodriguez, S., Muyldermans, S., and Conrath, K. General strategy to humanize a camelid single-domain antibody and identification of a universal humanized nanobody scaffold. J Biol Chem. 284[5], 3273-3284. 30-1-2009.
Ref Type: Journal

Weiner, H. L. and Frenkel, D. Immunology and immunotherapy of Alzheimer's disease. Nat Rev Immunol. 6[5], 404-416. 2006.
Ref Type: Journal

Yang, W. P., Green, K., Pinz-Sweeney, S., Briones, A. T., Burton, D. R., and Barbas, C. F., III. CDR walking mutagenesis for the affinity maturation of a potent human anti-HIV-1 antibody into the picomolar range. J Mol Biol. 254[3], 392-403. 1-12-1995.
Ref Type: Journal

Zheng-Fischhofer, Q., Biernat, J., Mandelkow, E. M., Illenberger, S., Godemann, R., and Mandelkow, E. 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. Eur J Biochem 252[3], 542-552. 15-3-1998.

Ref Type: Journal

【０２７８】
配列表フリーテキスト

【表２】

配列番号１０	軽鎖可変領域のＡＤｘ２１０　ＣＤＲ
配列番号１１	軽鎖可変領域のＡＤｘ２１０　ＣＤＲ
配列番号１２	軽鎖可変領域のＡＤｘ２１０　ＣＤＲ
配列番号１３	軽鎖可変領域のＡＤｘ２１０　ＣＤＲ
配列番号１４	軽鎖可変領域のＡＤｘ２１０　ＣＤＲ
配列番号１５	ＡＤｘ２１０の重鎖可変領域
配列番号１６	ＡＤｘ２１０の軽鎖可変領域
配列番号１７	ＡＤｘ２１０の重鎖可変領域のサブ部分
配列番号１８	ＡＤｘ２１０のアイソフォームの軽鎖可変領域
配列番号１９	重鎖可変領域のＡＤｘ２１５　ＣＤＲ
配列番号２０	重鎖可変領域のＡＤｘ２１５　ＣＤＲ
配列番号２１	重鎖可変領域のＡＤｘ２１５　ＣＤＲ
配列番号２２	軽鎖可変領域のＡＤｘ２１５　ＣＤＲ
配列番号２３	軽鎖可変領域のＡＤｘ２１５　ＣＤＲ
配列番号２４	軽鎖可変領域のＡＤｘ２１５　ＣＤＲ
配列番号２５	軽鎖可変領域のＡＤｘ２１５　ＣＤＲ
配列番号２６	軽鎖可変領域のＡＤｘ２１５　ＣＤＲ
配列番号２７	ＡＤｘ２１５によって認識されるタウエピトープ
配列番号２８	ＡＤｘ２１５によって認識されるタウエピトープ
配列番号２９	ＡＤｘ２１５によって認識されるタウエピトープ
配列番号３０	ＡＤｘ２０１によって認識されるタウエピトープ
配列番号３１	タウエピトープ
配列番号３２	タウエピトープ
配列番号３３	タウエピトープ
配列番号３４	タウエピトープ
配列番号３５	タウエピトープ
配列番号３６	タウエピトープ
配列番号３７	タウエピトープ
配列番号３８	タウエピトープ
配列番号３９	タウエピトープ
配列番号４０	タウエピトープ
配列番号４１	タウエピトープ
配列番号４２	タウエピトープ
配列番号４３	タウエピトープ
配列番号４４	タウエピトープ
配列番号４５	タウエピトープ
配列番号４６	タウエピトープ
配列番号４７	タウエピトープ
配列番号４８	タウエピトープ
配列番号４９	タウエピトープ
配列番号５０	タウエピトープ

配列番号５１	タウエピトープ
配列番号５２	ＲＧＤペプチド
配列番号５３	ＲＧＤペプチド

【図１】

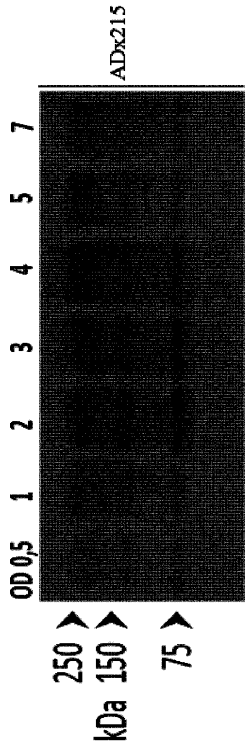

Fig. 1.

【図４】

	ADx215コーティング (5µg/ml)			
pho85d酵母タウ (ng/ml)	ADx210-bio (200ng/ml)		ADx201-bio (200ng/ml)	
5000	0,197	0,183	2,734	2,744
1000	0,203	0,196	2,920	3,056
200	0,207	0,207	3,558	3,308
40	0,201	0,200	0,913	0,854
8	0,203	0,200	0,226	0,200
1,6	0,205	0,208	0,193	0,170
0,32	0,207	0,202	0,192	0,163
0	0,192	0,196	0,181	0,169
WT e.v. ("5µg/ml")	0,167	0,172	0,160	0,147
rペプチド441 (1µg/ml)	3,598	3,617	2,768	2,239

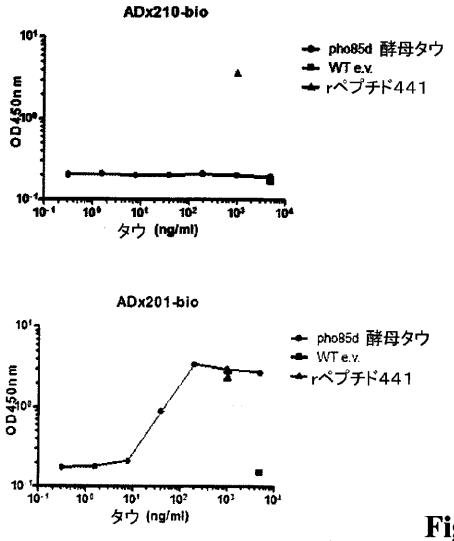

Fig. 4.

【図５】

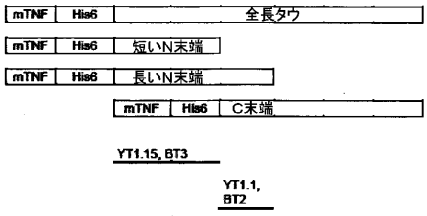

Fig. 5A

aa	Aa		YT1.15 (10 µg/ml) Rampo 1/1000	
1	15	MAEPRQEFEVMEDHA	36	SEQ. ID. No. 31
2	16	AEPRQEFEVMEDHAG	31	SEQ. ID. No. 32
3	17	EPRQEFEVMEDHAGT	47	SEQ. ID. No. 33
4	18	PRQEFEVMEDHAGTY	52	SEQ. ID. No. 34
5	19	RQEFEVMEDHAGTYG	42	SEQ. ID. No. 35
6	20	QEFEVMEDHAGTYGL	50	SEQ. ID. No. 36
7	21	EFEVMEDHAGTYGLG	97	SEQ. ID. No. 37
8	22	FEVMEDHAGTYGLGD	141	SEQ. ID. No. 38
9	23	EVMEDHAGTYGLGDR	911	SEQ. ID. No. 39
10	24	VMEDHAGTYGLGDRK	2055	SEQ. ID. No. 40
11	25	MEDHAGTYGLGDRKD	2161	SEQ. ID. No. 41
12	26	EDHAGTYGLGDRKDQ	2100	SEQ. ID. No. 42
13	27	DHAGTYGLGDRKDQG	2082	SEQ. ID. No. 43
14	28	HAGTYGLGDRKDQGG	2387	SEQ. ID. No. 44
15	29	AGTYGLGDRKDQGGY	2434	SEQ. ID. No. 45
16	30	GTYGLGDRKDQGGYT	2229	SEQ. ID. No. 46
17	31	TYGLGDRKDQGGYTM	1364	SEQ. ID. No. 47
18	32	YGLGDRKDQGGYTMH	171	SEQ. ID. No. 48
19	33	GLGDRKDQGGYTMHQ	60	SEQ. ID. No. 49
20	34	LGDRKDQGGYTMHQD	49	SEQ. ID. No. 50
21	35	GDRKDQGGYTMHQDQ	49	SEQ. ID. No. 51

Fig. 5B

【図６－１】

Fig. 6

配列番号1
生物＝″ホモ・サピエンス″ /db_xref=" 分類群 :9606" /染色体="17" /地図 ="17q21.1"
Protein 1..758
1 maeprqefev medhagtygl gdrkdqggyt mhqdqegdtd aglkesplqt ptedgseepg
61 setsdakstp taedvtaplv degapgkqaa aqphteipeg ttaeeagigd tpsledeaag
121 hvtqepesgk vvqegflrep gppglshqlm sgmpgapllp egpreatrqp sgtgpedteg
181 grhapellkh qllgdlhqeg pplkgaggke rpgskeevde drdvdesspq dsppskaspa
241 qdgrppqtaa reatsipgfp aegaiplpvd flskvsteip asepdgpsvg rakgqdaple
301 ftfhveitpn vqkeqahsee hlgraafpga pgegpeargp slgedtkead lpepsekqpa
361 aaprgkpvsr vpqlkarmvs kskdgtgsdd kkaktstrss aktlknrpcl spkhptpgss
421 dpliqpsspa vcpeppsspk yvssvtsrtg ssgakemklk gadgktkiat prgaappgqk
481 gqanatripa ktppapktpp ssgeppksgd rsgyspgsp gtpgsrsrtp slptpptrep
541 kkvavvrtpp kspssaksrl qtapvpmpdl knvkskigst enlkhqpggg kvqiinkkld
601 lsnvqskcgs kdnikhvpgg gsvqivykpv dlskvtskcg slgnihhkpg ggqvevksek
661 ldfkdrvqsk igsldnithv pgggnkkiet hkltfrenak aktdhgaeiv ykspvvsgdt
721 sprhlsnvss tgsidmvdsp qlatladevs aslakqgl

配列番号2
生物＝″ホモ・サピエンス″ /db_xref=" 分類群 :9606" /染色体="17" /地図="17q21.1" /
Protein 1..441
1 maeprqefev medhagtygl gdrkdqggyt mhqdqegdtd aglkesplqt ptedgseepg
61 setsdakstp taedvtaplv degapgkqaa aqphteipeg ttaeeagigd tpsledeaag
121 hvtqarmvsk skdgtgsddk kakgadgktk iatprgaapp gqkgqanatr ipaktppapk
181 tppssgeppk sgdrsgyssp gspgtpgsrs rtpslptppt repkkvavvr tppkspssak
241 srlqtapvpm pdlknvkski gstenlkhqp gggkvqiink kldlsnvqsk cgskdnikhv
301 pgggsvqivy kpvdlskvts kcgslgnihh kpgggqvevk sekldfkdrv qskigsldni
361 thvpgggnkk iethkltfre nakaktdhga eivykspvvs gdtsprhlsn vsstgsidmv
421 dspqlatlad evsaslakqg l

【図６－２】

Fig. 6 (continuation)
配列番号3
/生物＝″ホモ・サピエンス″ / db_xref=" 分類群 :9606" /染色体="17" /地図="17q21.1" /
Protein 1..383
1 maeprqefev medhagtygl gdrkdqggyt mhqdqegdtd aglkaeeagi gdtpsledea
61 aghvtqarmv skskdgtgsd dkkakgadgk tkiatprgaa ppgqkgqana tripaktppa
121 pktppssgep pksgdrsgys spgspgtpgs rsrtpslptp ptrepkkvav vrtppkspss
181 aksrlqtapv pmpdlknvks kigstenlkh qpgggkvqii nkkldlsnvq skcgskdnik
241 hvpgggsvqi vykpvdlskv tskcgslgni hhkpgggqve vksekldfkd rvqskigsld
301 nithvpgggn kkiethkltf renakaktdh gaeivykspv vsgdtsprhl snvsstgsid
361 mvdspqlatl adevsaslak qgl

配列番号4
生物＝″ホモ・サピエンス″ /db_xref=" 分類群 :9606" /染色体="17" /地図 ="17q21.1" /
Protein 1..352
1 maeprqefev medhagtygl gdrkdqggyt mhqdqegdtd aglkaeeagi gdtpsledea
61 aghvtqarmv skskdgtgsd dkkakgadgk tkiatprgaa ppgqkgqana tripaktppa
121 pktppssgep pksgdrsgys spgspgtpgs rsrtpslptp ptrepkkvav vrtppkspss
181 aksrlqtapv pmpdlknvks kigstenlkh qpgggkvqiv ykpvdlskvt skcgslgnih
241 hkpgggqvev ksekldfkdr vqskigsldn ithvpgggnk kiethkltfr enakaktdhg
301 aeivykspvv sgdtsprhls nvsstgsidm vdspqlatla devsaslakq gl

配列番号5
生物＝″ホモ・サピエンス″ /db_xref=" 分類群 :9606" /染色体="17" /地図 ="17q21.1"
Protein 1..412
1 maeprqefev medhagtygl gdrkdqggyt mhqdqegdtd aglkesplqt ptedgseepg
61 setsdakstp taeaeeagig dtpsledeaa ghvtqarmvs kskdgtgsdd kkakgadgkt
121 kiatprgaap pgqkgqanat ripaktppap ktppssgepp ksgdrsgyss pgspgtpgsr
181 srtpslptpp trepkkvavv rtppkspssa ksrlqtapvp mpdlknvksk igstenlkhq
241 pgggkvqiin kkldlsnvqs kcgskdnikh vpgggsvqiv ykpvdlskvt skcgslgnih
301 hkpgggqvev kseklдfkdr vqskigsldn ithvpgggnk kiethkltfr enakaktdhg
361 aeivykspvv sgdtsprhls nvsstgsidm vdspqlatla devsaslakq gl

【図６－３】

Fig. 6 (continuation)
配列番号6
生物＝″ホモ・サピエンス″ /db_xref="分類群 :9606" /染色体="17" /地図="17q21.1"
Protein 1..776
1 maeprqefev medhagtygl gdrkdqggyt mhqdqegdtd aglkesplqt ptedgseepg
61 setsdakstp taedvtaplv degapgkqaa aqphteipeg ttaeeagigd tpsledeaag
121 hvtqepesgk vvqegflrep gppglshqlm sgmpgapllp egpreatrqp sgtgpedteg
181 grhapellkh qllgdlhqeg pplkgaggke rpgskeevde drdvdesspq dsppskaspa
241 qdgrppqtaa reatsipgfp aegaiplpvd flskvsteip asepdgpsvg rakgqdaple
301 ftfhveitpn vqkeqahsee hlgraafpga pgegpeargp slgedtkead lpepsekqpa
361 aaprgkpvsr vpqlkarmvs kskdgtgsdd kkaktstrss aktlknrpcl spkhptpgss
421 dpliqpsspa vcpeppsspk yvssvtsrtg ssgakemklk gadgktkiat prgaappgqk
481 gqanatripa ktppapktpp ssatkqvqrr pppagprser geppksgdrs gysspgspgt
541 pgsrsrtpsl ptpptrepkk vavvrtppks pssaksrlqt apvpmpdlkn vkskigsten
601 lkhqpgggkv qiinkkldls nvqskcgskd nikhvpgggs vqivykpvdl skvtskcgsl
661 gnihhkpggg qvevksekld fkdrvqskig sldnithvpg ggnkkiethk ltfrenakak
721 tdhgaeivyk spvvsgdtsp rhlsnvsstg sidmvdspql atladevsas lakqgl

配列番号7
/生物＝″ホモ・サピエンス″ /db_xref=" 分類群 :9606" / 染色体 ="17"
/地図="17q21.1"
Protein 1...381
1 maeprqefev medhagtygl gdrkdqggyt mhqdqegdtd aglkesplqt ptedgseepg
61 setsdakstp taeaeeagig dtpsledeaa ghvtqarmvs kskdgtgsdd kkakgadgkt
121 kiatprgaap pgqkgqanat ripaktppap ktppssgepp ksgdrsgyss pgspgtpgsr
181 srtpslptpp trepkkvavv rtppkspssa ksrlqtapvp mpdlknvksk igstenlkhq
241 pgggkvqivy kpvdlskvts kcgslgnihh kpgggqvevk sekldfkdrv qskigsldni
301 thvpgggnkk iethkltfre nakaktdhga eivykspvvs gdtsprhlsn vsstgsidmv
361 dspqlatlad evsaslakqg l

配列番号8
生物＝″ホモ・サピエンス″ /db_xref=" 分類群 :9606" /染色体="17" /地図="17q21.1"
Protein 1 410

【図６－４】

Fig. 6 (continuation)

1 maeprqefev medhagtygl gdrkdqggyt mhqdqegdtd aglkesplqt ptedgseepg
61 setsdakstp taedvtaplv degapgkqaa aqphteipeg ttaeeagigd tpsledeaag
121 hvtqarmvsk skdgtgsddk kakgadgktk iatprgaapp gqkgqanatr ipaktppapk
181 tppssgeppk sgdrsgyssp gspgtpgsrs rtpsltptpt repkkvavvr tppkspssak
241 srlqtapvpm pdlknvkski gstenlkhqp gggkvqivyk pvdlskvtsk cgslgnihhk
301 pgggqvevks ekldfkdrvq skigsldnit hvpgggnkki ethkltfren akaktdhgae
361 ivykspvvsg dtsprhlsnv sstgsidmvd spqlatlade vsaslakqgl

CDR上の配列番号9～14 ICCGn°7301

ADx210 CDRの軽鎖可変領域のアミノ酸配列 (L1/L2/L3)

配列番号：9 RSSESIVHSSGKTYLE
配列番号：10 EVSNRFS
配列番号：11 FQGSHVPWT

ADx210 CDRの重鎖可変領域のアミノ酸配列 (H1/H2/H3)

配列番号：12 GFTFSNFGMH
配列番号：13 YITSGSSSIYYADTVKG
配列番号：14 SVPYGYGLFDY

配列番号15： ADx210の重鎖可変領域のアミノ酸配列
(ICCGn°7301).

VQLQESGGGLVQPGGSRKLSCAAS**GFTFSNFGMH**WVRQAPDKGLEWVA**YITSG SSSIYYADTVKG**RFTISRDNPKNTLFLQMTSLRSEDTAMYYCAR**SVPYGYGLFDY**WGR GTTLTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQT
太字は、H1、H2、及びH3に関する

配列番号 17：ADx210の重鎖可変領域のサブ部分のアミノ酸配列
(ICCGn°7301).

【図６－５】

Fig. 6 (continuation)

VQLQESGGGLVQPGGSRKLSCAAS**GFTFSNFGMH**WVRQAPDKGLEWVA**YIT SGSSSIYYADTVKG**RFTISRDNPKNTLFLQMTSLRSEDTAMYYCAR**SVPYGYGLFDY**W GRGTTLTVSSAKTTPPSVYPLAP
太字は、H1、H2、及びH3に関する

配列番号 16 ADx210の軽鎖可変領域のアミノ酸配列
(ICCGn°7301).

LPVRLLVLMSWIPASSSDVLMTQIPVSLSVSLGDQASISC**RSSESIVHSSGKTYLE**W YLQKPGQSPKLLIY**EVSNRFS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKISR
VEAEDLGVYYC**FQGSHVPWT**FGGGTKLEIKR
太字は、L1、L2、及びL3に関する

配列番号：ADx210のアイソフォームの軽鎖可変領域のアミノ酸配列
(ICCGn°7301).

KLPVRLLVLMSWIPASSSDVLMTQIPVSLSVSLGDQASISC**RSSESIVHSSGKTYLE** WYLQKPGQSPKLLIY**EVSNRFSG**VPDRFSGSGSGTDFTLKISR
VEAEDLGVYYC**FQGSHVPWT**FGGGTKLEIKR
太字は、L1、L2、及びL3に関する

ADx215 CDRの重鎖可変領域のアミノ酸配列 (H1/HL2/H3)

配列番号19：GFNFRSYGMS
配列番号20： TISSGGNYTYYPDSVKG
配列番号21: SFYGAFDY

ADx215 CDRの軽鎖可変領域のアミノ酸配列 (L1/L2/L3)

配列番号22: RSSQNILHSNGNTYLE
配列番号23: KVSSRFS
配列番号24: FQGSLVPWT

配列番号25: ADx215の重鎖可変領域のアミノ酸配列

【図６－６】

Fig. 6 (continuation)

DFGLSWVFLALILKGIQCEVQLVESGGDLVKPGGSLKLSCAAS**GFNFRSYGMS**WV RQTPDKRLEWVA**TISSGGNYTYYPDSVKG**RFTISRDNAKNILYLQMSSLNSEDTALYY CTYS**FYGAFDY**WGQGTTLTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEP VTVTWNSGSLS

配列番号26: ADx215の軽鎖可変領域のアミノ酸配列

KLPVRLLVLMFWIPASSSDVLMTQTPLSLPVSLGDQASISC**RSSQNILHSNGNTYL E**WYLQKPGQSPKLLI**YKVSSRFS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKITRVEAEDLGVYYC**FQGS LVPWT**FGGGTKLEIRRADAAPTVSIFPPSSEQL

ADx215によって認識されるタウエピトープ

配列番号27: GTYGLGDRK

配列番号28: EFEVMEDHA

配列番号29: EFEVMEDHAGTYGLGDRK

【図２】

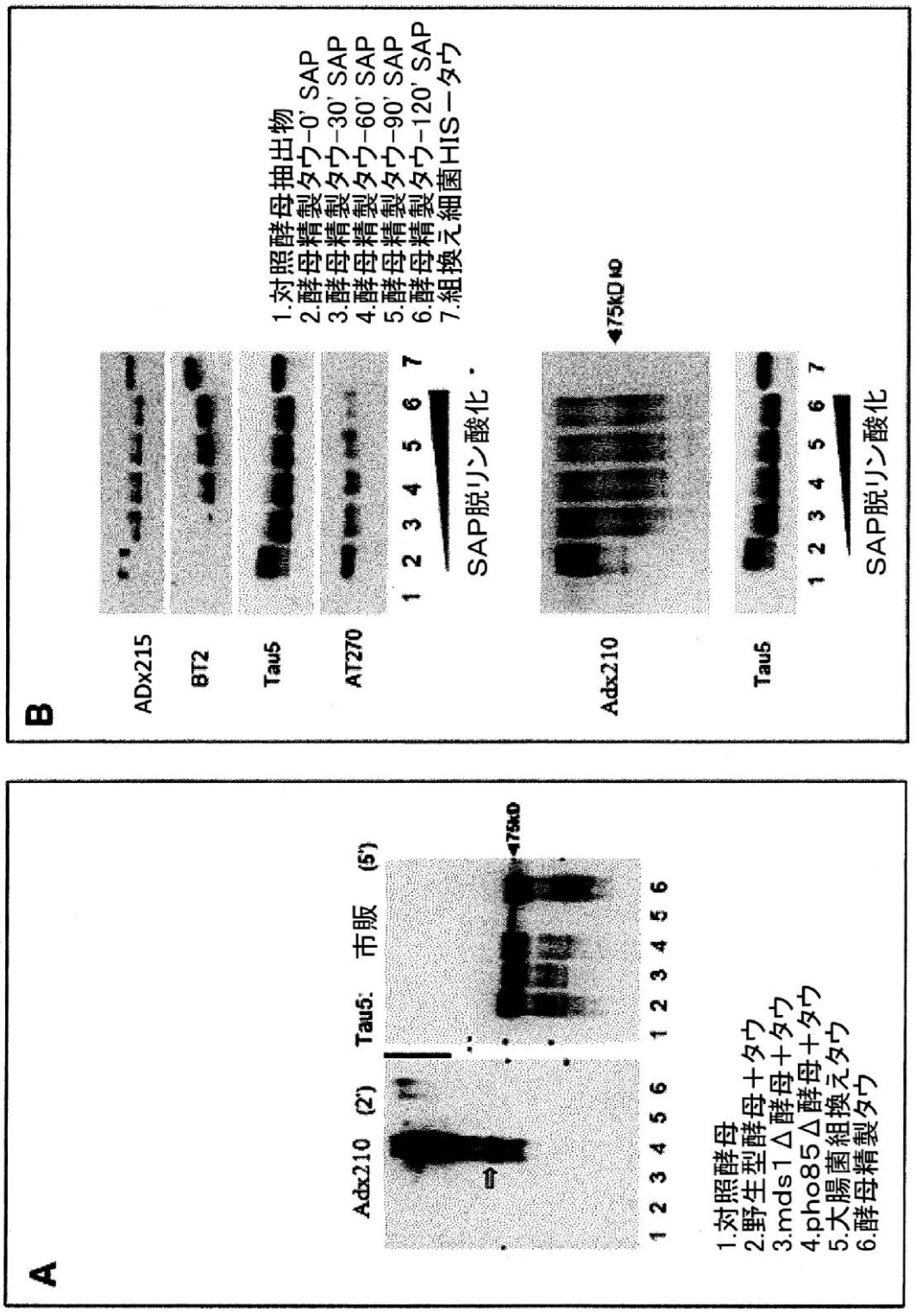
A
Adx210 (2') Tau5: 市販 (5')
175kD
1 2 3 4 5 6 1 2 3 4 5 6
1.対照酵母
2.野生型酵母＋タウ
3.mds1Δ酵母＋タウ
4.pho85Δ酵母＋タウ
5.大腸菌組換えタウ
6.酵母精製タウ
B
ADx215
BT2
Tau5
AT270
1 2 3 4 5 6 7
SAP脱リン酸化
1.対照酵母抽出物
2.酵母精製タウ−0' SAP
3.酵母精製タウ−30' SAP
4.酵母精製タウ−60' SAP
5.酵母精製タウ−90' SAP
6.酵母精製タウ−120' SAP
7.組換え細菌HIS−タウ
175kD
Adx210
Tau5
1 2 3 4 5 6 7
SAP脱リン酸化

Fig. 2.

【図３】

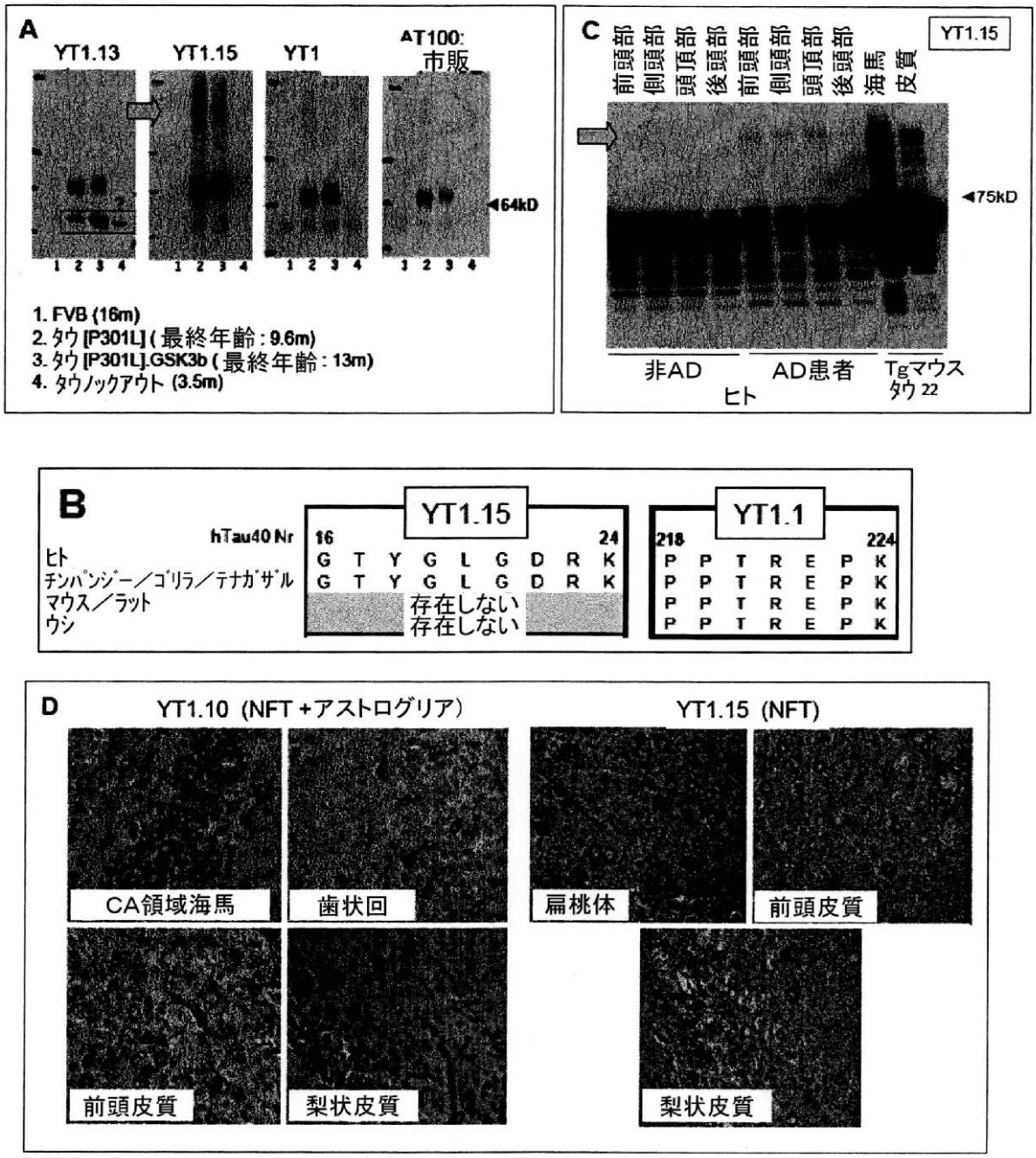

Fig. 3.

【配列表】
2014523742000001.app
【手続補正書】
【提出日】平成26年3月31日(2014.3.31)
【手続補正１】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００７１
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００７１】

【図１】オリゴマータウの蓄積は、酵母の成長特性に依存的である。ＨＩＳ６－ＰＧ－ＴＥＶ－ｈＴａｕ（２Ｎ／４Ｒ）プラスミドで形質転換されたｐｈｏ８５Δ酵母株をＳＤ－ＵＲＡ培地に植菌した。様々なＯＤでの後続のサンプリングに続いて、タンパク質抽出及び非還元ＳＤＳ－ＰＡＧＥを行なった。タウをＡＤｘ２１５モノクローナル抗体で検出した。単量体タウ（～７５ｋＤａ）の他に、より大きい質量の二量体種及び高次オリゴマー種のタウを検出することができる。

【図２】本発明の抗タウｍＡｂのタウ凝集体に対する選択性及びリン酸化依存性。Ａ）表示された市販の汎タウ抗体Ｔａｕ－５及びＡＤｘ２１０　ｍＡｂを用いた、大腸菌から得られた組換えＨＩＳタグ化タウ並びに対照及びヒト化酵母株から得られたタンパク質抽出物のウェスタンブロット解析。カッコ内の数字は、露光時間を指す。黒い棒は、高分子質量かつオリゴマーのタウを指し、ＡＤｘ２１０の図中の小さい矢印は、推定上のタウ二量体を指す。Ｂ）表示された様々な時間間隔の後のエビアルカリホスファターゼ（ＳＡＰ）による処理の前及び後のｐｈｏ８５Δ株から得られた精製タウのウェスタンブロット解析。大腸菌から得られた組換えＨＩＳタグ化タウは、対照としての役割を果たす。新規のｍＡｂであるＡＤｘ２１５及びＡＤｘ２１０に加えて、汎タウ抗体Ｔａｕ－５、リン酸化特異的抗体ＡＴ２７０、及び非リン酸化タウを認識する抗体ＢＴ２を使用した。

【図３】トランスジェニックマウス及びヒトの脳の試料に対する新規のｍＡｂの解析。Ａ）対照マウス（ＦＶＢ）、ノックアウトマウス、及びヒトタウの臨床的突然変異体（Ｔａｕ－Ｐ３０１Ｌ）を発現するトランスジェニック（Ｔｇ）マウス由来の脳抽出物のウェスタンブロット解析。マウスの年齢はカッコ内に表示されている。第二のブロット上の矢印は、高分子質量タウ複合体を示す。使用された抗体は、ＡＤｘ２１５（ＹＴ１．１５）、ＡＤｘ２１０（ＹＴ１．１０）、及び市販のリン酸化特異的抗体ＡＴ１００である（ＡＤｘ２１０（ＹＴ１．１０）及びＡＴ１００については３０分間の露光時間、並びにＡＤｘ２１５（ＹＴ１．１５）については３０秒間の露光時間）。Ｂ）ＡＤｘ２０１（ＹＴ１．１）及びＡＤｘ２１５（ＹＴ１．１５）によって認識されるタウエピトープ配列。Ｃ）ＡＤｘ２１５（ＹＴ１．１５）及びＡＤＸ２１０（ＹＴ１．１０）を免疫検出に用いた、Ｔａｕ－Ｐ３０１Ｌ　Ｔｇマウスの様々な領域の免疫組織化学的解析。

【図４】汎タウ抗体ＡＤｘ２０１及び抗体ＡＤｘ２１０を用いたＥＬＩＳＡにおけるｐｈｏ８５ｄ酵母由来の凝集タウの免疫検出。

【図５】モノクローナル抗体ＡＤｘ２１５のエピトープマッピング。Ａ）ウェスタンブロットの結果に基づく様々なタウコンストラクトと比べたエピトープの可視化。Ｂ）Ｐｅｐｓｃａｎ後にモノクローナル抗体ＡＤｘ２１５によって認識される最小エピトープ。

【図６】（図面のシート６／１１～１１／１１）：本明細書の全体を通して参照される配列番号１～配列番号２９の配列。

【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０２５１
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０２５１】
対照マウス（野生型、すなわち、ＦＶＢ、及びタウ－ＫＯ）並びにヒトタウ－Ｐ３０１Ｌを発現するトランスジェニック体から得られた脳抽出物のウェスタンブロット解析は、Ｍａｂ　ＡＤｘ２１５（ＹＴ１．１５）、ＡＤｘ２１０（ＹＴ１．１０）、及びＡＴ１００が、ヒトタウを特異的に認識し、内在性マウスタウを認識しないことを示した（Ｆ．Ｖａｎ　Ｌｅｕｖｅｎ，Ｋ．Ｕ．Ｌｅｕｖｅｎによって提供されたデータ；図３Ａ）。ＡＤｘ２１５（ＹＴ１．１５）について、この結果は、図３Ｂに示すようなエピトープマッピングによって確認された。免疫組織化学的解析により、選択されたＭａｂのうちの２つ、すなわち、ＡＤｘ２１０（ＹＴ１．１０）及びＡＤｘ２１５（ＹＴ１．１５）が、年老いたＴｇマウスの脳の様々な領域におけるもつれを染色することが明らかになった（Ｆ．Ｖａｎ　Ｌｅｕｖｅｎ，Ｋ．Ｕ．Ｌｅｕｖｅｎによって提供されたデータ；図３Ｃ）。更に

、高親和性Ｍａｂ　ＡＤｘ２１５（ＹＴ１．１５）は、Ｔｇマウス（図３Ａ）の脳抽出物中の高分子質量タウ複合体を特異的に検出した。

これらのデータを合わせて、酵母で発現されたとき、ヒトタウが、ＡＤ脳で見られるような高次オリゴマー複合体の形成を推進するのに必要とされるリン酸化エピトープ及び立体構造変化を獲得しなければならないことが確認された。

【手続補正３】
【補正対象書類名】図面
【補正対象項目名】図３
【補正方法】変更
【補正の内容】

【図３】

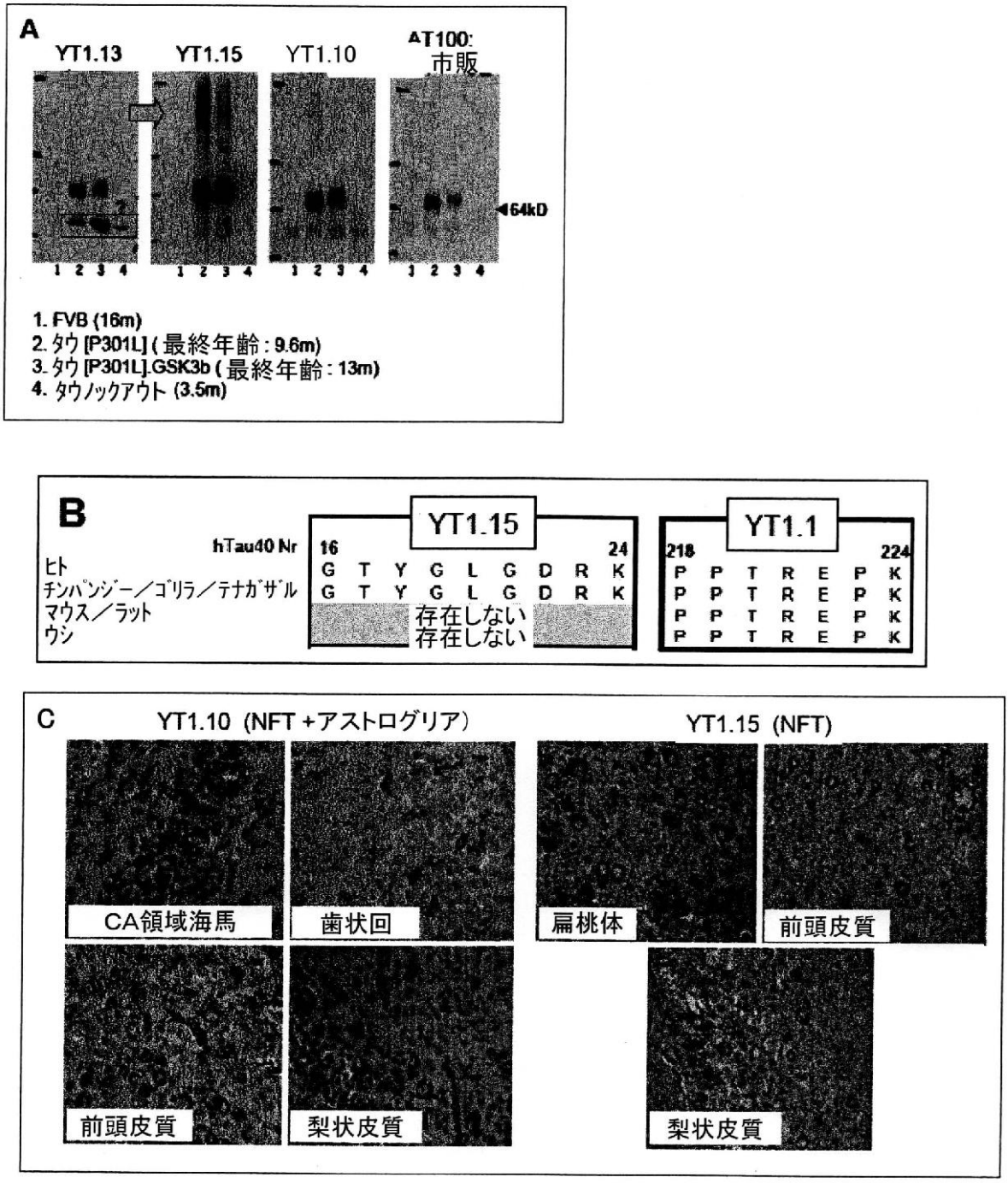
A
YT1.13
YT1.15
YT1.10
AT100:
市販
64kD
1 2 3 4
1. FVB (16m)
2. タウ [P301L] (最終年齢 : 9.6m)
3. タウ [P301L].GSK3b (最終年齢 : 13m)
4. タウノックアウト (3.5m)
B
hTau40 Nr
ヒト
チンパンジー／ゴリラ／テナガザル
マウス／ラット
ウシ
YT1.15
16
24
G T Y G L G D R K
G T Y G L G D R K
存在しない
存在しない
YT1.1
218
224
P P T R E P K
P P T R E P K
P P T R E P K
P P T R E P K
C
YT1.10 (NFT +アストログリア)
YT1.15 (NFT)
CA領域海馬
歯状回
扁桃体
前頭皮質
前頭皮質
梨状皮質
梨状皮質

Fig. 3.

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2012/063924

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K16/18
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

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 practicable, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ASUNI AYODEJI A ET AL: "Immunotherapy targeting pathological tau conformers in a tangle mouse model reduces brain pathology with associated functional improvements", JOURNAL OF NEUROSCIENCE,, vol. 27, no. 34, 1 August 2007 (2007-08-01), pages 9115-9129, XP002606710, the whole document ----- -/--	1,12,13, 16,17, 32-39, 47-49

[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 application or patent but published on or after the international filing date

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
20 November 2012	12/12/2012

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	Kalsner, Inge

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2012/063924

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 G A ET AL: "SEQUENCE REQUIREMENTS FOR FORMATION OF CONFORMATIONAL VARIANTS OF TAU SIMILAR TO THOSE FOUND IN ALZHEIMER'S DISEASE", JOURNAL OF NEUROSCIENCE RESEARCH, WILEY-LISS, US, vol. 55, 15 March 1999 (1999-03-15), pages 713-723, XP002919500, ISSN: 0360-4012, DOI: 10.1002/(SICI)1097-4547(19990315)55:6<713::AID-JNR6>3.0.CO;2-G the whole document	1,12,13, 16,17, 32-39, 47-49
A	WO 2008/156622 A1 (AC IMMUNE SA [CH]; GENENTECH INC [US]; PFEIFER ANDREA [SE]; PIHLGREN M) 24 December 2008 (2008-12-24) the whole document	1-54
A	WO 2008/070229 A2 (UNIV CASE WESTERN RESERVE [US]; SY MAN-SUN [US]; CHANG BINGGONG [US];) 12 June 2008 (2008-06-12) abstract	1-54
A	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, XP055022356, ISSN: 1567-1356, DOI: 10.1111/j.1567-1364.2010.00662.x the whole document	32,42
A	TOM VANDEBROEK ET AL: "Identification and Isolation of a Hyperphosphorylated, Conformationally Changed Intermediate of Human Protein Tau Expressed in Yeast +", BIOCHEMISTRY, vol. 44, no. 34, 1 August 2005 (2005-08-01), pages 11466-11475, XP55044797, ISSN: 0006-2960, DOI: 10.1021/bi0506775 abstract	32,42
X,P	WO 2012/045882 A2 (AC IMMUNE SA [CH]; LEUVEN K U RES & DEV [BE]; PFEIFER ANDREA [CH]; MUH) 12 April 2012 (2012-04-12) cited in the application the whole document	1-54

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2012/063924

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2008156622 A1	24-12-2008	AU 2008267038 A1	24-12-2008
		CA 2690435 A1	24-12-2008
		CN 101820911 A	01-09-2010
		EP 2170389 A1	07-04-2010
		JP 2010530744 A	16-09-2010
		KR 20100021650 A	25-02-2010
		NZ 581834 A	29-06-2012
		PE 07662009 A1	09-07-2009
		RU 2010100342 A	20-07-2011
		TW 200904826 A	01-02-2009
		US 2009155249 A1	18-06-2009
		WO 2008156622 A1	24-12-2008
WO 2008070229 A2	12-06-2008	NONE	
WO 2012045882 A2	12-04-2012	TW 201216985 A	01-05-2012
		US 2012276009 A1	01-11-2012
		WO 2012045882 A2	12-04-2012

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI			テーマコード（参考）
C07K	*14/47*	*(2006.01)*	C07K	14/47		
C07K	*7/06*	*(2006.01)*	C07K	7/06		
C07K	*7/08*	*(2006.01)*	C07K	7/08		
A61K	*39/395*	*(2006.01)*	A61K	39/395	N	
A61P	*25/28*	*(2006.01)*	A61P	25/28		
G01N	*33/531*	*(2006.01)*	G01N	33/531	A	
C12P	*21/08*	*(2006.01)*	C12P	21/08		

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,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,ZA

(74)代理人 100119013
弁理士 山崎 一夫
(74)代理人 100123777
弁理士 市川 さつき
(72)発明者 ウィンデリックス ヨリス
ベルギー ベー－３０１２ ウィルセレ ルイ ワウテルスストラート ５４
(72)発明者 ファンメヘレン ユージン
ベルギー ベー－９０８１ ナザレトーエーケ テン エーデストラート １０１
(72)発明者 ファン ルーヴェン フレッド
ベルギー ベー－３２１０ ルブベーク ヘルトゲンラーン １８

Ｆターム(参考) 4B024 AA01 AA11 BA31 BA44 CA07 DA02 DA12 EA04 GA05 GA11 HA15
4B064 AG27 AG31 CA19 CA20 CC24 DA01 DA13
4B065 AA72X AA93Y AB01 AB05 AC14 BA01 BA08 CA24 CA25 CA44 CA45 CA46
4C085 AA14 BB36 BB41 BB43 BB44 CC02 CC22 DD62 EE01 GG01 GG08 GG10
4H045 AA11 AA20 AA30 BA15 BA16 BA17 BA41 CA40 DA76 DA86 EA21 EA31 FA72 FA74

专利名称(译)	针对磷酸化tau聚集体的抗体		
公开(公告)号	JP2014523742A	公开(公告)日	2014-09-18
申请号	JP2014519581	申请日	2012-07-16
[标]申请(专利权)人(译)	カソリックウニヴェルシテイトルーヴェン		
申请(专利权)人(译)	天主教海胆威赛指定鲁汶		
[标]发明人	ウィンデリックスヨリス ファンメヘレンユージン ファンルーヴェンフレッド		
发明人	ウィンデリックス ヨリス ファンメヘレン ユージン ファン ルーヴェン フレッド		
IPC分类号	C12N15/09 C07K16/18 C12N15/02 C07K19/00 C12N5/10 C07K14/47 C07K7/06 C07K7/08 A61K39/395 A61P25/28 G01N33/531 C12P21/08		
CPC分类号	A61P25/28 C07K16/18 C07K2317/56 C07K2317/565 C07K14/4711 G01N33/566		
FI分类号	C12N15/00.A C07K16/18.ZNA C12N15/00.C C07K19/00 C12N5/00.102 C07K14/47 C07K7/06 C07K7/08 A61K39/395.N A61P25/28 G01N33/531.A C12P21/08		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA31 4B024/BA44 4B024/CA07 4B024/DA02 4B024/DA12 4B024/EA04 4B024/GA05 4B024/GA11 4B024/HA15 4B064/AG27 4B064/AG31 4B064/CA19 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA72X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AB05 4B065/AC14 4B065/BA01 4B065/BA08 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA45 4B065/CA46 4C085/AA14 4C085/BB36 4C085/BB41 4C085/BB43 4C085/BB44 4C085/CC02 4C085/CC22 4C085/DD62 4C085/EE01 4C085/GG01 4C085/GG08 4C085/GG10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA15 4H045/BA16 4H045/BA17 4H045/BA41 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA21 4H045/EA31 4H045/FA72 4H045/FA74		
代理人(译)	山崎 一夫		
优先权	2011012056 2011-07-14 GB		
其他公开文献	JP6168364B2 JP2014523742A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及寡聚体形式的tau蛋白的亲和工具。本发明涉及神经变性领域，更具体地涉及tau相关疾病和tau病变领域。本发明涉及新型tau抗体和抗体片段，编码此类抗体和抗体片段的核酸，产生此类抗体和抗体片段的细胞系，用于检测聚集的tau的抗体组合物和方法。提供了用于诊断伴有聚集的tau的疾病的试剂盒。本发明进一步提供了一种检测聚集的tau的方法，用于诊断伴有聚集的tau的疾病，以及用于鉴定干扰tau聚集体的形成和/或稳定性的组合物。 【选择图】无

【表1】

mab	全長	N末端が短い	N末端が長い	C末端
His6	+	+	+	+
BT2	+	-	+	+
YT1.1	+	-	+	+
YT1.15	+	+	+	-
AT120	+	-	+	+
BT3	+	+	+	-