

(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2020-511937

(P2020-511937A)

(43) 公表日 令和2年4月23日 (2020.4.23)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13	4 B 0 6 4
C O 7 K 16/18 (2006.01)	C O 7 K 16/18 Z N A	4 B 0 6 5
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	4 C 0 8 4
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	4 C 0 8 5
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	4 H 0 4 5
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 183 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2019-530076 (P2019-530076)
 (86) (22) 出願日 平成29年12月6日 (2017.12.6)
 (85) 翻訳文提出日 令和1年7月29日 (2019.7.29)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2017/064855
 (87) 国際公開番号 W02018/106776
 (87) 国際公開日 平成30年6月14日 (2018.6.14)
 (31) 優先権主張番号 62/431, 183
 (32) 優先日 平成28年12月7日 (2016.12.7)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)

(71) 出願人 509012625
 ジェネンテック, インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サウス
 サンフランシスコ ディーエヌエー
 ウェイ 1
 (71) 出願人 513022966
 エーシー イミューン エス. エー.
 スイス国 ツェーハー 1015 ローザ
 ンヌ, ビルディングビー, イーピーエ
 フエル イノベーション パーク
 (74) 代理人 110002077
 園田・小林特許業務法人

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗 T A U 抗体及び使用方法

(57) 【要約】

本発明は、抗 T a u 抗体及びその使用方法を提供する。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ヒト T a u に結合する単離抗体であって、前記抗体が、モノマー T a u、オリゴマー T a u、非リン酸化 T a u、及びリン酸化 T a u に結合し、前記抗体が、成熟ヒト T a u のアミノ酸 19 ~ 33、37 ~ 44、37 ~ 51、64 ~ 78、73 ~ 87、91 ~ 105、109 ~ 123、190 ~ 204、421 ~ 429、または 422 ~ 429 内のエピトープに結合する、前記単離抗体。

【請求項 2】

モノクローナル抗体である、請求項 1 に記載の単離抗体。

【請求項 3】

マウス、ヒト、ヒト化、またはキメラ抗体である、先行請求項のいずれか 1 項に記載の単離抗体。

【請求項 4】

ヒト T a u に結合する抗体断片である、先行請求項のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 5】

前記ヒト T a u が、配列番号 2 の配列を含む、先行請求項のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 6】

前記抗体が、

a) 配列番号 605 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、配列番号 606 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び配列番号 607 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、

b) 配列番号 613 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、配列番号 614 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び配列番号 615 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、

c) 配列番号 621 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、配列番号 622 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び配列番号 623 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、

d) 配列番号 629 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、配列番号 630 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び配列番号 631 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、

e) 配列番号 637 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、配列番号 638 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び配列番号 639 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、

f) 配列番号 645 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、配列番号 646 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び配列番号 647 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、

g) 配列番号 653 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、配列番号 654 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び配列番号 655 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、

h) 配列番号 661 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、配列番号 662 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び配列番号 663 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、

i) 配列番号 669 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、配列番号 670 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び配列番号 671 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、

j) 配列番号 677 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、配列番号 678 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び配列番号 679 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、

k) 配列番号 685 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、配列番号 686 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び配列番号 687 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、または

l) 配列番号 693 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、配列番号 694 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び配列番号 695 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 を含む、先行請求項のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 7】

前記抗体が、

a) 配列番号 608 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、配列番号 609 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び配列番号 610 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3、

b) 配列番号 616 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、配列番号 617 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び配列番号 618 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3、

c) 配列番号 624 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 625 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 626 のアミノ酸配列を含む HVR - L3、

d) 配列番号 632 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 633 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 634 のアミノ酸配列を含む HVR - L3、

e) 配列番号 640 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 641 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 642 のアミノ酸配列を含む HVR - L3、

f) 配列番号 648 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 649 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 650 のアミノ酸配列を含む HVR - L3、

g) 配列番号 656 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 657 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 658 のアミノ酸配列を含む HVR - L3、

h) 配列番号 664 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 665 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 666 のアミノ酸配列を含む HVR - L3、

i) 配列番号 672 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 673 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 674 のアミノ酸配列を含む HVR - L3、

j) 配列番号 680 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 681 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 682 のアミノ酸配列を含む HVR - L3、

k) 配列番号 688 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 689 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 690 のアミノ酸配列を含む HVR - L3、または

l) 配列番号 696 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 697 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 698 のアミノ酸配列を含む HVR - L3を含む、

先行請求項のいずれか 1 項に記載の抗体。

10

20

【請求項 8】

前記抗体が、

a) 配列番号 605 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、配列番号 606 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、配列番号 607 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、配列番号 608 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 609 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 610 のアミノ酸配列を含む HVR - L3、

b) 配列番号 613 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、配列番号 614 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、配列番号 615 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、配列番号 616 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 617 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 618 のアミノ酸配列を含む HVR - L3、

c) 配列番号 621 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、配列番号 622 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、配列番号 623 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、配列番号 624 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 625 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 626 のアミノ酸配列を含む HVR - L3、

d) 配列番号 629 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、配列番号 630 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、配列番号 631 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、配列番号 632 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 633 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 634 のアミノ酸配列を含む HVR - L3、

e) 配列番号 637 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、配列番号 638 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、配列番号 639 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、配列番号 640 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 641 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 642 のアミノ酸配列を含む HVR - L3、

f) 配列番号 645 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、配列番号 646 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、配列番号 647 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、配列番号 648 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 649 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 650 のアミノ酸配列を含む HVR - L3、

g) 配列番号 653 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、配列番号 654 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、配列番号 655 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、配列番号 656 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 657 のアミノ酸配列を含む HVR -

30

40

50

L 2、及び配列番号 6 5 8 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3、

h) 配列番号 6 6 1 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、配列番号 6 6 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、配列番号 6 6 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、配列番号 6 6 4 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、配列番号 6 6 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び配列番号 6 6 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3、

i) 配列番号 6 6 9 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、配列番号 6 7 0 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、配列番号 6 7 1 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、配列番号 6 7 2 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、配列番号 6 7 3 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び配列番号 6 7 4 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3、

j) 配列番号 6 7 7 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、配列番号 6 7 8 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、配列番号 6 7 9 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、配列番号 6 8 0 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、配列番号 6 8 1 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び配列番号 6 8 2 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3、

k) 配列番号 6 8 5 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、配列番号 6 8 6 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、配列番号 6 8 7 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、配列番号 6 8 8 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、配列番号 6 8 9 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び配列番号 6 9 0 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3、または

l) 配列番号 6 9 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、配列番号 6 9 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、配列番号 6 9 5 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、配列番号 6 9 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、配列番号 6 9 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び配列番号 6 9 8 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 を含む、先行請求項のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 9】

前記抗体が、

a) 配列番号 6 0 3 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む重鎖可変領域 (V H)、

b) 配列番号 6 0 4 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む軽鎖可変領域 (V L)、

c) (a) にあるような V H 及び (b) にあるような V L、

d) 配列番号 6 1 1 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む重鎖可変領域 (V H)、

e) 配列番号 6 1 2 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む軽鎖可変領域 (V L)、

f) (d) にあるような V H 及び (e) にあるような V L、

g) 配列番号 6 1 9 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む重鎖可変領域 (V H)、

h) 配列番号 6 2 0 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む軽鎖可変領域 (V L)、

i) (g) にあるような V H 及び (h) にあるような V L、

j) 配列番号 6 2 7 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む重鎖可変領域 (V H)、

k) 配列番号 6 2 8 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む軽鎖可変領域 (V L)、

l) (j) にあるような V H 及び (k) にあるような V L、

m) 配列番号 6 3 5 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む重鎖可変領域 (V H)、

n) 配列番号 6 3 6 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む軽鎖可変領域 (V L)、

o) (m) にあるような V H 及び (n) にあるような V L、

p) 配列番号 6 4 3 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む重鎖可変領域 (V H)、

q) 配列番号 6 4 4 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む軽鎖可変領域 (V L)、

r) (p) にあるような V H 及び (q) にあるような V L、

s) 配列番号 6 5 1 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む重鎖可変領域 (V H)、

t) 配列番号 6 5 2 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む軽鎖可変領域 (V L)、

u) (s) にあるような V H 及び (t) にあるような V L、

v) 配列番号 6 5 9 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む重鎖可変領域 (V H)、

w) 配列番号 6 6 0 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む軽鎖可変領域 (V L)、

x) (v) にあるような V H 及び (w) にあるような V L、

y) 配列番号 6 6 7 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む重鎖可変領域 (V H)、

z) 配列番号 6 6 8 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む軽鎖可変領域 (V L)、

10

20

30

40

50

a a) (y) にあるような V H 及び (z) にあるような V L 、
 b b) 配列番号 6 7 5 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 c c) 配列番号 6 7 6 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 d d) (b b) にあるような V H 及び (c c) にあるような V L 、
 e e) 配列番号 6 8 3 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 f f) 配列番号 6 8 4 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 g g) (e e) にあるような V H 及び (f f) にあるような V L 、または
 h h) 配列番号 6 9 1 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 i i) 配列番号 6 9 2 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 j j) (h h) にあるような V H 及び (i i) にあるような V L を含む、先行請求項の
 いずれか 1 項に記載の抗体。

10

【請求項 10】

前記抗体が、

a) 配列番号 6 0 3 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 b) 配列番号 6 0 4 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 c) (a) にあるような V H 及び (b) にあるような V L 、
 d) 配列番号 6 1 1 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 e) 配列番号 6 1 2 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 f) (d) にあるような V H 及び (e) にあるような V L 、
 g) 配列番号 6 1 9 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 h) 配列番号 6 2 0 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 i) (g) にあるような V H 及び (h) にあるような V L 、
 j) 配列番号 6 2 7 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 k) 配列番号 6 2 8 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 l) (j) にあるような V H 及び (k) にあるような V L 、
 m) 配列番号 6 3 5 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 n) 配列番号 6 3 6 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 o) (m) にあるような V H 及び (n) にあるような V L 、
 p) 配列番号 6 4 3 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 q) 配列番号 6 4 4 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 r) (p) にあるような V H 及び (q) にあるような V L 、
 s) 配列番号 6 5 1 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 t) 配列番号 6 5 2 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 u) (s) にあるような V H 及び (t) にあるような V L 、
 v) 配列番号 6 5 9 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 w) 配列番号 6 6 0 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 x) (v) にあるような V H 及び (w) にあるような V L 、
 y) 配列番号 6 6 7 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 z) 配列番号 6 6 8 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 a a) (y) にあるような V H 及び (z) にあるような V L 、
 b b) 配列番号 6 7 5 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 c c) 配列番号 6 7 6 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 d d) (b b) にあるような V H 及び (c c) にあるような V L 、
 e e) 配列番号 6 8 3 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 f f) 配列番号 6 8 4 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 g g) (e e) にあるような V H 及び (f f) にあるような V L 、または
 h h) 配列番号 6 9 1 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 i i) 配列番号 6 9 2 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 j j) (h h) にあるような V H 及び (i i) にあるような V L を含む、先行請求項の
 いずれか 1 項に記載の抗体。

40

50

10

20

30

40

50

50

50

50

50

50

50

50

50

50

50

50

50

前記抗体が、配列番号 669 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、配列番号 670 のア

ミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号671のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号672のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号673のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号674のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む、先行請求項のいずれか1項に記載の単離抗体。

【請求項20】

前記抗体が、配列番号677のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号678のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号679のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号680のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号681のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号682のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む、先行請求項のいずれか1項に記載の単離抗体。

10

【請求項21】

前記抗体が、配列番号685のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号686のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号687のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号688のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号689のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号690のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む、先行請求項のいずれか1項に記載の単離抗体。

【請求項22】

前記抗体が、配列番号693のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号694のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号695のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号696のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号697のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号698のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む、先行請求項のいずれか1項に記載の単離抗体。

20

【請求項23】

前記抗体が、配列番号603のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号604のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、先行請求項のいずれか1項に記載の単離抗体。

【請求項24】

前記抗体が、配列番号611のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号612のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、先行請求項のいずれか1項に記載の単離抗体。

【請求項25】

前記抗体が、配列番号619のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号620のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、先行請求項のいずれか1項に記載の単離抗体。

30

【請求項26】

前記抗体が、配列番号627のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号628のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、先行請求項のいずれか1項に記載の単離抗体。

【請求項27】

前記抗体が、配列番号635のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号636のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、先行請求項のいずれか1項に記載の単離抗体。

【請求項28】

前記抗体が、配列番号643のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号644のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、先行請求項のいずれか1項に記載の単離抗体。

40

【請求項29】

前記抗体が、配列番号651のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号652のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、先行請求項のいずれか1項に記載の単離抗体。

【請求項30】

前記抗体が、配列番号659のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号660のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、先行請求項のいずれか1項に記載の単離抗体。

【請求項31】

前記抗体が、配列番号667のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号668のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、先行請求項のいずれか1項に記載の単離抗体。

【請求項32】

50

前記抗体が、配列番号 675 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号 676 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、先行請求項のいずれか 1 項に記載の単離抗体。

【請求項 33】

前記抗体が、配列番号 683 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号 684 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、先行請求項のいずれか 1 項に記載の単離抗体。

【請求項 34】

前記抗体が、配列番号 691 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号 692 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、先行請求項のいずれか 1 項に記載の単離抗体。

【請求項 35】

前記抗体が、IgG1 または IgG4 抗体である、先行請求項のいずれか 1 項に記載の単離抗体。

10

【請求項 36】

前記抗体が、IgG4 抗体である、請求項 35 に記載の単離抗体。

【請求項 37】

抗体断片である、先行請求項のいずれか 1 項に記載の単離抗体。

【請求項 38】

前記抗体が、モノマー Tau、リン酸化 Tau、非リン酸化 Tau、及びオリゴマー Tau のそれぞれに、400 nM 未満、100 nM 未満、75 nM 未満、または 50 nM 未満の K_D で結合する、先行請求項のいずれか 1 項に記載の単離抗体。

【請求項 39】

20

カニクイザル Tau に結合する、先行請求項のいずれか 1 項に記載の単離抗体。

【請求項 40】

先行請求項のいずれか 1 項に記載の抗体をコードする、単離核酸。

【請求項 41】

請求項 40 に記載の核酸を含む、宿主細胞。

【請求項 42】

前記抗体の産生に好適な条件下で、請求項 41 に記載の宿主細胞を培養することを含む、抗体の産生方法。

【請求項 43】

請求項 1 ~ 39 のいずれか 1 項に記載の単離抗体と、第 2 の治療剤と、を含む、免疫複合体。

30

【請求項 44】

請求項 1 ~ 39 のいずれか 1 項に記載の単離抗体と、検出可能な標識と、を含む、標識された抗体。

【請求項 45】

神経原線維変化、神経絨毛系、または変性神経突起の検出方法であって、試料を請求項 1 ~ 39 のいずれか 1 項に記載の抗体と接触させることを含む、前記方法。

【請求項 46】

試料中の Tau の検出方法であって、前記試料を請求項 1 ~ 39 のいずれか 1 項に記載の抗体と接触させることを含む、前記方法。

40

【請求項 47】

対象が、治療用抗 Tau 抗体での治療に応答するかどうかの予測方法であって、前記対象からの試料中の Tau を検出抗 Tau 抗体で検出することを含み、前記検出抗 Tau 抗体が、成熟ヒト Tau のアミノ酸 1 ~ 15、10 ~ 24、19 ~ 33、19 ~ 42、28 ~ 42、28 ~ 44、37 ~ 44、または 37 ~ 51 内のエピトープに結合する、前記方法。

【請求項 48】

前記試料中で検出された Tau のレベルが、Tau の対照レベルよりも大きい場合、前記対象が、治療用抗 Tau 抗体での治療に応答すると予測される、請求項 47 に記載の方法。

50

【請求項 49】

治療用抗 T a u 抗体での治療のための患者の選択方法であって、前記対象からの試料中の T a u を検出抗 T a u 抗体で検出することを含み、前記検出抗 T a u 抗体が、成熟ヒト T a u のアミノ酸 1 ~ 15、10 ~ 24、19 ~ 33、19 ~ 42、28 ~ 42、28 ~ 44、37 ~ 44、または 37 ~ 51 内のエピトープに結合する、前記方法。

【請求項 50】

前記試料中で検出された T a u のレベルが、T a u の対照レベルよりも大きい場合、前記対象が、治療用抗 T a u 抗体での治療のために選択される、請求項 49 に記載の方法。

【請求項 51】

治療用抗 T a u 抗体での治療のモニタリング方法であって、治療中の対象からの試料中の T a u を検出抗 T a u 抗体で検出することを含み、前記検出抗 T a u 抗体が、成熟ヒト T a u のアミノ酸 1 ~ 15、10 ~ 24、19 ~ 33、19 ~ 42、28 ~ 42、28 ~ 44、37 ~ 44、または 37 ~ 51 内のエピトープに結合する、前記方法。

10

【請求項 52】

治療中のより早い時点でまたは治療の開始前に採取された対象からの第 1 の試料中の T a u のレベルと比較した、治療中の後の時点で採取された対象からの第 2 の試料中の T a u の増加が、前記治療が有効であることを示す、請求項 51 に記載の方法。

【請求項 53】

前記治療用抗 T a u 抗体が、成熟ヒト T a u のアミノ酸 2 ~ 24 内のエピトープに結合する、請求項 47 ~ 52 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 54】

前記検出抗 T a u 抗体が、T a u への結合について前記治療用抗 T a u 抗体と競合しない、請求項 47 ~ 53 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 55】

前記検出抗 T a u 抗体が、表 4 または表 31 から選択される抗体である、請求項 47 ~ 54 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 56】

前記検出抗 T a u 抗体が、請求項 1 ~ 39 のいずれか 1 項に記載の抗体である、請求項 47 ~ 55 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 57】

前記検出抗 T a u 抗体が、成熟ヒト T a u のアミノ酸 37 ~ 44 内のエピトープに結合する、請求項 47 ~ 56 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

【請求項 58】

前記検出抗 T a u 抗体が、15C6 - A7、123E9 - A1、7A11C12、231G3F10、63H3 - D8、64B9 - F12、及び 72E12 - H9 から選択される、請求項 47 ~ 57 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 59】

治療用抗 T a u 抗体での治療のための患者の選択方法であって、前記対象からの試料中の T a u を検出抗 T a u 抗体で検出することを含み、前記検出抗 T a u 抗体が、成熟ヒト T a u の 2N アイソフォームに結合する、前記方法。

40

【請求項 60】

前記試料中で検出される 2N アイソフォームのレベルが、対照の 2N アイソフォームレベルよりも大きい場合、前記対象が、治療用抗 T a u 抗体での治療のために選択される、請求項 59 に記載の方法。

【請求項 61】

前記 2N アイソフォームが、前記試料中で検出される場合、前記対象が、治療用抗 T a u 抗体での治療のために選択される、請求項 59 に記載の方法。

【請求項 62】

タウオパチーを有する対象における認知障害の進行のモニタリング方法であって、前記対象からの試料中の T a u を検出抗 T a u 抗体で検出することを含み、前記検出抗 T a u

50

抗体が、成熟ヒト T a u の 2 N アイソフォームに結合する、前記方法。

【請求項 6 3】

成熟ヒト T a u の 2 N アイソフォームのレベルの増加が、認知障害の進行を示す、請求項 6 2 に記載の方法。

【請求項 6 4】

治療用抗 T a u 抗体での治療のモニタリング方法であって、治療中の対象からの試料中の T a u を検出抗 T a u 抗体で検出することを含み、前記検出抗 T a u 抗体が、成熟ヒト T a u の 2 N アイソフォームに結合する、前記方法。

【請求項 6 5】

成熟ヒト T a u の 2 N アイソフォームのレベルの減少が、前記治療が有効であることを示す、請求項 6 4 に記載の方法。

10

【請求項 6 6】

前記検出抗体が、成熟ヒト T a u のアミノ酸 6 4 ~ 7 8、7 3 ~ 8 7、8 2 ~ 9 6、9 1 ~ 1 0 5、1 0 0 ~ 1 1 4、1 0 9 ~ 1 2 3、1 1 8 ~ 1 3 2、1 3 6 ~ 1 5 0、1 5 4 ~ 1 6 8、1 6 3 ~ 1 7 7、1 7 2 ~ 1 7 7、1 9 0 ~ 2 0 4、4 2 1 ~ 4 2 9、または 4 2 2 ~ 4 2 9 内のエピトープに結合する、請求項 5 9 ~ 6 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6 7】

前記検出抗体が、表 4 または表 3 1 から選択される抗体である、請求項 5 9 ~ 6 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 6 8】

前記検出抗体が、アミノ酸 7 3 ~ 8 7、9 1 ~ 1 0 5、6 4 ~ 7 8、または 1 9 0 ~ 2 0 4 内のエピトープに結合する、請求項 5 9 ~ 6 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6 9】

前記検出抗体が、3 0 A 1 C 9、2 1 1 G 6 - B 6、7 7 D 1 - D 2、及び 7 1 H 8 - D 6 から選択される、請求項 5 9 ~ 6 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7 0】

前記検出抗体が、アミノ酸 6 4 ~ 7 8 または 1 0 9 ~ 1 2 3 内のエピトープに結合する、請求項 5 9 ~ 6 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

【請求項 7 1】

前記検出抗体が、3 0 D 1 2 - B 5、4 9 G 1 0 - F 4、及び 6 5 B 1 - A 2 から選択される、請求項 5 9 ~ 6 7 及び 7 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7 2】

前記試料が、脳脊髄液試料または血液試料である、請求項 4 5 ~ 7 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

関連出願の相互参照

本出願は、2 0 1 6 年 1 2 月 7 日に提出された米国仮出願第 6 2 / 4 3 1 , 1 8 3 号の優先権の利益を主張するものであり、その全体があらゆる目的のために参照により本明細書に組み込まれる。

40

【0 0 0 2】

本発明は、抗 T a u 抗体及びその使用方法に関する。

【背景技術】

【0 0 0 3】

神経原線維変化及び神経絨毛系 (N T) は、アルツハイマー病 (A D) の主要な神経病理学的特徴である。N T は、リン酸化を含む翻訳後修飾を受けた微小管関連 T a u タンパク質から構成され、高リン酸化 T a u コンフォーマーの凝集によって発達する。A D は、多くの神経変性タウオパチーと、特に特定の種類の前頭側頭型認知症 (F T D) とこの病理

50

を共有する。T a u タンパク質は、A D 及び関連する神経変性タウオパチーにおける認知崩御における主要な役者であるようである。

【 0 0 0 4 】

T a u タンパク質を標的とする治療アプローチはほとんどなく、主にT a u のリン酸化を病理学的レベルまで増加させると考えられるキナーゼの阻害剤、及び高リン酸化T a u タンパク質の細胞質凝集を遮断する化合物を含む。これらのアプローチは、特異性及び有効性についての様々な欠点に悩まされる。神経変性障害を引き起こすことが知られる、または推定される、病理学的タンパク質コンフォーマーを標的とする追加の治療剤に対する必要性が存在する。

【 発明の概要 】

10

【 0 0 0 5 】

本発明は、抗T a u 抗体及びその使用方法を提供する。

【 0 0 0 6 】

いくつかの実施形態において、ヒトT a u に結合する単離抗体であって、モノマーT a u 、オリゴマーT a u 、非リン酸化T a u 、及びリン酸化T a u に結合する、抗体が提供される。いくつかの実施形態において、抗体は、成熟ヒトT a u のアミノ酸2 ~ 2 4 内のエピトープに結合する。いくつかの実施形態において、抗体は、モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態において、抗体は、ヒト、ヒト化、またはキメラ抗体である。いくつかの実施形態において、抗体は、ヒトT a u に結合する抗体断片である。いくつかの実施形態において、ヒトT a u は、配列番号2 の配列を含む。

20

【 0 0 0 7 】

いくつかの実施形態において、抗体は、

- a) 配列番号 6 0 5 のアミノ酸配列を含むH V R - H 1、配列番号 6 0 6 のアミノ酸配列を含むH V R - H 2、及び配列番号 6 0 7 のアミノ酸配列を含むH V R - H 3、または
- b) 配列番号 6 1 3 のアミノ酸配列を含むH V R - H 1、配列番号 6 1 4 のアミノ酸配列を含むH V R - H 2、及び配列番号 6 1 5 のアミノ酸配列を含むH V R - H 3、
- c) 配列番号 6 2 1 のアミノ酸配列を含むH V R - H 1、配列番号 6 2 2 のアミノ酸配列を含むH V R - H 2、及び配列番号 6 2 3 のアミノ酸配列を含むH V R - H 3、
- d) 配列番号 6 2 9 のアミノ酸配列を含むH V R - H 1、配列番号 6 3 0 のアミノ酸配列を含むH V R - H 2、及び配列番号 6 3 1 のアミノ酸配列を含むH V R - H 3、
- e) 配列番号 6 3 7 のアミノ酸配列を含むH V R - H 1、配列番号 6 3 8 のアミノ酸配列を含むH V R - H 2、及び配列番号 6 3 9 のアミノ酸配列を含むH V R - H 3、
- f) 配列番号 6 4 5 のアミノ酸配列を含むH V R - H 1、配列番号 6 4 6 のアミノ酸配列を含むH V R - H 2、及び配列番号 6 4 7 のアミノ酸配列を含むH V R - H 3、
- g) 配列番号 6 5 3 のアミノ酸配列を含むH V R - H 1、配列番号 6 5 4 のアミノ酸配列を含むH V R - H 2、及び配列番号 6 5 5 のアミノ酸配列を含むH V R - H 3、
- h) 配列番号 6 6 1 のアミノ酸配列を含むH V R - H 1、配列番号 6 6 2 のアミノ酸配列を含むH V R - H 2、及び配列番号 6 6 3 のアミノ酸配列を含むH V R - H 3、
- i) 配列番号 6 6 9 のアミノ酸配列を含むH V R - H 1、配列番号 6 7 0 のアミノ酸配列を含むH V R - H 2、及び配列番号 6 7 1 のアミノ酸配列を含むH V R - H 3、
- j) 配列番号 6 7 7 のアミノ酸配列を含むH V R - H 1、配列番号 6 7 8 のアミノ酸配列を含むH V R - H 2、及び配列番号 6 7 9 のアミノ酸配列を含むH V R - H 3、
- k) 配列番号 6 8 5 のアミノ酸配列を含むH V R - H 1、配列番号 6 8 6 のアミノ酸配列を含むH V R - H 2、及び配列番号 6 8 7 のアミノ酸配列を含むH V R - H 3、または
- l) 配列番号 6 9 3 のアミノ酸配列を含むH V R - H 1、配列番号 6 9 4 のアミノ酸配列を含むH V R - H 2、及び配列番号 6 9 5 のアミノ酸配列を含むH V R - H 3を含む。

30

40

【 0 0 0 8 】

いくつかの実施形態において、抗体は、

- a) 配列番号 6 0 8 のアミノ酸配列を含むH V R - L 1、配列番号 6 0 9 のアミノ酸配列を含むH V R - L 2、及び配列番号 6 1 0 のアミノ酸配列を含むH V R - L 3、

50

b) 配列番号 616 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、配列番号 617 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び配列番号 618 のアミノ酸配列を含む HVR-L3、

c) 配列番号 624 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、配列番号 625 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び配列番号 626 のアミノ酸配列を含む HVR-L3、

d) 配列番号 632 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、配列番号 633 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び配列番号 634 のアミノ酸配列を含む HVR-L3、

e) 配列番号 640 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、配列番号 641 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び配列番号 642 のアミノ酸配列を含む HVR-L3、

f) 配列番号 648 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、配列番号 649 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び配列番号 650 のアミノ酸配列を含む HVR-L3、

g) 配列番号 656 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、配列番号 657 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び配列番号 658 のアミノ酸配列を含む HVR-L3、

h) 配列番号 664 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、配列番号 665 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び配列番号 666 のアミノ酸配列を含む HVR-L3、

i) 配列番号 672 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、配列番号 673 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び配列番号 674 のアミノ酸配列を含む HVR-L3、

j) 配列番号 680 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、配列番号 681 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び配列番号 682 のアミノ酸配列を含む HVR-L3、

k) 配列番号 688 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、配列番号 689 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び配列番号 690 のアミノ酸配列を含む HVR-L3、または

1) 配列番号 696 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、配列番号 697 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び配列番号 698 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 を含む。

【 0 0 0 9 】

いくつかの実施形態において、抗体は、

a) 配列番号 605 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、配列番号 606 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、配列番号 607 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、配列番号 608 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 609 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 610 のアミノ酸配列を含む HVR - L3、

b) 配列番号 613 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、配列番号 614 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、配列番号 615 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、配列番号 616 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 617 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 618 のアミノ酸配列を含む HVR - L3、

ｃ) 配列番号 621 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、配列番号 622 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、配列番号 623 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、配列番号 624 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 625 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 626 のアミノ酸配列を含む HVR - L3、

d) 配列番号 629 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、配列番号 630 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、配列番号 631 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、配列番号 632 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 633 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 634 のアミノ酸配列を含む HVR - L3、

e) 配列番号 637 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、配列番号 638 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、配列番号 639 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、配列番号 640 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 641 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 642 のアミノ酸配列を含む HVR - L3、または

f) 配列番号 645 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、配列番号 646 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、配列番号 647 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、配列番号 648 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 649 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 650 のアミノ酸配列を含む HVR - L3、

g) 配列番号 653 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、配列番号 654 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、配列番号 655 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、配列番号 6

56のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号657のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号658のアミノ酸配列を含むHVR-L3、

h) 配列番号661のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号662のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号663のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号664のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号665のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号666のアミノ酸配列を含むHVR-L3、

i) 配列番号669のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号670のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号671のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号672のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号673のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号674のアミノ酸配列を含むHVR-L3、

j) 配列番号677のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号678のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号679のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号680のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号681のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号682のアミノ酸配列を含むHVR-L3、

k) 配列番号685のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号686のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号687のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号688のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号689のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号690のアミノ酸配列を含むHVR-L3、または

l) 配列番号693のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号694のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号695のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号696のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号697のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号698のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

【0010】

いくつかの実施形態において、抗体は、

a) 配列番号603と少なくとも95%同一の配列を含む重鎖可変領域(VH)、

b) 配列番号604と少なくとも95%同一の配列を含む軽鎖可変領域(VL)、

c) (a)にあるようなVH及び(b)にあるようなVL、

d) 配列番号611と少なくとも95%同一の配列を含む重鎖可変領域(VH)、

e) 配列番号612と少なくとも95%同一の配列を含む軽鎖可変領域(VL)、

f) (d)にあるようなVH及び(e)にあるようなVL、

g) 配列番号619と少なくとも95%同一の配列を含む重鎖可変領域(VH)、

h) 配列番号620と少なくとも95%同一の配列を含む軽鎖可変領域(VL)、

i) (g)にあるようなVH及び(h)にあるようなVL、

j) 配列番号627と少なくとも95%同一の配列を含む重鎖可変領域(VH)、

k) 配列番号628と少なくとも95%同一の配列を含む軽鎖可変領域(VL)、

l) (j)にあるようなVH及び(k)にあるようなVL、

m) 配列番号635と少なくとも95%同一の配列を含む重鎖可変領域(VH)、

n) 配列番号636と少なくとも95%同一の配列を含む軽鎖可変領域(VL)、

o) (m)にあるようなVH及び(n)にあるようなVL、

p) 配列番号643と少なくとも95%同一の配列を含む重鎖可変領域(VH)、

q) 配列番号644と少なくとも95%同一の配列を含む軽鎖可変領域(VL)、

r) (p)にあるようなVH及び(q)にあるようなVL、

s) 配列番号651と少なくとも95%同一の配列を含む重鎖可変領域(VH)、

t) 配列番号652と少なくとも95%同一の配列を含む軽鎖可変領域(VL)、

u) (s)にあるようなVH及び(t)にあるようなVL、

v) 配列番号659と少なくとも95%同一の配列を含む重鎖可変領域(VH)、

w) 配列番号660と少なくとも95%同一の配列を含む軽鎖可変領域(VL)、

x) (v)にあるようなVH及び(w)にあるようなVL、

y) 配列番号667と少なくとも95%同一の配列を含む重鎖可変領域(VH)、

z) 配列番号668と少なくとも95%同一の配列を含む軽鎖可変領域(VL)、

a a) (y) にあるような V H 及び (z) にあるような V L 、
 b b) 配列番号 6 7 5 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 c c) 配列番号 6 7 6 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 d d) (b b) にあるような V H 及び (c c) にあるような V L 、
 e e) 配列番号 6 8 3 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 f f) 配列番号 6 8 4 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 g g) (e e) にあるような V H 及び (f f) にあるような V L 、または
 h h) 配列番号 6 9 1 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 i i) 配列番号 6 9 2 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 j j) (h h) にあるような V H 及び (i i) にあるような V L を含む。

10

【 0 0 1 1 】

いくつかの実施形態において、抗体は、

a) 配列番号 6 0 3 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 b) 配列番号 6 0 4 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 c) (a) にあるような V H 及び (b) にあるような V L 、
 d) 配列番号 6 1 1 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 e) 配列番号 6 1 2 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 f) (d) にあるような V H 及び (e) にあるような V L 、
 g) 配列番号 6 1 9 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 h) 配列番号 6 2 0 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 i) (g) にあるような V H 及び (h) にあるような V L 、
 j) 配列番号 6 2 7 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 k) 配列番号 6 2 8 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 l) (j) にあるような V H 及び (k) にあるような V L 、
 m) 配列番号 6 3 5 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 n) 配列番号 6 3 6 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 o) (m) にあるような V H 及び (n) にあるような V L 、
 p) 配列番号 6 4 3 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 q) 配列番号 6 4 4 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 r) (p) にあるような V H 及び (q) にあるような V L 、
 s) 配列番号 6 5 1 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 t) 配列番号 6 5 2 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 u) (s) にあるような V H 及び (t) にあるような V L 、
 v) 配列番号 6 5 9 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 w) 配列番号 6 6 0 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 x) (v) にあるような V H 及び (w) にあるような V L 、
 y) 配列番号 6 6 7 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 z) 配列番号 6 6 8 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、

20

30

a a) (y) にあるような V H 及び (z) にあるような V L 、
 b b) 配列番号 6 7 5 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 c c) 配列番号 6 7 6 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 d d) (b b) にあるような V H 及び (c c) にあるような V L 、
 e e) 配列番号 6 8 3 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 f f) 配列番号 6 8 4 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 g g) (e e) にあるような V H 及び (f f) にあるような V L 、または
 h h) 配列番号 6 9 1 の配列を含む重鎖可変領域 (V H) 、
 i i) 配列番号 6 9 2 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L) 、
 j j) (h h) にあるような V H 及び (i i) にあるような V L を含む。

40

【 0 0 1 2 】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 6 0 5 のアミノ酸配列を含む H V R -

50

H 1、配列番号 6 0 6 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、配列番号 6 0 7 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、配列番号 6 0 8 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、配列番号 6 0 9 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び配列番号 6 1 0 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 を含む。

【 0 0 1 3 】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 613 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、配列番号 614 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、配列番号 615 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、配列番号 616 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 617 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 618 のアミノ酸配列を含む HVR - L3 を含む。

10

【 0 0 1 4 】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 621 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、配列番号 622 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、配列番号 623 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、配列番号 624 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 625 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 626 のアミノ酸配列を含む HVR - L3 を含む。

【 0 0 1 5 】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 629 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、配列番号 630 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、配列番号 631 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、配列番号 632 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 633 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 634 のアミノ酸配列を含む HVR - L3 を含む。

20

【 0 0 1 6 】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 637 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、配列番号 638 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、配列番号 639 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、配列番号 640 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 641 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 642 のアミノ酸配列を含む HVR - L3 を含む。

【 0 0 1 7 】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 645 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、配列番号 646 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、配列番号 647 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、配列番号 648 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 649 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 650 のアミノ酸配列を含む HVR - L3 を含む。

30

【 0 0 1 8 】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 653 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、配列番号 654 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、配列番号 655 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、配列番号 656 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 657 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 658 のアミノ酸配列を含む HVR - L3 を含む。

40

【 0 0 1 9 】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 661 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、配列番号 662 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、配列番号 663 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、配列番号 664 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 665 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 666 のアミノ酸配列を含む HVR - L3 を含む。

【 0 0 2 0 】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 669 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、配列番号 670 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、配列番号 671 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、配列番号 672 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 6

50

73のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号674のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

【0021】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号677のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号678のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号679のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号680のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号681のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号682のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

【0022】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号685のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号686のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号687のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号688のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号689のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号690のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

10

【0023】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号693のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号694のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号695のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号696のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号697のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号698のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

20

【0024】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号603のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号604のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【0025】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号611のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号612のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【0026】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号619のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号620のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

30

【0027】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号627のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号628のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【0028】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号635のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号636のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【0029】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号643のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号644のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【0030】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号651のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号652のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

40

【0031】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号659のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号660のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【0032】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号667のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号668のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【0033】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号675のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号676のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

50

【0034】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号683のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号684のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【0035】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号691のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号692のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【0036】

いくつかの実施形態において、ヒトTauに結合する単離抗体であって、成熟ヒトTauのアミノ酸19~33、19~42、28~44、37~44、37~51、64~78、73~87、91~105、100~114、109~123、118~132、154~168、172~177、190~204、217~231、397~411、421~429、または422~429内のエピトープに結合する、抗体が提供される。いくつかの実施形態において、ヒトTauに結合する単離抗体であって、成熟ヒトTauのアミノ酸37~44、64~78、73~87、91~105、190~204、421~429、または422~429内のエピトープに結合する、抗体が提供される。

10

【0037】

いくつかの実施形態において、ヒトTauに結合する単離抗体であって、モノマーTau、リン酸化Tau、非リン酸化Tau、及びオリゴマーTauのそれぞれに、400nM未満、100nM未満、75nM未満、または50nM未満の K_D で結合する、抗体が提供され、この抗体は、カニクイザルTauに結合する。

20

【0038】

いくつかの実施形態において、単離核酸であって、本明細書に記載される抗体をコードする、単離核酸が提供される。いくつかの実施形態において、宿主細胞であって、本明細書に記載される抗体をコードする単離核酸を含む、宿主細胞が提供される。いくつかの実施形態において、抗体の産生に好適な条件下で、宿主細胞を培養することを含む、抗体の産生方法が提供される。

【0039】

いくつかの実施形態において、免疫複合体であって、本明細書に記載される単離抗体と、治療剤とを含む、免疫複合体が提供される。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体と、検出可能な標識とを含む、標識された抗体が提供される。

30

【0040】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される単離抗体と、薬学的に許容される担体とを含む、薬学的組成物が提供される。

【0041】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体または本明細書に記載される抗体を含む薬学的組成物を、Tauタンパク質関連疾患を有する個体に投与することを含む、Tauタンパク質関連疾患の治療方法が提供される。いくつかの実施形態において、Tauタンパク質関連疾患は、タウオパチーである。いくつかの実施形態において、タウオパチーは、神経変性タウオパチーである。いくつかの実施形態において、タウオパチーは、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン症、クロイツフェルト・ヤコブ病、パンチドランカー、ダウン症候群、ゲルストマン・シュトロイスラー・シャインカー病、封入体筋炎、プリオンタンパク質脳アミロイド血管症、外傷性脳損傷、グアム筋萎縮性側索硬化症/パーキンソン症認知症症候群、神経原線維変化を伴う非グアム運動ニューロン疾患、嗜銀顆粒性認知症、大脳皮質基底核変性症、石灰化を伴うびまん性神経原線維変化病、前頭側頭型認知症(frontotemporal dementia)、17番染色体に連鎖しパーキンソニズムを伴う前頭側頭型認知症、ハラーホルデン・スパッツ病(Hallervorden-Spatz disease)、多系統萎縮症、ニーマン・ピック病C型、淡蒼球-橋脳-黒質変性症(Pallido-ponto-nigral degeneration)、ピック病、進行性皮質下グリオーシス、進行性核上性麻痺、亜急性硬化性全脳炎、神経原線維変化型認知症(または神経原線維変化優位

40

50

型認知症)、脳炎後パーキンソン症、及び筋強直性ジストロフィーから選択される。いくつかの実施形態において、タウオパチーは、アルツハイマー病または進行性核上性麻痺である。いくつかの実施形態において、T a uタンパク質関連疾患は、P A R T (一次加齢関連タウオパチー)、神経原線維変化優位型認知症、亜急性硬化性全脳炎、慢性外傷性脳症(C T E)、小球状グリア封入体を伴う白質タウオパチー、レヴィー小体認知症(L B D)、軽度認知障害(M C I)、緑内障、家族性イギリス型認知症、家族性デンマーク型認知症、グアドループパーキンソン症(G u a d e l o u p e a n P a r k i n s o n i s m)、脳鉄蓄積を伴う神経変性、S L C 9 A 6 関連精神遅滞、多発性硬化症、H I V 関連認知症、老人性心アミロイドーシス、及びハンチントン病から選択される。

【0042】

いくつかの実施形態において、個体における認知記憶容量の保持もしくは増加方法、または記憶喪失の減速方法であって、本明細書に記載される抗体または本明細書に記載される抗体を含む薬学的組成物を投与することを含む、方法が提供される。

【0043】

いくつかの実施形態において、個体におけるT a uタンパク質、非リン酸化T a uタンパク質、リン酸化T a uタンパク質、または高リン酸化T a uタンパク質のレベルの低減方法であって、本明細書に記載される抗体または本明細書に記載される抗体を含む薬学的組成物を投与することを含む、方法が提供される。

【0044】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される単離抗体は、医薬品として使用するために提供される。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される単離抗体は、個体におけるタウオパチーの治療に使用するために提供される。いくつかの実施形態において、タウオパチーは、神経変性タウオパチーである。いくつかの実施形態において、タウオパチーは、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン症、クロイツフェルト・ヤコブ病、パンチドランカー、ダウン症候群、ゲルストマン・シュトロイスラー・シャインカー病、封入体筋炎、プリオンタンパク質脳アミロイド血管症、外傷性脳損傷、グアム筋萎縮性側索硬化症/パーキンソン症認知症症候群、神経原線維変化を伴う非グアム運動ニューロン疾患、嗜銀顆粒性認知症、大脳皮質基底核変性症、石灰化を伴うびまん性神経原線維変化病、前頭側頭型認知症(f r o n t o t e t e m p o r a l d e m e n t i a)、17番染色体に連鎖しパーキンソニズムを伴う前頭側頭型認知症、ハラーホルデン・スパッツ病(H a l l e v o r d e n - S p a t z d i s e a s e)、多系統萎縮症、ニーマン・ピック病C型、淡蒼球-橋脳-黒質変性症(P a l l i d o - p o n t o - n i g r a l d e g e n e r a t i o n)、ピック病、進行性皮質下グリオーシス、進行性核上性麻痺、亜急性硬化性全脳炎、神経原線維変化型認知症(または神経原線維変化優位型認知症)、脳炎後パーキンソン症、及び筋強直性ジストロフィーから選択される。いくつかの実施形態において、タウオパチーは、アルツハイマー病または進行性核上性麻痺である。いくつかの実施形態において、T a uタンパク質関連疾患は、P A R T (一次加齢関連タウオパチー)、神経原線維変化優位型認知症、亜急性硬化性全脳炎、慢性外傷性脳症(C T E)、小球状グリア封入体を伴う白質タウオパチー、レヴィー小体認知症(L B D)、軽度認知障害(M C I)、緑内障、家族性イギリス型認知症、家族性デンマーク型認知症、グアドループパーキンソン症(G u a d e l o u p e a n P a r k i n s o n i s m)、脳鉄蓄積を伴う神経変性、S L C 9 A 6 関連精神遅滞、多発性硬化症、H I V 関連認知症、老人性心アミロイドーシス、及びハンチントン病から選択される。

【0045】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される単離抗体は、個体における認知記憶容量の保持もしくは増加、または記憶喪失の減速に使用するために提供される。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される単離抗体は、個体におけるT a uタンパク質、リン酸化T a uタンパク質、非リン酸化T a uタンパク質、または高リン酸化T a uタンパク質のレベルの低減に使用するために提供される。

10

20

30

40

50

【 0 0 4 6 】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体の使用は、個体における T a u タンパク質関連疾患の治療のための医薬品を製造するために提供される。いくつかの実施形態において、T a u タンパク質関連疾患は、タウオパチーである。いくつかの実施形態において、タウオパチーは、神経変性タウオパチーである。いくつかの実施形態において、タウオパチーは、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン症、クロイツフェルト・ヤコブ病、パンチドランカー、ダウン症候群、ゲルストマン・シュトロイスラー・シャインカー病、封入体筋炎、プリオンタンパク質脳アミロイド血管症、外傷性脳損傷、グアム筋萎縮性側索硬化症 / パーキンソン症認知症症候群、神経原線維変化を伴う非グアム運動ニューロン疾患、嗜銀顆粒性認知症、大脳皮質基底核変性症、石灰化を伴うびまん性神経原線維変化病、前頭側頭型認知症 (f r o n t o t e m p o r a l d e m e n t i a)、17番染色体に連鎖しパーキンソニズムを伴う前頭側頭型認知症、ハラーホルデン・スパッツ病 (H a l l e v o r d e n - S p a t z d i s e a s e)、多系統萎縮症、ニーマン・ピック病 C 型、淡蒼球 - 橋脳 - 黒質変性症 (P a l l i d o - p o n t o - n i g r a l d e g e n e r a t i o n)、ピック病、進行性皮質下グリオシス、進行性核上性麻痺、亜急性硬化性全脳炎、神経原線維変化型認知症 (または神経原線維変化優位型認知症)、脳炎後パーキンソン症、及び筋強直性ジストロフィーから選択される。いくつかの実施形態において、タウオパチーは、アルツハイマー病または進行性核上性麻痺である。いくつかの実施形態において、T a u タンパク質関連疾患は、P A R T (一次加齢関連タウオパチー)、神経原線維変化優位型認知症、亜急性硬化性全脳炎、慢性外傷性脳症 (C T E)、小球状グリア封入体を伴う白質タウオパチー、レヴィー小体認知症 (L B D)、軽度認知障害 (M C I)、緑内障、家族性イギリス型認知症、家族性デンマーク型認知症、グアドループパーキンソン症 (G u a d e l o u p e a n P a r k i n s o n i s m)、脳鉄蓄積を伴う神経変性、S L C 9 A 6 関連精神遅滞、多発性硬化症、H I V 関連認知症、老人性心アミロイドーシス、及びハンチントン病から選択される。

10

20

【 0 0 4 7 】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体の使用は、個体における認知記憶容量の保持もしくは増加、または記憶喪失の減速のための医薬品を製造するために提供される。

30

【 0 0 4 8 】

本明細書に記載される実施形態のいずれにおいても、方法または使用は、少なくとも 1 つの追加の療法と組み合わせて本明細書に記載される抗体を投与することを含んでもよい。追加の療法の非限定的な例としては、神経薬、コルチコステロイド、抗生物質、抗ウイルス剤、及び他の治療剤が挙げられる。そのような他の治療剤としては、他の抗 T a u 抗体、アミロイド - β に対する抗体、 β - セクレターゼ 1 に対する抗体 (「 B A C E 1 」)、及び β - セクレターゼ 1 の阻害剤が挙げられるが、これらに限定されない。

【 0 0 4 9 】

いくつかの実施形態において、神経原線維変化、神経絨毛系、または変性神経突起の検出方法であって、試料を本明細書に記載される抗体と接触させることを含む、方法が提供される。いくつかの実施形態において、試料中の T a u の検出方法であって、試料を本明細書に提供される抗体と接触させることを含む、方法が提供される。

40

【 0 0 5 0 】

いくつかの実施形態において、対象が、治療用抗 T a u 抗体での治療に应答するかどうかの予測方法であって、対象からの試料中の T a u を検出抗 T a u 抗体で検出することを含み、検出抗 T a u 抗体が、成熟ヒト T a u のアミノ酸 1 ~ 1 5、1 0 ~ 2 4、1 9 ~ 3 3、1 9 ~ 4 2、2 8 ~ 4 2、2 8 ~ 4 4、3 7 ~ 4 4、または 3 7 ~ 5 1 内のエピトープに結合する、方法を提供する。いくつかのそのような実施形態において、試料中で検出された T a u のレベルが、T a u の対照レベルよりも大きい場合、対象が、治療用抗 T a u 抗体での治療に应答すると予測される。

50

【 0 0 5 1 】

いくつかの実施形態において、治療用抗 T a u 抗体での治療のための患者の選択方法であって、対象からの試料中の T a u を検出抗 T a u 抗体で検出することを含み、検出抗 T a u 抗体が、成熟ヒト T a u のアミノ酸 1 ~ 1 5、1 0 ~ 2 4、1 9 ~ 3 3、1 9 ~ 4 2、2 8 ~ 4 2、2 8 ~ 4 4、3 7 ~ 4 4、または 3 7 ~ 5 1 内のエピトープに結合する、方法が提供される。いくつかのそのような実施形態において、試料中で検出された T a u のレベルが、T a u の対照レベルよりも大きい場合、対象が、治療用抗 T a u 抗体での治療のために選択される。

【 0 0 5 2 】

いくつかの実施形態において、治療用抗 T a u 抗体での治療のモニタリング方法であって、治療中の対象からの試料中の T a u を検出抗 T a u 抗体で検出することを含み、検出抗 T a u 抗体が、成熟ヒト T a u のアミノ酸 1 ~ 1 5、1 0 ~ 2 4、1 9 ~ 3 3、1 9 ~ 4 2、2 8 ~ 4 2、2 8 ~ 4 4、3 7 ~ 4 4、または 3 7 ~ 5 1 内のエピトープに結合する、方法が提供される。いくつかのそのような実施形態において、治療中のより早い時点でまたは治療の開始前に採取された対象からの第 1 の試料中の T a u のレベルと比較した、治療中の後の時点で採取された対象からの第 2 の試料中の T a u の増加は、治療が有効であることを示す。いくつかの実施形態において、検出抗 T a u 抗体は、T a u への結合について治療用抗 T a u 抗体と競合しない。

10

【 0 0 5 3 】

いくつかの実施形態において、治療用抗 T a u 抗体は、成熟ヒト T a u のアミノ酸 2 ~ 2 4 内のエピトープに結合する。いくつかの実施形態において、検出抗 T a u 抗体は、T a u への結合について治療用抗 T a u 抗体と競合しない。いくつかの実施形態において、検出抗 T a u 抗体は、表 4 または表 3 1 から選択される抗体である。いくつかの実施形態において、検出抗 T a u 抗体は、本明細書に提供される抗体である。いくつかの実施形態において、検出抗 T a u 抗体は、1 5 C 6 - A 7、6 3 H 3 - D 8、1 2 3 E 9 - A 1、6 4 B 9 - F 1 2、7 A 1 1 C 1 2、2 3 1 G 3 F 1 0、6 3 H 3 - D 8、6 4 B 9 - F 1 2、及び 7 2 E 1 2 - H 9 から選択される。いくつかの実施形態において、検出抗 T a u 抗体は、成熟ヒト T a u のアミノ酸 3 7 ~ 4 4 内のエピトープに結合する。

20

【 0 0 5 4 】

いくつかの実施形態において、治療用抗 T a u 抗体での治療のための患者の選択方法であって、対象からの試料中の T a u を検出抗 T a u 抗体で検出することを含み、検出抗 T a u 抗体が、成熟ヒト T a u の 2 N アイソフォームに結合する、方法が提供される。いくつかのそのような実施形態において、試料中で検出される 2 N アイソフォームのレベルが、対照の 2 N アイソフォームレベルよりも大きい場合、対象は、治療用抗 T a u 抗体での治療のために選択される。いくつかの実施形態において、2 N アイソフォームが、試料中で検出される場合、対象は、治療用抗 T a u 抗体での治療のために選択される。いくつかの実施形態において、タウオパチーを有する対象における認知障害の進行のモニタリング方法であって、対象からの試料中の T a u を検出抗 T a u 抗体で検出することを含み、検出抗 T a u 抗体が、成熟ヒト T a u の 2 N アイソフォームに結合する、方法が提供される。いくつかのそのような実施形態において、成熟ヒト T a u の 2 N アイソフォームのレベルの増加は、認知障害の進行を示す。いくつかの実施形態において、治療用抗 T a u 抗体での治療のモニタリング方法であって、治療中の対象からの試料中の T a u を検出抗 T a u 抗体で検出することを含み、検出抗 T a u 抗体が、成熟ヒト T a u の 2 N アイソフォームに結合する、方法が提供される。いくつかの実施形態において、成熟ヒト T a u の 2 N アイソフォームのレベルの減少は、治療が有効であることを示す。いくつかの実施形態において、検出抗体は、成熟ヒト T a u のアミノ酸 6 4 ~ 7 8、7 3 ~ 8 7、8 2 ~ 9 6、9 1 ~ 1 0 5、1 0 0 ~ 1 1 4、1 0 9 ~ 1 2 3、1 1 8 ~ 1 3 2、1 3 6 ~ 1 5 0、1 5 4 ~ 1 6 8、1 6 3 ~ 1 7 7、1 7 2 ~ 1 7 7、1 9 0 ~ 2 0 4、4 2 1 ~ 4 2 9、または 4 2 2 ~ 4 2 9 内のエピトープに結合する。いくつかの実施形態において、検出抗体は、表 4 または表 3 1 から選択される抗体である。いくつかの実施形態において、検出抗

30

40

50

体は、アミノ酸 73 ~ 87、91 ~ 105、64 ~ 78、190 ~ 204、421 ~ 429、または 422 ~ 429 内のエピトープに結合する。いくつかの実施形態において、検出抗体は、30A1C9、211G6 - B6、77D1 - D2、71H8 - D6、及び 307H3E8 から選択される。いくつかの実施形態において、検出抗体は、アミノ酸 64 ~ 78 または 109 ~ 123 内のエピトープに結合する。いくつかの実施形態において、検出抗体は、30D12 - B5、49G10 - F4、及び 65B1 - A2 から選択される。

【0055】

いくつかの実施形態において、試料は、脳試料、脳脊髄液試料、または血液試料である。

10

【図面の簡単な説明】

【0056】

【図1A】高リン酸化 Tau (pTau) に対する抗体の結合を、ELISA を使用して非リン酸化 Tau と比較した。結果を光学濃度 (O.D.) で表す。

【図1B】高リン酸化 Tau (pTau) に対する抗体の結合を、ELISA を使用して非リン酸化 Tau と比較した。結果を光学濃度 (O.D.) で表す。

【図1C】高リン酸化 Tau (pTau) に対する抗体の結合を、ELISA を使用して非リン酸化 Tau と比較した。結果を光学濃度 (O.D.) で表す。

【図1D】高リン酸化 Tau (pTau) に対する抗体の結合を、ELISA を使用して非リン酸化 Tau と比較した。結果を光学濃度 (O.D.) で表す。

20

【図1E】高リン酸化 Tau (pTau) に対する抗体の結合を、ELISA を使用して非リン酸化 Tau と比較した。結果を光学濃度 (O.D.) で表す。

【図1F】高リン酸化 Tau (pTau) に対する抗体の結合を、ELISA を使用して非リン酸化 Tau と比較した。結果を光学濃度 (O.D.) で表す。

【図2A】オリゴマー Tau に対する抗体の結合を、オリゴ及びモノ Tau 捕捉 ELISA を使用して評価した。結果を光学濃度 (O.D.) で表す。

【図2B】オリゴマー Tau に対する抗体の結合を、オリゴ及びモノ Tau 捕捉 ELISA を使用して評価した。結果を光学濃度 (O.D.) で表す。

【図2C】オリゴマー Tau に対する抗体の結合を、オリゴ及びモノ Tau 捕捉 ELISA を使用して評価した。結果を光学濃度 (O.D.) で表す。

30

【図2D】オリゴマー Tau に対する抗体の結合を、オリゴ及びモノ Tau 捕捉 ELISA を使用して評価した。結果を光学濃度 (O.D.) で表す。

【図2E】オリゴマー Tau に対する抗体の結合を、オリゴ及びモノ Tau 捕捉 ELISA を使用して評価した。結果を光学濃度 (O.D.) で表す。

【図3】試験された3つの panTau 抗体は、ウェスタンブロット (WB) アッセイを使用すると、アルツハイマー病 (AD) 及び適合対照ドナーからの脳ライセート中で可溶性 Tau に対する結合を示す。AD 及び対照脳ライセートからのタンパク質抽出物、ならびに組み換えヒト Tau の6つのアイソフォームを SDS-PAGE 上で泳動させ、膜を3つの panTau 抗体 (37D3 - H9、94B2 - C1、及び 125B11 - H3) でブロットした。AD 試料を有するレーンを AD18、AD24、及び AD27 として標識し、対照試料を有するレーンを C25 及び C21 として標識する。組み換えヒト Tau の6つのアイソフォームを泳動させたレーンを hTau ラダーとして標識する。

40

【図4A】PanTau 抗体は、Tau 捕捉 ELISA を使用すると、AD 及び適合対照ドナーからの脳ライセート中で可溶性 Tau に対する結合を示す。3つの panTau 抗体、37D3 - H9、94B2 - C1、及び 125B11 - H3 について、データを示す。結果を、平均値 ± 標準偏差、N = 2 で、光学濃度 (O.D.) で表す。

【図4B】PanTau 抗体は、Tau 捕捉 ELISA を使用すると、AD 及び適合対照ドナーからの脳ライセート中で可溶性 Tau に対する結合を示す。3つの panTau 抗体、37D3 - H9、94B2 - C1、及び 125B11 - H3 について、データを示す。結果を、平均値 ± 標準偏差、N = 2 で、光学濃度 (O.D.) で表す。

50

【図4C】PanTau抗体は、Tau捕捉ELISAを使用すると、AD及び適合対照ドナーからの脳ライセート中で可溶性Tauに対する結合を示す。3つのpanTau抗体、37D3-H9、94B2-C1、及び125B11-H3について、データを示す。結果を、平均値±標準偏差、N=2で、光学濃度(OD)で表す。

【図5】Fab(左パネル)として及びIgG(右パネル)として、Biacoreチップ表面に共有結合的にカップリングされたヒトTauモノマーに結合する37D3-H9を示す、センサグラム。1:1の結合モデルが適用されており、上重ねとして示されている。x軸は、時間(単位=秒)を示す。y軸は、共鳴単位(RU)を示す。

【図6】3.1、6.3、12.5、25、25、50、及び100nMのヒトTauモノマーに対する、hu37D3-H9.v5試料(t=0(左パネル)及びt=2週間(右パネル))の結合を示す、上重ねセンサグラム。1:1の結合モデルが適用されており、これもまたこの図に示されている。x軸は、時間(単位=秒)を示す。y軸は、共鳴単位(RU)を示す。

【図7】個々での(左パネルはhu37D3-H9.v5を示し、中間パネルはhu37D3-H9.v5 N28Dを示す)、かつ1:1の比率で混合した(右パネル)、モノマーTauに対するhu37D3-H9.v5及びhu37D3-H9.v5 N28Dの結合。x軸は、時間(単位=秒)を示す。y軸は、共鳴単位(RU)を示す。

【図8A】潜在的な安定性の改善の潜在性についてスクリーニングした、90個の37D3-H9変異形の親和性、安定性指数、及び配列。明瞭さのため、各実験の開始時、中間時、及び終了時に泳動させた、応力をかけていない対照抗体(hu37D3-H9.v5 hIgG1)について得られる値を、表の両方のセクションにおいて示す。

【図8B】潜在的な安定性の改善の潜在性についてスクリーニングした、90個の37D3-H9変異形の親和性、安定性指数、及び配列。明瞭さのため、各実験の開始時、中間時、及び終了時に泳動させた、応力をかけていない対照抗体(hu37D3-H9.v5 hIgG1)について得られる値を、表の両方のセクションにおいて示す。

【図8C】潜在的な安定性の改善の潜在性についてスクリーニングした、90個の37D3-H9変異形の親和性、安定性指数、及び配列。明瞭さのため、各実験の開始時、中間時、及び終了時に泳動させた、応力をかけていない対照抗体(hu37D3-H9.v5 hIgG1)について得られる値を、表の両方のセクションにおいて示す。

【図8D】潜在的な安定性の改善の潜在性についてスクリーニングした、90個の37D3-H9変異形の親和性、安定性指数、及び配列。明瞭さのため、各実験の開始時、中間時、及び終了時に泳動させた、応力をかけていない対照抗体(hu37D3-H9.v5 hIgG1)について得られる値を、表の両方のセクションにおいて示す。

【図9】軽鎖の残基28~33(NGNTYFモチーフ)の位置、ならびに残基28及び33の相対位置を示す、37D3-H9 Fv領域の構造モデル。hu37D3.v28.A4においてLeuに変異した残基33が、不安定なAsn-28残基の近くにはないことに留意されたい。A4~Leuは、不安定なAsn-28残基の近くにはない。点線は、残基Asn-28と残基Tyr-32との間の水素結合を示す。MOEソフトウェアパッケージ(Chemical Computing Group)を使用して生成された図。

【図10】単回の10mg/kg静脈内または腹腔内注射後の、マウスにおける抗Tau抗体37D3-H9の薬物動態を示す。

【図11】1mg/kgの用量の単回静脈内ボラス注入後の、カニクイザルにおけるhu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P及びhu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P.YTEの薬物動態を示す。

【図12A】Tau断片に対するある特定の抗Tau抗体の結合。Tau断片1~15、10~24、19~33、28~42、37~51、及び46~60に対するある特定の抗Tau抗体の結合を示す。

【図12B】Tau断片に対するある特定の抗Tau抗体の結合。Tau断片10~44、10~24、2~24、2~34、及び完全長Tauに対する抗体37D3-H9 m

10

20

30

40

50

I g G 2 a の結合を示す。

【図 1 2 C】T a u 断片に対するある特定の抗 T a u 抗体の結合。T a u 断片 1 0 ~ 4 4、1 0 ~ 2 4、2 ~ 2 4、2 ~ 3 4、及び完全長 T a u に対する抗体 h u 3 7 D 3 - H 9、v 5 h I g G 1 の結合を示す。

【図 1 3 A】ニューロン - ミクログリア共培養物中での T a u 毒性に対するエフェクター機能の影響。様々な抗体及びオリゴマー T a u と接触させた、共培養物中の M A P 2 断片化パーセント。

【図 1 3 B】ニューロン - ミクログリア共培養物中での T a u 毒性に対するエフェクター機能の影響。様々な抗体及びオリゴマー T a u と接触させた、ニューロン（上部パネル）及びニューロン - ミクログリア共培養物（下部パネル）の画像。

【図 1 4】抗 t a u 3 7 D 3 - H 9 W T I g G 2 a または抗 t a u 3 7 D 3 - H 9 D A N G I g G 2 を投与したマウスの海馬内の p T a u 2 1 2 / 2 1 4 レベル。

【図 1 5】ヒト T a u 配列とカニクイザル T a u 配列との比較。抗体 3 7 D 3 - H 9 のエピトープを示す。

【図 1 6】単回の 1 0 m g / k g の静脈内または腹腔内注射後の、マウスにおける抗 T a u 抗体 9 4 B 2 - C 1 の薬物動態を示す。

【図 1 7】単回の 1 0 m g / k g の静脈内または腹腔内注射後の、マウスにおける抗 T a u 抗体 1 2 5 B 1 1 - H 3 の薬物動態を示す。

【図 1 8】h u 3 7 D 3 - H 9、v 1、h u 3 7 D 3 - H 9、v 3 9、h u 3 7 D 3 - H 9、v 4 0、及び h u 3 7 D 3 - H 9、v 4 1 のカップ 1 軽鎖可変領域の整列を示す。

【図 1 9 A】5 0 m g / k g の示される抗体の単回静脈内注射後の、カニクイザルにおける血漿抗体濃度を示す。

【図 1 9 B】5 0 m g / k g の示される抗体の単回静脈内注射後の、カニクイザルにおける C S F 抗体濃度を示す。

【図 2 0】5 0 m g / k g の示される抗体の単回静脈内注射後の、カニクイザルにおける血漿総 T a u 濃度及び血漿抗体濃度を示す。

【図 2 1 A】5 0 m g / k g の h u 3 7 D 3、v 2 8、A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P の単回静脈内注射の 2 日後及び 1 0 日後の、カニクイザル脳の様々な領域における抗体濃度を示す。

【図 2 1 B】5 0 m g / k g の h u 3 7 D 3、v 2 8、A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P、Y T E の単回静脈内注射の 2 日後及び 1 0 日後の、カニクイザル脳の様々な領域における抗体濃度を示す。

【図 2 1 C】5 0 m g / k g の h u 3 7 D 3、v 2 8、A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P 及び h u 3 7 D 3、v 2 8、A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P、Y T E の単回静脈内注射の 2 日後及び 1 0 日後の、脳内の平均抗体濃度を示す。

【図 2 1 D】5 0 m g / k g の h u 3 7 D 3、v 2 8、A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P 及び h u 3 7 D 3、v 2 8、A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P、Y T E の単回静脈内注射の 2 日後及び 1 0 日後の、脳：血漿抗体濃度の % を示す。

【図 2 2 A】対数スケールでプロットした、5 0 m g / k g の示される抗体の単回静脈内注射後の様々な時点での、カニクイザル脳内の抗体の濃度を示す。

【図 2 2 B】直線スケールでプロットした、5 0 m g / k g の示される抗体の単回静脈内注射後の様々な時点での、カニクイザル脳内の抗体の濃度を示す。

【図 2 3 A】5 0 m g / k g の示される抗体の単回静脈内注射後の様々な時点での、カニクイザルの海馬における抗体の濃度を示す。

【図 2 3 B】5 0 m g / k g の示される抗体の単回静脈内注射後の様々な時点での、カニクイザルの小脳における抗体の濃度を示す。

【図 2 3 C】5 0 m g / k g の示される抗体の単回静脈内注射後の様々な時点での、カニクイザルの前頭皮質における抗体の濃度を示す。

【図 2 3 D】5 0 m g / k g の示される抗体の単回静脈内注射後の様々な時点での、カニクイザルの C S F における抗体の濃度を示す。

10

20

30

40

50

【図 2 3 E】50 mg / kg の示される抗体の単回静脈内注射後の様々な時点での、カニクイザルの血漿における抗体の濃度を示す。

【図 2 4 A】50 mg / kg の示される抗体の単回静脈内注射後の、カニクイザルにおける経時的な血漿総 T a u 濃度の平均を示す。

【図 2 4 B】50 mg / kg の示される抗体の単回静脈内注射後の、カニクイザルにおける経時的な個々の血漿総 T a u 濃度を示す。

【図 2 5】ある特定の抗体の T a u 0 N / 1 N / 2 N アイソフォーム選択性、及び各抗体を生成するために使用されたワクチンを示す。エクソン 1 ~ 4 によってコードされる領域に及ぶ T a u の N 末端領域において結合する抗体を、ヒト T a u アイソフォームに対する、正または負の選択性についてアッセイした。0 N -、1 N -、及び 2 N - T a u を使用して E L I S A を実施し、ヒト T a u アイソフォーム結合選択性を検証した。

10

【図 2 6】T a u の N 末端領域において結合する抗体のエピトープグループ分けを示す。抗体を、I ~ V として示される 5 つの群に分割し、エピトープを、残基 37 ~ 51 (群 I)、64 ~ 78 (群 II)、73 ~ 87 (群 III)、82 ~ 96 (群 IV)、または 91 ~ 105 (群 V) にマップする。表は、これらの抗体が正 (+) 及び負 (-) の選択性を有する T a u アイソフォームを特定する。

【発明を実施するための形態】

【0057】

I. 定義

本明細書の目的のための「アクセプターヒトフレームワーク」は、以下に定義される、ヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワークに由来する、軽鎖可変ドメイン (V L) フレームワークまたは重鎖可変ドメイン (V H) フレームワークのアミノ酸配列を含むフレームワークである。ヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワーク「に由来する」アクセプターヒトフレームワークは、その同一のアミノ酸配列を含んでもよく、またはそれは、アミノ酸配列変化を含有してもよい。いくつかの実施形態において、アミノ酸変化の数は、10 以下、9 以下、8 以下、7 以下、6 以下、5 以下、4 以下、3 以下、または 2 以下である。いくつかの実施形態において、V L アクセプターヒトフレームワークの配列は、V L ヒト免疫グロブリンフレームワーク配列またはヒトコンセンサスフレームワーク配列と同一である。

20

【0058】

「親和性」とは、分子 (例えば、抗体) の単一結合部位とその結合パートナー (例えば、抗原) の間の非共有結合相互作用の合計の強度を指す。別途示されない限り、本明細書で使用される場合、「結合親和性」とは、結合対のメンバー (例えば、抗体及び抗原) 間の 1 : 1 の相互作用を反映する固有の結合親和性を指す。分子 X の、そのパートナー Y に対する親和性は一般に、解離定数 (K_D) によって表すことができる。親和性は、本明細書に記載される方法を含む、当該技術分野において既知である一般的な方法によって測定され得る。結合親和性を測定するための具体的な例証的かつ例示的实施形態が、以下に記載される。

30

【0059】

「親和性成熟」抗体とは、そのような変化を持たない親抗体と比較して、1 つ以上の超可変領域 (H V R) 内で 1 つ以上のそのような変化を有し、そのような変化によって抗原に対する抗体の親和性を改善する、抗体を指す。

40

【0060】

「抗 T a u 抗体」及び「T a u に結合する抗体」という用語は、抗体が T a u を標的とする際に診断剤及び / または治療剤として有用になるように十分な親和性で T a u に結合することができる抗体を指す。いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体が非関連非 T a u タンパク質に結合する程度は、例えば、ラジオイムノアッセイ (R I A) によって測定される、抗体の T a u への結合の約 10 % 未満である。ある特定の实施形態において、T a u に結合する抗体は、1 μ M、100 nM、10 nM、1 nM、0.1 nM、0.01 nM、または 0.001 nM (例えば、 10^{-8} M 以下、例えば 10^{-

50

$10^{-8} \text{ M} \sim 10^{-13} \text{ M}$ 、例えば $10^{-9} \text{ M} \sim 10^{-13} \text{ M}$) の解離定数 (K_D) を有する。ある特定の実施形態において、抗 T a u 抗体は、異なる種由来の T a u 間で保存される T a u のエピトープに結合する。本明細書で使用される場合、「抗 T a u 抗体」及び「T a u に結合する抗体」という用語は、別段具体的に示されない限り、モノマー T a u、オリゴマー T a u、及び/またはリン酸化 T a u に結合する抗体を指す。いくつかのそのような実施形態において、抗 T a u 抗体は、互いに 50 倍以下だけ異なる親和性などの同等の親和性で、モノマー T a u、オリゴマー T a u、非リン酸化 T a u、及びリン酸化 T a u に結合する。いくつかの実施形態において、モノマー T a u、オリゴマー T a u、非リン酸化 T a u、及びリン酸化 T a u に結合する抗体は、「p a n - T a u 抗体」と呼ばれる。

10

【0061】

「抗体」という用語は、本明細書で最も広義に使用され、それらが所望される抗原結合活性を示す限り、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、及び抗体断片を含むが、これらに限定されない、様々な抗体構造を包含する。

【0062】

「抗体断片」とは、無傷抗体が結合する抗原に結合する、無傷抗体の一部分を含む無傷抗体以外の分子を指す。抗体断片の例としては、F v、F a b、F a b'、F a b' - S H、F (a b')₂；ダイアボディ；線状抗体；一本鎖抗体分子（例えば、s c F v）；及び抗体断片から形成される多重特異性抗体が挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0063】

基準抗体としての「同一のエピトープに結合する抗体」は、競合アッセイにおいて、基準抗体がその抗原に結合するのを 50 % 以上遮断する抗体、及び逆に、競合アッセイにおいて、抗体がその抗原に結合するのを 50 % 以上遮断する基準抗体を指す。例示的な競合アッセイが本明細書に提供される。

【0064】

「キメラ」抗体という用語は、重鎖及び/または軽鎖の一部分が特定の源または種に由来する一方で、重鎖及び/または軽鎖の残りの部分が異なる源または種に由来する抗体を指す。

【0065】

抗体の「クラス」とは、その重鎖が持つ定常ドメインまたは定常領域の種類を指す。抗体の 5 つの主要なクラス：I g A、I g D、I g E、I g G、及び I g M が存在し、これらのいくつかは、サブクラス（アイソタイプ）、例えば、I g G₁、I g G₂、I g G₃、I g G₄、I g A₁、及び I g A₂ に更に分けることができる。異なるクラスの免疫グロブリンに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれ、 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 、及び μ と呼ばれる。

30

【0066】

本明細書で使用される場合、「細胞傷害性薬剤」という用語は、細胞機能を阻害もしくは阻止する、かつ/または細胞死もしくは破壊を引き起こす物質を指す。細胞傷害性薬剤としては、放射性同位体（例えば、A t²¹¹、I¹³¹、I¹²⁵、Y⁹⁰、R e¹⁸⁶、R e¹⁸⁸、S m¹⁵³、B i²¹²、P³²、P b²¹² 及び L u の放射性同位体）；化学療法剤もしくは化学療法薬（例えば、メトトレキサート、アドリアマイシン、ビンカルカロイド（ビンクリスチン、ビンブラスチン、エトボシド）、ドキシソルピシン、メルファラン、マイトマイシン C、クロラムブシル、ダウノルビシンまたは他の挿入剤）；成長阻害剤；核酸分解酵素などの酵素及びそれらの断片；抗生物質；細菌、真菌、植物または動物起源の小分子毒素または酵素活性毒素（それらの断片及び/もしくは変異形を含む）などの毒素；ならびに下に記載される様々な抗腫瘍剤または抗癌剤が挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0067】

「エフェクター機能」とは、抗体のアイソタイプにより異なる抗体の F c 領域に起因す

50

る生物学的活性を指す。抗体エフェクター機能の例としては、C 1 q 結合及び補体依存性細胞傷害性 (C D C)、F c 受容体結合、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害性 (A D C C)、食作用、細胞表面受容体 (例えば、B 細胞受容体) の下方制御、ならびに B 細胞活性化が挙げられる。

【 0 0 6 8 】

ある薬剤、例えば、ある薬学的製剤の「有効量」は、必要な投薬量で一定期間にわたって、所望される治療的または予防的結果を達成するために有効な量を指す。

【 0 0 6 9 】

本明細書における「F c 領域」という用語は、定常領域の少なくとも一部分を含有する免疫グロブリン重鎖の C 末端領域を定義するように使用される。この用語は、天然配列 F c 領域及び変異形 F c 領域を含む。いくつかの実施形態において、ヒト I g G 重鎖 F c 領域は、C y s 2 2 6 または P r o 2 3 0 から、重鎖のカルボキシル末端に及ぶ。しかしながら、F c 領域の C 末端リジン (L y s 4 4 7) は、存在する場合もあれば、しない場合もある。別段本明細書で指定されない限り、F c 領域または定常領域中のアミノ酸残基の番号付けは、K a b a t e t a l . , S e q u e n c e s o f P r o t e i n s o f I m m u n o l o g i c a l I n t e r e s t , 5 t h E d . P u b l i c H e a l t h S e r v i c e , N a t i o n a l I n s t i t u t e s o f H e a l t h , B e t h e s d a , M D , 1 9 9 1 . に記載されるように、E U インデックスとも呼ばれる E U 番号付けシステムに従う。

10

【 0 0 7 0 】

「フレームワーク」または「F R」は、超可変領域 (H V R) 残基以外の可変ドメイン残基を指す。可変ドメインの F R は一般に、4 つの F R ドメイン: F R 1、F R 2、F R 3、及び F R 4 からなる。したがって、H V R 及び F R 配列は一般に、V H (または V L) において以下の配列: F R 1 - H 1 (L 1) - F R 2 - H 2 (L 2) - F R 3 - H 3 (L 3) - F R 4 で出現する。

20

【 0 0 7 1 】

「完全長抗体」、「無傷抗体」、及び「全抗体」という用語は、本明細書において、天然抗体構造と実質的に同様の構造を有する、または本明細書に定義される F c 領域を含有する重鎖を有する抗体を指すように互換的に使用される。

【 0 0 7 2 】

「宿主細胞」、「宿主細胞株」、及び「宿主細胞培養物」という用語は互換的に使用され、外因性核酸が中に導入されている細胞を指し、そのような細胞の子孫を含む。宿主細胞は、「形質転換体」及び「形質転換細胞」を含み、これらは、初代形質転換細胞及び継代の数に関わらずそれに由来する子孫を含む。子孫は、親細胞と核酸含有量の点で完全に同一ではないが、変異を含み得る。元来形質転換された細胞についてスクリーニングまたは選択されたものと同じの機能または生物学的活性を有する変異子孫が、本明細書に含まれる。

30

【 0 0 7 3 】

「ヒト抗体」は、ヒトもしくはヒト細胞によって産生された、またはヒト抗体レパトリーを利用する非ヒト源に由来する抗体のアミノ酸配列、あるいは他のヒト抗体コード配列に対応するアミノ酸配列を持つものである。ヒト抗体のこの定義は、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を具体的に除外する。

40

【 0 0 7 4 】

「可変領域」または「可変ドメイン」という用語は、抗体の抗原への結合に関与する抗体の重鎖または軽鎖のドメインを指す。天然抗体の重鎖及び軽鎖 (それぞれ、V H 及び V L) の可変ドメインは一般に、各ドメインが 4 つの保存フレームワーク領域 (F R) 及び 3 つの超可変領域 (H V R) を含む同様の構造を有する。(例えば、K i n d t e t a l . K u b y I m m u n o l o g y , 6 ^{t h} e d . , W . H . F r e e m a n a n d C o . , p a g e 9 1 (2 0 0 7) を参照。) 単一の V H ドメインまたは V L ドメインは、抗原結合特異性を付与するのに十分であり得る。更に、抗原に結合する抗体の V

50

HドメインまたはVドメインを使用して、特定の抗原に結合する抗体を単離して、それぞれ相補的VドメインまたはVHドメインのライブラリをスクリーニングすることができる。例えば、Portolano et al., J. Immunol. 150: 880 - 887 (1993)、Clarkson et al., Nature 352: 624 - 628 (1991)を参照されたい。

【0075】

「ヒトコンセンサスフレームワーク」は、ヒト免疫グロブリンVドメインまたはVHドメインフレームワーク配列の選択において最も一般的に生じるアミノ酸残基を表すフレームワークである。一般に、ヒト免疫グロブリンVドメインまたはVHドメイン配列の選択は、可変ドメイン配列のサブグループからである。一般に、配列のサブグループは、Kabata et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3にあるようなサブグループである。いくつかの実施形態において、Vドメインについて、サブグループは、Kabataら（上記）にあるようなサブグループIである。いくつかの実施形態において、VHドメインについて、サブグループは、Kabataら（上記）にあるようなサブグループIIIである。

【0076】

「ヒト化」抗体とは、非ヒトHVR由来のアミノ酸残基及びヒトFR由来のアミノ酸残基を含む、キメラ抗体を指す。ある特定の実施形態において、ヒト化抗体は、少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメインの実質的に全てを含み、そのHVR（例えば、CDR）の全てまたは実質的に全てが非ヒト抗体のものに対応し、FRの全てまたは実質的に全てがヒト抗体のものに対応する。ヒト化抗体は任意で、ヒト抗体に由来する抗体定常領域の少なくとも一部分を含んでもよい。抗体、例えば非ヒト抗体の「ヒト化形態」とは、ヒト化を受けた抗体を指す。

【0077】

本明細書で使用される場合、「超可変領域」または「HVR」という用語は、配列中で超可変（「相補性決定領域」もしくは「CDR」）であり、かつ／または構造的に定義されたループ（「超可変ループ」）を形成し、かつ／または抗原接触残基（「抗原接触体」）を含有する、抗体可変ドメインの領域のそれぞれを指す。一般に、抗体は6つのHVRを含み、3つがVH（H1、H2、H3）にあり、3つがVL（L1、L2、L3）にある。本明細書の例示的なHVRとしては、

(a) アミノ酸残基26～32（L1）、50～52（L2）、91～96（L3）、26～32（H1）、53～55（H2）、及び96～101（H3）で生じる超可変ループ（Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196: 901 - 917 (1987)）、

(b) アミノ酸残基24～34（L1）、50～56（L2）、89～97（L3）、31～35b（H1）、50～65（H2）、及び95～102（H3）で生じるCDR（Kabata et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)）、

(c) アミノ酸残基27c～36（L1）、46～55（L2）、89～96（L3）、30～35b（H1）、47～58（H2）、及び93～101（H3）で生じる抗原接触体（MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262: 732 - 745 (1996)）、ならびに

(d) HVRアミノ酸残基46～56（L2）、47～56（L2）、48～56（L2）、49～56（L2）、26～35（H1）、26～35b（H1）、49～65（H2）、93～102（H3）、及び94～102（H3）を含む、(a)、(b)、及び／または(c)の組み合わせが挙げられる。

【 0 0 7 8 】

別段示されない限り、可変ドメイン（例えば、F R 残基）内のH V R 残基及び他の残基は、本明細書においてK a b a t ら（上記）に従って番号付けされる。

【 0 0 7 9 】

「免疫複合体」は、細胞傷害性薬剤を含むが、これに限定されない、1つ以上の異種性分子（複数可）に複合体化される抗体である。

【 0 0 8 0 】

「個体」または「対象」は、哺乳動物である。哺乳動物としては、家畜（例えば、ウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ、及びウマ）、霊長類（例えば、ヒト、及びサルなどの非ヒト霊長類）、ウサギ、ならびに齧歯類（例えば、マウス及びラット）が挙げられるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態において、個体または対象は、ヒトである。

10

【 0 0 8 1 】

「単離」抗体は、その自然環境の構成成分から分離されているものである。いくつかの実施形態において、抗体は、例えば、電気泳動法（例えば、S D S - P A G E、等電点電気泳動（I E F）、キャピラリー電気泳動）またはクロマトグラフ法（例えば、イオン交換または逆相H P L C）によって決定して、95%または99%を超える純度まで精製される。抗体純度の評価のための方法の概説については、例えば、F l a t m a n e t a l., J. C h r o m a t o g r . B 848:79-87(2007)を参照されたい。

【 0 0 8 2 】

「単離」核酸とは、その自然環境の構成成分から分離された核酸分子を指す。単離核酸は、通常は核酸分子を含有する細胞内に含有される核酸分子を含むが、その核酸分子が染色体外に、またはその天然染色体位置とは異なる染色体位置に存在する。

20

【 0 0 8 3 】

「抗T a u抗体をコードする単離核酸」とは、抗体重鎖及び軽鎖（またはそれらの断片）をコードする1つ以上の核酸分子を指し、単一のベクターまたは別個のベクター内のそのような核酸分子（複数可）を含み、そのような核酸分子（複数可）は、宿主細胞内の1つ以上の位置に存在する。

【 0 0 8 4 】

本明細書で使用される場合、「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に同種の抗体の集団から得られる抗体を指し、すなわち、その集団を構成する個々の抗体は、同一である、かつ/または同一のエピトープに結合するが、例えば、天然に存在する変異を含有する、またはモノクローナル抗体調製物の産生中に生じる、想定される変異形抗体を除いて、そのような変異形は一般に少量で存在する。異なる決定基（エピトープ）に対して指向される異なる抗体を典型的に含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、モノクローナル抗体調製物の各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対して指向される。したがって、「モノクローナル」という修飾語は、実質的に同種の抗体の集団から得られる抗体の特徴を示しており、いかなる特定の方法による抗体の産生も必要とするものとして解釈されるものではない。例えば、本発明に従って使用されるモノクローナル抗体は、ハイブリドーマ法、組み換えDNA法、ファージ提示法、及びヒト免疫グロブリン遺伝子座の全てまたは一部を含有するトランスジェニック動物を利用する方法を含むが、これらに限定されない、様々な技法によって作製することができ、モノクローナル抗体を作製するためのそのような方法及び他の例示的な方法が、本明細書に記載されている。

30

40

【 0 0 8 5 】

「裸の抗体」とは、異種性部分（例えば、細胞傷害性部分）または放射標識に複合体化されていない抗体を指す。裸の抗体は、薬学的製剤中に存在してもよい。

【 0 0 8 6 】

「天然抗体」は、様々な構造を有する、天然に存在する免疫グロブリン分子を指す。例えば、天然I g G抗体は、ジスルフィド結合されている2つの同一の軽鎖及び2つの同一の重鎖から構成される、約150,000ダルトンのヘテロ四量体糖タンパク質である。

50

N末端からC末端まで、各重鎖は、可変重ドメインまたは重鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域（VH）と、その後3つの定常ドメイン（CH1、CH2、及びCH3）とを有する。同様に、N末端からC末端まで、各軽鎖は、可変軽ドメインまたは軽鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域（VL）と、その後定常軽（CL）ドメインとを有する。抗体の軽鎖は、その定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カップ（κ）及びラムダ（λ）と呼ばれる2つの型うちの1つに割り当てられ得る。

【0087】

「添付文書」という用語は、そのような治療製品の適応症、使用法、投薬量、投与、併用療法、禁忌症についての情報、及び/またはその使用に関する警告を含有する、治療製品の商用パッケージに通例含まれる指示書を指すように使用される。

10

【0088】

基準ポリペプチド配列に関する「アミノ酸配列同一性パーセント（％）」は、配列を整列させ、かつ必要に応じてギャップを導入して、最大の配列同一性パーセントを達成した後の、配列同一性の一部としていかなる保存的置換も考慮しない、基準ポリペプチド配列内のアミノ酸残基と同一の候補配列内のアミノ酸残基のパーセンテージと定義される。アミノ酸配列同一性パーセントを決定するための整列は、当該技術分野の技術範囲内の様々な方法で、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGNなどの公的に入手可能なコンピュータソフトウェアまたはMegalign（DNASTAR）ソフトウェアを使用して達成することができる。当業者は、比較される配列の完全長にわたる最大整列を達成するのに必要な任意のアルゴリズムを含む、配列の整列に適切なパラメータを決定することができる。しかしながら、本明細書における目的のために、アミノ酸配列同一性％値は、配列比較コンピュータプログラムALIGN-2を使用して生成される。ALIGN-2配列比較コンピュータプログラムは、Genentech, Inc.によって執筆され、ソースコードは、ユーザ文書とともに米国著作権局（U.S. Copyright Office）、Washington D.C., 20559に提出されており、米国著作権登録番号TXU510087の下に登録されている。ALIGN-2プログラムは、Genentech, Inc.（South San Francisco, California）から公的に入手可能であるか、またはソースコードからコンパイルすることができる。ALIGN-2プログラムは、デジタルUNIX V4.0Dを含むUNIXオペレーティングシステムで使用するためには、コンパイルされるべきである。全ての配列比較パラメータは、ALIGN-2プログラムによって設定されており、変動しない。

20

30

【0089】

ALIGN-2がアミノ酸配列比較に用いられる状況において、所与のアミノ酸配列Bへの、それとの、またはそれに対する所与のアミノ酸配列Aのアミノ酸配列同一性％（あるいは、所与のアミノ酸配列Bへの、それとの、またはそれに対するある特定のアミノ酸配列同一性％を有するか、または含む所与のアミノ酸配列Aと表現され得る）は、以下のよう

に計算される。

$$100 \times \text{画分 } X / Y$$

式中、Xは、配列整列プログラムALIGN-2によって、そのプログラムのA及びBの整列において完全な一致としてスコア化されたアミノ酸残基の数であり、Yは、B中のアミノ酸残基の総数である。アミノ酸配列Aの長さがアミノ酸配列Bの長さとは等しくない場合、Bに対するAのアミノ酸配列同一性％は、Aに対するBのアミノ酸配列同一性％とは等しくはならないことが理解されるだろう。別段具体的に述べられない限り、本明細書で使用される全てのアミノ酸配列同一性％値は、直前の段落に記載されるようにALIGN-2コンピュータプログラムを使用して得られる。

40

【0090】

「薬学的製剤」という用語は、調製物の中に含有される活性成分の生物学的活性が有効になるような形態であり、かつ製剤が投与される対象にとって許容できないほど有毒である追加の構成成分を何ら含有しない調製物を指す。

【0091】

50

「薬学的に許容される担体」とは、対象にとって無毒である、活性成分以外の薬学的製剤中の成分を指す。薬学的に許容される担体としては、緩衝液、賦形剤、安定剤、または保存剤が挙げられるが、これらに限定されない。

【0092】

本明細書で使用される場合、「Tau」という用語は、別段示されない限り、霊長類（例えば、ヒト）ならびに齧歯類（例えば、マウス及びラット）などの哺乳動物を含む任意の脊椎動物源由来の任意の天然 Tau タンパク質を指す。この用語は、「完全長」未処理の Tau、ならびに細胞内の処理から生じる Tau の任意の形態を包含する。この用語はまた、Tau の天然に存在する変異形、例えば、スプライス変異形または対立遺伝子変異形も包含する。

10

【0093】

本明細書で使用される場合、「pTau」という用語は、セリン、スレオニンまたはチロシン残基が、共有結合したリン酸基の添加によって、タンパク質キナーゼによりリン酸化される、Tau を指す。いくつかの実施形態において、pTau は、セリン残基上またはスレオニン残基上でリン酸化される。いくつかの実施形態において、pTau は、セリン409位及び/またはセリン404位上でリン酸化される。いくつかの実施形態において、pTau は、セリン409位上でリン酸化される。

【0094】

本明細書で使用される場合、「可溶性 Tau」または「可溶性 Tau タンパク質」という用語は、完全に可溶化した Tau タンパク質/ペプチドモノマー、Tau 様ペプチド/タンパク質、または修飾もしくは切断された Tau ペプチド/タンパク質、または Tau ペプチド/タンパク質モノマーの他の誘導体と、Tau タンパク質オリゴマーとの両方からなるタンパク質を指す。「可溶性 Tau」は、神経原線維変化 (NFT) を具体的に除外する。

20

【0095】

本明細書で使用される場合、「不溶性 Tau」という用語は、Tau ペプチドもしくはタンパク質、または Tau 様ペプチド/タンパク質、または修飾もしくは切断された Tau ペプチド/タンパク質、または水性培地中インビトロ及び哺乳動物もしくはヒト体内（より具体的には脳内）インビボの両方において不溶性であるオリゴマーもしくはポリマー構造を形成する Tau ペプチド/タンパク質の他の誘導体の、複数の凝集したモノマーを指すが、特に、それぞれ、哺乳動物もしくはヒト体内（より具体的には脳内）で不溶性である、Tau または修飾もしくは切断された Tau ペプチド/タンパク質、あるいはそれらの誘導体の、複数の凝集したモノマーを指す。「不溶性 Tau」は特に、神経原線維変化 (NFT) を含む。

30

【0096】

本明細書で使用される場合、「モノマー Tau」または「Tau モノマー」という用語は、水性培地中に凝集した複合体を有しない、完全に可溶化した Tau タンパク質を指す。

【0097】

本明細書で使用される場合、「凝集した Tau」、「オリゴマー Tau」及び「Tau オリゴマー」という用語は、Tau ペプチドもしくはタンパク質、または Tau 様ペプチド/タンパク質、または修飾もしくは切断された Tau ペプチド/タンパク質、または水性培地中インビトロ及び哺乳動物もしくはヒト体内（より具体的には脳内）インビボの両方において不溶性または可溶性であるオリゴマーもしくはポリマー構造を形成する Tau ペプチド/タンパク質の他の誘導体の、複数の凝集したモノマーを指すが、特に、それぞれ、哺乳動物もしくはヒト体内（より具体的には脳内）で不溶性または可溶性である、Tau または修飾もしくは切断された Tau ペプチド/タンパク質、あるいはそれらの誘導体の、複数の凝集したモノマーを指す。

40

【0098】

「pTau PHF」、「PHF」、及び「対らせん状細線維」という用語は、本明細

50

書で同義に使用され、電子顕微鏡上で可視である160nmの周期性でらせん内へと巻きつけられた線維の対を指す。幅は、10～22nmの間で変動する。PHFは、アルツハイマー病(AD)の神経原線維変化及び神経絨毛系における主構造である。PHFはまた、老人斑に関連する変性神経突起の全てではないがいくつかにも見られることがある。PHFの主要構成成分は、微小管関連タンパク質tauの高リン酸化形態である。PHFの一部には、ジスルフィド結合された逆平行高リン酸化Tauタンパク質から構成され得る。PHF Tauは、そのC末端の20個のアミノ酸残基が切断され得る。PHF形成の根底にある機序は不明であるが、Tauの高リン酸化は、それを微小管から開放し、ニューロン内でPHFが形成され得るTauの可溶性プールを増加させ得る。

【0099】

Tauの「2Nアイソフォーム」とは、エクソン2及びエクソン3を含むTauのアイソフォームを指す。

【0100】

本明細書で使用される場合、「治療」(及び「治療する」または「治療すること」などのその文法上の変化形)とは、治療されている個体の自然経過を変更することを目的とした臨床介入を指し、予防のために、または臨床病理過程中に実行され得る。治療の望ましい効果としては、疾患の発生または再発の予防、症状の緩和、疾患の任意の直接的または間接的病理学的帰結の縮小、転移の予防、疾患進行速度の減少、病状の回復または寛解、及び緩解または予後の改善が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、本発明の抗体を使用して、疾患の発症を遅延させるか、または疾患の進行を減速させる。

【0101】

本明細書で使用される場合、「初期アルツハイマー病」または「初期AD」という用語(例えば、「初期ADを有すると診断された患者」または「初期ADを患う患者」)は、記憶欠損などのADによる軽度の認知障害を有する患者、及びADバイオマーカーを有する患者、例えば、アミロイド陽性患者を含む。

【0102】

本明細書で使用される場合、「軽度のアルツハイマー病」または「軽度のAD」という用語(例えば、「軽度のADを有すると診断された患者」)は、20～26のMMSEスコアを特徴とするADの段階を指す。

【0103】

本明細書で使用される場合、「軽度～中程度のアルツハイマー病」または「軽度～中程度のAD」という用語は、軽度及び中程度の両方のADを包含し、18～26のMMSEスコアを特徴とする。

【0104】

本明細書で使用される場合、「中程度のアルツハイマー病」または「中程度のAD」という用語(例えば、「中程度のADを有すると診断された患者」)は、18～19のMMSEスコアを特徴とするADの段階を指す。

【0105】

「MMSE」という用語は、1～30の間のスコアを提供する簡易知能評価スケール(Mini Mental State Examination)を指す。Folstein, et al., 1975, J. Psychiatr. Res. 12:189-98を参照されたい。26以下のスコアは一般に、欠損を示すと見なされる。MMSE上の数的スコアがより低ければ低いほど、より低いスコアを有する別の個体に対する試験患者の欠損または障害はより大きい。MMSEスコアの増加は、患者の病態の改善を示し得る一方で、MMSEスコアの減少は、患者の病態の悪化を意味し得る。

【0106】

本明細書で使用される場合、「ベクター」という用語は、それが結合している別の核酸を増殖させることができる核酸分子を指す。この用語は、自己複製核酸構造としてのベクター、及び中に導入される宿主細胞のゲノム内に組み込まれたベクターを含む。ある特定

10

20

30

40

50

のベクターは、それらが作動可能に結合している核酸の発現を指向することができる。そのようなベクターは、本明細書で「発現ベクター」と呼ばれる。

【0107】

II. 組成物及び方法

Tauに結合する抗体が提供される。いくつかの実施形態において、本発明の抗体は、Tauに結合するは、モノマーTau、オリゴマーTau、非リン酸化Tau、及びリン酸化Tauに結合する。いくつかの実施形態において、本発明の抗体は、成熟ヒトTauのアミノ酸2～24内のエピトープに結合する。いくつかの実施形態において、本発明の抗体は、Tauアミノ酸2～24内のエピトープに結合し、モノマーTau、オリゴマーTau、非リン酸化Tau、及びリン酸化Tauに結合する。いくつかの実施形態において、抗体は、配列AEPRQEFVMEHDHAGTYGLGDRK（配列番号2）を有するか、またはそれからなる、ヒトTauのエピトープに結合する。いくつかの実施形態において、抗体は、配列AEPRQEFDVMEHDHAGTYGLGDRK（配列番号4）を有するか、またはそれからなる、カニクイザルTauのエピトープに結合する。いくつかの実施形態において、抗体は、配列AEPRQEFVMEHDHAGTYGLGDRK（配列番号2）を有するか、またはそれからなる、ヒトTauのエピトープ、及び配列AEPRQEFDVMEHDHAGTYGLGDRK（配列番号4）を有するか、またはそれからなる、カニクイザルTauのエピトープに結合する。いくつかの実施形態において、本発明の抗体は、成熟ヒトTauのアミノ酸19～33、19～42、37～51、100～114、109～123、118～132、または172～177内のエピトープに結合する。いくつかの実施形態において、本発明の抗体は、成熟ヒトTauのアミノ酸37～44、64～78、73～87、91～105、190～204、421～429、または422～429内のエピトープに結合する。いくつかの実施形態において、本発明の抗体は、成熟ヒトTauのアミノ酸19～33、19～42、37～51、100～114、109～123、118～132、または172～177内のエピトープに結合し、モノマーTau、オリゴマーTau、非リン酸化Tau、及びリン酸化Tauに結合する。いくつかの実施形態において、本発明の抗体は、成熟ヒトTauのアミノ酸37～44、64～78、73～87、91～105、190～204、421～429、または422～429内のエピトープに結合し、モノマーTau、オリゴマーTau、非リン酸化Tau、及びリン酸化Tauに結合する。

10

20

30

【0108】

本発明の抗体は、例えば、神経変性疾患の診断または治療に有用である。

【0109】

A. 例示的な抗Tau抗体

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、

- a) 配列番号605のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号606のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び配列番号607のアミノ酸配列を含むHVR-H3、または
- b) 配列番号613のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号614のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び配列番号615のアミノ酸配列を含むHVR-H3、
- c) 配列番号621のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号622のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び配列番号623のアミノ酸配列を含むHVR-H3、
- d) 配列番号629のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号630のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び配列番号631のアミノ酸配列を含むHVR-H3、
- e) 配列番号637のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号638のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び配列番号639のアミノ酸配列を含むHVR-H3、
- f) 配列番号645のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号646のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び配列番号647のアミノ酸配列を含むHVR-H3、
- g) 配列番号653のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号654のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び配列番号655のアミノ酸配列を含むHVR-H3、
- h) 配列番号661のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号662のアミノ酸配

40

50

列を含むHVR-H2、及び配列番号663のアミノ酸配列を含むHVR-H3、

i) 配列番号669のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号670のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び配列番号671のアミノ酸配列を含むHVR-H3、

j) 配列番号677のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号678のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び配列番号679のアミノ酸配列を含むHVR-H3、

k) 配列番号685のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号686のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び配列番号687のアミノ酸配列を含むHVR-H3、または

l) 配列番号693のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号694のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び配列番号695のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。

【0110】

10

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、

a) 配列番号608のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号609のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号610のアミノ酸配列を含むHVR-L3、

b) 配列番号616のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号617のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号618のアミノ酸配列を含むHVR-L3、

c) 配列番号624のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号625のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号626のアミノ酸配列を含むHVR-L3、

d) 配列番号632のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号633のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号634のアミノ酸配列を含むHVR-L3、

e) 配列番号640のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号641のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号642のアミノ酸配列を含むHVR-L3、

20

f) 配列番号648のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号649のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号650のアミノ酸配列を含むHVR-L3、

g) 配列番号656のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号657のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号658のアミノ酸配列を含むHVR-L3、

h) 配列番号664のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号665のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号666のアミノ酸配列を含むHVR-L3、

i) 配列番号672のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号673のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号674のアミノ酸配列を含むHVR-L3、

j) 配列番号680のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号681のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号682のアミノ酸配列を含むHVR-L3、

30

k) 配列番号688のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号689のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号690のアミノ酸配列を含むHVR-L3、または

l) 配列番号696のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号697のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号698のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

【0111】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、

a) 配列番号605のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号606のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号607のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号608のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号609のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号610のアミノ酸配列を含むHVR-L3、

40

b) 配列番号613のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号614のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号615のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号616のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号617のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号618のアミノ酸配列を含むHVR-L3、

c) 配列番号621のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号622のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号623のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号624のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号625のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号626のアミノ酸配列を含むHVR-L3、

d) 配列番号629のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号630のアミノ酸配

50

列を含むHVR-H2、配列番号631のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号632のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号633のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号634のアミノ酸配列を含むHVR-L3、

e) 配列番号637のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号638のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号639のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号640のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号641のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号642のアミノ酸配列を含むHVR-L3、

f) 配列番号645のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号646のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号647のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号648のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号649のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号650のアミノ酸配列を含むHVR-L3、

g) 配列番号653のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号654のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号655のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号656のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号657のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号658のアミノ酸配列を含むHVR-L3、

h) 配列番号661のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号662のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号663のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号664のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号665のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号666のアミノ酸配列を含むHVR-L3、

i) 配列番号669のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号670のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号671のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号672のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号673のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号674のアミノ酸配列を含むHVR-L3、

j) 配列番号677のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号678のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号679のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号680のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号681のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号682のアミノ酸配列を含むHVR-L3、

k) 配列番号685のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号686のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号687のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号688のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号689のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号690のアミノ酸配列を含むHVR-L3、または

l) 配列番号693のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号694のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号695のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号696のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号697のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号698のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

【0112】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a) 配列番号12、22、282、292、及び342から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b) 配列番号13、23、283、293、及び343から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c) 配列番号14、24、284、294、及び344から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d) 配列番号15、25、285、295、345、及び468~556から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e) 配列番号16、26、286、296、及び346から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L2、ならびに(f) 配列番号17、27、287、297、及び347から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む。

【0113】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a) 配列番号342のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b) 配列番号343のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c) 配列番号344のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d) 配列番号345のアミノ酸配

10

20

30

40

50

列を含むHVR-L1、(e)配列番号346のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号347のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む。

【0114】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号72及び302から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号73及び303から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号74及び304から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号75及び305から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号76及び306から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L2、ならびに(f)配列番号77及び307から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む。

10

【0115】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号82、312、322、及び332から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号83、313、323、及び333から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号84、314、324、及び334から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号85、315、325、及び335から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号86、316、326、及び336から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L2、ならびに(f)配列番号87、317、327、及び337から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む。

20

【0116】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号32のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号34のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号35のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号36のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む。

【0117】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号42のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号43のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号44のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号45のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号46のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号47のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む。

30

【0118】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号52のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号53のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号54のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号55のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号56のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号57のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む。

40

【0119】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号62のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号63のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号64のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号65のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号66のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号67のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む。

50

【 0 1 2 0 】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 7 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 7 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、(c) 配列番号 7 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、(d) 配列番号 7 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(e) 配列番号 7 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び(f) 配列番号 7 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 から選択される、少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つの H V R を含む。

【 0 1 2 1 】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 8 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 8 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、(c) 配列番号 8 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、(d) 配列番号 8 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(e) 配列番号 8 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び(f) 配列番号 8 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 から選択される、少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つの H V R を含む。

10

【 0 1 2 2 】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 9 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 9 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、(c) 配列番号 9 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、(d) 配列番号 9 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(e) 配列番号 9 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び(f) 配列番号 9 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 から選択される、少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つの H V R を含む。

20

【 0 1 2 3 】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 1 0 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 1 0 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、(c) 配列番号 1 0 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、(d) 配列番号 1 0 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(e) 配列番号 1 0 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び(f) 配列番号 1 0 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 から選択される、少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つの H V R を含む。

【 0 1 2 4 】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 1 1 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 1 1 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、(c) 配列番号 1 1 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、(d) 配列番号 1 1 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(e) 配列番号 1 1 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び(f) 配列番号 1 1 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 から選択される、少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つの H V R を含む。

30

【 0 1 2 5 】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 1 2 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 1 2 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、(c) 配列番号 1 2 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、(d) 配列番号 1 2 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(e) 配列番号 1 2 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び(f) 配列番号 1 2 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 から選択される、少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つの H V R を含む。

40

【 0 1 2 6 】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 1 3 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 1 3 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、(c) 配列番号 1 3 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、(d) 配列番号 1 3 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(e) 配列番号 1 3 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び(f) 配列番号 1 3 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 から選択される、少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つの H V R を含む。

【 0 1 2 7 】

50

を含むHVR-H1、(b)配列番号213のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号214のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号215のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号216のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号217のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む。

【0135】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号222のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号223のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号224のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号225のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号226のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号227のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む。

10

【0136】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号232のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号233のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号234のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号235のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号236のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号237のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む。

20

【0137】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号242のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号243のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号244のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号245のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号246のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号247のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む。

【0138】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号252のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号253のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号254のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号255のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号256のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号257のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む。

30

【0139】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号262のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号263のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号264のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号265のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号266のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号267のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む。

40

【0140】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号272のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号273のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号274のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号275のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号276のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号277のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む。

【0141】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号282のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号283のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)

50

配列番号 284 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、(d) 配列番号 285 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、(e) 配列番号 286 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び (f) 配列番号 287 のアミノ酸配列を含む HVR - L3 から選択される、少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つの HVR を含む。

【0142】

いくつかの実施形態において、抗 Tau 抗体は、(a) 配列番号 292 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、(b) 配列番号 293 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、(c) 配列番号 294 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、(d) 配列番号 295 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、(e) 配列番号 296 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び (f) 配列番号 297 のアミノ酸配列を含む HVR - L3 から選択される、少なくとも 1

10

【0143】

いくつかの実施形態において、抗 Tau 抗体は、(a) 配列番号 302 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、(b) 配列番号 303 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、(c) 配列番号 304 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、(d) 配列番号 305 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、(e) 配列番号 306 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び (f) 配列番号 307 のアミノ酸配列を含む HVR - L3 から選択される、少なくとも 1

【0144】

いくつかの実施形態において、抗 Tau 抗体は、(a) 配列番号 312 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、(b) 配列番号 313 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、(c) 配列番号 314 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、(d) 配列番号 315 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、(e) 配列番号 316 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び (f) 配列番号 317 のアミノ酸配列を含む HVR - L3 から選択される、少なくとも 1

20

【0145】

いくつかの実施形態において、抗 Tau 抗体は、(a) 配列番号 322 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、(b) 配列番号 323 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、(c) 配列番号 324 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、(d) 配列番号 325 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、(e) 配列番号 326 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び (f) 配列番号 327 のアミノ酸配列を含む HVR - L3 から選択される、少なくとも 1

30

【0146】

いくつかの実施形態において、抗 Tau 抗体は、(a) 配列番号 332 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、(b) 配列番号 333 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、(c) 配列番号 334 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、(d) 配列番号 335 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、(e) 配列番号 336 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び (f) 配列番号 337 のアミノ酸配列を含む HVR - L3 から選択される、少なくとも 1

【0147】

いくつかの実施形態において、抗 Tau 抗体は、(a) 配列番号 12、22、282、292、及び 342 から選択されるアミノ酸配列を含む HVR - H1、(b) 13、23、283、293、及び 343 から選択されるアミノ酸配列を含む HVR - H2、ならびに (c) 配列番号 14、24、284、294、及び 344 から選択されるアミノ酸配列を含む HVR - H3 から選択される、少なくとも 1 つ、2 つ、または 3 つの HVR を含む。いくつかの実施形態において、抗 Tau 抗体は、(a) 配列番号 12、22、282、292、及び 342 から選択されるアミノ酸配列を含む HVR - H1、(b) 配列番号 13、23、283、293、及び 343 から選択されるアミノ酸配列を含む HVR - H2、ならびに (c) 配列番号 14、24、284、294、及び 344 から選択されるアミノ酸配列を含む HVR - H3 を含む。

40

50

【 0 1 4 8 】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 3 4 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 3 4 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び(c) 配列番号 3 4 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3を含む。いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 3 4 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 3 4 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び(c) 配列番号 3 4 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 から選択される、少なくとも 1 つ、2 つ、または 3 つの H V R を含む。

【 0 1 4 9 】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 7 2 及び 3 0 2 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 7 3 及び 3 0 3 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - H 2、ならびに(c) 配列番号 7 4 及び 3 0 4 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - H 3 から選択される、少なくとも 1 つ、2 つ、または 3 つの H V R を含む。いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 7 2 及び 3 0 2 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 7 3 及び 3 0 3 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - H 2、ならびに(c) 配列番号 7 4 及び 3 0 4 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - H 3 を含む。

10

【 0 1 5 0 】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 8 2、3 1 2、3 2 2、及び 3 3 2 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 8 3、3 1 3、3 2 3、及び 3 3 3 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - H 2、ならびに(c) 配列番号 8 4、3 1 4、3 2 4、及び 3 3 4 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - H 3 から選択される、少なくとも 1 つ、2 つ、または 3 つの H V R を含む。いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 8 2、3 1 2、3 2 2、及び 3 3 2 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 8 3、3 1 3、3 2 3、及び 3 3 3 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - H 2、ならびに(c) 配列番号 8 4、3 1 4、3 2 4、及び 3 3 4 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - H 3 を含む。

20

【 0 1 5 1 】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 3 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び(c) 配列番号 3 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 から選択される、少なくとも 1 つ、2 つ、または 3 つの H V R を含む。いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 3 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び(c) 配列番号 3 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 を含む。

30

【 0 1 5 2 】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 4 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 4 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び(c) 配列番号 4 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 から選択される、少なくとも 1 つ、2 つ、または 3 つの H V R を含む。いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 4 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 4 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び(c) 配列番号 4 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 を含む。

40

【 0 1 5 3 】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 5 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 5 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び(c) 配列番号 5 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 から選択される、少なくとも 1 つ、2 つ、または 3 つの H V R を含む。いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 5 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 5 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び(c) 配列番号 5 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 を含む。

【 0 1 5 4 】

50

3を含む。

【0161】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号132のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号133のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c)配列番号134のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、2つ、または3つのHVRを含む。いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号132のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号133のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c)配列番号134のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。

【0162】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号142のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号143のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c)配列番号144のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、2つ、または3つのHVRを含む。いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号142のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号143のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c)配列番号144のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。

【0163】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号152のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号153のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c)配列番号154のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、2つ、または3つのHVRを含む。いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号152のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号153のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c)配列番号154のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。

【0164】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号162のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号163のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c)配列番号164のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、2つ、または3つのHVRを含む。いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号162のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号163のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c)配列番号164のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。

【0165】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号172のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号173のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c)配列番号174のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、2つ、または3つのHVRを含む。いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号172のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号173のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c)配列番号174のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。

【0166】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号182のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号183のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c)配列番号184のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、2つ、または3つのHVRを含む。いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号182のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号183のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c)配列番号184のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。

【0167】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 2 5 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 2 5 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び (

50

いくつかの実施形態において、抗T a u抗体は、(a) 配列番号3 1 2のアミノ酸配列を含むH V R - H 1、(b) 配列番号3 1 3のアミノ酸配列を含むH V R - H 2、及び(c) 配列番号3 1 4のアミノ酸配列を含むH V R - H 3から選択される、少なくとも1つ、2つ、または3つのH V Rを含む。いくつかの実施形態において、抗T a u抗体は、(

50

a) 配列番号 3 1 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 3 1 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び(c) 配列番号 3 1 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 を含む。

【0180】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 3 2 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 3 2 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び(c) 配列番号 3 2 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 から選択される、少なくとも 1 つ、2 つ、または 3 つの H V R を含む。いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 3 2 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 3 2 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び(c) 配列番号 3 2 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 を含む。

10

【0181】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 3 3 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 3 3 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び(c) 配列番号 3 3 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 から選択される、少なくとも 1 つ、2 つ、または 3 つの H V R を含む。いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 3 3 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 3 3 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び(c) 配列番号 3 3 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 を含む。

【0182】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 1 5、2 5、2 8 5、2 9 5、3 4 5、及び 4 6 8 ~ 5 5 6 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(b) 配列番号 1 6、2 6、2 8 6、2 9 6、及び 3 4 6 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 2、ならびに(c) 配列番号 1 7、2 7、2 8 7、2 9 7、及び 3 4 7 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 3 から選択される、少なくとも 1 つ、2 つ、または 3 つの H V R を含む。いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 1 5、2 5、2 8 5、2 9 5、3 4 5、及び 4 6 8 ~ 5 5 6 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(b) 配列番号 1 6、2 6、2 8 6、2 9 6、及び 3 4 6 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 2、ならびに(c) 配列番号 1 7、2 7、2 8 7、2 9 7、及び 3 4 7 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 3 を含む。

20

30

【0183】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 3 4 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(b) 配列番号 3 4 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び(c) 配列番号 3 4 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 から選択される、少なくとも 1 つ、2 つ、または 3 つの H V R を含む。いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 3 4 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(b) 配列番号 3 4 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び(c) 配列番号 3 4 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 を含む。

【0184】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 7 5 及び 3 0 5 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(b) 配列番号 7 6 及び 3 0 6 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 2、ならびに(c) 配列番号 7 7 及び 3 0 7 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 3 から選択される、少なくとも 1 つ、2 つ、または 3 つの H V R を含む。いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 7 5 及び 3 0 5 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(b) 配列番号 7 6 及び 3 0 6 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 2、ならびに(c) 配列番号 7 7 及び 3 0 7 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 3 を含む。

40

【0185】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 8 5、3 1 5、3 2 5、及び 3 3 5 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(b) 配列番号 8 6、3

50

16、326、及び336から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L2、ならびに(c)配列番号87、317、327、及び337から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、または3つのHVRを含む。いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号85、315、325、及び335から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号86、316、326、及び336から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L2、ならびに(c)配列番号87、317、327、及び337から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

【0186】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号35のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号36のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、または3つのHVRを含む。いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号35のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号36のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

10

【0187】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号45のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号46のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号47のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、または3つのHVRを含む。いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号45のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号46のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号47のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

20

【0188】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号55のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号56のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号57のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、または3つのHVRを含む。いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号55のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号56のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号57のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

30

【0189】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号65のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号66のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号67のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、または3つのHVRを含む。いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号65のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号66のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号67のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

【0190】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号75のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号76のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号77のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、または3つのHVRを含む。いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号75のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号76のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号77のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

40

【0191】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号85のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号86のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号87のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、または3つのHVRを含む。いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号85のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号86のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号87のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

50

0

20

30

40

50

50

50

50

50

50

50

50

50

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 1 5 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(b) 配列番号 1 5 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び (

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 2 1 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(b) 配列番号 2 1 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び (c) 配列番号 2 1 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 から選択される、少なくとも 1 つ、2 つ、または 3 つの H V R を含む。いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(

50

10

20

30

40

50

3を含む。

【0211】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号285のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号286のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号287のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、または3つのHVRを含む。いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号285のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号286のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号287のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

【0212】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号295のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号296のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号297のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、または3つのHVRを含む。いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号295のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号296のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号297のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

【0213】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号305のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号306のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号307のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、または3つのHVRを含む。いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号305のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号306のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号307のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

【0214】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号315のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号316のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号317のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、または3つのHVRを含む。いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号315のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号316のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号317のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

【0215】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号325のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号326のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号327のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、または3つのHVRを含む。いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号325のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号326のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号327のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

【0216】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号335のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号336のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号337のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、または3つのHVRを含む。いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号335のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号336のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号337のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

【0217】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 1 2、2 2、2 8 2、2 9 2、及び 3 4 2 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 1 3、2 3、2 8 3、2 9 3、及び 3 4 3 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - H 2、(c) 配列番号 1 4、2 4、2 8 4、2 9 4、及び 3 4 4 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - H 3、(d) 配列番号 1 5、2 5、2 8 5、2 9 5、3 4 5、及び 4 6 8 ~ 5 5 6 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(e) 配列番号 1 6、2 6、2 8 6、2 9 6、及び 3 4 6 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 2、ならびに (f) 配列番号 1 7、2 7、2 8 7、2 9 7、及び 3 4 7 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 3 を含む。

【 0 2 1 8 】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 3 4 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 3 4 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、(c) 配列番号 3 4 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、(d) 配列番号 3 4 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(e) 配列番号 3 4 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び (f) 配列番号 3 4 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 を含む。

【 0 2 1 9 】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 7 2 及び 3 0 2 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 7 3 及び 3 0 3 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - H 2、(c) 配列番号 7 4 及び 3 0 4 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - H 3、(d) 配列番号 7 5 及び 3 0 5 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(e) 配列番号 7 6 及び 3 0 6 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 2、ならびに (f) 配列番号 7 7 及び 3 0 7 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 3 を含む。

【 0 2 2 0 】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 8 2、3 1 2、3 2 2、及び 3 3 2 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 8 3、3 1 3、3 2 3、及び 3 3 3 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - H 2、(c) 配列番号 8 4、3 1 4、3 2 4、及び 3 3 4 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - H 3、(d) 配列番号 8 5、3 1 5、3 2 5、及び 3 3 5 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(e) 配列番号 8 6、3 1 6、3 2 6、及び 3 3 6 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 2、ならびに (f) 配列番号 8 7、3 1 7、3 2 7、及び 3 3 7 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 3 を含む。

【 0 2 2 1 】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 3 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、(c) 配列番号 3 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、(d) 配列番号 3 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(e) 配列番号 3 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び (f) 配列番号 3 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 を含む。

【 0 2 2 2 】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 4 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 4 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、(c) 配列番号 4 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、(d) 配列番号 4 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(e) 配列番号 4 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び (f) 配列番号 4 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 を含む。

【 0 2 2 3 】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 5 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 5 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、(c) 配列番号 5 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、(d) 配列番号 5 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(e) 配列番号 5 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び (f) 配列番号 5 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 を含む。

10

20

30

40

50

【0224】

いくつかの実施形態において、抗T a u抗体は、(a)配列番号62のアミノ酸配列を含むH V R - H 1、(b)配列番号63のアミノ酸配列を含むH V R - H 2、(c)配列番号64のアミノ酸配列を含むH V R - H 3、(d)配列番号65のアミノ酸配列を含むH V R - L 1、(e)配列番号66のアミノ酸配列を含むH V R - L 2、及び(f)配列番号67のアミノ酸配列を含むH V R - L 3を含む。

【0225】

いくつかの実施形態において、抗T a u抗体は、(a)配列番号72のアミノ酸配列を含むH V R - H 1、(b)配列番号73のアミノ酸配列を含むH V R - H 2、(c)配列番号74のアミノ酸配列を含むH V R - H 3、(d)配列番号75のアミノ酸配列を含むH V R - L 1、(e)配列番号76のアミノ酸配列を含むH V R - L 2、及び(f)配列番号77のアミノ酸配列を含むH V R - L 3を含む。

10

【0226】

いくつかの実施形態において、抗T a u抗体は、(a)配列番号82のアミノ酸配列を含むH V R - H 1、(b)配列番号83のアミノ酸配列を含むH V R - H 2、(c)配列番号84のアミノ酸配列を含むH V R - H 3、(d)配列番号85のアミノ酸配列を含むH V R - L 1、(e)配列番号86のアミノ酸配列を含むH V R - L 2、及び(f)配列番号87のアミノ酸配列を含むH V R - L 3を含む。

【0227】

いくつかの実施形態において、抗T a u抗体は、(a)配列番号92のアミノ酸配列を含むH V R - H 1、(b)配列番号93のアミノ酸配列を含むH V R - H 2、(c)配列番号94のアミノ酸配列を含むH V R - H 3、(d)配列番号95のアミノ酸配列を含むH V R - L 1、(e)配列番号96のアミノ酸配列を含むH V R - L 2、及び(f)配列番号97のアミノ酸配列を含むH V R - L 3を含む。

20

【0228】

いくつかの実施形態において、抗T a u抗体は、(a)配列番号102のアミノ酸配列を含むH V R - H 1、(b)配列番号103のアミノ酸配列を含むH V R - H 2、(c)配列番号104のアミノ酸配列を含むH V R - H 3、(d)配列番号105のアミノ酸配列を含むH V R - L 1、(e)配列番号106のアミノ酸配列を含むH V R - L 2、及び(f)配列番号107のアミノ酸配列を含むH V R - L 3を含む。

30

【0229】

いくつかの実施形態において、抗T a u抗体は、(a)配列番号112のアミノ酸配列を含むH V R - H 1、(b)配列番号113のアミノ酸配列を含むH V R - H 2、(c)配列番号114のアミノ酸配列を含むH V R - H 3、(d)配列番号115のアミノ酸配列を含むH V R - L 1、(e)配列番号116のアミノ酸配列を含むH V R - L 2、及び(f)配列番号117のアミノ酸配列を含むH V R - L 3を含む。

【0230】

いくつかの実施形態において、抗T a u抗体は、(a)配列番号122のアミノ酸配列を含むH V R - H 1、(b)配列番号123のアミノ酸配列を含むH V R - H 2、(c)配列番号124のアミノ酸配列を含むH V R - H 3、(d)配列番号125のアミノ酸配列を含むH V R - L 1、(e)配列番号126のアミノ酸配列を含むH V R - L 2、及び(f)配列番号127のアミノ酸配列を含むH V R - L 3を含む。

40

【0231】

いくつかの実施形態において、抗T a u抗体は、(a)配列番号132のアミノ酸配列を含むH V R - H 1、(b)配列番号133のアミノ酸配列を含むH V R - H 2、(c)配列番号134のアミノ酸配列を含むH V R - H 3、(d)配列番号135のアミノ酸配列を含むH V R - L 1、(e)配列番号136のアミノ酸配列を含むH V R - L 2、及び(f)配列番号137のアミノ酸配列を含むH V R - L 3を含む。

【0232】

いくつかの実施形態において、抗T a u抗体は、(a)配列番号142のアミノ酸配列

50

を含むHVR-H1、(b)配列番号143のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号144のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号145のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号146のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号147のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

【0233】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号152のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号153のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号154のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号155のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号156のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号157のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

10

【0234】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号162のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号163のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号164のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号165のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号166のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号167のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

【0235】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号172のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号173のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号174のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号175のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号176のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号177のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

20

【0236】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号182のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号183のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号184のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号185のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号186のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号187のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

【0237】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号192のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号193のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号194のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号195のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号196のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号197のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

30

【0238】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号202のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号203のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号204のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号205のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号206のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号207のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

40

【0239】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号212のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号213のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号214のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号215のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号216のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号217のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

【0240】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号222のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号223のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号224のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号225のアミノ酸配

50

列を含むHVR-L1、(e)配列番号226のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び
(f)配列番号227のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

【0241】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号232のアミノ酸配列
を含むHVR-H1、(b)配列番号233のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)
配列番号234のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号235のアミノ酸配
列を含むHVR-L1、(e)配列番号236のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び
(f)配列番号237のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

【0242】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号242のアミノ酸配列
を含むHVR-H1、(b)配列番号243のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)
配列番号244のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号245のアミノ酸配
列を含むHVR-L1、(e)配列番号246のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び
(f)配列番号247のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

10

【0243】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号252のアミノ酸配列
を含むHVR-H1、(b)配列番号253のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)
配列番号254のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号255のアミノ酸配
列を含むHVR-L1、(e)配列番号256のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び
(f)配列番号257のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

20

【0244】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号262のアミノ酸配列
を含むHVR-H1、(b)配列番号263のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)
配列番号264のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号265のアミノ酸配
列を含むHVR-L1、(e)配列番号266のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び
(f)配列番号267のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

【0245】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号272のアミノ酸配列
を含むHVR-H1、(b)配列番号273のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)
配列番号274のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号275のアミノ酸配
列を含むHVR-L1、(e)配列番号276のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び
(f)配列番号277のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

30

【0246】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号282のアミノ酸配列
を含むHVR-H1、(b)配列番号283のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)
配列番号284のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号285のアミノ酸配
列を含むHVR-L1、(e)配列番号286のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び
(f)配列番号287のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

【0247】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号292のアミノ酸配列
を含むHVR-H1、(b)配列番号293のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)
配列番号294のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号295のアミノ酸配
列を含むHVR-L1、(e)配列番号296のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び
(f)配列番号297のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

40

【0248】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、(a)配列番号302のアミノ酸配列
を含むHVR-H1、(b)配列番号303のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)
配列番号304のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号305のアミノ酸配
列を含むHVR-L1、(e)配列番号306のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び
(f)配列番号307のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

50

【 0 2 4 9 】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 3 1 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 3 1 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、(c) 配列番号 3 1 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、(d) 配列番号 3 1 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(e) 配列番号 3 1 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び (f) 配列番号 3 1 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 を含む。

【 0 2 5 0 】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 3 2 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 3 2 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、(c) 配列番号 3 2 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、(d) 配列番号 3 2 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(e) 配列番号 3 2 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び (f) 配列番号 3 2 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 を含む。

10

【 0 2 5 1 】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、(a) 配列番号 3 3 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 3 3 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、(c) 配列番号 3 3 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、(d) 配列番号 3 3 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(e) 配列番号 3 3 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び (f) 配列番号 3 3 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 を含む。

【 0 2 5 2 】

上記の実施形態のうちのいずれにおいても、抗 T a u 抗体は、ヒト化されている。いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、上記の実施形態のいずれかにあるように H V R を含み、アクセプターヒトフレームワーク、例えば、ヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワークを更に含む。

20

【 0 2 5 3 】

別の態様において、抗 T a u 抗体は、配列番号 1 0、2 0、3 0、4 0、5 0、6 0、7 0、8 0、9 0、1 0 0、1 1 0、1 2 0、1 3 0、1 4 0、1 5 0、1 6 0、1 7 0、1 8 0、1 9 0、2 0 0、2 1 0、2 2 0、2 3 0、2 4 0、2 5 0、2 6 0、2 7 0、2 8 0、2 9 0、3 0 0、3 1 0、3 2 0、3 3 0、3 4 0、6 0 3、6 1 1、6 1 9、6 2 7、6 3 5、6 4 3、6 5 1、6 5 9、6 6 7、6 7 5、6 8 3、または 6 9 1 のアミノ酸配列に対して、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン (V H) 配列を含む。ある特定の実施形態において、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % の同一性を有する V H 配列は、基準配列と比較して、置換 (例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗 T a u 抗体は、T a u に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態において、合計 1 ~ 1 0 個のアミノ酸が、配列番号 1 0、2 0、3 0、4 0、5 0、6 0、7 0、8 0、9 0、1 0 0、1 1 0、1 2 0、1 3 0、1 4 0、1 5 0、1 6 0、1 7 0、1 8 0、1 9 0、2 0 0、2 1 0、2 2 0、2 3 0、2 4 0、2 5 0、2 6 0、2 7 0、2 8 0、2 9 0、3 0 0、3 1 0、3 2 0、3 3 0、3 4 0、6 0 3、6 1 1、6 1 9、6 2 7、6 3 5、6 4 3、6 5 1、6 5 9、6 6 7、6 7 5、6 8 3、または 6 9 1 内で置換、挿入、及び / または欠失されている。ある特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、H V R の外側の領域内で (すなわち、F R 内で) 生じる。任意で、抗 T a u 抗体は、配列番号 1 0、2 0、3 0、4 0、5 0、6 0、7 0、8 0、9 0、1 0 0、1 1 0、1 2 0、1 3 0、1 4 0、1 5 0、1 6 0、1 7 0、1 8 0、1 9 0、2 0 0、2 1 0、2 2 0、2 3 0、2 4 0、2 5 0、2 6 0、2 7 0、2 8 0、2 9 0、3 0 0、3 1 0、3 2 0、3 3 0、3 4 0、6 0 3、6 1 1、6 1 9、6 2 7、6 3 5、6 4 3、6 5 1、6 5 9、6 6 7、6 7 5、6 8 3、または 6 9 1 内の V H 配列を、その配列の翻訳後修飾を含めて含む。特定の実施形態において、V H は、(a) 配列番号 1 2、2 2、3 2、4 2、5 2、6 2、7 2、8 2、9 2、1 0 2、1 1 2、1 2 2、1 3 2、1 4 2、1 5 2、1 6 2、1 7 2、1 8 2、1 9 2、2 0 2、2 1 2、2 2 2、

30

40

50

2 3 2、2 4 2、2 5 2、2 6 2、2 7 2、2 8 2、2 9 2、3 0 2、3 1 2、3 2 2、
 3 3 2、3 4 2、6 0 5、6 1 3、6 2 1、6 2 9、6 3 7、6 4 5、6 5 3、6 6 1、
 6 6 9、6 7 7、6 8 5、または6 9 3のアミノ酸配列を含むH V R - H 1、(b) 配列
 番号1 3、2 3、3 3、4 3、5 3、6 3、7 3、8 3、9 3、1 0 0、1 1 3、1 2 3
 、1 3 3、1 4 3、1 5 3、1 6 3、1 7 3、1 8 3、1 9 3、2 0 3、2 1 3、2 2 3
 、2 3 3、2 4 3、2 5 3、2 6 3、2 7 3、2 8 3、2 9 3、3 0 3、3 1 3、3 2 3
 、3 3 3、3 4 3、6 0 6、6 1 4、6 2 2、6 3 0、6 3 8、6 4 6、6 5 4、6 6 2
 、6 7 0、6 7 8、6 8 6、または6 9 4のアミノ酸配列を含むH V R - H 2、及び(c)
 配列番号1 4、2 4、3 4、4 4、5 4、6 4、7 4、8 4、9 4、1 0 4、1 1 4、
 1 2 4、1 3 4、1 4 4、1 5 4、1 6 4、1 7 4、1 8 4、1 9 4、2 0 4、2 1 4、
 2 2 4、2 3 4、2 4 4、2 5 4、2 6 4、2 7 4、2 8 4、2 9 4、3 0 4、3 1 4、
 3 2 4、3 3 4、3 4 4、6 0 7、6 1 5、6 2 3、6 3 1、6 3 8、6 4 7、6 5 5、
 6 6 3、6 7 1、6 7 9、6 8 7、または6 9 5のアミノ酸配列を含むH V R - H 3 から
 選択される、1 つ、2 つ、または3 つのH V Rを含む。

10

【 0 2 5 4 】

別の態様において、抗 T a u 抗体は、配列番号1 1、2 1、3 1、4 1、5 1、6 1、
 7 1、8 1、9 1、1 0 1、1 1 1、1 2 1、1 3 1、1 4 1、1 5 1、1 6 1、1 7 1
 、1 8 1、1 9 1、2 0 1、2 1 1、2 2 1、2 3 1、2 4 1、2 5 1、2 6 1、2 7 1
 、2 8 1、2 9 1、3 0 1、3 1 1、3 2 1、3 3 1、3 4 1、6 0 4、6 1 2、6 2 0
 、6 2 8、6 3 6、6 4 4、6 5 2、6 6 0、6 6 8、6 7 6、6 8 4、または6 9 2の
 アミノ酸配列に対して、少なくとも9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、
 9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または1 0 0 %の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイ
 ン(V L) 配列を含む。ある特定の実施形態において、少なくとも9 0 %、9 1 %、9 2
 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または9 9 %の同一性を有する
 V L 配列は、基準配列と比較して、置換(例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含
 有するが、その配列を含む抗 T a u 抗体は、T a u に結合する能力を保持する。ある特定
 の実施形態において、合計1 ~ 1 0 個のアミノ酸が、配列番号1 1、2 1、3 1、4 1、
 5 1、6 1、7 1、8 1、9 1、1 0 1、1 1 1、1 2 1、1 3 1、1 4 1、1 5 1、1
 6 1、1 7 1、1 8 1、1 9 1、2 0 1、2 1 1、2 2 1、2 3 1、2 4 1、2 5 1、2
 6 1、2 7 1、2 8 1、2 9 1、3 0 1、3 1 1、3 2 1、3 3 1、3 4 1、6 0 4、6
 1 2、6 2 0、6 2 8、6 3 6、6 4 4、6 5 2、6 6 0、6 6 8、6 7 6、6 8 4、ま
 たは6 9 2内で置換、挿入及び/または欠失されている。ある特定の実施形態において、
 置換、挿入、または欠失は、H V Rの外側の領域内で(すなわち、F R内で)生じる。任
 意で、抗 T a u 抗体は、配列番号1 1、2 1、3 1、4 1、5 1、6 1、7 1、8 1、9
 1、1 0 1、1 1 1、1 2 1、1 3 1、1 4 1、1 5 1、1 6 1、1 7 1、1 8 1、1 9
 1、2 0 1、2 1 1、2 2 1、2 3 1、2 4 1、2 5 1、2 6 1、2 7 1、2 8 1、2 9
 1、3 0 1、3 1 1、3 2 1、3 3 1、3 4 1、6 0 4、6 1 2、6 2 0、6 2 8、6 3
 6、6 4 4、6 5 2、6 6 0、6 6 8、6 7 6、6 8 4、または6 9 2内のV L 配列を、
 その配列の翻訳後修飾を含めて含む。特定の実施形態において、V L は、(a) 配列番号
 1 5、2 5、3 5、4 5、5 5、6 5、7 5、8 5、9 5、1 0 5、1 1 5、1 2 5、1
 3 5、1 4 5、1 5 5、1 6 5、1 7 5、1 8 5、1 9 5、2 0 5、2 1 5、2 2 5、2
 3 5、2 4 5、2 5 5、2 6 5、2 7 5、2 8 5、2 9 5、3 0 5、3 1 5、3 2 5、3
 3 5、3 4 5、6 0 8、6 1 6、6 2 4、6 3 2、6 4 0、6 4 8、6 5 6、6 6 4、6
 7 2、6 8 0、6 8 8、または6 9 6のアミノ酸配列を含むH V R - L 1、(b) 配列番
 号1 6、2 6、3 6、4 6、5 6、6 6、7 6、8 6、9 6、1 0 6、1 1 6、1 2 6、
 1 3 6、1 4 6、1 5 6、1 6 6、1 7 6、1 8 6、1 9 6、2 0 6、2 1 6、2 2 6、
 2 3 6、2 4 6、2 6 6、2 6 6、2 7 6、2 8 6、2 9 6、3 0 6、3 1 6、3 2 6、
 3 3 6、3 4 6、6 0 9、6 1 7、6 2 5、6 3 3、6 4 1、6 4 9、6 5 7、6 6 5、
 6 7 3、6 8 1、6 8 9、または6 9 7のアミノ酸配列を含むH V R - L 2、及び(c)
 配列番号1 7、2 7、3 7、4 7、5 7、6 7、7 7、8 7、9 7、1 0 7、1 1 7、1

20

30

40

50

27、137、147、157、167、177、187、197、207、217、227、237、247、267、277、277、287、297、307、317、327、337、347、610、618、626、634、642、650、658、666、674、682、690、または698のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、または3つのHVRを含む。

【0255】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、

- a) 配列番号603と少なくとも95%同一の配列を含む重鎖可変領域(VH)、
- b) 配列番号604と少なくとも95%同一の配列を含む軽鎖可変領域(VL)、
- c) (a)にあるようなVH及び(b)にあるようなVL、
- d) 配列番号611と少なくとも95%同一の配列を含む重鎖可変領域(VH)、
- e) 配列番号612と少なくとも95%同一の配列を含む軽鎖可変領域(VL)、
- f) (d)にあるようなVH及び(e)にあるようなVL、
- g) 配列番号619と少なくとも95%同一の配列を含む重鎖可変領域(VH)、
- h) 配列番号620と少なくとも95%同一の配列を含む軽鎖可変領域(VL)、
- i) (g)にあるようなVH及び(h)にあるようなVL、
- j) 配列番号627と少なくとも95%同一の配列を含む重鎖可変領域(VH)、
- k) 配列番号628と少なくとも95%同一の配列を含む軽鎖可変領域(VL)、
- l) (j)にあるようなVH及び(k)にあるようなVL、
- m) 配列番号635と少なくとも95%同一の配列を含む重鎖可変領域(VH)、
- n) 配列番号636と少なくとも95%同一の配列を含む軽鎖可変領域(VL)、
- o) (m)にあるようなVH及び(n)にあるようなVL、または
- p) 配列番号643と少なくとも95%同一の配列を含む重鎖可変領域(VH)、
- q) 配列番号644と少なくとも95%同一の配列を含む軽鎖可変領域(VL)、
- r) (p)にあるようなVH及び(q)にあるようなVL、
- s) 配列番号651と少なくとも95%同一の配列を含む重鎖可変領域(VH)、
- t) 配列番号652と少なくとも95%同一の配列を含む軽鎖可変領域(VL)、
- u) (s)にあるようなVH及び(t)にあるようなVL、
- v) 配列番号659と少なくとも95%同一の配列を含む重鎖可変領域(VH)、
- w) 配列番号660と少なくとも95%同一の配列を含む軽鎖可変領域(VL)、
- x) (v)にあるようなVH及び(w)にあるようなVL、
- y) 配列番号667と少なくとも95%同一の配列を含む重鎖可変領域(VH)、
- z) 配列番号668と少なくとも95%同一の配列を含む軽鎖可変領域(VL)、
- aa) (y)にあるようなVH及び(z)にあるようなVL、
- bb) 配列番号675と少なくとも95%同一の配列を含む重鎖可変領域(VH)、
- cc) 配列番号676と少なくとも95%同一の配列を含む軽鎖可変領域(VL)、
- dd) (bb)にあるようなVH及び(cc)にあるようなVL、
- ee) 配列番号683と少なくとも95%同一の配列を含む重鎖可変領域(VH)、
- ff) 配列番号684と少なくとも95%同一の配列を含む軽鎖可変領域(VL)、
- gg) (ee)にあるようなVH及び(ff)にあるようなVL、または
- hh) 配列番号691と少なくとも95%同一の配列を含む重鎖可変領域(VH)、
- ii) 配列番号692と少なくとも95%同一の配列を含む軽鎖可変領域(VL)、
- jj) (hh)にあるようなVH及び(ii)にあるようなVLを含む。

【0256】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体は、

- a) 配列番号603の配列を含む重鎖可変領域(VH)、
- b) 配列番号604の配列を含む軽鎖可変領域(VL)、
- c) (a)にあるようなVH及び(b)にあるようなVL、
- d) 配列番号611の配列を含む重鎖可変領域(VH)、
- e) 配列番号612の配列を含む軽鎖可変領域(VL)、

f) (d) にあるような V H 及び (e) にあるような V L、
 g) 配列番号 6 1 9 の配列を含む重鎖可変領域 (V H)、
 h) 配列番号 6 2 0 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L)、
 i) (g) にあるような V H 及び (h) にあるような V L、
 j) 配列番号 6 2 7 の配列を含む重鎖可変領域 (V H)、
 k) 配列番号 6 2 8 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L)、
 l) (j) にあるような V H 及び (k) にあるような V L、
 m) 配列番号 6 3 5 の配列を含む重鎖可変領域 (V H)、
 n) 配列番号 6 3 6 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L)、
 o) (m) にあるような V H 及び (n) にあるような V L、または
 p) 配列番号 6 4 3 の配列を含む重鎖可変領域 (V H)、
 q) 配列番号 6 4 4 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L)、
 r) (p) にあるような V H 及び (q) にあるような V L、
 s) 配列番号 6 5 1 の配列を含む重鎖可変領域 (V H)、
 t) 配列番号 6 5 2 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L)、
 u) (s) にあるような V H 及び (t) にあるような V L、
 v) 配列番号 6 5 9 の配列を含む重鎖可変領域 (V H)、
 w) 配列番号 6 6 0 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L)、
 x) (v) にあるような V H 及び (w) にあるような V L、
 y) 配列番号 6 6 7 の配列を含む重鎖可変領域 (V H)、
 z) 配列番号 6 6 8 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L)、
 a a) (y) にあるような V H 及び (z) にあるような V L、
 b b) 配列番号 6 7 5 の配列を含む重鎖可変領域 (V H)、
 c c) 配列番号 6 7 6 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L)、
 d d) (b b) にあるような V H 及び (c c) にあるような V L、
 e e) 配列番号 6 8 3 の配列を含む重鎖可変領域 (V H)、
 f f) 配列番号 6 8 4 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L)、
 g g) (e e) にあるような V H 及び (f f) にあるような V L、または
 h h) 配列番号 6 9 1 の配列を含む重鎖可変領域 (V H)、
 i i) 配列番号 6 9 2 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L)、
 j j) (h h) にあるような V H 及び (i i) にあるような V L を含む。

10

20

30

【0257】

別の態様において、抗 T a u 抗体であって、上記に提供される実施形態のいずれかにあるような V H、及び上記に提供される実施形態のいずれかにあるような V L を含む、抗体が提供される。いくつかの実施形態において、抗体は、それぞれ配列番号 2 8 0 及び配列番号 2 8 1 内の V H 及び V L 配列を、それらの配列の翻訳後修飾を含めて含む。いくつかの実施形態において、抗体は、それぞれ配列番号 2 9 0 及び配列番号 2 9 1 内の V H 及び V L 配列を、それらの配列の翻訳後修飾を含めて含む。いくつかの実施形態において、抗体は、それぞれ配列番号 3 0 0 及び配列番号 3 0 1 内の V H 及び V L 配列を、それらの配列の翻訳後修飾を含めて含む。いくつかの実施形態において、抗体は、それぞれ配列番号 3 1 0 及び配列番号 3 1 1 内の V H 及び V L 配列を、それらの配列の翻訳後修飾を含めて含む。いくつかの実施形態において、抗体は、それぞれ配列番号 3 2 0 及び配列番号 3 2 1 内の V H 及び V L 配列を、それらの配列の翻訳後修飾を含めて含む。いくつかの実施形態において、抗体は、それぞれ配列番号 3 3 0 及び配列番号 3 3 1 内の V H 及び V L 配列を、それらの配列の翻訳後修飾を含めて含む。いくつかの実施形態において、抗体は、それぞれ配列番号 3 4 0 及び配列番号 3 4 1 内の V H 及び V L 配列を、それらの配列の翻訳後修飾を含めて含む。

40

【0258】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 6 0 3 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号 6 0 4 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を、それらの配列の翻訳後修

50

飾を含めて含む。

【0259】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号611のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号612のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を、それらの配列の翻訳後修飾を含めて含む。

【0260】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号619のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号620のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を、それらの配列の翻訳後修飾を含めて含む。

【0261】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号627のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号628のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を、それらの配列の翻訳後修飾を含めて含む。

【0262】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号635のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号636のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を、それらの配列の翻訳後修飾を含めて含む。

【0263】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号643のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号644のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を、それらの配列の翻訳後修飾を含めて含む。

【0264】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号651のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号652のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【0265】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号659のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号660のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【0266】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号667のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号668のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【0267】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号675のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号676のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【0268】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号683のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号684のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【0269】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号691のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号692のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【0270】

いくつかの実施形態において、抗Tau抗体であって、配列番号348または配列番号602のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号349のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、抗体が提供される。いくつかの実施形態において、抗Tau抗体であって、配列番号348または配列番号602のアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号349のアミノ酸配列からなる軽鎖を含む、抗体が提供される。

【0271】

更なる一態様において、本発明は、本明細書に提供される抗Tau抗体と同じエピトープに結合する抗体を提供する。例えば、ある特定の実施形態において、15C6-A7、63H3-D8、123E9-A1、64B9-F12、231G3F10、7A11C12、30A1C9、211G6-B6、77D1-D2、71H8-D6、307H3

10

20

30

40

50

E 8、6 3 H 3 - D 8、6 4 B 9 - F 1 2、7 2 E 1 2 - H 9、3 0 D 1 2 - B 5、4 9 G 1 0 - F 4、及び6 5 B 1 - A 2 から選択される抗体と同じエピトープに結合する抗体が提供される。ある特定の実施形態において、1 5 C 6 - A 7、6 3 H 3 - D 8、1 2 3 E 9 - A 1、6 4 B 9 - F 1 2、2 3 1 G 3 F 1 0、3 0 A 1 C 9、2 1 1 G 6 - B 6、7 7 D 1 - D 2、7 1 H 8 - D 6、3 0 7 H 3 E 8、6 3 H 3 - D 8、6 4 B 9 - F 1 2、7 2 E 1 2 - H 9、3 0 D 1 2 - B 5、4 9 G 1 0 - F 4、及び6 5 B 1 - A 2 から選択されるが、抗体 h u 3 7 D 3 - H 9、v 2 8、A 4 と競合しない抗体と同じエピトープに結合する抗体が提供される。ある特定の実施形態において、配列番号2のアミノ酸2～24からなるT a uの断片内のエピトープに結合する抗体が提供される。ある特定の実施形態において、配列番号2のアミノ酸7～24からなるT a uの断片内のエピトープに結合する抗体が提供される。ある特定の実施形態において、配列番号2のアミノ酸7～20からなるT a uの断片内のエピトープに結合する抗体が提供される。ある特定の実施形態において、配列番号2のアミノ酸10～24からなるT a uの断片内のエピトープに結合する抗体が提供される。ある特定の実施形態において、配列番号2のアミノ酸7～21からなるT a uの断片内のエピトープに結合する抗体が提供される。ある特定の実施形態において、配列番号2のアミノ酸8～22からなるT a uの断片内のエピトープに結合する抗体が提供される。ある特定の実施形態において、配列番号2のアミノ酸11～25からなるT a uの断片内のエピトープに結合する抗体が提供される。ある特定の実施形態において、以下のT a u断片、2～24、7～24、7～20、10～24、7～21、8～22、及び11～25のうちの1つ以上または全てに結合する抗体が提供される。いくつかの実施形態において、配列番号593の配列を有するペプチドに結合するが、配列番号596または配列番号597の配列を有するペプチドには結合しない抗体が提供される。

10

20

【0272】

本発明の更なる態様において、上記の実施形態のいずれかに従う抗T a u抗体は、キメラ、ヒト化、またはヒト抗体を含む、モノクローナル抗体である。一実施形態において、抗T a u抗体は、抗体断片、例えば、F v、F a b、F a b'、s c F v、ダイアボディ、またはF (a b')₂断片である。別の実施形態において、抗体は、完全長抗体、例えば、無傷I g G 1もしくはI g G 4抗体、または本明細書において定義される他の抗体クラスもしくはアイソタイプである。

30

【0273】

更なる一態様において、上記の実施形態のいずれかに従う抗T a u抗体は、以下の節1～7に記載される特徴のいずれかを、単独または組み合わせで組み込み得る。

【0274】

1. 抗体親和性

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、1 μ M、1 0 0 n M、1 0 n M、1 n M、0 . 1 n M、0 . 0 1 n M、または0 . 0 0 1 n M (例えば、1 0⁻⁸ M以下、例えば1 0⁻⁸ M～1 0⁻¹³ M、例えば1 0⁻⁹ M～1 0⁻¹³ M) の解離定数 (K_D) を有する。

【0275】

いくつかの実施形態において、K_Dは、放射標識抗原結合アッセイ (R I A) によって測定される。いくつかの実施形態において、R I Aは、目的とされる抗体のF a bバージョン及びその抗原で実行される。例えば、抗原に対するF a bの溶液結合親和性は、非標識抗原の一連の滴定の存在下で、F a bを最小濃度の (¹²⁵I) 標識抗原と平衡化し、次いで、抗F a b抗体でコーティングされたプレートで結合した抗原を捕捉することによって、測定される (例えば、C h e n e t a l . , J . M o l . B i o l . 2 9 3 : 8 6 5 - 8 8 1 (1 9 9 9)) 。アッセイのための条件を確立するために、M I C R O T I T E R (登録商標) マルチウェルプレート (T h e r m o S c i e n t i f i c) を、5 0 m Mの炭酸ナトリウム (p H 9 . 6) 中5 μ g / m Lの捕捉抗F a b抗体 (C a p p e l L a b s) で一晚コーティングし、次いで、室温 (およそ2 3) でP B S中2重量体積 % (w / v) のウシ血清アルブミンで2～5時間遮断する。非吸着性プレート (

40

50

Nunc 番号 269620) 中、100 pM または 26 pM の $[^{125}\text{I}]$ - 抗原を、目的とされる Fab の段階希釈液と混合する (例えば、Presta et al., Cancer Res. 57: 4593 - 4599 (1997)) における抗 VEGF 抗体 Fab - 12 の評価と一貫する)。次いで、目的とされる Fab を一晚インキュベートするが、インキュベーションをより長い期間 (例えば、約 65 時間) 続けて、平衡への到達を確実にすることができる。その後、室温でのインキュベーション (例えば、1 時間) のために混合物を捕捉プレートに移す。次いで、溶液を除去し、プレートを PBS 中 0.1% ポリソルベート 20 (TWEEN - 20 (登録商標)) で 8 回洗浄する。プレートが乾燥したら、150 μL / ウェルのシンチラント (scintillant) (MICROSCINT - 20 (商標)、Packard) を添加し、プレートを TOPCOUNT (商標) ガンマ計数器 (Packard) 上で 10 分間計数する。20% 以下の最大結合をもたらす各 Fab の濃度を、競合結合アッセイに使用するために選択する。

【0276】

別の実施形態に従うと、 K_D は、BIACORE (登録商標) 表面プラズモン共鳴アッセイを使用して測定される。例えば、BIACORE (登録商標) - 2000 または BIACORE (登録商標) - 3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ) を使用するアッセイを、約 10 の共鳴単位 (RU) で、固定化された抗原 CM5 チップで 25 で実行する。いくつかの実施形態において、カルボキシメチル化デキストランバイオセンサチップ (CM5、BIACORE, Inc.) を、供給業者の指示書に従って、N - エチル - N' - (3 - ジメチルアミノプロピル) - カルボジイミド塩酸塩 (EDC) 及び N - ヒドロキシスクシンイミド (NHS) で活性化する。抗原を、10 mM の酢酸ナトリウム (pH 4.8) で 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (約 0.2 μM) になるまで希釈した後、5 μL / 分の流量で注入して、およそ 10 共鳴単位 (RU) のカップリングしたタンパク質を得る。抗原の注入後、1 M のエタノールアミンを注入して、未反応基を遮断する。動態測定のために、Fab の 2 倍段階希釈液 (0.78 nM ~ 500 nM) を、25 の 0.05% ポリソルベート 20 (TWEEN - 20 (商標)) 界面活性剤 (PBST) を有する PBS 中、およそ 25 μL / 分の流量で注入する。会合速度 (k_{on}) 及び解離速度 (k_{off}) を、単純な 1 対 1 のラングミュア結合モデル (BIACORE (登録商標) Evaluation Software バージョン 3.2) を使用して、会合センサグラムと解離センサグラムとを同時にフィットさせることによって計算する。平衡解離定数 (K_D) を、比率 k_{off} / k_{on} として計算する。例えば、Chen et al., J. Mol. Biol. 293: 865 - 881 (1999) を参照されたい。上記表面プラズモン共鳴アッセイによるオン速度が $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ を超える場合、オン速度は、ストップフローを備えた分光光度計 (Aviv Instruments) または攪拌キュベットを有する 8000 シリーズ SLM - AMINCO (商標) 分光光度計 (Thermo Spectronic) などの分光計で測定される、増加する抗原濃度の存在下で、25 で、PBS (pH 7.2) 中 20 nM の抗抗原抗体 (Fab 形態) の蛍光発光強度 (励起 = 295 nm、発光 = 340 nm、16 nm 帯域通過) の増加または減少を測定する蛍光消光技法を使用することによって決定することができる。

【0277】

2. 抗体断片

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、抗体断片である。抗体断片としては、Fab、Fab'、Fab' - SH、 $(\text{Fab}')_2$ 、Fv、及び scFv 断片、ならびに以下に記載される他の断片が挙げられるが、これらに限定されない。ある特定の抗体断片の概説については、Hudson et al., Nat. "Med." 9: 129 - 134 (2003) を参照されたい。scFv 断片の概説については、例えば、Pluckthun, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer - Verlag, New York), pp. 269 - 315 (1994) を参照されたく、また、WO 93 / 16185、ならびに米

10

20

30

40

50

国特許第 5, 571, 894 号及び同第 5, 587, 458 号も参照されたい。サルベージ受容体結合エピトープ残基を含み、増加したインビボ半減期を有する、Fab 及び F(ab')₂ 断片の考察については、米国特許第 5, 869, 046 号を参照されたい。

【0278】

ダイアボディは、二価または二重特異性であり得る 2 つの抗原結合部位を有する抗体断片である。例えば、EP 404, 097、WO 1993/01161、Hudson et al., Nat. "Med." 9:129-134 (2003)、及び Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993) を参照されたい。トリアボディ及びテトラボディもまた、Hudson et al., Nat. "Med." 9:129-134 (2003) に記載されている。

10

【0279】

単ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全てもしくは一部分、または軽鎖可変ドメインの全てもしくは一部分を含む、抗体断片である。ある特定の実施形態において、単ドメイン抗体は、ヒト単ドメイン抗体である (Domantis, Inc., Walltham, MA、例えば、米国特許第 6, 248, 516 B1 号を参照されたい)。

【0280】

抗体断片は、本明細書に記載されるように、無傷抗体のタンパク質消化及び組み換え宿主細胞 (例えば、E. coli またはファージ) による産生を含むが、これらに限定されない様々な技法によって作製することができる。

20

【0281】

3. キメラ抗体及びヒト化抗体

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、キメラ抗体である。ある特定のキメラ抗体は、例えば、米国特許第 4, 816, 567 号、及び Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984) に記載されている。一実施例において、キメラ抗体は、非ヒト可変領域 (例えば、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、または非ヒト霊長類、例えば、サルに由来する可変領域) 及びヒト定常領域を含む。更なる実施例において、キメラ抗体は、クラスまたはサブクラスが親抗体のクラスまたはサブクラスから変化した「クラススイッチ」抗体である。キメラ抗体は、それらの抗原結合断片を含む。

30

【0282】

ある特定の実施形態において、キメラ抗体は、ヒト化抗体である。典型的には、非ヒト抗体は、ヒトに対する免疫原性を低減する一方で、親非ヒト抗体の特異性及び親和性は保持するようにヒト化される。一般に、ヒト化抗体は、1 つ以上の可変ドメインを含み、その HVR、例えば、CDR (またはそれらの部分) は非ヒト抗体に由来し、その FR (またはそれらの部分) はヒト抗体配列に由来する。任意で、ヒト化抗体はまた、ヒト定常領域の少なくとも一部分も含むであろう。いくつかの実施形態において、ヒト化抗体内のいくつかの FR 残基は、例えば、抗体特異性または親和性を復元または改善するように、非ヒト抗体 (例えば、HVR 残基が由来する抗体) 由来の対応する残基で置換される。

40

【0283】

ヒト化抗体及びそれらの作製方法は、例えば、Almagro and Franss on, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008) においてレビューされており、例えば、Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988)、Queen et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 86:10029-10033 (1989)、米国特許第 5, 821, 337 号、同第 7, 527, 791 号、同第 6, 982, 321 号、及び同第 7, 087, 409 号、Kashmiri et al., Methods 36:25-34 (2005) (特異性決定領域 (SDR) グラフトを記載する)、Padlan, Mol. Immunol. 28:489-498 (1991) (「再表面化」を記載する)、Dall'Aquila et al., Methods 36:43-60 (2005)

50

(「FRシャフリング」を記載する)、ならびにOsbourne et al., Methods 36:61-68(2005)及びKlimka et al., Br. J. Cancer, 83:252-260(2000)(FRシャフリングに対する「誘導選択」を記載する)において更に記載されている。

【0284】

ヒト化に使用され得るヒトフレームワーク領域としては、「ベストフィット」法を使用して選択されたフレームワーク領域(例えば、Sims et al., J. Immunol. 151:2296(1993)を参照)、軽鎖または重鎖可変領域の特定のサブグループのヒト抗体のコンセンサス配列に由来するフレームワーク領域(例えば、Carte et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285(1992)、及びPresta et al., J. Immunol., 151:2623(1993)を参照)、ヒト成熟(体細胞変異された)フレームワーク領域またはヒト生殖系フレームワーク領域(例えば、Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633(2008))、ならびにFRライブラリのスクリーニングに由来するフレームワーク領域(例えば、Baca et al., J. Biol. Chem. 272:10678-10684(1997)及びRosok et al., J. Biol. Chem. 271:22611-22618(1996)を参照)が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0285】

4. ヒト抗体

20

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ヒト抗体である。ヒト抗体は、当該技術分野において既知である様々な技法を使用して産生することができる。ヒト抗体は一般に、van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5:368-74(2001)及びLonberg, Curr. Opin. Immunol. 20:450-459(2008)に記載されている。

【0286】

ヒト抗体は、抗原投与に応答して、無傷ヒト抗体またはヒト可変領域を有する無傷抗体を産生するように修飾されているトランスジェニック動物に免疫原を投与することによって調製することができる。そのような動物は、典型的には、内因性免疫グロブリン遺伝子座を置換するか、または染色体外に存在するか、もしくは動物の染色体にランダムに統合されるヒト免疫グロブリン遺伝子座の全てまたは一部分を含有する。そのようなトランスジェニックマウスにおいて、内因性免疫グロブリン遺伝子座は一般に、不活性化されている。トランスジェニック動物からヒト抗体を得るための方法の概説については、Lonberg, Nat. Biotech. 23:1117-1125(2005)を参照されたい。また例えば、米国特許第6,075,181号及び同第6,150,584号(XENOMOUSE(商標)技術を記載する)、米国特許第5,770,429号(HUMAB(登録商標)技術を記載する)、米国特許第7,041,870号(K-M MOUSE(登録商標)技術を記載する)、及び米国特許出願公開第US2007/0061900(VELOCIMOUSE(登録商標)技術を記載する)を参照されたい。そのような動物によって生成された無傷抗体由来のヒト可変領域は、例えば、異なるヒト定常領域と組み合わせることによって更に修飾され得る。

30

40

【0287】

ヒト抗体はまた、ハイブリドーマに基づく方法によって作製することもできる。ヒトモノクローナル抗体を産生するためのヒト骨髓腫及びマウス-ヒトヘテロ骨髓腫細胞株が、記載されている。(例えば、Kozbor, J. Immunol., 133:3001(1984)、Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63(Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)、及びBoerner et al., J. Immunol., 147:86(199

50

1) を参照。) ヒト B 細胞ハイブリドーマ技術を介して生成されたヒト抗体はまた、Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103: 3557-3562 (2006) に記載されている。追加の方法としては、例えば、米国特許第 7, 189, 826 号 (ハイブリドーマ細胞株からのモノクローナルヒト Ig M 抗体の産生を記載する) 及び Ni, Xiandai Mianyixue, 26 (4): 265-268 (2006) (ヒト-ヒトハイブリドーマを記載する) に記載されるものが挙げられる。ヒトハイブリドーマ技術 (トリオーマ技術) もまた、Vollmers and Brandlein, Histology and Histopathology, 20 (3): 927-937 (2005) 及び Vollmers and Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 27 (3): 185-91 (2005) に記載されている。

10

【0288】

ヒト抗体はまた、ヒト由来のファージ提示ライブラリから選択される Fv クローン可変ドメイン配列を単離することによって生成することもできる。次いで、そのような可変ドメイン配列は、所望されるヒト定常ドメインと組み合わせられ得る。抗体ライブラリからヒト抗体を選択するための技法を、以下に記載する。

【0289】

5. ライブラリ由来抗体

本発明の抗体は、所望される活性 (複数可) を有する抗体についてコンビナトリアルライブラリをスクリーニングすることにより単離することができる。例えば、ファージ提示ライブラリを生成し、所望される結合特性を持つ抗体についてそのようなライブラリをスクリーニングするための様々な方法が、当該技術分野において既知である。そのような方法は、例えば、Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178: 1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001) においてレビューされており、例えば、McCafferty et al., Nature 348: 552-554、Clackson et al., Nature 352: 624-628 (1991)、Marks et al., J. Mol. Biol. 222: 581-597 (1992)、Marks and Bradbury, in Methods in Molecular Biology 248: 161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003)、Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338 (2): 299-310 (2004)、Lee et al., J. Mol. Biol. 340 (5): 1073-1093 (2004)、Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101 (34): 12467-12472 (2004)、及び Lee et al., J. Immunol. Methods 284 (1-2): 119-132 (2004) に更に記載されている。

20

30

【0290】

ある特定のファージ提示法において、VH 及び VL 遺伝子のレパートリーは、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) によって別個にクローニングされ、ファージライブラリ中でランダムに組み換えられ、それは次いで、Winter et al., Ann. Rev. Immunol., 12: 433-455 (1994) に記載されるように、抗原結合ファージについてスクリーニングすることができる。ファージは、典型的には、抗体断片を一本鎖 Fv (scFv) 断片または Fab 断片のいずれかとして提示する。免疫化源由来のライブラリは、ハイブリドーマの構築を必要とすることなく、免疫原に高親和性抗体を提供する。あるいは、Griffiths et al., EMBO J, 12: 725-734 (1993) によって記載されるように、ナイーブレパートリーは、クローニングされて (例えば、ヒトから)、いかなる免疫化もなく、幅広い非自己抗原及びまた自己抗原に対する抗体の単一源を提供することができる。最後に、ナイーブラライブラリはまた、Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227: 38

40

50

1 - 3 8 8 (1 9 9 2) に記載されるように、肝細胞由来の再配置されていないV 遺伝子セグメントをクローニングし、ランダム配列を含有するPCRプライマーを使用することによって合成的に作製して、高度に変化するCDR3領域をコードし、インビトロでの再配置を達成することができる。ヒト抗体ファージライブラリに記載している特許公開としては、例えば、米国特許第5,750,373号、ならびに米国特許公開第2005/0079574号、同第2005/0119455号、同第2005/0266000号、同第2007/0117126号、同第2007/0160598号、同第2007/0237764号、同第2007/0292936号、及び同第2009/0002360号が挙げられる。

【0291】

ヒト抗体ライブラリから単離された抗体または抗体断片は、本明細書においてヒト抗体またはヒト抗体断片と見なされる。

【0292】

6. 多重特異性抗体

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、多重特異性抗体、例えば、二重特異性抗体である。多重特異性抗体は、少なくとも2つの異なる部位に対する結合特異性を有するモノクローナル抗体である。ある特定の実施形態において、結合特異性の一方はTauに対するものであり、他方は任意の他の抗原に対するものである。ある特定の実施形態において、結合特異性の一方はTauに対するものであり、他方はアミロイドβに対するものである。特定の実施形態において、二重特異性抗体は、Tauの2つの異なるエピトープに結合することができる。二重特異性抗体はまた、Tauを発現する細胞に細胞傷害性薬剤を局所化させるために使用することができる。二重特異性抗体は、完全長抗体または抗体断片として調製され得る。

【0293】

多重特異性抗体を作製するための技法としては、異なる特異性を有する2つの免疫グロブリン重鎖-軽鎖対の組み換え同時発現(Milstein and Cuello, Nature 305:537(1983))、WO93/08829、及びTrauneker et al., EMBO J. 10:3655(1991)を参照されたい)、ならびに「ノブ・イン・ホール(knob-in-hole)」操作(例えば、米国特許第5,731,168号を参照されたい)が挙げられるが、これらに限定されない。多重特異性抗体はまた、静電的ステアリング効果を操作して抗体Fc-ヘテロ二量体分子を作製すること(WO2009/089004A1)、2つ以上の抗体または断片を架橋すること(例えば、米国特許第4,676,980号及びBrennan et al., Science, 229:81(1985)を参照)、ロイシンジッパーを使用して二重特異性抗体を産生すること(例えば、Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553(1992)を参照)、「ダイアボディ」技術を使用して二重特異性抗体断片を作製すること(例えば、Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448(1993)を参照)、及び一本くさりFv(sFv)二量体を使用すること(例えば、Gruber et al., J. Immunol., 152:5368(1994)を参照)、ならびに例えば、Tutt et al., J. Immunol. 147:60(1991)に記載されるように三重特異性抗体を調製することによって作製されてもよい。

【0294】

「オクトパス抗体」を含む、3つ以上の機能抗原結合部位を有する操作された抗体もまた、本明細書に含まれる(例えば、US2006/0025576A1を参照)。

【0295】

本明細書における抗体または断片はまた、Tau及び別の異なる抗原に結合する抗原結合部位を含む、「二重作用(Dual Acting)FAB」または「DAF」も含む(例えば、US2008/0069820を参照)。

【0296】

10

20

30

40

50

7. 抗体変異形

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体のアミノ酸配列変異形が企図される。例えば、抗体の結合親和性及び／または他の生物学的特性を改善することが望ましくあり得る。抗体のアミノ酸配列変異形は、抗体をコードするヌクレオチド配列中に適切な修飾を導入することによって、またはペプチド合成によって調製することができる。そのような修飾としては、例えば、抗体のアミノ酸配列内の残基からの欠失、及び／またはそこへの挿入、及び／またはその置換が挙げられる。欠失、挿入、及び置換の任意の組み合わせを行って、最終構築物に到達することができるが、但し、最終構築物が所望される特性、例えば、抗原結合を持つことを条件とする。

【0297】

10

a) 置換、挿入、及び欠失変異形

ある特定の実施形態において、1つ以上のアミノ酸置換を有する抗体変異形が提供される。置換型変異誘発の目的とされる部位としては、HVR及びFRが挙げられる。保存的置換は、表1において、「好ましい置換」の見出しの下に示される。より実質的な変化は、表1において、「例示的な置換」の見出しの下に提供され、アミノ酸側鎖クラスに関連して以下に更に記載される通りである。アミノ酸置換が目的とされる抗体に導入され、産生物が所望される活性、例えば、抗原結合の保持／改善、免疫原性の減少、またはADCもしくはCDCの改善についてスクリーニングされ得る。

表1

元の残基	例示的な置換	好ましい置換
A l a (A)	V a l ; L e u ; I l e	V a l
A r g (R)	L y s ; G l n ; A s n	L y s
A s n (N)	G l n ; H i s ; A s p , L y s ; A r g	G l n
A s p (D)	G l u ; A s n	G l u
C y s (C)	S e r ; A l a	S e r
G l n (Q)	A s n ; G l u	A s n
G l u (E)	A s p ; G l n	A s p
G l y (G)	A l a	A l a
H i s (H)	A s n ; G l n ; L y s ; A r g	A r g
I l e (I)	L e u ; V a l ; M e t ; A l a ; P h e ; ノルロイシン	L e u
L e u (L)	ノルロイシン ; I l e ; V a l ; M e t ; A l a ; P h e	I l e
L y s (K)	A r g ; G l n ; A s n	A r g
M e t (M)	L e u ; P h e ; I l e	L e u
P h e (F)	T r p ; L e u ; V a l ; I l e ; A l a ; T y r	T y r
P r o (P)	A l a	A l a
S e r (S)	T h r	T h r
T h r (T)	V a l ; S e r	S e r
T r p (W)	T y r ; P h e	T y r
T y r (Y)	T r p ; P h e ; T h r ; S e r	P h e
V a l (V)	I l e ; L e u ; M e t ; P h e ; A l a ; ノルロイシン	L e u

10

20

30

アミノ酸は、一般的な側鎖特性に従ってグループ化され得る。

- (1) 疎水性：ノルロイシン、Met、Ala、Val、Leu、Ile；
- (2) 中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；
- (3) 酸性：Asp、Glu；
- (4) 塩基性：His、Lys、Arg；
- (5) 鎖配向に影響を及ぼす残基：Gly、Pro；
- (6) 芳香族：Trp、Tyr、Phe。

40

【0298】

非保存的置換は、これらのクラスのうちの1つのメンバーと別のクラスのメンバーとの交換を伴う。

【0299】

ある種類の置換型変異形は、親抗体（例えば、ヒト化抗体またはヒト抗体）の1つ以上の超可変領域残基を置換することを伴う。一般に、更なる研究のために選択される結果として生じる変異形（複数可）は、親抗体と比較したある特定の生物学的特性（例えば、親和性の増加、免疫原性の低減）の修正（例えば、改善）を有し、かつ/または実質的に保持された親抗体の特定の生物学的特性を有する。例示的な置換型変異形は、例えば、本明細書に記載されるものなどのファージ提示に基づく親和性成熟技法を使用して、好都合に

50

生成され得る親和性成熟抗体である。簡潔には、1つ以上のHVR残基が変異され、変異形抗体がファージ上に提示され、特定の生物学的活性（例えば、結合親和性）についてスクリーニングされる。

【0300】

変化（例えば、置換）がHVRに行われて、例えば、抗体親和性を改善することができる。そのような変化は、HVR「ホットスポット」、すなわち、体細胞成熟プロセス中に高頻度で変異を受けるコドンによってコードされる残基（例えば、Chowdhury, Methods Mol. Biol. 207: 179-196 (2008)を参照されたい）、及び/または抗原に接触する残基に行われてもよく、結果として生じる変異形VHまたはVLが、結合親和性について試験される。二次ライブラリから構築及び再選択することによる親和性成熟は、例えば、Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178: 1-37に記載されている(O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001))。親和性成熟のいくつかの実施形態において、多様性が、様々な方法（例えば、エラープロードPCR、鎖シャフリング、またはオリゴヌクレオチド指向変異誘発）のいずれかによって、成熟させるために選択された可変遺伝子に導入される。次いで、二次ライブラリが作製される。次いで、このライブラリがスクリーニングされて、所望される親和性を有する任意の抗体変異形が特定される。多様性を導入する別の方法は、数個のHVR残基（例えば、一度に4~6個の残基）がランダム化されるHVR指向アプローチを伴う。抗原結合に關与するHVR残基は、例えば、アラニンスキャニング変異誘発またはモデル化を使用して、特異的に特定され得る。特に、CDR-H3及びCDR-L3が標的とされることが多い。

10

20

【0301】

ある特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、そのような変化が抗原に結合する抗体の能力を実質的に低減しない限り、1つ以上のHVR内で生じ得る。例えば、結合親和性を実質的に低減しない保存的变化（例えば、本明細書に提供される保存的置換）がHVRで行われ得る。そのような変化は、例えば、HVR内の抗原接触残基の外側であってもよい。上記に提供される変異形VH配列及びVL配列のある特定の実施形態において、各HVRは、変化しないか、または1つ以下、2つ以下もしくは3つ以下のアミノ酸置換を含有するかのいずれかである。

30

【0302】

変異誘発のために標的とされ得る抗体の残基または領域の特定に有用な方法は、Cunningham and Wells (1989) Science, 244: 1081-1085によって記載される「アラニンスキャニング変異誘発」と呼ばれる。この方法において、残基または標的残基群（例えば、arg、asp、his、lys、及びgluなどの荷電残基）が特定され、中性または負荷電アミノ酸（例えば、アラニンまたはポリアラニン）によって置換されて、抗体と抗原との相互作用に影響が及ぼされたかが決定される。更なる置換が、最初の置換に対する機能感受性を示すアミノ酸位置に導入され得る。あるいは、または加えて、抗体と抗原の間の接触点を特定するための抗原-抗体複合体の結晶構造。そのような接触残基及び隣接する残基は、置換の候補として標的とされ得るか、または排除され得る。変異形をスクリーニングして、それらが所望される特性を含有するかを決定することができる。

40

【0303】

アミノ酸配列挿入は、長さが1残基~100以上の残基を含有するポリペプチドの範囲であるアミノ末端及び/またはカルボキシル末端の融合、ならびに単一または複数のアミノ酸残基の配列内挿入を含む。末端挿入の例としては、N末端メチオニル残基を有する抗体が挙げられる。抗体分子の他の挿入変異形としては、酵素（例えば、ADEPTのための）またはポリペプチドへの抗体のN末端もしくはC末端の融合が挙げられ、これは抗体の血清半減期を増加させる。

【0304】

50

b) グリコシル化変異形

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、抗体がグリコシル化される程度を増加または減少させるように変化する。抗体へのグリコシル化部位の付加または欠失は、1つ以上のグリコシル化部位が作製または除去されるようにアミノ酸配列を変化させることによって好都合に達成され得る。

【0305】

抗体がFc領域を含む場合、それに結合した炭水化物が変化し得る。哺乳動物細胞によって産生される天然抗体は、典型的には、一般にN結合によってFc領域のCH2ドメインのAsn297に結合される分岐状の二分岐オリゴ糖を含む。例えば、Wright et al. TIBTECH 15:26-32 (1997)を参照されたい。オリゴ糖としては、様々な炭水化物、例えば、マンノース、N-アセチルグルコサミン (GlcNAc)、ガラクトース、及びシアル酸、ならびに二分岐オリゴ糖構造の「幹」のGlcNAcに結合したフコースを挙げることができる。いくつかの実施形態において、ある特定の特性が改善された抗体変異形を作製するために、本発明の抗体内のオリゴ糖の修飾が行われ得る。

【0306】

いくつかの実施形態において、Fc領域に(直接的または間接的に)結合されたフコースを欠く炭水化物構造を有する抗体変異形が提供される。例えば、そのような抗体内のフコースの量は、1%~80%、1%~65%、5%~65%、または20%~40%であり得る。フコースの量は、例えば、WO2008/077546に記載されるMALDI-TOF質量分析法によって測定される、Asn297に結合した全ての糖構造(例えば、複合体、ハイブリッド、及び高マンノース構造)の合計に対する、Asn297での糖鎖内のフコースの平均量を計算することによって決定される。Asn297とは、Fc領域内の約297位(Fc領域残基のEu番号付け)に位置するアスパラギン残基を指すが、Asn297はまた、抗体内のわずかな配列変異のため、297位から約±3アミノ酸上流または下流に、すなわち、294位と300位の間に位置し得る。そのようなフコシル化変異形は、改善されたADCC機能を有し得る。例えば、米国特許公開第US2003/0157108(Presta, L.)、US2004/0093621(Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)を参照されたい。「脱フコース化」または「フコース欠損」抗体変異形に関する刊行物の例としては、US2003/0157108、WO2000/61739、WO2001/29246、US2003/0115614、US2002/0164328、US2004/0093621、US2004/0132140、US2004/0110704、US2004/0110282、US2004/0109865、WO2003/085119、WO2003/084570、WO2005/035586、WO2005/035778、WO2005/053742、WO2002/031140、Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004)、Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87:614 (2004)が挙げられる。脱フコシル化抗体を産生することができる細胞株の例としては、タンパク質フコシル化が欠損したLec13 CHO細胞(Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986))、米国特許出願第US2003/0157108A1、Presta, L.、及びWO2004/056312A1, Adams et al., 特に実施例11)、ならびにα-1, 6-フコシルトランスフェラーゼ遺伝子、FUT8、ノックアウトCHO細胞などのノックアウト細胞株(例えば、Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87:614 (2004)、Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006)、及びWO2003/085107)が挙げられる。

【0307】

例えば、抗体のFc領域に結合した二分岐オリゴ糖がGlcNAcによって二分される

、二分されたオリゴ糖を有する抗体変異形が更に提供される。そのような抗体変異形は、低減されたフコシル化及び／または改善されたADCC機能を有し得る。そのような抗体変異形の例は、例えば、WO2003/011878 (Jean-Mairetら)、米国特許第6,602,684号 (Umanaら)、及びUS2005/0123546 (Umanaら)に記載されている。Fc領域に結合したオリゴ糖内に少なくとも1つのガラクトース残基を有する抗体変異形もまた、提供される。そのような抗体変異形は、改善されたCDC機能を有し得る。そのような抗体変異形は、例えば、WO1997/30087 (Patelら)、WO1998/58964 (Raju, S.)、及びWO1999/22764 (Raju, S.)に記載されている。

【0308】

10

c) Fc領域変異形

ある特定の実施形態において、1つ以上のアミノ酸修飾が、本明細書に提供される抗体のFc領域に導入され、それによりFc領域変異形が生成され得る。Fc領域変異形は、1つ以上のアミノ酸位置にアミノ酸修飾 (例えば、置換) を含むヒトFc領域配列 (例えば、ヒトIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4 Fc領域) を含み得る。

【0309】

ある特定の実施形態において、本発明は、全てではないが、いくつかのエフェクター機能を持つことにより、インビボでの抗体の半減期が重要であるが、特定のエフェクター機能 (補体及びADCCなど) が不要または有害である用途に望ましい候補となる抗体変異形を企図する。インビトロ及び／またはインビボ細胞傷害性アッセイを行って、CDC及び／またはADCC活性の低減/枯渇を確認することができる。例えば、Fc受容体 (FcR) 結合アッセイを行って、抗体がFcγR結合を欠く (故にADCC活性を欠く可能性が高い) が、FcRn結合能力を保持していることを確実にすることができる。ADCCを媒介するための初代細胞であるNK細胞が、FcγRIIIのみを発現する一方で、単球は、FcγRI、FcγRII、及びFcγRIIIを発現する。造血細胞上のFcR発現は、Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991) の464頁の表3に要約される。目的とされる分子のADCC活性を評価するためのインビトロアッセイの非限定的な例は、米国特許第5,500,362 (例えば、Hellstrom, I. et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83:7059-7063 (1986) を参照) 及びHellstrom, I. et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82:1499-1502 (1985)、同第5,821,337号 (Bruggeman, M. et al., J. Exp. Med. 166:1351-1361 (1987)) に記載されている。あるいは、非放射性アッセイ方法が用いられてもよい (例えば、フローサイトメトリーのためのACTI (商標) 非放射性細胞傷害性アッセイ (Cell Technology, Inc. Mountain View, CA、及びCytotoxic 96 (登録商標) 非放射性細胞傷害性アッセイ (Promega, Madison, WI) を参照)。そのようなアッセイに有用なエフェクター細胞としては、末梢血単核細胞 (PBMC) 及びナチュラルキラー (NK) 細胞が挙げられる。あるいは、または加えて、目的とされる分子のADCC活性は、インビボで、例えば、Clynes et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95:652-656 (1998) に開示されるものなどの動物モデルにおいて評価されてもよい。C1q結合アッセイを実行して、抗体がC1qに結合することができず、故にCDC活性を欠くことを確認することもできる。例えば、WO2006/029879及びWO2005/100402のC1q及びC3c結合ELISAを参照されたい。補体活性化を評価するために、CDCアッセイが実行されてもよい (例えば、Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996)、Cragg, M. S. et al., Blood 101:1045-1052 (2003)、及びCragg, M. S. 及びM. J. Glennie, Blood 103:2738-2743 (2004) を参照)。FcRn結合及びインビボクリアランス/半減期決定もまた、

20

30

40

50

当該技術分野において既知である方法を使用して実行することができる（例えば、Petkova, S. B. et al., Int'l. Immunol. 18 (12) : 1759 - 1769 (2006) を参照）。

【0310】

低減したエフェクター機能を有する抗体は、Fc領域残基238、265、269、270、297、327、及び329のうちの1つ以上の置換を有するものを含む（米国特許第6,737,056号）。そのようなFc変異体は、アラニンへの残基265及び297の置換を有するいわゆる「DANA」Fc変異体を含む、アミノ酸265位、269位、270位、297位、及び327位のうちの2つ以上において置換を有するFc変異体を含む（米国特許第7,332,581号）。

10

【0311】

FcRへの結合が改善または縮小されたある特定の抗体変異形が記載されている。（例えば、米国特許第6,737,056号、WO2004/056312号、及びShields et al., J. Biol. Chem. 9 (2) : 6591 - 6604 (2001) を参照）。

【0312】

ある特定の実施形態において、抗体変異形は、ADCCを改善する1つ以上のアミノ酸置換、例えば、Fc領域の298、333、及び/または334位（残基のEU番号付け）での置換を有するFc領域を含む。

20

【0313】

いくつかの実施形態において、例えば、米国特許第6,194,551号、WO99/51642、及びIdusogie et al., J. Immunol. 164 : 4178 - 4184 (2000) に記載されるように、Fc領域に変更を行い、C1q結合及び/または補体依存性細胞傷害性(CDC)の変化（すなわち、改善または消滅のいずれか）をもたらす。

【0314】

母体IgGの胎児への移入に関与する（Guyer et al., J. Immunol. 117 : 587 (1976) 及びKim et al., J. Immunol. 24 : 249 (1994)）、半減期が増加し、かつ新生児型Fc受容体(FcRn)への結合が改善された抗体は、US2005/0014934A1（Hintonら）に記載されている。それらの抗体は、Fc領域のFcRnへの結合を改善する1つ以上の置換を有するFc領域をそこに含む。そのようなFc変異形は、Fc領域残基：238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424、または434のうちの1つ以上における置換、例えば、Fc領域残基434の置換を有するものを含む（米国特許第7,371,826号）。

30

【0315】

Fc領域変異形の他の例に関して、Duncan & Winter, Nature 322 : 738 - 40 (1988)、米国特許第5,648,260号、米国特許第5,624,821号、及びWO94/29351も参照されたい。

40

【0316】

d) システイン操作された抗体変異形

ある特定の実施形態において、抗体の1つ以上の残基がシステイン残基で置換されている、システイン操作された抗体、例えば、「thioMAb」を作製することが望ましい場合がある。特定の実施形態において、置換残基は、抗体の接触可能部位において生じる。これらの残基をシステインで置換することによって、反応性のチオール基がそれにより抗体の接触可能部位に位置付けられ、それを使用して、薬物部分またはリンカー-薬物部分などの他の部分に抗体を複合体化して、本明細書で更に記載される免疫複合体を作製することができる。ある特定の実施形態において、以下の残基のいずれか1つ以上が、システインで置換され得る：軽鎖のV205（Kabatt番号付け）、重鎖のA118（EU

50

番号付け)、及び重鎖Fc領域のS400(EU番号付け)。システイン操作された抗体は、例えば、米国特許第7,521,541号に記載されるように生成され得る。

【0317】

e) 抗体誘導体

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、当該技術分野において既知であり、かつ容易に入手可能な、追加の非タンパク質性部分を含有するように更に修飾され得る。抗体の誘導体化に好適な部分としては、水溶性ポリマーを含むが、これに限定されない。水溶性ポリマーの非限定的な例としては、ポリエチレングリコール(PEG)、エチレングリコール/プロピレングリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ-1,3-ジオキソラン、ポリ-1,3,6-トリオキサン、エチレン/無水マレイン酸コポリマー、ポリアミノ酸(ホモポリマーまたはランダムコポリマーのいずれか)、及びデキストランまたはポリ(n-ビニルピロリドン)ポリエチレングリコール、プロプロピレン(propylene)グリコールホモポリマー、プロリプロピレン(prolylene)オキシド/エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール(例えば、グリセロール)、ポリビニルアルコール、ならびにそれらの混合物が挙げられるが、これらに限定されない。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、水中でのその安定性のため、製造時に有利であり得る。ポリマーは、任意の分子量のものであり得、分岐状または非分岐状であり得る。抗体に結合したポリマーの数は異なり得、2つ以上のポリマーが結合している場合、それらは、同じ分子または異なる分子であり得る。一般に、誘導体化に使用されるポリマーの数及び/または種類は、改善される抗体の特定の特性または機能、抗体の誘導体が定義される条件下で療法において使用されるかどうかなどを含むが、これらに限定されない考慮に基づいて決定することができる。

【0318】

別の実施形態において、放射線への曝露によって選択的に加熱され得る、抗体と非タンパク質性部分との複合体が提供される。いくつかの実施形態において、非タンパク質性部分は、カーボンナノチューブである(Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102:11600-11605(2005))。放射線は、任意の波長のものであってもよく、通常の細胞を傷つけないが、非タンパク質性部分を、抗体-非タンパク質性部分に近位の細胞を死滅させる温度まで加熱する波長を含むが、これらに限定されない。

【0319】

B. 組み換え方法及び組成物

抗体は、例えば、米国特許第4,816,567号に記載される組み換え方法及び組成物を使用して産生され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗Tau抗体をコードする単離核酸が提供される。そのような核酸は、抗体のVLを含むアミノ酸配列及び/または抗体のVHを含むアミノ酸配列(例えば、抗体の軽鎖及び/または重鎖)をコードし得る。更なる実施形態において、そのような核酸を含む1つ以上のベクター(例えば、発現ベクター)が提供される。更なる実施形態において、そのような核酸を含む宿主細胞が提供される。そのような一実施形態において、宿主細胞は、(1)抗体のVLを含むアミノ酸配列及び抗体のVHを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含むベクター、または(2)抗体のVLを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第1のベクター、及び抗体のVHを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第2のベクターを含む(例えば、それらで形質転換されている)。いくつかの実施形態において、宿主細胞は、真核生物のもの、例えば、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞またはリンパ系細胞(例えば、Y0、NS0、Sp20細胞)である。いくつかの実施形態において、抗Tau抗体を作製する方法であって、上記に提供される抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を、その抗体の発現に好適な条件下で培養することと、任意で、抗体を宿主細胞(または宿主細胞培養培地)から回収することを含む、方法が提供される。

【0320】

抗 T a u 抗体の組み換え産生のために、例えば、上記のものなどの、抗体をコードする核酸が単離され、宿主細胞内での更なるクローニング及び／または発現のために、1つ以上のベクター中に挿入される。そのような核酸は、従来の手順を使用して（例えば、抗体の重鎖及び軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合可能であるオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）、容易に単離され、配列決定され得る。

【0321】

抗体をコードするベクターのクローニングまたは発現のための好適な宿主細胞は、本明細書に記載される原核細胞または真核細胞を含む。例えば、抗体は、特にグリコシル化及び F c エフェクター機能が必要とされない場合に、細菌内で産生され得る。細菌内での抗体断片及びポリペプチドの発現については、例えば、米国特許第 5,648,237 号、同第 5,789,199 号、及び同第 5,840,523 号を参照されたい。（また、C h a r l t o n , M e t h o d s i n M o l e c u l a r B i o l o g y , V o l . 248 (B . K . C . L o , e d . , H u m a n a P r e s s , T o t o w a , N J , 2003) , p p . 245 - 254 を参照、E . c o l i 中の抗体断片の発現を記載）。発現後に、抗体を、可溶性断片中の細菌細胞ペーストから単離することができ、更に精製され得る。

10

【0322】

原核生物に加えて、糸状菌または酵母などの真核微生物は、抗体をコードするベクターに好適なクローニングまたは発現宿主であり、グリコシル化経路が「ヒト化」されており、部分的または完全なヒトグリコシル化パターンを有する抗体の産生をもたらす、真菌及び酵母株を含む。G e r n g r o s s , N a t . B i o t e c h . 22 : 1409 - 1414 (2004) 及び L i e t a l . , N a t . B i o t e c h . 24 : 210 - 215 (2006) を参照されたい。

20

【0323】

グリコシル化抗体の発現に好適な宿主細胞はまた、多細胞生物（無脊椎動物及び脊椎動物）にも由来する。無脊椎動物細胞の例としては、植物及び昆虫細胞が挙げられる。昆虫細胞と併せて、特にヨトウガ細胞のトランスフェクションのために使用され得る、多数のバキュロウイルス株が特定されている。

【0324】

植物細胞培養物もまた、宿主として利用することができる。例えば、米国特許第 5,959,177 号、同第 6,040,498 号、同第 6,420,548 号、同第 7,125,978 号、及び同第 6,417,429 号（トランスジェニック植物において抗体を産生するための P L A N T I B O D I E S (商標) 技術を記載）を参照されたい。

30

【0325】

脊椎動物細胞もまた、宿主として使用することができる。例えば、懸濁液中で成長するように適合される哺乳動物細胞株が、有用である場合がある。有用な哺乳動物宿主細胞株の他の例は、S V 40 (C O S - 7) によって形質転換されたサル腎臓 C V 1 株、ヒト胚性腎臓株（例えば、G r a h a m e t a l . , J . G e n V i r o l . 36 : 59 (1977) に記載されるヒト胚腎臓株（例えば、293 または 293 細胞））、ペビーハムスター腎臓細胞（B H K）、マウスセルトリ細胞（例えば、M a t h e r , B i o l . R e p r o d . 23 : 243 - 251 (1980) に記載される T M 4 細胞）、サル腎臓細胞（C V 1）、アフリカミドリザル腎臓細胞（V E R O - 76）、ヒト子宮頸部癌細胞（H E L A）、イヌ腎臓細胞（M D C K）、バッファローラット肝臓細胞（B R L 3 A）、ヒト肺細胞（W 138）、ヒト肝臓細胞（H e p G 2）、マウス乳房腫瘍（M M T 060562）、例えば、M a t h e r e t a l . , A n n a l s N . Y . A c a d . S c i . 383 : 44 - 68 (1982) に記載される T R I 細胞、M R C 5 細胞、及び F S 4 細胞である。他の有用な哺乳動物宿主細胞株としては、D H F R ⁺ C H O 細胞を含むチャイニーズハムスター卵巣（C H O）細胞（U r l a u b e t a l . , P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 77 : 4216 (1980)）、ならびに Y 0、N S 0、及び S p 2 / 0 などの骨髓腫細胞株が挙げられる。抗体産生に好適なあ

40

50

る特定の哺乳動物宿主細胞株の概説については、例えば、Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255 - 268 (2003)を参照されたい。

【0326】

C. アッセイ

本明細書に提供される抗Tau抗体は、それらの物理的/化学的特性及び/または生物学的活性について、当該技術分野において既知である様々なアッセイによって、特定され、スクリーニングされ、または特性評価されてもよい。

【0327】

1. 結合アッセイ及び他のアッセイ

一態様において、本発明の抗体は、例えば、ELISA、ウェスタンブロット等の既知の方法によってその抗原結合活性について試験される。

【0328】

別の態様において、競合アッセイを使用して、Tauへの結合について本明細書に記載される抗体と競合する抗体を特定することができる。ある特定の実施形態において、そのような競合抗体は、15C6-A7、63H3-D8、64B9-F12、123E9-A1、7A11C12、231G3F10、30A1C9、211G6-B6、77D1-D2、71H8-D6、307H3E8、63H3-D8、64B9-F12、72E12-H9、30D12-B5、49G10-F4、及び65B1-A2によって結合される同じエピトープ（例えば、直鎖状または配座エピトープ）に結合する。いくつかの実施形態において、抗体は、成熟ヒトTauのアミノ酸1~51内のエピトープに結合するが、抗体hu37D3-H9.v28.A4と競合しない。いくつかの実施形態において、抗体は、成熟ヒトTauのアミノ酸1~15、10~24、19~33、19~42、28~42、28~44、37~44、または37~51内のエピトープに結合するが、抗体hu37D3-H9.v28.A4と競合しない。抗体が結合するエピトープをマッピングするための詳細な例示的方法は、Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," in Methods in Molecular Biology vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ)に提供される。

【0329】

例示的な競合アッセイにおいて、固定化されたTau（モノマーTauなど）は、Tauに結合する第1の標識された抗体（例えば、hu37D3-H9.v.28.A4などの本明細書に記載される任意の抗体）と、第1の抗体とTauへの結合について競合するその能力について試験される第2の非標識抗体とを含む溶液中で、インキュベートされる。第2の抗体は、ハイブリドーマ上清中に存在してもよい。対照として、固定化されたTauを、第1の標識された抗体を含むが第2の非標識抗体を含まない溶液中でインキュベートする。第1の抗体のTauへの結合を許容する条件下でのインキュベーションの後、過剰な未結合抗体を除去し、固定化されたTauに関連する標識の量を測定する。固定化されたTauに関連する標識の量が、対照試料と比較して試験試料中で実質的に低減される場合、それは、第2の抗体がTauへの結合について第1の抗体と競合していることを示す。Harlow and Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual ch. 14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)を参照されたい。

【0330】

2. 活性アッセイ

一態様において、生物学的活性を有するその抗Tau（例えば、pan-Tau）抗体を特定するためのアッセイが提供される。生物学的活性としては、例えば、複数の形態のTau（例えば、モノマーTau、オリゴマーTau、非リン酸化Tau、及びリン酸化

Tau) へのそのような抗体の結合、ならびにTauタンパク質(例えば、脳内、例えば、脳皮質及び/または海馬内の、総Tau、総可溶性Tau、可溶性非リン酸化Tau、可溶性リン酸化Tau、総不溶性Tau、不溶性非リン酸化Tau、不溶性リン酸化Tau、高リン酸化Tau、または高リン酸化Tauを含有する対らせん状細線維)のレベルの低減を挙げることができる。インビボ及び/またはインビトロでそのような生物学的活性を有する抗体もまた、提供される。

【0331】

ある特定の実施形態において、本発明の抗体は、そのような生物学的活性について試験される。例えば、Tauトランスジェニックマウス(例えば、P301L)などのタウオパチーの動物モデルを使用して、脳切片への、例えば、トランスジェニックマウスの脳内の神経原線維変化への、抗Tau抗体の結合を検出することができる。更に、Tauトランスジェニックマウス(例えば、P301L)などのタウオパチーの動物モデルを抗Tau抗体で治療することができ、当該技術分野において既知である実験的技法を使用して、そのような治療が、マウス脳内(例えば、脳皮質及び/または海馬内の)のTauタンパク質(例えば、総Tau、総可溶性Tau、可溶性リン酸化Tau、可溶性非リン酸化Tau、総不溶性Tau、不溶性リン酸化Tau、不溶性非リン酸化Tau、高リン酸化Tau、または高リン酸化Tauを含有する対らせん状細線維)のレベルを低減するかどうかを評価することができる。

【0332】

D. 免疫複合体

本発明はまた、1つ以上の他の治療剤または放射性同位体に複合体化される本明細書の抗Tau抗体を含む免疫複合体も提供する。

【0333】

別の実施形態において、免疫複合体は、放射性原子に複合体化されて放射性複合体を形成する、本明細書に記載される抗体を含む。様々な放射性同位体が、放射性複合体の産生のために利用可能である。例としては、 At^{211} 、 I^{131} 、 I^{125} 、 Y^{90} 、 Re^{186} 、 Re^{188} 、 Sm^{153} 、 Bi^{212} 、 P^{32} 、 Pb^{212} 、及びLuの放射性同位体が挙げられる。放射性複合体が検出に使用される場合、それは、シンチグラフィ研究のための放射性原子、例えば、 ^{99m}Tc もしくは I^{123} 、または再びヨード-123、ヨード-131、インジウム-111、フッ素-19、炭素-13、窒素-15、酸素-17、ガドリニウム、マンガンもしくは鉄などの核磁気共鳴(NMR)撮像法(磁気共鳴撮像法、*mri*としても知られる)のためのスピン標識を含み得る。

【0334】

抗体の複合体は、N-サクシニミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオン酸塩(SPD P)、サクシニミジル-4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボン酸塩(SMCC)、イミノチオラン(IT)、イミドエステルの二官能性誘導体(アジプイミド酸ジメチルHCLなど)、活性エステル(スベリン酸ジサクシニミジルなど)、アルデヒド(グルタルアルデヒドなど)、ビス-アジド化合物(ビス(p-アジドベンゾイル)ヘキサジアミンなど)、ビス-ジアゾニウム誘導体(ビス-(p-ジアゾニウムベンゾイル)-エチレンジアミンなど)、ジイソシアネート(トルエン2,6-ジイソシアネートなど)、及びビス-活性フッ素化合物(1,5-ジフルオロ-2,4-ジニトロベンゼンなど)などの様々な二官能性タンパク質カップリング剤を使用して作製することができる。例えば、リシン免疫毒素は、Vitetta et al., Science 238:1098(1987)に記載されるように調製することができる。炭素-14-標識化1-イソチオシアナトベンジル-3-メチルジエチレントリアミンペンタ酢酸(MX-DTPA)は、放射性ヌクレオチドを抗体に複合体化するための例示的なキレート剤である。WO94/11026を参照されたい。リンカーは、細胞内での細胞傷害性薬物の放出を容易にする「切断可能リンカー」であってもよい。例えば、酸不安定性リンカー、ペプチダーゼ感受性リンカー、感光性リンカー、ジメチルリンカー、またはジスルフィド含有リンカー(Chari et al., Cancer Res. 52:127

10

20

30

40

50

- 131 (1992)、米国特許第5,208,020号)が使用されてもよい。

【0335】

本明細書の免疫複合体またはADCは、BMPS、EMCS、GMBs、HBVs、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、スルホ-EMCS、スルホ-GMBs、スルホ-KMUS、スルホ-MBS、スルホ-SIAB、スルホ-SMCC、及びスルホ-SMPB、ならびに(例えば、Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL, U.S.Aから)市販されているSVSB(サクシニミジル-(4-ビニルスルホン)安息香酸塩)を含むが、これらに限定されない架橋剤試薬で調製されるそのような複合体を明示的に企図するが、これらに限定されない。

10

【0336】

E. 診断及び検出のための方法及び組成物

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗Tau抗体のうちのいずれも、生体試料中のTauの存在の検出に有用である。本明細書で使用される場合、「検出すること」という用語は、定量的または定性的検出を包含する。ある特定の実施形態において、生体試料は、脳脊髄液、脳細胞もしくは脳組織(例えば、脳皮質もしくは海馬)、または血液などの細胞もしくは組織を含む。いくつかの実施形態において、生体試料は、脳脊髄液である。

【0337】

いくつかの実施形態において、診断または検出方法に使用するための抗Tau抗体が提供される。更なる一態様において、生体試料中のTauの存在の検出方法が提供される。ある特定の実施形態において、本方法は、Tauへの抗Tau抗体の結合を許容する条件下で、生体試料を本明細書に記載される抗Tau抗体と接触させることと、複合体が抗Tau抗体とTauの間で形成されるかどうかを検出することを含む。そのような方法は、インビトロ方法またはインビボ方法であり得る。更に、試験生体試料中で抗Tau抗体とTauの間に形成される複合体は、対照生体試料(例えば、健康な対象(複数可)由来の生体試料)中で形成される複合体と比較され得る。試験生体試料中で抗Tau抗体とTauの間に形成される複合体の量はまた、定量化され、対照生体試料(例えば、健康な対象(複数可)由来の生体試料)中で形成される複合体の量と、または健康な対象において形成されることが知られる複合体の平均量と比較され得る。

20

30

【0338】

いくつかの実施形態において、例えば、Tauが患者の選択のためのバイオマーカーである場合、抗Tau抗体を使用して、抗Tau抗体での療法に適格な対象を選択する。例えば、いくつかの実施形態において、抗Tau(例えば、pan-Tau)抗体を使用して、対象がTauタンパク質疾患もしくは障害を有するかどうか、または対象がTauタンパク質疾患もしくは障害の高いリスクにある(素因がある)かどうかを検出する。

【0339】

本発明の抗体を使用して診断され得る例示的な疾患または障害としては、Tauタンパク質関連疾患もしくは障害、及び神経原線維変化もしくは神経絨毛系によって引き起こされるか、またはそれに関連付けられる疾患もしくは障害が挙げられる。いくつかの実施形態において、本発明の抗体を使用して診断され得る疾患または障害としては、推理力、状況判断力、認知記憶、学習、及び/または空間進路決定を含む、認知機能の障害または喪失において顕在化されるTauタンパク質関連疾患または障害が挙げられる。特に、本発明の抗体を使用して診断され得る疾患または障害としては、神経変性タウオパチーなどのタウオパチーが挙げられる。本発明の抗体を使用して診断され得る例示的な疾患または障害としては、アルツハイマー病、クロイツフェルト・ヤコブ病、パンチドランカー、ダウン症候群、ゲルストマン・シュトロイスラー・シャインカー病、封入体筋炎、プリオンタンパク質脳アミロイド血管症、外傷性脳損傷、グアム筋萎縮性側索硬化症/パーキンソン症認知症症候群、神経原線維変化を伴う非グアム運動ニューロン疾患、嗜銀顆粒性認知症、大脳皮質基底核変性症、石灰化を伴うびまん性神経原線維変化病、前頭側頭型認知症、

40

50

17番染色体に連鎖しパーキンソン症候群を伴う前頭側頭型認知症、ハラーホルデン・スバツ病、多系統萎縮症、ニーマン・ピック病C型、淡蒼球-橋脳-黒質変性症、ピック病、進行性皮質下グリオーシス、進行性核上性麻痺、亜急性硬化性全脳炎、神経原線維変化型認知症（または神経原線維変化優位型認知症）、脳炎後パーキンソン症、及び筋強直性ジストロフィーが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、本発明の抗体を使用して診断され得る障害は、アルツハイマー病（AD）である。いくつかの実施形態において、Tauタンパク質関連疾患は、PART（一次加齢関連タウオパチー）、神経原線維変化優位型認知症、亜急性硬化性全脳炎、慢性外傷性脳症（CTE）、小球状グリア封入体を伴う白質タウオパチー、レヴィー小体認知症（LBD）、軽度認知障害（MCI）、緑内障、家族性イギリス型認知症、家族性デンマーク型認知症、グアドループパーキンソン症（Guadeloupean Parkinsonism）、脳鉄蓄積を伴う神経変性、SLC9A6関連精神遅滞、多発性硬化症、HIV関連認知症、老人性心アミロイドーシス、及びハンチントン病から選択される。

【0340】

ある特定の実施形態において、標識された抗Tau抗体が提供される。標識としては、直接検出される標識または部分（蛍光標識、発色団標識、電子密度の高い標識、化学発光標識、及び放射性標識など）、ならびに間接的に、例えば、酵素反応または分子相互作用により検出される酵素またはリガンドなどの部分が挙げられるが、これらに限定されない。例示的な標識としては、放射性同位体³²P、¹⁴C、¹²⁵I、³H、及び¹³¹I、希土類キレートまたはフルオレセイン及びその誘導体などのフルオロフォア、ローダミン及びその誘導体、ダンシル、ウンベリフェロン、ルセリフェラーゼ（luciferase）、例えば、ホタルルシフェラーゼ及び細菌ルシフェラーゼ（米国特許第4,737,456号）、ルシフェリン、2,3-ジヒドロフタラジンジオン、西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）、アルカリホスファターゼ、β-ガラクトシダーゼ、グルコアミラーゼ、リゾチーム、糖質オキシダーゼ、例えば、グルコースオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ、及びグルコース-6-リン酸塩デヒドロゲナーゼ、過酸化水素を用いて色素前駆体を酸化させる酵素、例えばHRP、ラクトペルオキシダーゼ、またはマイクロペルオキシダーゼとカップリングされたウリカーゼ及びキサンチンオキシダーゼなどの複素環式オキシダーゼ、ビオチン/アビジン、スピン標識、バクテリオファージ標識、ならびに安定した遊離ラジカル等が挙げられるが、これらに限定されない。

【0341】

いくつかの例において、Tauタンパク質の広範囲な断片化に起因して、Tau中間ドメイン（例えば、アミノ酸159~224）を検出する診断アッセイは、TauのN末端領域の豊富さを正確に反映しない場合がある。したがって、いくつかの実施形態において、対象からの試料中のTauの検出方法は、TauのN末端領域に結合する抗体でTauを検出することを含む。そのような抗体は、例えば、対象からの試料中のTauのN末端領域の豊富さをより正確に検出することが望ましい場合がある。いくつかの実施形態において、TauのN末端領域に結合する抗Tau抗体を使用することにより、Tauの中間ドメインを検出する既存のTau診断とは対照的に、どの患者がTauのN末端領域に結合する抗Tau抗体での治療に应答する可能性が高いかのより正確な予測を可能にし得る。いくつかの実施形態において、検出に使用される抗Tau抗体は、治療に使用される抗Tau抗体と競合しない。いくつかのそのような実施形態において、検出に使用される抗Tau抗体は、成熟ヒトTauのアミノ酸1~15、10~24、19~33、19~42、28~42、28~44、37~44、または37~51内のエピトープに結合する。非競合抗体を検出に使用することによって、いくつかの実施形態において、治療用抗体標的係合のより正確な測定を行うことができる。

【0342】

Tauの2Nアイソフォームのレベルは、（1）繊維状CNS Tau病理の豊富さ及び（2）認知障害の進行速度について予知することができる。したがって、いくつかの実施形態において、Tauの2Nアイソフォームに結合する抗Tau抗体は、疾患の進行の

モニタリング及び／または治療のモニタリングに有用であり得る。

【0343】

F. 薬学的製剤

本明細書に記載される抗T_au抗体の薬学的製剤は、所望される程度の純度を有するそのような抗体と、1つ以上の任意の薬学的に許容される担体、希釈剤、及び／または賦形剤とを混合すること(Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980))によって、凍結乾燥製剤または水溶液の形態で調製される。薬学的に許容される担体、希釈剤、及び賦形剤は一般に、用いられる投薬量及び濃度でレシピエントに対して無毒であり、それらには、無菌水、緩衝剤(リン酸、クエン酸、及び他の有機酸など)；アスコルビン酸及びメチオニンを含む酸化防止剤；保存剤(塩化オクタデシルジメチルベンジルアンモニウム；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム；塩化ベンゼトニウム；フェノール；ブチルもしくはベンジルアルコール；メチルもしくはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3-ペンタノール；及びm-クレゾールなど)；低分子量(約10残基未満)のポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、もしくは免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、もしくはリジンなどのアミノ酸；単糖類、二糖類、及びグルコース、マンノース、もしくはデキストリンを含む他の炭水化物；EDTAなどのキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロースもしくはソルビトールなどの糖類；ナトリウムなどの塩形成対イオン；金属複合体(例えば、Zn-タンパク質複合体)、ならびに／またはポリエチレングリコール(PEG)などの非イオン性界面活性剤が挙げられるが、これらに限定されない。本明細書における例示的な薬学的に許容される担体は、可溶性の中性活性ヒアルロニダーゼ糖タンパク質(sHASEGP)、例えば、rHuPH20(HYLENEX(登録商標)、Baxter International, Inc.)などのヒト可溶性PH-20ヒアルロニダーゼ糖タンパク質などの介在性(interstitial)薬物分散剤を更に含む。rHuPH20を含むある特定の例示的なsHASEGP及び使用方法は、米国特許公開第2005/0260186号及び同第2006/0104968号に記載されている。一態様において、sHASEGPは、コンドロイチナーゼなどの1つ以上の追加のグリコサミノグリカナーゼと組み合わせられる。

10

20

30

【0344】

例示的な凍結乾燥抗体製剤は、米国特許第6,267,958号に記載されている。水性抗体製剤は、米国特許第6,171,586号及びWO2006/044908に記載されるものを含み、後者の製剤は、ヒスチジン-アセテート緩衝液を含む。

【0345】

本明細書の製剤はまた、治療されている特定の適応症の必要に応じて、2つ以上の活性成分、好ましくは相互に悪影響を及ぼさない相補的活性を有する成分を含有してもよい。そのような活性成分は、好適には、意図される目的に有効な量で、組み合わせで存在する。

40

【0346】

活性成分は、例えば、コアセルベーション技法または界面重合によって調製されたマイクロカプセル、例えば、それぞれヒドロキシメチルセルロースもしくはゼラチン-マイクロカプセル、及びポリ-(メチルメタクリレート)マイクロカプセル中に、コロイド薬物送達系(例えば、リポソーム、アルブミンミクロスフェア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子及びナノカプセル)中に、またはマクロエマルジョン中に封入され得る。そのような技法は、Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)に開示されている。

【0347】

徐放性調製物が調製され得る。徐放性調製物の好適な例としては、抗体を含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリックスが挙げられ、これらのマトリックスは、成形物品、

50

例えば、フィルム、またはマイクロカプセルの形態である。

【0348】

インビボ投与に使用される製剤は一般に、無菌のものである。無菌性は、例えば、無菌濾過膜を介した濾過によって容易に達成することができる。

【0349】

G．治療方法及び組成物

本明細書に提供される抗T a u抗体または免疫複合体のいずれも、治療方法において使用することができる。

【0350】

一態様において、医薬品として使用するための抗T a u抗体が提供される。更なる態様において、T a uタンパク質関連疾患または障害の治療に使用するための抗T a u抗体が提供される。いくつかの実施形態において、神経原線維変化または神経絨毛系の形成によって引き起こされるか、またはそれに関連付けられる疾患または障害の治療に使用するための抗T a u抗体が提供される。特定の実施形態において、神経変性タウオパチーなどのタウオパチーの治療に使用するための抗T a u抗体が提供される。抗T a u抗体で治療され得る治療され得る例示的なT a uタンパク質関連疾患または障害としては、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン症、クロイツフェルト・ヤコブ病、パンチドランカー、ダウン症候群、ゲルストマン・シュトロイスラー・シャインカー病、封入体筋炎、プリオンタンパク質脳アミロイド血管症、外傷性脳損傷、グアム筋萎縮性側索硬化症 / パーキンソン症認知症症候群、神経原線維変化を伴う非グアム運動ニューロン疾患、嗜銀顆粒性認知症、大脳皮質基底核変性症、石灰化を伴うびまん性神経原線維変化病、前頭側頭型認知症、17番染色体に連鎖しパーキンソン症候群を伴う前頭側頭型認知症、ハラールホルデン・スパッツ病、多系統萎縮症、ニーマン・ピック病C型、淡蒼球 - 橋脳 - 黒質変性症、ピック病、進行性皮質下グリオーシス、進行性核上性麻痺、亜急性硬化性全脳炎、神経原線維変化型認知症（または神経原線維変化優位型認知症）、脳炎後パーキンソン症、及び筋強直性ジストロフィーが非限定的に挙げられる。いくつかの実施形態において、抗T a u抗体で治療され得る治療され得るT a uタンパク質関連疾患または障害としては、P A R T（一次加齢関連タウオパチー）、神経原線維変化優位型認知症、亜急性硬化性全脳炎、慢性外傷性脳症（C T E）、小球状グリア封入体を伴う白質タウオパチー、レヴィー小体認知症（L B D）、軽度認知障害（M C I）、緑内障、家族性イギリス型認知症、家族性デンマーク型認知症、グアドループパーキンソン症（G u a d e l o u p e a n P a r k i n s o n i s m）、脳鉄蓄積を伴う神経変性、S L C 9 A 6 関連精神遅滞、多発性硬化症、H I V 関連認知症、老人性心アミロイドーシス、及びハンチントン病が挙げられる。いくつかの実施形態において、アルツハイマー病（A D）の治療に使用するための抗T a u抗体が本明細書に提供される。いくつかの実施形態において、中程度のA D、軽度～中程度のA D、軽度のA D、初期A D、または前駆A Dの治療に使用するための抗T a u抗体が本明細書に提供される。更に、抗T a u抗体で治療され得るT a uタンパク質関連疾患または障害としては、推理力、状況判断力、認知記憶、学習、及び/または空間進路決定を含む、認知機能の障害または喪失において顕在化される疾患または障害が挙げられる。ある特定の実施形態において、治療方法に使用するための抗T a u抗体が提供される。ある特定の実施形態において、本発明は、上記のT a u関連疾患または障害のいずれか1つを有する個体の治療方法に使用するための抗T a u抗体を提供し、本方法は、有効量の抗T a u抗体を個体に投与することを含む。そのような一実施形態において、本方法は、例えば以下に記載されるような、有効量の少なくとも1つの追加の治療剤を個体に投与することを更に含む。

【0351】

いくつかの実施形態において、本発明の抗体は、20～30の間、20～26の間、24～30の間、21～26の間、22～26の間、22～28の間、23～26の間、24～26の間、または25～26の間のM M S Eスコアを有する個体を治療するために使用される。いくつかの実施形態において、患者は、22～26の間のM M S Eスコアを有

10

20

30

40

50

する。本明細書で使用される場合、2つの数字間のMMSEスコアは、その範囲の両端の数字を含む。例えば、22～26の間のMMSEスコアは、22及び26のMMSEスコアを含む。

【0352】

いくつかの実施形態において、本発明の抗体は、「tau陽性」である個体、例えば、Tauタンパク質関連障害に典型的である脳tau沈着物を有する患者、例えば、陽性のTau PETスキャンを有する患者を治療するために使用される。

【0353】

更なる実施形態において、本発明は、個体におけるTauタンパク質（例えば、総Tau、総可溶性Tau、可溶性リン酸化Tau、総不溶性Tau、不溶性リン酸化Tau、高リン酸化Tau、または高リン酸化Tauを含有する対らせん状細線維）のレベルの低減に使用するための抗Tau抗体を提供する。例えば、そのような低減は、脳内（例えば、脳皮質及び/または海馬内）で生じ得る。いくつかの実施形態において、本発明は、リン酸化Tauのレベルの低減に使用するための抗Tau抗体を提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、不溶性Tau（例えば、不溶性リン酸化Tau）のレベルの低減に使用するための抗Tau抗体を提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、高リン酸化Tauのレベルの低減に使用するための抗Tau抗体を提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、脳組織内（例えば、脳皮質及び/または海馬内）の対らせん状細線維（例えば、高リン酸化Tauを含有する対らせん状細線維）のレベルの低減に使用するための抗Tau抗体を提供する。ある特定の実施形態において、本発明は、個体における脳内（例えば、脳皮質及び/または海馬内）のTauタンパク質（例えば、総Tau、総可溶性Tau、可溶性リン酸化Tau、総不溶性Tau、不溶性リン酸化Tau、高リン酸化Tau、または高リン酸化Tauを含有する対らせん状細線維）のレベルの低減方法であって、有効量の抗Tau抗体を個体に投与して、Tauタンパク質のレベルを低減させることを含む、方法に使用するための抗Tau抗体を提供する。上記の実施形態のいずれに従う「個体」も、哺乳動物、好ましくはヒトである。

【0354】

いくつかの実施形態において、本発明は、例えば、個体の脳内（例えば、脳皮質及び/または海馬内）のTauタンパク質（例えば、総Tau、総可溶性Tau、可溶性リン酸化Tau、総不溶性Tau、不溶性リン酸化Tau、高リン酸化Tau、または高リン酸化Tauを含有する対らせん状細線維）のレベルの調節に使用するための抗Tau抗体を提供する。

【0355】

更なる態様において、本発明は、医薬品の製造または調製における抗Tau抗体の使用を提供する。いくつかの実施形態において、医薬品は、Tauタンパク質関連疾患または障害の治療のためのものである。Tauタンパク質関連疾患または障害は、神経原線維変化または神経絨毛系の形成によって引き起こされるか、またはそれに関連付けられる疾患または障害であり得る。特定の実施形態において、医薬品は、神経変性タウオパチーなどのタウオパチーの治療のためのものである。特定の実施形態において、医薬品は、アルツハイマー病（AD）、クロイツフェルト・ヤコブ病、パンチドランカー、ダウン症候群、ゲルストマン・シュトロイスラー・シャインカー病、封入体筋炎、プリオンタンパク質脳アミロイド血管症、外傷性脳損傷、グアム筋萎縮性側索硬化症/パーキンソン症認知症候群、神経原線維変化を伴う非グアム運動ニューロン疾患、嗜銀顆粒性認知症、大脳皮質基底核変性症、石灰化を伴うびまん性神経原線維変化病、前頭側頭型認知症、17番染色体に連鎖しパーキンソン症候群を伴う前頭側頭型認知症、ハラーホルデン・スバッツ病、多系統萎縮症、ニーマン・ピック病C型、淡蒼球-橋脳-黒質変性症、ピック病、進行性皮質下グリオーシス、進行性核上性麻痺、亜急性硬化性全脳炎、神経原線維変化型認知症（または神経原線維変化優位型認知症）、脳炎後パーキンソン症、及び筋強直性ジストロフィーからなる群から選択される疾患または障害の治療のためのものである。いくつかの実施形態において、医薬品は、PART（一次加齢関連タウオパチー）、神経原線維変化

優位型認知症、亜急性硬化性全脳炎、慢性外傷性脳症（C T E）、小球状グリア封入体を伴う白質タウオパチー、レヴィー小体認知症（L B D）、軽度認知障害（M C I）、緑内障、家族性イギリス型認知症、家族性デンマーク型認知症、グアドループパーキンソン症（G u a d e l o u p e a n P a r k i n s o n i s m）、脳鉄蓄積を伴う神経変性、S L C 9 A 6 関連精神遅滞、多発性硬化症、H I V 関連認知症、老人性心アミロイドーシス、及びハンチントン病を治療するためのものである。いくつかの実施形態において、医薬品は、A D の治療のためのものである。特定の実施形態において、医薬品は、推理力、状況判断力、認知記憶、学習、または空間進路決定を含む、認知機能の障害または喪失において顕在化される T a u 関連疾患または障害の治療のためのものである。更なる実施形態において、医薬品は、上記に列挙される疾患（例えば、A D などのタウオパチー）の治療方法であって、そのような疾患を有する個体に有効量の医薬品を投与することを含む、方法に使用するのためのものである。そのような一実施形態において、本方法は、例えば以下に記載されるような、有効量の少なくとも 1 つの追加の治療剤を個体に投与することを更に含む。

10

【0356】

更なる実施形態において、医薬品は、T a u タンパク質（例えば、総 T a u、総可溶性 T a u、可溶性非リン酸化 T a u、可溶性リン酸化 T a u、総不溶性 T a u、不溶性リン酸化 T a u、不溶性非リン酸化 T a u、高リン酸化 T a u、または高リン酸化 T a u を含有する対らせん状細線維）のレベルの低減のためのものである。例えば、T a u タンパク質のそのような低減は、個体の脳内（例えば、脳皮質及び／もしくは海馬内）または脳脊髄液中で観察され得る。いくつかの実施形態において、医薬品は、対らせん状細線維のレベルを低減するためのものである。更なる一実施形態において、医薬品は、個体における T a u タンパク質（例えば、総 T a u、総可溶性 T a u、可溶性リン酸化 T a u、総不溶性 T a u、不溶性リン酸化 T a u、高リン酸化 T a u、または高リン酸化 T a u を含有する対らせん状細線維）のレベルの低減方法であって、有効量の医薬品を個体に投与して、T a u タンパク質のレベルを低減させることを含む、方法に使用するのためのものである。上記の実施形態のいずれに従う「個体」も、哺乳動物、好ましくはヒトである。

20

【0357】

更なる一態様において、本発明は、T a u タンパク質関連疾患または障害の治療方法を提供する。本明細書に提供される方法に従って治療され得る T a u タンパク質関連疾患または障害としては、神経原線維変化または神経絨毛系の形成によって引き起こされるか、またはそれに関連付けられる疾患または障害が挙げられる。特定の実施形態において、本発明は、神経変性タウオパチーなどのタウオパチーの治療方法を提供する。特定の実施形態において、本発明は、アルツハイマー病、クロイツフェルト・ヤコブ病、パンチドランカー、ダウン症候群、ゲルストマン・シュトロイスラー・シャインカー病、封入体筋炎、プリオンタンパク質脳アミロイド血管症、外傷性脳損傷、グアム筋萎縮性側索硬化症／パーキンソン症認知症症候群、神経原線維変化を伴う非グアム運動ニューロン疾患、嗜銀顆粒性認知症、大脳皮質基底核変性症、石灰化を伴うびまん性神経原線維変化病、前頭側頭型認知症、17 番染色体に連鎖しパーキンソン症候群を伴う前頭側頭型認知症、ハラーホルデン・スパッツ病、多系統萎縮症、ニーマン・ピック病 C 型、淡蒼球 - 橋脳 - 黒質変性症、ピック病、進行性皮質下グリオーシス、進行性核上性麻痺、亜急性硬化性全脳炎、神経原線維変化型認知症（または神経原線維変化優位型認知症）、脳炎後パーキンソン症、及び筋強直性ジストロフィーからなる群から選択される疾患または障害の治療方法を提供する。いくつかの実施形態において、P A R T（一次加齢関連タウオパチー）、神経原線維変化優位型認知症、亜急性硬化性全脳炎、慢性外傷性脳症（C T E）、小球状グリア封入体を伴う白質タウオパチー、レヴィー小体認知症（L B D）、軽度認知障害（M C I）、緑内障、家族性イギリス型認知症、家族性デンマーク型認知症、グアドループパーキンソン症（G u a d e l o u p e a n P a r k i n s o n i s m）、脳鉄蓄積を伴う神経変性、S L C 9 A 6 関連精神遅滞、多発性硬化症、H I V 関連認知症、老人性心アミロイドーシス、及びハンチントン病から選択される、T a u タンパク質関連疾患の治療方法が

30

40

50

提供される。いくつかの実施形態において、本発明は、アルツハイマー病（A D）の治療方法を提供する。特定の実施形態において、本発明は、推理力、状況判断力、認知記憶、学習、または空間進路決定を含む、認知機能の障害または喪失において顕在化される T a u タンパク質関連疾患または障害の治療方法を提供する。いくつかの実施形態において、本方法は、有効量の抗 T a u 抗体を、上記の疾患または障害のいずれか 1 つを有する個体に投与することを含む。そのような一実施形態において、本方法は、例えば以下に記載されるような、有効量の少なくとも 1 つの追加の治療剤を個体に投与することを更に含む。いくつかの実施形態において、本方法は、有効量の抗 T a u 抗体を、本明細書に記載される疾患のうちの 1 つを有する個体に投与することを含む。そのような一実施形態において、本方法は、以下に記載されるような、有効量の少なくとも 1 つの追加の治療剤を個体に投与することを更に含む。上記の実施形態のいずれに従う「個体」も、ヒトであり得る。

10

【0358】

更なる態様において、本発明は、個体における T a u タンパク質（例えば、総 T a u、総可溶性 T a u、可溶性リン酸化 T a u、総不溶性 T a u、不溶性リン酸化 T a u、高リン酸化 T a u、または高リン酸化 T a u を含有する対らせん状細線維）のレベルの低減方法を提供する。例えば、T a u タンパク質のレベルのそのような低減は、個体の脳内（例えば、脳皮質及び／もしくは海馬）または脳脊髄液中で観察され得る。いくつかの実施形態において、本発明は、対らせん状細線維のレベルの低減方法を提供する。いくつかの実施形態において、本方法は、有効量の抗 T a u 抗体を個体に投与して、T a u タンパク質のレベルを低減させることを含む。いくつかの実施形態において、「個体」はヒトである。

20

【0359】

いくつかの態様において、本発明は、T a u タンパク質関連疾患もしくは障害の 1 つ以上の症状の緩和方法、または T a u タンパク質関連疾患もしくは障害（本明細書に記載される疾患もしくは障害のいずれか、例えば、A D など）の 1 つ以上の症状を緩和するための、抗 T a u 抗体もしくは抗 T a u 抗体を含む医薬品を提供する。いくつかの態様において、本発明は、T a u タンパク質関連疾患もしくは障害の症状の数または 1 つ以上の症状の重症度の低減方法、あるいは T a u タンパク質関連疾患もしくは障害（本明細書に記載される疾患もしくは障害のいずれか、例えば、A D など）の症状の数または 1 つ以上の症状の重症度を低減するための、抗 T a u 抗体または抗 T a u 抗体を含む医薬品を提供する。特定の実施形態において、T a u タンパク質関連疾患または障害の症状は、認知障害である。特定の実施形態において、T a u タンパク質関連疾患または障害の症状は、学習及び／または記憶障害である。特定の実施形態において、T a u タンパク質関連疾患または障害の症状は、長期記憶喪失である。特定の実施形態において、T a u タンパク質関連疾患または障害の症状は、認知症である。いくつかの実施形態において、T a u タンパク質関連疾患または障害の症状は、錯乱、易刺激性、攻撃性、気分変動、または言語障害である。いくつかの実施形態において、T a u タンパク質関連疾患または障害の症状は、推理力、状況判断力、認知記憶、及び／または学習などの 1 つ以上の認知機能の障害または喪失である。本明細書に提供される方法は、ある量（例えば、治療有効量）の抗 T a u 抗体を、（例えば、T a u タンパク質関連疾患または障害の 1 つ以上の症状を提示する）個体に投与することを含む。

30

40

【0360】

特定の態様において、本発明は、認知記憶容量の保持もしくは増加方法、または T a u タンパク質関連疾患もしくは障害に関連付けられる記憶喪失の減速方法、あるいは認知記憶容量の保持もしくは増加、または T a u タンパク質関連疾患もしくは障害（本明細書に記載される疾患もしくは障害のいずれか、例えば、A D など）に関連付けられる記憶喪失の減速のための、抗 T a u 抗体または抗 T a u 抗体を含む医薬品を提供する。本明細書に提供される方法は、ある量（例えば、治療有効量）の抗 T a u 抗体を、（例えば、記憶喪失または記憶容量の減少の 1 つ以上の症状を提示する）個体に投与することを含む。

【0361】

50

いくつかの態様において、本発明は、T a uタンパク質関連疾患もしくは障害の進行速度の減少方法、またはT a uタンパク質関連疾患もしくは障害（本明細書に記載される疾患もしくは障害のいずれか、例えば、A Dなど）の進行速度の減少のための、抗T a u抗体もしくは抗T a u抗体を含む医薬品を提供する。本明細書に提供される方法は、ある量（例えば、治療有効量）の抗T a u抗体を、（例えば、T a uタンパク質関連疾患または障害の1つ以上の症状を提示する）個体に投与することを含む。

【0362】

いくつかの態様において、本発明は、T a uタンパク質関連疾患もしくは障害の発症の予防方法、またはT a uタンパク質関連疾患もしくは障害（本明細書に記載される疾患もしくは障害のいずれか、例えば、A Dなど）の発症を予防するための、抗T a u抗体もしくは抗T a u抗体を含む医薬品を提供する。本明細書に提供される方法は、ある量（例えば、治療有効量）の抗T a u抗体を、（例えば、T a uタンパク質関連疾患または障害のリスクにある）個体に投与することを含む。

10

【0363】

いくつかの態様において、本発明は、T a uタンパク質関連疾患もしくは障害の発症の遅延方法、またはT a uタンパク質関連疾患もしくは障害（本明細書に記載される疾患もしくは障害のいずれか、例えば、A Dなど）の発症を遅延させるための、抗T a u抗体もしくは抗T a u抗体を含む医薬品を提供する。本明細書に提供される方法は、ある量（例えば、治療有効量）の抗T a u抗体を、（例えば、T a uタンパク質関連疾患または障害の1つ以上の症状を提示する）個体に投与することを含む。

20

【0364】

更なる態様において、本発明は、例えば、上記の治療方法のいずれかに使用するための、本明細書に提供される抗T a u抗体のいずれかを含む、薬学的製剤を提供する。いくつかの実施形態において、薬学的製剤は、本明細書に提供される抗T a u抗体のいずれかと、薬学的に許容される担体とを含む。別の実施形態において、薬学的製剤は、本明細書に提供される抗T a u抗体のいずれかと、例えば、以下に記載される少なくとも1つの追加の治療剤とを含む。

【0365】

本発明の抗体は、療法において、単独で、または他の薬剤と組み合わせて使用することができる。例えば、本発明の抗体は、少なくとも1つの追加の治療剤と同時に投与されてもよい。

30

【0366】

例えば、本発明に従う組成物は、例えば、タウオパチー及び/またはアミロイドーシスの薬物療法、アミロイド及びアミロイド様タンパク質（アルツハイマー病に關与するアミロイドβタンパク質など）に関連する疾患及び障害の群において使用される既知の化合物などの生物活性物質または化合物などの追加の治療剤を含む、他の組成物と組み合わせて投与されてもよい。

【0367】

一般に、他の生物活性化合物は、ニューロン - 伝達エンハンサー、心理療法薬、アセチルコリンエステラーゼ阻害剤、カルシウムチャネル遮断剤、生体アミン、ベンゾジアゼピン精神安定剤、アセチルコリン合成、貯蔵もしくは放出エンハンサー、アセチルコリンシナプス後受容体アゴニスト、モノアミン酸化酵素AもしくはB阻害剤、N - メチル - D - アスパラギン酸グルタミン酸受容体アンタゴニスト、非ステロイド性抗炎症薬、酸化防止剤、セロトニン受容体アンタゴニスト、または他の治療剤を含み得る。特に、生物活性化合物は、酸化ストレスに対する化合物、抗アポトーシス性化合物、金属キレート剤、DNA修復の阻害剤（ピレンゼピン及び代謝物など）、3 - アミノ - 1 - プロパンスルホン酸（3 A P S）、1, 3 - プロパンジスルホン酸（1, 3 P D S）、セクレターゼ活性化剤、ベータ - 及びガンマ - セクレターゼ阻害剤、T a uタンパク質、抗T a u抗体（W O 2 0 1 2 0 4 9 5 7 0、W O 2 0 1 4 0 2 8 7 7 7、W O 2 0 1 4 1 6 5 2 7 1、W O 2 0 1 4 1 0 0 6 0 0、W O 2 0 1 5 2 0 0 8 0 6、U S 8 9 8 0 2 7 0、及びU S 8 9 8

40

50

0271に開示される抗体を含むが、これらに限定されない)、神経伝達物質、 β シートブレーカー、抗炎症性分子、「非定型抗精神病薬」(例えば、クロザピン、ジブラシドン、リスペリドン、アリピプラゾールもしくはオランザピンなど)、またはコリンエステラーゼ阻害剤(CHEI)(タクリン、リバスチグミン、ドネペジル、及び/もしくはガラントミンなど)、ならびに他の薬物及び栄養素補助剤(例えば、ビタミンB12、システイン、アセチルコリンの前駆体、レシチン、コリン、イチョウ、アシエチル(acetyl)-L-カルニチン、イデベノン、プロベントフィリン、もしくはキサンチン誘導体など)、ならびに本発明に従う結合ペプチド(抗体、特にモノクローナル抗体及びそれらの活性断片を含む)、ならびに任意で薬学的に許容される担体及び/または希釈剤及び/または賦形剤から選択される少なくとも1つの化合物と、疾患の治療の指示書とを含み得る。

10

【0368】

いくつかの実施形態において、本発明の抗体は、神経薬と組み合わせて投与されてもよい。そのような神経薬としては、 β セクレターゼ、プレセニン、アミロイド前駆体タンパク質またはその部分、アミロイド β ペプチドまたはそれらのオリゴマーもしくは原線維、細胞死受容体6(DR6)、最終糖化産物の受容体(RAGE)、パーキン、及びハンチンチン; NMDA受容体アンタゴニスト(すなわち、メマンチン)、モノアミン枯渇剤(すなわち、テトラベナジン); メシル酸エルゴロイド; 抗コリン抗パーキンソン症候群剤(すなわち、プロシクリジン、ジフェンヒドラミン、トリヘキシルフェニジル、ベンズトロピン、ピペリデン及びトリヘキシフェニジル); ドパミン系抗パーキンソン症候群剤(すなわち、エンタカボン、セレギリン、プラミペキソール、プロモクリプチン、ロチゴチン、セレギリン、ロピニロール、ラサギリン、アボモルヒネ、カルビドパ、レボドパ、ペルゴリド、トルカボン及びアマンタジン); テトラベナジン; 抗炎症剤(非ステロイド性抗炎症薬(すなわち、インドメチシン(indomethacin)及び上記に列挙される他の化合物)を含むが、これらに限定されない); ホルモン(すなわち、エストロゲン、プロゲステロン及びリユープロリド); ビタミン(すなわち、葉酸及びニコチンアミド); デイメボリン(dimebolín); ホモタウリン(すなわち、3-アミノプロパンスルホン酸、3APS); セロトニン受容体活性調節剤(すなわち、キサリプロデン); インターフェロン、ならびにグルココルチコイドまたはコルチコステロイドから選択される標的に特異的に結合する、抗体または他の結合分子(小分子、ペプチド、アプタマー、もしくは他のタンパク質結合剤を含むが、これらに限定されない)が挙げられるが、これらに限定されない。「コルチコステロイド」という用語は、フルチカゾン(プロピオン酸フルチカゾン(FP)を含む)、ベクロメタゾン、ブデソニド、シクレソニド、モメタゾン、フルニソリド、ベータメサゾン及びトリアムシノロンを含むが、これらに限定されない。「吸入可能コルチコステロイド」とは、吸入による送達に好適なコルチコステロイドを意味する。例示的な吸入可能コルチコステロイドは、フルチカゾン、ジプロピオン酸ベクロメタゾン、ブデノシド、フロ酸モメタゾン、シクレソニド、フルニソリド、及びトリアムシノロンアセトニドである。

20

30

【0369】

いくつかの実施形態において、1つ以上の抗アミロイド β (抗A β)抗体が、本明細書に提供される抗Tau抗体とともに投与されてもよい。そのような抗A β 抗体の非限定的な例としては、クレネズマブ、ソラネズマブ、バピネオズマブ、アデュカヌマブ、ガントネルマブ、及びBAN-2401(Biogen, Eisai Co., Ltd.)が挙げられる。いくつかの実施形態において、1つ以上の β アミロイド凝集阻害剤が、本明細書に提供される抗Tau抗体とともに投与されてもよい。非限定的な例示的 β アミロイド凝集阻害剤としては、ELND-005(AZD-103またはシロ-イノシトールとも呼ばれる)、トラミプロセート、及びPTI-80(Exebyl-1(登録商標)、ProteoTech)が挙げられる。いくつかの実施形態において、1つ以上のBACE阻害剤が、本明細書に提供される抗Tau抗体とともに投与されてもよい。そのようなBACE阻害剤の非限定的な例としては、E-2609(Biogen, Eisai C

40

50

o. , Ltd.)、AZD3293 (LY3314814としても知られる、AstraZeneca, Eli Lilly & Co.)、MK-8931 (ベルベセスタット)、及びJNJ-54861911 (Janssen, Shionogi Pharma) が挙げられる。いくつかの実施形態において、1つ以上のTau阻害剤が、本明細書に提供される抗Tau抗体とともに投与されてもよい。そのようなTau阻害剤の非限定的な例としては、メチルチオニウム、LMTX (ロイコ-メチルチオニウムまたはTrx-0237、TauRx Therapeutics Ltd. としても知られる)、Remember (商標) (メチレンブルーまたは塩化メチルチオニウム [MTC]、Trx-0014、TauRx Therapeutics Ltd.)、PBT2 (Prana Biotechnology)、及びPTI-51-CH3 (TauPro (商標)、ProteoTech) が挙げられる。いくつかの実施形態において、1つ以上の他の抗Tau抗体が、本明細書に提供される抗Tau抗体とともに投与されてもよい。そのような他の抗Tau抗体の非限定的な例としては、BMS-986168 (Bristol-Myers Squibb) 及びC2N-8E12 (AbbVie, C2N Diagnostics, LLC) が挙げられる。いくつかの実施形態において、NPT088 (NeuroPhage Pharmaceuticals) などの一般的なミスフォールディング阻害剤、本明細書に提供される抗Tau抗体とともに投与されてもよい。

10

20

30

40

50

【0370】

いくつかの実施形態において、本発明に従う組成物は、抗体、特にモノクローナル抗体及びそれらの活性断片を含む、本発明に従うキメラ抗体またはヒト化抗体とともに、ナイアシンまたはメマンチンと、任意で薬学的に許容される担体及び/または希釈剤及び/または賦形剤とを含み得る。

【0371】

いくつかの実施形態において、本発明に従うキメラ抗体もしくはヒト化抗体、またはそれらの活性断片とともに、例えば、クロザピン、ジブラシドン、リスペリドン、アリピプラゾールもしくはオランザピンなどの、陽性及び陰性精神病症状 (幻覚、妄想、思考障害 (著しい思考散乱、脱線、脱線思考によって顕在化される)、ならびに奇異挙動または混乱挙動、ならびに快感消失、平坦化情動、感情鈍麻、及び引きこもりを含む) の治療のための「非定型抗精神病薬」と、任意で薬学的に許容される担体及び/または希釈剤及び/または賦形剤とを含む、組成物が提供される。

【0372】

本発明に従うキメラ抗体またはヒト化抗体に加えて、組成物中で好適に使用され得る他の化合物は、治療薬標的 (36 ~ 39 頁)、アルカンスルホン酸及びアルカノール硫酸 (39 ~ 51 頁)、コリンエステラーゼ阻害剤 (51 ~ 56 頁)、NMDA 受容体アンタゴニスト (56 ~ 58 頁)、エストロゲン (58 ~ 59 頁)、非ステロイド性抗炎症薬 (60 ~ 61 頁)、酸化防止剤 (61 ~ 62 頁)、ペルオキシソーム増殖因子-活性化受容体 (PPAR) アゴニスト (63 ~ 67 頁)、コレステロール低下剤 (68 ~ 75 頁); アミロイド阻害剤 (75 ~ 77 頁)、アミロイド形成阻害剤 (77 ~ 78 頁)、金属キレート剤 (78 ~ 79 頁)、抗精神病剤及び抗鬱剤 (80 ~ 82 頁)、栄養補助剤 (83 ~ 89) 及び脳内で生物活性物質の利用能を増加させる化合物 (89 ~ 93 頁を参照)、ならびにプロドラッグ (93 ~ 94 頁) を含む、例えば、WO2004/058258 (特に16 頁及び17 頁を参照) に開示されるものであり、この文書は、特に上記に示される頁に言及される化合物が、参照により本明細書に組み込まれる。

【0373】

上記に述べられるそのような併用療法は、組み合わせ投与 (2つ以上の治療剤が同一または別個の製剤中に含まれる) 及び別個の投与を包含し、別個の投与の場合、本発明の抗体の投与は、追加の治療剤 (複数可) の投与の前、それと同時、及び/またはその後に生じ得る。いくつかの実施形態において、抗Tau抗体の投与及び追加の治療剤の投与は、互いの約1ヶ月以内、または約1週間、2週間、もしくは3週間以内、または約1、2、3、4、5、もしくは6日以内に生じる。

【0374】

本発明の抗体（及び任意の追加の治療剤）は、非経口投与、肺内投与、及び鼻腔内投与、ならびに局所治療で所望される場合、病変内投与を含む、任意の好適な手段によって投与することができる。非経口注入は、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、または皮下投与を含む。投薬は、任意の好適な経路によるもの、例えば、一部には、投与が短時間であるか、または慢性的であるかによって、静脈内注射または皮下注射などの注射によるものであり得る。単回投与または様々な時点にわたる複数回投与、ポーラス投与、及びパルス注入を含むが、これらに限定されない、様々な投薬スケジュールが本明細書で企図される。

【0375】

本発明の抗体は、良好な医療行為と一貫する様式で、製剤化され、投薬され、かつ投与されるだろう。この文脈において考慮する要因としては、治療されている特定の障害、治療されている特定の哺乳動物、個々の患者の臨床病態、障害の原因、薬剤の送達部位、投与方法、投与のスケジュールリング、及び医師に既知である他の要因が挙げられる。抗体は必然的にではなく任意で、問題の障害を予防または治療するために現在使用される1つ以上の薬剤とともに製剤化される。そのような他の薬剤の有効量は、製剤中に存在する抗体の量、障害または治療の種類、及び上で考察される他の要因に依存する。これらは一般に、本明細書に記載されるものと同一投薬量及び投与経路で、または本明細書に記載される投薬量の約1～99%で、または適切であると経験的/臨床的に決定される任意の投薬量及び任意の経路で使用される。

【0376】

疾患の予防または治療について、本発明の抗体の適切な投薬量は（単独で、または1つ以上の他の追加の治療剤と組み合わせて使用される場合）、治療される疾患の種類、抗体の種類、疾患の重症度及び経過、抗体が予防目的または治療目的で投与されるかどうか、以前の療法、患者の病歴及び抗体への応答、ならびに主治医の裁量に依存するだろう。抗体は、1回で、または一連の治療にわたって患者に好適に投与される。疾患の種類及び重症度によって、例えば、1回以上の別個の投与によるものであれ、連続注入によるものであれ、約 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ ～ $15\text{mg}/\text{kg}$ （例えば、 $0.1\text{mg}/\text{kg}$ ～ $10\text{mg}/\text{kg}$ ）の抗体が、患者への投与のための初回候補投薬量であり得る。1つの典型的な1日用量は、上記に言及される要因によって、約 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ ～ $100\text{mg}/\text{kg}$ 以上の範囲であり得る。病態によって数日間以上にわたる反復投与について、治療は一般に、疾患症状の所望される抑制が生じるまで持続されるだろう。抗体の1つの例示的な投薬量は、約 $0.05\text{mg}/\text{kg}$ ～約 $10\text{mg}/\text{kg}$ の範囲内であるだろう。したがって、約 $0.5\text{mg}/\text{kg}$ 、 $2.0\text{mg}/\text{kg}$ 、 $4.0\text{mg}/\text{kg}$ 、もしくは $10\text{mg}/\text{kg}$ （またはこれらの任意の組み合わせ）の1回以上の用量が、患者に投与され得る。そのような用量は、断続的に、例えば毎週または3週間毎（例えば、患者が約2～約20回、または例えば約6回の用量の抗体を受容するように）投与されてもよい。より高い初回負荷用量、続いて1回以上のより低い用量が、投与されてもよい。しかしながら、他の投薬量レジメンも有用であり得る。この療法の進行は、従来の技法及びアッセイによって容易に監視される。

【0377】

上記の製剤または治療方法のいずれも、抗T_au抗体の代わりに、またはそれに加えて、本発明の免疫複合体を使用して実行され得ることが理解される。

【0378】

H. 製造品

本発明の別の態様において、上記の障害の治療、予防及び/または診断に有用な材料を含有する製造品が提供される。製造品は、容器と、容器上のまたは容器に関連するラベルまたは添付文書とを含む。好適な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、シリンジ、静脈注射溶液バッグ等が挙げられる。容器は、ガラスまたはプラスチックなどの様々な材料から形成され得る。容器は、それ自体によって、または別の組成物と組み合わせて、病態の治療、予防及び/または診断に有効である組成物を保持し、無菌アクセス口を有してもよい（例えば、容器は、静脈注射溶液バッグまたは皮下注射針によって貫通可能な栓を

10

20

30

40

50

有するバイアルであり得る)。組成物中の少なくとも1つの活性薬剤は、本発明の抗体である。ラベルまたは添付文書は、組成物が、選定した病態を治療するために使用されることを示す。更に、製造品は、(a)本発明の抗体を含む組成物をその中に収容した第1の容器、及び(b)更なる細胞傷害性薬剤、またはさもなければ治療剤を含む組成物をその中に収容した第2の容器を含み得る。本発明のこの実施形態の製造品は、組成物を使用して特定の病態を治療することができることを示す添付文書を更に含み得る。あるいは、または加えて、製造品は、注射用静菌水(BWFI)、リン酸緩衝食塩水、リンガー溶液及びデキストロス溶液などの薬学的に許容される緩衝液を含む、第2の(または第3の)容器を更に含み得る。それは、他の緩衝液、希釈剤、フィルタ、針、及びシリンジを含む、商業的観点及びユーザの観点から望ましい他の材料を更に含み得る。

10

【0379】

上記の製造品のいずれも、抗Tau抗体の代わりに、またはそれに加えて本発明の免疫複合体を含み得ることが理解される。

【実施例】

【0380】

以下は、本発明の方法及び組成物の実施例である。上記に提供される概要を仮定して、様々な他の実施形態が実践され得ることが理解される。

【0381】

実施例1：免疫化のためのTauの生成

モノマー組み換えTauの生成

20

組み換えヒトTau構築物、2N4Rアイソフォーム(アミノ酸2~441)をN末端Hisタグに融合させて、精製及び特性評価を容易にした。例えば、図15を参照されたい。融合構築物をpET52bベクター(Novagen)へとクローニングし、E.coli中で発現させた。細胞を採取し、7Mの塩化グアニジウムを使用して、4 で撹拌しながら、変性条件下で一晩溶解させた。細胞細片を40,000rpmで1時間ペレット化した。組み換えHisタグタンパク質を、ニッケル親和性クロマトグラフィー(Ni Sepharose 優良親和性樹脂、GE Healthcare Life Sciences)によって、その後、サイズ排除クロマトグラフィー(Superdex 200樹脂、GE Healthcare Life Sciences)によって変性条件下で単離した。回収されたタンパク質を、20mMのMES、50mMのNaCl、及び1mMのTCEP(pH6.8)へと透析することによって、塩化グアニジウムを除去した。その後、TEVプロテアーゼを使用してHisタグを除去し、その後、カチオン交換クロマトグラフィー(Mono Sカラム、GE Healthcare Life Sciences)を使用して最終精製して、切断されたHisタグを除去した。精製緩衝液は、エンドトキシンを除去するための0.1体積%のTriton x-114(v/v)を含有した。精製されたタンパク質を、1mMのTCEPを有するPBSへと交換した。SDS-PAGE及びSEC-MALLSによって、純度及びモノマー状態を分析した。質量分析法によって、同一性を確認した。280nmのUV吸収によって、タンパク質濃度を決定した。最終産生物は、動態学的リムルスアメボサイトライゼート(LAL)アッセイによって決定される、エンドトキシンを含まなかった(<0.5EU/mg)。

30

40

【0382】

リン酸化Tauの生成

上記の方法を使用して調製したTau2-441構築物を使用して、リン酸化Tauを生成した。他の残基の中でも特に、セリン409をリン酸化する、0.5µMのPKAキナーゼ(Life Technologies)を使用して、タンパク質構築物をリン酸化した。反応混合物を、1mMのATP、5mMのMgCl₂とともに室温で72時間インキュベートした。質量分析法によって、リン酸化を確認した。サイズ排除クロマトグラフィー(Superdex 75、GE Healthcare Life Sciences)を使用して、キナーゼを除去した。上記のように、リン酸化タンパク質調製物の純

50

度、モノマー状態、及びエンドトキシンレベルを実質的に分析した。

【0383】

モノマーTauのインビトロオリゴマー化

モノマーTau 2 - 4 4 1 構築物を使用して、オリゴマーTauを生成した。まず、モノマータンパク質を、20 mMのN, N - ビス(2 - ヒドロキシエチル) - 2 - アミノエタンスルホン酸(BES)、25 mMのNaCl(pH 7.4)へと交換し、その後タンパク質と等モル濃度で、75 µMのアラキドン酸(Cayman Chemicals)及び18 kDaのヘパリン(Sigma Aldrich)を使用して、37 °Cで3日間オリゴマー化した。チオフラビンT蛍光アッセイ、動的光散乱法(DLS)、及び分析的サイズ排除クロマトグラフィーによって、オリゴマー化を確認した。場合によっては、オリゴマーTauは、「オリゴTau」とも呼ばれる。

10

【0384】

実施例2：抗Tau抗体の生成

方法

ハイブリドーマの生成

生後9週間のメスC57BL/6JOlaHsd(C57BL/6)及びBALB/cOlaHsd(Balb/c)野生型マウス(Harlan, USA)を受容した。生後6及び9週間のTauノックアウトマウス(B6.129-Mapttm1Hnd/J、The Jackson Laboratory, USA)を受容した。生後12~15週間でワクチン接種を開始した。マウスに、オリゴマー化ヒトTauをワクチン接種した。ワクチン接種前に、オリゴTauを、本研究において使用される2つのアジュバント(50体積%のRibi Adjuvant System(Ribi, Sigma-Aldrich, Switzerland)、またはCpG一本鎖合成DNAオリゴデオキシヌクレオチド(CpG、Microsynth, Switzerland)と水酸化アルミニウム(Al、Brenntag, Switzerland)との組み合わせ)のうちの一方と混合した。Ribiは、スクアレン油中にモノホスホリルリピドA(Salmonella minnesotaから単離)及び合成トレハロースジコリノミコラート(Tubercle bacillusのコードファクターから単離)と、0.2%のTween-80と、水とを含有する、2%のスクアレン水中油エマルジョンである。

20

【0385】

腹腔内(i.p.)及び踵関節投与の組み合わせを受容したD及びG群を除いて、マウスを皮下注射(s.c.)によってワクチン接種した。D群のマウスには、50 µgのオリゴTauを腹腔内、及び10 µgのオリゴTauを踵関節注射として投与した。G群のマウスには、8 µgのオリゴTauを腹腔内、及び2 µgのオリゴTauを踵関節注射として投与した。表2を参照されたい。

30

CpG及びAI(CpG/Al)をアジュバントとして含有するワクチン接種について、200 µLの各注射は、60 µg(30 nmol)のCpG、1 mgのAl、及び50 µgのオリゴTauを含有した。全ての研究群について、マウスは、0、14、35、及び56日目に注射した。骨髄腫融合に使用したマウス(Nanotools, Germany)には、アジュバントを添加しない、1日3回のオリゴTauのブースター注射(1回の腹腔内注射当たり50 µg)を追加でワクチン接種した。

40

表2．マウス及びワクチン接種プロトコル

研究群	マウス株	総オリゴT a u 用量 (μ g / 注射)	アジュバント	ワクチン接種経路
A	C 5 7 B L / 6	5 0	C p G / A l	皮下注射
B	C 5 7 B L / 6	5 0	R i b i	皮下注射
C	B a l b / c	5 0	C p G / A l	皮下注射
D	B a l b / c	6 0	C p G / A l	踵関節 + 腹腔内
E	B a l b / c	5	C p G / A l	皮下注射
F	B a l b / c	5 0	R i b i	皮下注射
G	T a u ノックアウト	1 0	R i b i	踵関節 + 腹腔内

10

20

30

40

【 0 3 8 6 】

3 回のブースター注射の最終注射の 1 日後に、マウスを失血させて屠殺し、脾細胞を骨髓腫細胞と融合させて、抗体産生ハイブリドーマを生成した。

【 0 3 8 7 】

サブクローニングのためのハイブリドーマの選択

融合について、合計 1 0 回の融合 (1 つの群は 2 回の融合、第 2 の群は 4 回の融合、及び第 3 の群は 4 回の融合) のためにマウスを 3 つの群に分け、2 9 9 個のハイブリドーマを生成した。血清含有選択培地を使用して、生存可能なハイブリドーマを成長させ、次いで、以下に記載される完全長ヒト T a u 及びオリゴ T a u 結合のための E L I S A アッセイを使用して、最良のハイブリドーマをサブクローニングのために選択した。限界希釈の後、最終ハイブリドーマを無血清培地に適合させ、抗体スクリーニング及び選択のために、安定したコロニーから培地を収集した。

【 0 3 8 8 】

E L I S A スクリーニングアッセイ

安定したハイブリドーマから無血清上清を採取した。次いで、目的とされる抗体を含有する上清を E L I S A アッセイによってスクリーニングして、抗体特性を特性評価し、更なる発達のために抗体を選択した。E L I S A アッセイを使用して、以下、完全長ヒト T a u (f l T a u , S i g n a l C h e m , C a n a d a) への結合、高リン酸化 f l T a u (G e n e n t e c h , U S A) への結合、f l T a u のオリゴマー対モノマー調製物への結合、0 N 4 R、1 N 4 R、及び 2 N 4 R T a u アイソフォーム (r P e p t i d e , U S A) への結合、並びに特定の抗体 T a u エピトープ (複数可) への結合を決定した。簡潔には、9 6 ウェルの M a x i S o r p E L I S A プレート (N u n c , D e n m a r k) を、表 3 に示される標的のうちの 1 つでコーティングした。

表 3 . E L I S A スクリーニングアッセイに使用した標的。

アッセイ	E L I S A 設定	標 的
f l T a u への結合	間 接 的 E L I S A	1 μ g / m L でコーティングした完全長ヒト T a u (f l T a u)
p T a u へ の結合	間 接 的 E L I S A	精製し、1 μ g / m L でコーティングした 4 つの キナーゼ (G S K 3 β 、C d k 5、P K A、及び C K 1 δ ; 高リン酸化 T a u または p T a u) を 使用して、インビトロでリン酸化した完全長ヒト T a u
エピトープ マッピング	間 接 的 E L I S A	1 0 μ g / m L でストレプトアビジン 9 6 ウェ ルプレート上にコーティングされた、9 個の a a オフセット及び 6 a a オーバーラップを有する ヒト T a u の 4 4 1 アミノ酸 (a a) に及ぶ、ビ オチン標識された 1 5 アミノ酸長ペプチド
オリゴ T a u への結合	捕 捉 E L I S A	試験されている抗 I g G 固定化抗体によって溶 液中に捕捉された、A V I タグでビオチン標識さ れたオリゴマー及びモノマー f l T a u
ヒト T a u アイソフォ ームへの結 合	間 接 的 E L I S A	1 μ g / m L でコーティングされた 0 N 4 R T a u、1 N 4 R T a u、及び 2 N 4 R T a u

10

20

30

40

50

【 0 3 8 9 】

コーティングを、4 のリン酸緩衝食塩水 (P B S) 中で一晩行った。プレートを 0 . 0 5 % の T w e e n - 2 0 / P B S で徹底的に洗浄し、次いで 3 7 で、0 . 0 5 % の T w e e n - 2 0 / P B S 中 1 % のウシ血清アルブミン (B S A) で 1 時間遮断した。次いで、ハイブリドーマ上清中に含有された抗体を示された希釈度で添加し、3 7 で 2 時間インキュベートした後、プレートを既に記載したように洗浄した。

【 0 3 9 0 】

間接 E L I S A のために、A P 複合体化抗マウス I g G 二次抗体 (J a c k s o n I m m u n o R e s e a r c h L a b o r a t o r i e s , U n i t e d K i n g d o m) を、0 . 0 5 % の T w e e n - 2 0 / P B S 中、1 / 6 0 0 0 の希釈度で、3 7 で 2 時間添加した。最終洗浄の後、プレートを p - ニトロフェニルリン酸二ナトリウム六水和物 (p N P P、S i g m a - A l d r i c h , S w i t z e r l a n d) ホスファターゼ基質溶液とともにインキュベートし、E L I S A プレートリーダー (T e c a n , S w i t z e r l a n d) を使用して 4 0 5 n m で読み取った。結果を光学濃度 (O . D .) として表す。

【 0 3 9 1 】

オリゴ T a u 及びモノ T a u 捕捉 E L I S A のために、無血清無菌ハイブリドーマ上清中に含有される抗体を、5 0 0 倍の希釈度で抗 I g G コーティングしたプレート上で固定化し、その後、オリゴ T a u またはモノ T a u を、ともに A V I タグによる部位特異的ビオチン標識とともにインキュベートした。標的インキュベーションを 5 μ g / m L で開始し、次いで、8 倍または 1 6 倍に希釈した。プレートリーダー (T e c a n , S w i t z

erland) のシグナル定量化のために、ストレプトアビジン - HRP 及び ABTS 基質を使用した。結果を O.D. として表す。

【0392】

親和性推定

無血清ハイブリドーマ上清中の非精製抗体の親和性を、Biacore T-100 機器 (GE Healthcare, United Kingdom) を使用して、表面プラズモン共鳴によって推定した。抗体を抗 IgG バイオセンサチップ上に固定化し、fl Tau (Signal Chem, Canada) を標的分析物として使用した。1:1 のラングミュアフィットモデルを使用して、動態分析を行った。

【0393】

SDS-PAGE アッセイ及びウェスタンブロットアッセイ

ヒトの脳内での、選択した pan Tau 抗体の Tau への結合を、3 人の AD ドナー及び 2 人の同年齢の非 AD 対照ドナーに由来する脳ライセート (Tissue Solutions, United Kingdom) を使用して、ウェスタンブロット (WB) で試験した。ライセートを処理して、無洗剤可溶性 Tau 画分を得た。処理したライセートを 4~12% のビス-トリスゲル (Novex, Life Technologies, Switzerland) に充填し、Immobilon PVDF 膜上に移し、それとともに試験される抗体及び IRDye 800 CW ヤギ抗マウス二次抗体 (Li-Cor, USA) でブロットした。

【0394】

ヒト脳ライセートまたは組み換えヒト Tau アイソフォームを使用する ELISA アッセイ

AD 及び対照脳ライセート中での、選択された抗体の非変性ヒト Tau への結合、または ON4R、1N4R、及び 2N4R Tau アイソフォーム (rPeptide, USA) への結合を評価するために、ハイブリドーマ上清に由来する抗体、または陰性及び陽性対照抗体を、上記の 96 ウェルプレート上で固定化した。次いで、AD 対象または同年齢対照対象に由来する可溶性ヒト脳ライセート (400 µg/mL のタンパク質、全て Tissue Solutions, United Kingdom から入手) 中の Tau、または組み換え Tau アイソフォーム (1 µg/mL) を捕捉し、ポリクローナルウサギ汎 Tau 抗体 (AbCam, United Kingdom)、その後、Fc-γ 断片特異的抗ウサギ IgG-AP (Jackson ImmunoResearch, USA) を使用して、検出を実行した。Tau ノックアウトマウスに由来する脳ライセートを、陰性試料対照として使用した。プレートを pNPP (Sigma-Aldrich) ホスファターゼ基質溶液とともにインキュベートし、ELISA プレートリーダー (Tecan, Switzerland) を使用して 405 nm で読み取った。結果を光学濃度 (O.D.) として表す。

【0395】

抗体ハイブリドーマの配列決定

可変領域遺伝子配列決定のために、ハイブリドーマ細胞ライセートを Antitope (Antitope, United Kingdom) に供給した。簡潔には、IgG 可変重鎖 (VH)、IgM VH、Ig カッパ可変軽鎖 (KVL) 及び Ig λ VL のそれぞれの定常領域プライマーとともに、マウスシグナル配列の縮重プライマープールを使用して、RT-PCR を実行した。IgM または IgG 特異的定常領域プライマーのいずれかとともに、VH シグナル配列に特異的な 6 つの縮重プライマープール (HA~HF) の組を使用して、重鎖 V 領域 mRNA を増幅した。κ または λ 定常領域プライマーのいずれかとともに、8 つのシグナル配列特異的縮重プライマープール (7 つは κ クラスタ (KA~KG) のもの、1 つは λ クラスタ (LA) のもの) の組を使用して、軽鎖 V 領域 mRNA を増幅した。成功した増幅から得られた PCR 産物を精製し、「TA」クローニングベクター (pGEM-T Easy, Promega) へとクローニングし、E.coli へと形質転換し、個体コロニーを配列決定した。抗体 VH 及び VL 領域のヌクレ

10

20

30

40

50

オチド及びアミノ酸配列を、27個の抗体ハイブリドーマの配列によって決定した。

【0396】

結果

サブクロニングのためのハイブリドーマの選択

3巡の融合のそれぞれから生成されたハイブリドーマ(10の融合に由来する合計29個のハイブリドーマ)を、まずf1Tauへの結合についてアッセイし、選択されたハイブリドーマをpTau及びオリゴマー化Tauへの結合について追加でアッセイした。この目的は、Tau及び翻訳後修飾されたTau(リン酸化またはオリゴマーTauなど)に同等に良好に結合する抗体を選択することであった。このために、ハイブリドーマ上でアッセイを実行して、最良のpanTau特性を選択した。抗体結合領域及び特異的Tauエピトープを決定するために、まず異なるTau断片、次いで、最長のヒトTauアイソフォームの全441個のアミノ酸(aa)配列に及び、15merアミノ酸長の重複Tauペプチドのライブラリを使用して、結合領域を決定した。異なる翻訳後修飾形態のTau、及びヒトに存在する6つの異なるヒトTauアイソフォーム全てへの結合を最大化する目的で、Tauの所定の領域に結合する抗体の群を意図的に回避した。

10

【0397】

3連の融合は、133個のサブクロニング安定ハイブリドーマの生成をもたらし、それらを最良のpanTau特性についてスクリーニングした。異なるスクリーニングアッセイの組み合わせを使用して、panTau抗体に好ましい特性を有する抗体ハイブリドーマの数を狭めた。f1Tau及びpTau結合を比較するために、90個のハイブリドーマをアッセイし、24個のハイブリドーマの結果を図1A~Fに示す。最初のスクリーニングは、アルツハイマー病(AD)及び他のタウオパチーにおいて高密度のリン酸化されている残基を有することが知られるTauの領域に結合する抗体の選択を回避するために、Tau断片を使用して実行されたため、試験されたほとんどの抗体は、このELISAによって決定されるものと同様の結合特性で、f1Tau及びpTauの両方に結合した。

20

【0398】

いくつかの実施形態において、panTau抗体が、一方または他方に対する強い優先度なく、Tauのモノマー形態及びオリゴマー形態の両方に結合することが望ましい。捕捉ELISAを設定して、抗体がf1Tauのモノマー形態及びオリゴマー形態の両方に結合したかどうかを決定した。捕捉モードで実行したELISAは、予備オリゴマー化Tauのオリゴマー立体構造、及びモノTauのモノマー状態を、標的がELISAレート上に固定化される直接または間接ELISAとして実行した場合よりも、良好に保存する。

30

【0399】

2つの形態のTauの結合を、試験される90個全ての抗体と直接比較することによって、各アッセイを実行した。いずれかのオリゴTauへの好ましい結合を有することが知られる抗体、またはTauの2つの形態を区別しない抗体を、各アッセイにおいて対照として使用した。18個のハイブリドーマの結果を、図2A~Eに示す。

【0400】

高密度の潜在的なpTau残基(Ser、Thr、及びTyr)を有する領域に結合する抗体が回避され得るため、エピトープのマッピングは、良好なpanTau特性を有する抗体の選択にとって重要である。ヒトTauの6つ全てのアイソフォームへの結合もまた、panTau抗体の選択基準として使用した。それぞれがヒトTauの完全長に及び15個のアミノ酸(aa)のアミノ酸を有し、6aa残基の重複及び9aaのオフセットを有する、49個のペプチドのライブラリを使用して、最初に選択された抗体のpanTauエピトープを改善された精度で検証し、決定した。残基数は、ヒトTauの最長のアイソフォーム(441aa)に基づく。1/10の高い希釈度で非精製抗体を使用して、全てのペプチドに対する結合対非結合を検証した。既にELISAによって選択した112個のハイブリドーマからの抗体のスクリーニングは、20個の異なるTauエピトープ

40

50

への結合を示した（表４）。

表４：抗体のＴa uエピトープ

抗体	T a u エピト ープ (a a)
1 4 F 5 - D 9	1 - 1 5
9 4 B 2 - B 1 2	1 - 1 5
9 4 B 2 - C 1	1 - 1 5
1 0 A 1 - A 6	1 0 - 2 4
1 0 A 1 - D 8	1 0 - 2 4
1 1 E 1 0 - B 8	1 0 - 2 4
1 7 G 1 2 - C 1 1	1 0 - 2 4
1 7 G 1 2 - D 5	1 0 - 2 4
1 9 H 6 - A 1	1 0 - 2 4
1 9 H 6 - F 7	1 0 - 2 4
1 9 H 6 - G 8	1 0 - 2 4
3 7 D 3 - H 1 2	1 0 - 2 4
3 7 D 3 - H 9	1 0 - 2 4
3 7 E 8 - B 4	1 0 - 2 4
3 7 E 8 - C 2	1 0 - 2 4
3 A 4 - H 4	1 0 - 2 4
3 H 1 0 - E 1 2 (A)	1 0 - 2 4
3 H 1 0 - G 1 2	1 0 - 2 4
4 4 B 7 - A 9	1 0 - 2 4
4 4 B 7 - B 1	1 0 - 2 4
5 4 C 1 - H 1 1	1 0 - 2 4
6 1 E 7 - B 1 1	1 0 - 2 4
6 1 H 1 0 - B 4	1 0 - 2 4
6 1 H 1 0 - H 3	1 0 - 2 4
1 2 7 G 7 - A 5	1 0 - 2 4
1 2 7 G 7 - E 7	1 0 - 2 4
1 1 5 A 4 - A 3	1 0 - 2 4
1 1 5 A 4 - B 1	1 0 - 2 4
1 2 5 B 1 1 - B 6	1 0 - 2 4
7 3 C 8 - A 5	1 0 - 2 4
7 3 C 8 - G 4	1 0 - 2 4
7 6 B 4 - D 9	1 0 - 2 4

抗体	T a u エピト ープ (a a)
3 0 A 1 - C 9	7 3 - 8 7
3 0 A 1 - D 1 1	7 3 - 8 7
2 8 F 5 - G 8	8 2 - 9 6
2 8 F 5 - H 8	8 2 - 9 6
3 3 G 9 - A 1 1	1 0 0 - 1 1 4
3 3 G 9 - B 9	1 0 0 - 1 1 4
5 2 F 2 - E 1 2	1 0 0 - 1 1 4
5 2 F 2 - E 8	1 0 0 - 1 1 4
5 2 F 6 - B 3	1 0 0 - 1 1 4
5 2 F 6 - F 1 1	1 0 0 - 1 1 4
5 6 D 3 - C 8	1 0 0 - 1 1 4
5 6 D 3 - E 9	1 0 0 - 1 1 4
7 0 B 1 0 - B 6 B 2	1 0 0 - 1 1 4
7 0 B 1 0 - B 6 G 1 2	1 0 0 - 1 1 4
7 8 E 4 - D 1 1	1 0 0 - 1 1 4
7 8 E 4 - G 4	1 0 0 - 1 1 4
3 0 G 1 - B 2	1 0 9 - 1 2 3
3 0 G 1 - C 1 1	1 0 9 - 1 2 3
4 9 G 1 0 - F 4	1 0 9 - 1 2 3
4 9 G 1 0 - H 1	1 0 9 - 1 2 3
6 5 B 1 - A 2	1 0 9 - 1 2 3
6 5 B 1 - A 7	1 0 9 - 1 2 3
7 3 H 6 - B 8	1 0 9 - 1 2 3
1 1 3 F 5 - A 8	1 0 9 - 1 2 3
1 1 3 F 5 - F 7	1 0 9 - 1 2 3
1 2 5 B 1 1 - H 3	1 0 9 - 1 2 3
2 6 C 1 - B 1 1	1 1 8 - 1 3 2
2 6 C 1 - C 8	1 1 8 - 1 3 2
7 4 H 1 0 - A 3	1 1 8 - 1 3 2
7 4 H 1 0 - C 3	1 1 8 - 1 3 2
7 8 F 3 - B 2	1 1 8 - 1 3 2
7 8 F 3 - E 7 C 6	1 1 8 - 1 3 2

10

20

30

40

7 6 B 4 - H 7	1 0 - 2 4
1 2 3 E 9 - B 3	1 9 - 3 3
1 5 C 6 - A 7	1 9 - 3 3
1 9 F 8 - B 1	1 9 - 3 3
2 4 A 1 1 - D 5	1 9 - 3 3
6 3 H 3 - B 2	1 9 - 3 3
6 3 H 3 - D 8	1 9 - 3 3
6 4 B 9 - E 1 1	1 9 - 3 3
6 4 B 9 - F 1 2	1 9 - 3 3
4 5 D 2 - C 9	1 9 - 3 3
4 5 D 2 - F 4	1 9 - 3 3
7 2 E 1 2 - B 2	1 9 - 3 3
7 2 G 1 0 - A 7	1 9 - 3 3
7 2 G 1 0 - B 6	1 9 - 3 3
1 2 3 E 9 - A 1	1 9 - 4 2
1 9 F 8 - C 1 1	1 9 - 4 2
7 A 1 1 - C 1 2	1 9 - 4 2
8 9 F 4 - A 2	2 8 - 4 2
8 9 F 4 - A 1	2 8 - 4 4
1 2 A 1 0 - E 8	3 7 - 5 1
5 5 E 7 - B 1 2	3 7 - 5 1
7 2 E 1 2 - H 9	3 7 - 5 1
5 5 E 7 - F 1 1	3 7 - 5 1
3 0 D 1 2 - B 5	6 4 - 7 8
2 1 C 1 - D 8	6 4 - 7 8
2 1 C 1 - G 6	6 4 - 7 8
3 0 D 1 2 - F 6	6 4 - 7 8
3 1 A 3 - A 4	6 4 - 7 8
3 1 A 3 - A 7	6 4 - 7 8
7 7 D 1 - D 2	6 4 - 7 8
7 7 D 1 - E 6	6 4 - 7 8

7 8 F 3 - E 7 H 7	1 1 8 - 1 3 2
1 2 6 H 1 2 - G 6	1 3 6 - 1 5 0
1 2 6 H 1 2 - H 7	1 3 6 - 1 5 0
2 2 G 7 - C 9	1 5 4 - 1 6 8
2 2 G 7 - G 9	1 5 4 - 1 6 8
1 1 1 B 8 - C 4	1 6 3 - 1 7 7
1 1 1 B 8 - F 1 0	1 6 3 - 1 7 7
6 6 F 5 - A 1	1 7 2 - 1 7 7
6 6 F 5 - F 2	1 7 2 - 1 7 7
7 1 H 8 - A 1	1 9 0 - 2 0 4
7 1 H 8 - D 6	1 9 0 - 2 0 4
8 3 E 1 0 - D 1 0	1 9 0 - 2 0 4
8 3 E 1 0 - D 6	1 9 0 - 2 0 4
1 2 6 F 1 1 - B 3	2 1 7 - 2 3 1
1 2 6 F 1 1 - G 1 1	2 1 7 - 2 3 1, 3 3 5 - 3 5 7
9 3 A 8 - C 9	3 9 7 - 4 1 1
9 3 A 8 - D 2	3 9 7 - 4 1 1

10

20

30

40

【 0 4 0 1 】

ヒト T a u アイソフォーム選択性

50

エクソン 1 ~ 4 によってコードされる T a u の領域にマップされたエピトープを有する抗体を、3つのヒト T a u アイソフォームに対する、正及び負の選択性についてアッセイした。0 N -、1 N -、及び 2 N - T a u を使用して間接またはサンドイッチ E L I S A を実施し、ヒト T a u アイソフォーム結合選択性を検証した（図 2 5 及び 2 6）。割り当てられたエピトープによって示されるように、残基 3 7 ~ 5 1 に結合する抗体（1 2 A 1 0 - E 8、5 5 E 7 - B 1 2、5 5 E 7 - F 1 1、及び 7 2 E 1 2 - H 9）は、1 N - または 2 N - T a u のいずれかであるアイソフォームに対して選択的であるが、残基 6 4 ~ 7 8（3 0 D 1 2 - B 5、3 0 D 1 2 - F 6、2 1 C 1 - D 8、2 1 C 1 - G 6、3 1 A 3 - A 4、3 1 A 3 - A 7、7 7 D 1 - D 2、及び 7 7 D 1 - E 6）、7 3 ~ 8 7（3 0 A 1 - C 9 及び 3 0 A 1 - D 1 1）、8 2 ~ 9 6（2 8 F 5 - G 8）、または 9 1 ~ 1 0 5（2 1 1 G 6 - B 6）に結合する抗体は、2 N - T a u に対して選択的である。これらの抗体のいずれも 0 N - T a u に結合しなかった。領域内のエピトープにマップされた全ての他の抗体は、ヒト T a u の 3 つ全てのアイソフォームに結合した。

10

【 0 4 0 2 】

f l T a u への親和性測定のために、B i a c o r e 機器上で S P R を使用して抗体を測定し、 K_D を決定した。抗 I g G チップ上に抗体を固定化し、f l T a u を標的分析物として使用することによって、B i a c o r e 親和性測定を行った。ある特定の抗体の結果を表 5 に示す。f l T a u への親和性について測定された抗体のうち、4 7 個の抗体が 2 0 n M よりも良好な親和性を有し、そのうち 3 5 個の抗体が 5 n M 未満の K_D を有し、抗体 3 7 D 3 - H 9 が 1 n M の K_D （親和性）を有した。

20

表 5 : f l T a u への親和性

抗体	K _D (nM)
3 7 D 3 - H 9	1
5 4 C 1 - H 1 1	1 . 5
1 2 3 E 9 - A 1	1 . 8
9 4 B 2 - C 1	1 . 9
2 4 A 1 1 - D 5	2
1 1 3 F 5 - F 7	2 . 4
8 9 F 4 - A 1	2 . 9
1 9 F 8 - B 1	2 . 9
6 1 E 7 - C 4	3 . 3
1 2 6 F 1 1 - G 1 1	4 . 2
2 6 C 1 - C 8	4 . 3
9 3 A 8 - D 2	4 . 3
3 7 E 8 - B 4	4 . 4
6 1 E 7 - B 1 1	4 . 8
1 2 5 B 1 1 - H 3	6
5 4 C 1 - C 3	6 . 8
9 4 B 2 - B 1 2	4 . 5
1 2 7 G 7 - A 5	3
6 3 H 3 - D 8	0 . 5
6 4 B 9 - F 1 2	2
7 A 1 1 - C 1 2	0 . 5
1 2 A 1 0 - E 8	0 . 8
5 2 F 6 - B 3	1 1
4 9 G 1 0 - F 4	1
6 5 B 1 - A 2	0 . 8
7 4 H 1 0 - A 3	4
8 3 E 1 0 - D 6	0 . 4
1 2 6 F 1 1 - B 3	2 . 2
2 3 1 G 3 - F 1 0	0 . 2

抗体	K _D (nM)
3 A 4 - H 4	7 . 8
5 2 F 6 - F 1 1	8 . 4
3 A 4 - A 1 2	1 0 . 1
4 4 B 7 - B 1	1 4 . 7
3 H 1 0 - E 1 2	1 9 . 4
1 0 A 1 - D 8	1 9 . 6
5 2 F 2 - E 8	2 6
1 9 H 6 - F 7	3 9
3 4 H 4 - F 5	4 3
1 9 H 6 - A 1	5 6
3 4 H 4 - B 1 0	6 9
1 7 G 1 2 - C 1 1	1 1 8
4 5 H 1 2 - C 4	1 3 9
1 7 G 1 2 - D 5	1 6 1
6 1 H 1 0 - H 3	1 7 7
1 1 E 1 0 - C 3	3 9 9
7 2 E 1 2 - H 9	2
3 0 D 1 2 - B 5	2
7 7 D 1 - D 2	0 . 5
3 0 A 1 - C 9	0 . 6
2 8 F 5 - G 8	1
3 3 G 9 - A 1 1	1 4
7 4 H 1 0 - C 3	8
7 8 F 3 - E 7 H 7	6 . 7
2 2 G 7 - C 9	3 6
7 1 H 8 - D 6	0 . 8
8 3 E 1 0 - D 1 0	0 . 4
2 1 1 G 6 - B 6	4 . 7
3 0 7 H 3 - E 8	1

10

20

30

40

【 0 4 0 3 】

6つ全てのヒトTauのアイソフォームへの、選択された抗体の結合を検証するために、SDS-PAGEに6つ全てのアイソフォームを含有する組み換えTauラダーを泳動させ、3つの選択されたTau抗体を使用してウェスタンブロット(WB)を行った。3つ全てのpanTau抗体が、6つ全てのTauアイソフォームに結合する(図3)。更に、3人のAD及び2人の同年齢対照に由来する脳ホモジネートを、比較のために同時に泳動させた。予想通り、マッピングされたエピトープに基づいて、このアッセイにおいて

50

試験された3つ全ての抗体が、6つ全てのT a uアイソフォームへの結合を示した。ヒトA Dドナーと対照ドナーの間の帯域パターンにおいて観察される差は、A D対象において存在することが予想される、より大きなリン酸化及び/またはS D S安定T a u凝集を表し得る。

【0404】

ヒトアルツハイマー病(A D)試料及び対照試料を、非変性E L I S A捕捉アッセイにおいて更に泳動させて、ヒト脳内におけるT a uへの結合を検証した。2人のA D対象及び2人の非A D同年齢対照対象に由来する、可溶性T a uについて処理した試料ライセートを、8つの希釈度で泳動させ、3つの抗体を試験した(図4 A ~ C)。

【0405】

27個のハイブリドーマ(A n t i t o p e , U n i t e d K i n g d o m)について、抗体可変鎖配列を決定した。ある特定の重鎖及び軽鎖可変ドメインならびに超可変領域(H V R)のタンパク質配列を、配列表に示す。

【0406】

実施例3：抗T a u抗体の特性評価

遺伝子合成、及び結果として生じるD N Aの、マウスI g G 2 a (重鎖)及びマウスカッパ(軽鎖)哺乳動物発現ベクターへのサブクローニングによって、抗体重鎖及び軽鎖を構築した。重鎖及び軽鎖プラスミドの一過性同時トランスフェクションによって、抗体をC H O細胞及び293 T細胞中で発現させ、親和性樹脂M a b S e l e c t S u r e (G E H e a l t h c a r e L i f e S c i e n c e s)で精製した。マウスI g G捕捉キット及びS e r i e s S C M 5チップを使用するB i a c o r e T 2 0 0表面プラズモン共鳴機器上で、精製された組み換え抗体を、T a uモノマータンパク質への結合についてスクリーニングした。10 mMのH E P E S (p H 7 . 4)、150 mMのN a C l、0 . 0 5 %のT w e e n 2 0 (泳動緩衝液、H B S P)中に希釈したm I g G 2 a形式の抗体を、10 μ L / 分の流量を使用して、1 μ g / m Lの濃度で30もしくは45秒間(抗体26 C 1、94 B 2 - C 1、52 F 6 - F 1 1 . v 1、52 F 6 - F 1 1 . v 2、11 E 1 0 - B 8、55 E 7 - F 1 1、125 B 1 1 - H 3、123 E 9 - A 1、30 G 1 - B 2、66 F 5 - A 1、89 F 4 - A 1、93 A 8 - D 2及び126 F 1 1 - G 1 1)、または0 . 1 μ g / m Lの濃度で70もしくは150秒間(抗体19 H 6 - F 7、3 A 4 - H 4、54 C 1 - H 1 1、及び37 D 3 - H 9)捕捉した。30 μ L / 分の流量と、抗体26 C 1及び94 B 2では16、31、63、125、125、250、及び500 nM、抗体52 F 6 - F 1 1 . v 1及び52 F 6 - F 1 1 . v 2では16、31、63、125、125、250、500、及び1000 nM、抗体11 E 1 0 - B 8、55 E 7 - F 1 1、及び125 B 1 1 - H 3では6、19、56、56、167、及び500 nM、抗体123 E 9 - A 1、30 G 1 - B 2、66 F 5 - A 1、89 F 4 - A 1、93 A 8 - D 2、及び126 F 1 1 - G 1 1では5、16、49、148、148、444、1333、及び4000 nM、19 H 6 - F 7では0 . 4、1 . 6、6 . 3、2 . 5、100、及び400 nM、ならびに3 A 4 - H 4、54 C 1 - H 1 1、及び37 D 3 - H 9では0 . 2、0 . 8、4、4、20、及び100 nMの濃度を使用して、H B S P中のT a uモノマーの結合を25 で監視した。会合及び解離時間を、それぞれ180 ~ 480秒間及び300 ~ 600秒間監視した。高い親和性(表6)及びC D R中のN X S / Tグリコシル化モチーフの不在のため、抗体37 D 3 - H 9を更なる分析のために選択した。

表6：ヒトT a uモノマーへのマウス抗体のK_D(nM)示されるデータは、1 : 1の結合モデルの結果を表す。

抗体	K_D (nM)	k_{on} (1/Ms)	k_{off} (1/s)
26C1	17	4×10^4	7×10^{-4}
94B2-C1	6	5×10^4	3×10^{-4}
54C1-H11	0.6	3×10^5	2×10^{-4}
3A4-H4	12	3×10^4	3×10^{-4}
37D3-H9	1.6	1×10^5	1×10^{-4}
19H6-F7	10	2×10^5	2×10^{-3}
11E10-B8	108	2×10^5	2×10^{-2}
55E7-F11	171	2×10^5	4×10^{-2}
125B11-H3	5	5×10^4	3×10^{-4}
123E9-A1	52	4×10^5	2×10^{-2}
30G1-B2	20	4×10^5	8×10^{-3}
66F5-A1	105	8×10^4	8×10^{-3}
89F4-A1	27	3×10^5	7×10^{-3}
93A8-D2	6	3×10^5	2×10^{-3}
126F11-G11	3	2×10^6	4×10^{-3}
52F6-F11.v1	15	5×10^4	7×10^{-4}
52F6-F11.v2	5	7×10^4	4×10^{-4}

10

20

30

40

50

【0407】

37D3-H9は、Tauタンパク質に結合する際の結合活性を示す。

Biacore Amine Coupling Kit (GE Life Sciences) を使用して、ヒトモノマーTauタンパク質をBiacore Series S CM5チップに共有結合的にカップリングし、およそ128RUのレベルの固定化をもたらした。それぞれ300秒間の5つの会合期間を有する単一サイクル動態実験形式、ならびに1、2、4、8、及び16nM (IgG) または5、10、20、40、及び80nM (Fab) の抗体濃度を使用して、Fab形式及びIgG形式の両方における37D3-H9の直接結合を監視した。解離を7200秒間 (Fab) または14400秒間 (IgG) 監視した。解離速度の値を、1:1の結合モデルをデータにフィットさせることによって計算した。計算された解離速度は、37D3-H9 Fabでは 5.0×10^{-4} 及び37D3-H9 IgGでは 1.1×10^{-5} であり、45倍の差異であった。図5は、Fab (左パネル) 及びIgG (右パネル) の解離速度の差異を図示し、37D3-H9 IgGが結合活性を示すことを示す。

【0408】

実施例4：抗Tau抗体のヒト化

抗体CDR及び選択された可変領域フレームワーク残基を、ヒト抗体コンセンサスフレームワーク上に移植することによって、抗体37D3-H9をヒト化した(Dennis, M. S. (2010). CDR repair: A novel approach to antibody humanization. In Current Trends in Monoclonal Antibody Development and Manufacturing, S. J. Shire, W. Gombotz, K. Bechtold-Peters and J. Andya, eds. (Springer, New York), pp. 9-28)。コンセンサスVH3、Vk2及びVk1フレームワーク上への移植を評価した。重鎖移植片は、49位(Kabat番号付け方式)のマウス残基を含んだ。Vk2移植片は、フレームワーク2位及び4位のマウス残基を含んだ。Vk1移植片は、フレームワーク2位、4位、及び43位のマウス残基を含んだ。遺伝子合成、及びヒトIgG1またはIgG4及びカッパ鎖哺乳動物発現ベクターへのサブクローニングによって、ヒト化変異形を構築した。CHO細胞への、重鎖及び軽鎖プラスミドの同時トランスフェクションによって、抗体を発現させ、親和性樹脂MabSelect Sureで精製した。BiacoreヒトIgG捕捉キット、Series SC M5チップ及びBiacore T200機器を使用して、ヒト化変異形をヒトTauモノマーへの親和性についてスクリーニングした。抗体を2 µg/mLまで希釈し、10 µL/分で15秒間捕捉した。30 µL/分の流量で、10 mMのHEPES (pH 7.4)、150 mMのNaCl、0.05%のTween 20 (泳動緩衝液、HBSP) 中の100、33、11、及び3.7 nMのヒトTauモノマーの会合及び解離を、それぞれ

10

20

表7：モノマーヒトTauのヒト化変異形の親和性スクリーニング

抗体変異形	軽鎖フレームワーク	K _D (nM)
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 1	カップ 1	4 . 1
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 2	カップ 1	5 . 6
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 3	カップ 1	8 . 8
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 4	カップ 1	8 . 2
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5	カップ 2	1 . 9
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 6	カップ 2	3 . 5
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 7	カップ 2	2 7 . 0
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 8	カップ 2	1 0 . 2
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 9	カップ 2	1 3 . 2
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 0	カップ 2	1 4 . 3
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 1	カップ 2	7 4 . 8
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 2	カップ 2	2 1 . 6
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 3	カップ 2	9 . 0
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 4	カップ 2	1 0 . 8
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 5	カップ 2	1 9 . 0
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 6	カップ 2	2 7 . 2
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 7	カップ 2	8 . 1
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 8	カップ 2	1 3 . 4
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 9	カップ 2	5 5 . 7
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 0	カップ 2	3 6 . 9
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 1	カップ 2	3 8 . 1
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 2	カップ 2	3 6 . 6
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 3	カップ 2	8 1 . 1
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 4	カップ 2	5 6 . 6

10

20

30

40

【 0 4 0 9 】

表面プラズモン共鳴によって、追加の抗体濃度及びより長い会合 / 解離時間で、抗体変異形 h u 3 7 D 3 - H 9 . v 1、h u 3 7 D 3 - H 9 . v 2、h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 及び h u 3 7 D 3 - H 9 . v 6 を更に特性評価した。これらの変異形を、より広い範囲のヒト T a u モノマー濃度 (1 . 2、3 . 7、1 1 . 1、1 1 . 1、3 3 . 3、1 0 0 n M) ならびに増加した会合 (3 0 0 秒間) 及び解離 (1 2 0 0 秒間) 期間で分析した。結果に、1 : 1 の結合モデルを適用した (表 8)。

表 8 : 表面プラズモン共鳴による、ヒト T a u への、選択された変異形の結合動態の詳細な分析

抗体変異形	軽鎖フレームワーク	K _D (nM)
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 1	カッパ 1	1 . 1 n M , 1 . 0 n M
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 2	カッパ 1	1 . 2 n M
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5	カッパ 2	0 . 8 n M
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 6	カッパ 2	1 . 4 n M

10

【 0 4 1 0 】

Y T E (M 2 5 2 Y / S 2 5 4 T / T 2 5 6 E) 変異を、特定の I g G 4 抗体に組み込んだ。M 2 5 2 Y、S 2 5 4 T、及び T 2 5 6 E (Y T E) などの F c 受容体新生児 (F c R n) 結合ドメイン変異が、F c R n 結合を増加させ、したがって、抗体の半減期を増加させるために説明されている。米国公開特許出願第 2 0 0 3 / 0 1 9 0 3 1 1 号及び D a l l ' A c q u a e t a l . , J . B i o l . C h e m . 2 8 1 : 2 3 5 1 4 - 2 3 5 2 4 (2 0 0 6) を参照されたい。

【 0 4 1 1 】

抗体 1 2 5 B 1 1 - H 3 を、V H 3 及び V κ 1 コンセンサスフレームワーク上にヒト化した。重鎖移植片は、7 8 位 (K a b a t 番号付け方式) のマウス残基を含んだ。V κ 1 移植片は、フレームワーク 4 3 位及び 8 7 位のマウス残基を含んだ。1 1 3 F 5 - F 7 の軽鎖もまた、フレームワーク 4 3 位及び 8 7 位の追加のマウス残基を有して、V κ 1 フレームワーク上にヒト化した。ヒト化変異形重鎖 (1 2 5 B 1 1) 及び軽鎖 (1 2 5 B 1 1 及び 1 1 3 F 5 - F 7) を、複数の組み合わせで同時トランスフェクトし、上記の 9 6 ウェル形式で精製した。次いで、B i a c o r e ヒト I g G 捕捉キット、S e r i e s S C M 5 チップ、及び B i a c o r e T 2 0 0 機器を使用して、ヒト化変異形をヒト T a u モノマーへの親和性についてスクリーニングした。抗体を 2 μ g / m L まで希釈し、1 0 μ L / 分で 1 5 秒間捕捉した。4 0 μ L / 分の流量で、H B S P 中の 0、1 0 0、及び 5 0 0 n M のヒト T a u モノマーの会合及び解離を、それぞれ 1 8 0 秒間及び 3 0 0 秒間監視した。結果に、1 : 1 の結合モデルを適用した (表 9) 。

20

30

表 9 : 表面プラズモン共鳴による、1 2 5 B 1 1 - H 3 及び 1 1 3 F 5 - F 7 ヒト化変異形のスクリーニング

K _D (nM) のスクリーニング		1 2 5 B 1 1 重鎖ヒト化変異形					
		H C 1	H C 2	H C 3	H C 4	H C 5	H C 6
1 2 5 B 1 1 軽鎖 ヒト化変異形	L C 1	1 6 , 1 9	1 8	1 8	1 5	8 5	—
	L C 2	2 0	2 0	1 9	1 4	— *	N T
	L C 3	2 1	2 3	2 0	1 5	—	—
	L C 4	2 3	2 2	2 0	1 7	> 1 0 0	> 1 0 0
1 1 3 F 5 - F 7 軽鎖ヒト 化変異形	L C 1	5 7	6 1	5 4	4 4	—	—
	L C 2	6 7	6 8	5 5	4 7	—	—
	L C 3	6 1	6 4	5 4	4 7	> 1 0 0	—
	L C 4	7 1	7 7	6 5	5 1	—	—

10

20

30

* T a u モノマーへの最小結合。

N T、試験せず。

【 0 4 1 2 】

親和性スクリーニングに基づいて、高解像度動態分析のために、変異形 h u 1 2 5 B 1 1 . v 1 7 (H C 3 + L C 1)、h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 6 (H C 4 + L C 2)、及び h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 8 (H C 4 + L C 4) を選択した (表 1 0)。抗体 9 4 B 2 - C 1 を、V H 1 及び V κ 2 フレームワーク上にヒト化した。重鎖移植片はまた、2 8、2 9、6 7、6 9、7 1、及び 7 3 位 (K a b a t 番号付け方式) のマウス残基も含んだ。V κ 2 移植はまた、フレームワーク 2、3 6、及び 4 6 位のマウス残基も含んだ。8 つの重鎖と 8 つの軽鎖との組み合わせを発現させ、精製し、上記の 1 2 5 B 1 1 について記載される表面プラズモン共鳴 (S P R) によってスクリーニングした。S P R スクリーニングの結果を、表 1 1 に示す。変異形 h u 9 4 B 2 . v 1 0 5 (重鎖変異形 9 4 B 2 . H C 1、軽鎖変異形 9 4 B 2 . L C 1 3) を、詳細な S P R 特性評価のために選択した (表 1 1)。

表 1 0 : 選択されたヒト化抗 T a u 抗体変異形の動態データ

抗体	アイソタイプ	K_D (nM)	k_{on} (1/Ms)	k_{off} (1/s)
h u 1 2 5 B 1 1 . v 1 7	h I g G 1	1 0 . 5	0.8×10^5	0.8×10^{-3}
h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 6	h I g G 1	9 . 5	0.7×10^5	0.7×10^{-3}
h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 8	h I g G 1	1 0 . 2	0.7×10^5	0.7×10^{-3}
h u 9 4 B 2 . v 1 0 5	h I g G 1	3 . 7	0.8×10^5	0.3×10^{-3}

10

表 1 1 : 表面プラズモン共鳴による、9 4 B 2 ヒト化変異形のスクリーニング

K_D (nM) のスクリーニング		9 4 B 2 軽鎖ヒト化変異形 :							
		L C 9	L C 1 0	L C 1 1	L C 1 2	L C 1 3	L C 1 4	L C 1 5	L C 1 6
9 4 B 2 重鎖ヒト 化変異形 :	H C 1	3 . 8 *	§	9 1 . 5	§	4 . 1 ¶	§	1 0 4 . 0	§
	H C 2	5 . 7	§	8 9 . 6	§	7 . 4	N T	9 9 . 6	§
	H C 3	2 . 0	§	6 9 . 3	§	3 . 8	§	6 4 . 1	§
	H C 4	6 1 . 9	§	§	§	6 4 . 1	§	§	§
	H C 5	2 . 7	§	6 2 . 6	§	4 . 0	§	7 2 . 6	§
	H C 6	0 . 9	§	7 0 . 1	§	3 . 0	§	7 4 . 1	§
	H C 7	5 2 . 9	§	§	§	5 7 . 8	§	§	§
	H C 8	1 . 0	§	4 4 . 3	§	2 . 4	§	5 1 . 5	§

20

30

40

* n = 3 回の反復の平均。

¶ h u 9 4 B 2 . v 1 0 5 .

§ 観察された T a u モノマーへの最小結合。

N T、試験せず。

50

【 0 4 1 3 】

実施例 5 : ヒト化抗 T a u 抗体の安定性分析

化学的不安定性の特定

抗体試料に熱応力をかけて、産生物の保存期間にわたる安定性を模倣した。試料を、20 m Mのアセート緩衝液 (p H 5 . 5) またはリン酸緩衝液 (p H 7 . 4) へと緩衝液交換し、1、g / m L の濃度に希釈した。1 m L の試料に40 で2週間応力をかけ、2番目を対照として-70 で保管した。次いで、トリプシンを使用して両方の試料を消化して、液体クロマトグラフィー (L C) - 質量分析法 (M S) 分析を使用して分析され得るペプチドを作製した。試料中の各ペプチドについて、L C からの保持時間、ならびに高解像度精密質量及びペプチドイオン断片化情報 (アミノ酸配列情報) を、M S において取得した。抽出イオンクロマトグラム (X I C) を、 ± 10 p p m のウィンドウにおけるデータ組から目的とされるペプチド (天然及び修飾ペプチドイオン) について行い、ピークを統合して、面積を決定した。 (修飾ペプチドの面積) を (修飾ペプチドの面積 + 天然ペプチドの面積) で除し、100を乗ずることによって、各試料に対する修飾の相対的パーセンテージを計算した。次いで、対照 (t = 0) 試料と応力をかけた (t = 2 週間) 試料の間のこれらの相対的パーセンテージを比較した。示されるパーセンテージは、応力をかけた (t = 2 週間) 値から対照 (t = 0) 値を引いたものを表す。抗体 h u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 及び h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 の脱アミド化分析は、軽鎖 C D R - 1 内の配列 N ²⁸ G ²⁹ N ³⁰ (K a b a t 番号付け) が脱アミド化を受けやすいという観察をもたらした。脱アミド化 N ²⁸ G ²⁹ N ³⁰ の増加は、h u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 では16 . 5 %、及び h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 では11 %であることが見出された。

【 0 4 1 4 】

抗原に結合する抗体に対する脱アミド化の影響

ヒト T a u への親和性に対する N ²⁸ 脱アミド化の影響を評価するために、広く分離された N ²⁸ 脱アミド化状態を有する2つの試料を得ることが望ましかった。H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 h I g G 4 . S 2 2 8 P を、リン酸緩衝食塩水 (p H 7 . 4) 中1 m g / m L の濃度で、40 で2週間インキュベートした。N ²⁸ G ²⁹ モチーフの脱アミド化を、L C - M S / M S を使用して測定した。t = 2 週間の応力をかけた試料は、t = 0 の応力をかけていない試料と比較して、43 . 1 % の増加脱アミド化を有した。G E B i a c o r e ヒト I g G 捕捉キット及び S e r i e s S C M 5 チップを使用する表面プラズモン共鳴 (B i a c o r e) によって、応力をかけた抗体及び応力をかけていない抗体を、T a u 結合について分析した。h I g G を、10 m M の H E P E S (p H 7 . 4) 、150 m M の N a C l 、0 . 0 5 % の T w e e n 2 0 (泳動緩衝液、H B S P) 中、2 μ g / m L まで希釈し、10 μ L / 分の流量で15秒間 (t 0 試料) または17秒間 (t 2 試料) 捕捉した。30 μ L / 分の流量、300秒間の会合相、及び1800秒間の解離相を使用して、H B S P 中、0、3 . 1、6 . 3、12 . 5、25、25、50、及び100 n M の濃度で注入されたヒト T a u モノマーの動態データを収集した。サイクル間に、10 μ L / 分での3 M の塩化マグネシウムの30秒間の注入を使用して、表面を再生させた。「R I」パラメータの局所フィッティングを含む機器初期設定を使用して、1 : 1 の結合モデルをデータにフィットさせた。図6及び表12に示す結果は、この実験では、応力をかけた抗体が応力をかけていない抗体よりも大きなレベルで固定化したものの、(パラメータ R m a x の大きさによって表される) T a u 結合シグナルの大きさは著しくより低かったことを示す。捕捉レベルの差異の R m a x 値を正規化した後、応力をかけた (t = 2 週間) 試料は、応力をかけていない試料のおよそ半分の総 T a u 結合能力を示すようであった (正規化 R m a x の56 % の低減によって示される) 。計算された親和性は、変化しないようであった。つまり、この分析では、t = 0 の試料と t = 2 週間の試料の間の K _D の差異は、2 % 未満であった (t = 0 及び t = 2 週間について、K _D = 0 . 7 n M) 。この結果は、有意に低減した高親和性抗体の集団を含有する t = 2 週間の試料と一貫する。

表12 : 表9 : 表面プラズモン共鳴による、モノマー T a u への、応力をかけた及び応力

をかけていない h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 試料の相対的結合

h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 h I g G 4 . S 2 2 8 P 試料	リガンドレベル (R U)	R m a x (R U)	正規化 R m a x (= R m a x / リガンドレベル)	正規化 R m a x の変化
対照 (t = 0)	1 0 2 . 9	4 7 . 7	0 . 4 6	該当なし
応力をかけたもの (t = 2 週間)	1 4 6 . 8	3 0 . 2	0 . 2 1	- 5 6 %

10

【 0 4 1 5 】

抗原に結合する抗体に対する、脱アミド化の影響及び「正規化 R m a x」の計算

アスパラギン脱アミド化が、アスパラギン酸及びイソアスパラギン酸産生物をもたらすことが予想されることを仮定して (B i s c h o f f R . & K o l b e H . V . J . (1 9 9 4) . J . C h r o m a t . 5 , 6 6 2 , p 2 6 1 - 2 7 8) 、ヒト T a u モノマーの親和性に対する、N^{2 8}をD^{2 8} (変異形 h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 N 2 8 D) で置換する影響を分析した。B i a c o r e T 2 0 0 機器、G E B i a c o r e ヒト I g G 捕捉キット及び C M 5 S e r i e s S チップを使用して、親和性を 2 5 で評価した。h I g G を、1 0 m M の H E P E S (p H 7 . 4) 、1 5 0 m M の N a C l 、0 . 0 5 % の T w e e n 2 0 (泳動緩衝液、H B S P) 中、2 μ g / m L まで希釈し、1 0 μ L / 分の流量で 2 2 秒間捕捉した。3 0 μ L / 分の流量、3 0 0 秒間の会合相、及び 6 0 0 秒間の解離相を使用して、H B S P 中、0、6 . 3、1 2 . 5、2 5、2 5、5 0、1 0 0、2 0 0、及び 4 0 0 n M の濃度で注入されたヒト T a u モノマーの動態データを収集した。サイクル間に、1 0 μ L / 分での 3 M の塩化マグネシウムの 3 0 秒間の注入を使用して、表面を再生させた。1 : 1 の結合モデルをデータにフィットさせ、動態分析を使用して、h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 及び h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 . 3 (本明細書において h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 . N 2 8 D と呼ばれる) の親和性を計算した。1 : 1 のフィッティングに使用されるパラメータは、「R I」パラメータの局所フィッティングの機器初期設定を含んだ。結果を、図 7 及び表 1 3 に示す。

20

30

【 0 4 1 6 】

h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 N 2 8 D 変異形の計算された K_D は、同一の条件下で分析した h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 の 1 . 5 × 1 0^{- 9} M (平均、n = 4 の実験内決定) と比較して、1 6 0 × 1 0^{- 9} M であった。したがって、N^{2 8}のD^{2 8}への転換は、親和性の 1 0 0 倍超の低減を引き起こす。h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 N 2 8 D 変異形の比較的低い親和性、及び比較的急速な動態を仮定して、本発明者らは、N^{2 8}変異形とD^{2 8}変異形との混合物の動態分析は、より高い親和性集団によって支配されると、及びより低い親和性の変異形の存在は、正規化 R m a x の低減によって反映される可能性がある と判断した。この判断を検証するために、抗体変異形 h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 及び h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 N 2 8 D の T a u 結合プロファイルを、等しい量とともに混合した 2 つの抗体の T a u 結合プロファイルと比較した。h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 単独と比較して、h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 と h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 N 2 8 D との 1 : 1 の混合物は、正規化 R m a x の 4 5 % の低減をもたらした (表 1 3) 。本発明者らは、熱応力時の正規化 R m a x の変化は、応力をかけた試料中での高親和性抗体の集団の低減を示す可能性がある と結論付けた。したがって、本発明者らは、正規化 R m a x の変化を使用して、h u 3 7 D 3 - H 9 の変異形を安定性の改善についてスクリーニングすることができると判断した。

40

表 1 3 : h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 の熱応力時、及び h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 と期待される脱アミド化産生物 h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 N 2 8 D との混合時に観察される正規

50

化 R m a x の変化

試料	K _D (nM)	R m a x (R U)	基準と比較 した、正規 化 R m a x の減少*	所見
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 h I g G 1	1 . 5 ± 0 . 2	7 6 . 1 ± 0 . 4	基準	4 つの実験内分 析の平均 + / - 標準偏差
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 N 2 8 D h I g G 1	1 6 0	8 1 . 0	4 %	
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 & h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 N 2 8 D h I g G 1	2 . 0	4 6 . 4	4 5 %	1 : 1 の比率で 混合した 2 つの 抗体
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 h I g G 4 . S 2 2 8 P , t = 0	1 . 5	6 8 . 8	3 %	応力をかけた試 料の対照
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 h I g G 4 . S 2 2 8 P , t = 2 w e e k s	1 . 5	3 3 . 4	5 4 %	応力をかけた試 料

10

20

30

* 正規化 R m a x = R m a x (R U) / リガンドレベル (R U) 。基準抗体の正規化 R m a x = 0 . 3 3 (4 つの実験内決定の平均、標準偏差 < 0 . 0 1) 。

【 0 4 1 7 】

抗体の最適化及び選択

90 個の 3 7 D 3 - H 9 変異形を B i a c o r e によって評価して、2 週間、40 での熱応力期間のありまたはなしでの、それらの機能的安定性を比較した。変異形は、N²⁸G²⁹N³⁰T³¹モチーフのほとんどの単一変異形、G 2 9 A 変異を含有する二重変異、それらを水素結合残基に機能的に置換し得る A s n - 2 8 及び T y r - 3 2 の二重変異、ならびに元の 3 7 D 3 - H 9 抗体中に存在する残基または対応する生殖細胞株残基変異形のいずれかとしての残基 2、4、3 3、及び 9 3 の全ての可能な並べ替えを含んだ。更に、A s n - 2 8 残基の親和性または安定性に影響を与えない、残基 1 が A s p または G l u である文脈において変異を試験した。

40

【 0 4 1 8 】

96 ウェル形式で、E x p i 2 9 3 細胞の一過性トランスフェクションによって抗体を発現させ、500 μL の M C A 9 6 ヘッドを有する T e c a n f r e e d o m E V O 2 0 0 液体ハンドリングシステム上で自動化精製を実行した。簡潔には、20 μL の M a b S e l e c t S u R e 樹脂 (G l y g e n C o r p & G E H e a l t h c a r e) でカスタム充填された先端カラムを使用して、1 mL の培養物中の I g G を捕捉した。

50

1 X P B S (p H 7 . 4) で洗浄した後、I g G を 1 6 0 μ L の 5 0 m M リン酸 (p H 3) 中に溶出させ、1 2 μ L の 2 0 X P B S (p H 1 1) で中和した。M a b S e l e c t S u R e 先端カラムを 0 . 1 M の N a O H 中で取り除き、1 X P B S (p H 7 . 4) で再生させて、最大 1 5 回連続使用した。H a m i l t o n S t a r 液体ハンドリングロボットを使用して、9 6 ウェル形式の精製された抗体を 0 . 1 m g / m L に正規化した。「応力前」試料をおよそ 4 で維持し、「応力後」試料を P C R 機械内、4 0 で 2 週間インキュベートした。表面プラズモン共鳴動態実験を実行することによって、「応力前」及び「応力後」抗体調製物と変異形の機能的安定性を比較した。G E B i a c o r e ヒト I g G 捕捉キット及び B i a c o r e T 2 0 0 機器を使用して生成された、ヒト抗体捕捉 C M 5 S e r i e s S チップを使用して、抗体を評価した。1 5 秒間の注入時間及び 1 0 μ L / 分の流量を使用して、2 μ g / m L まで希釈した抗体を固定化した。4 0 μ L / 分の流量使用時、2 5 での、0 n M、2 6 . 5 n M、及び 2 6 5 n M での T a u モノマーへの結合を、1 8 0 秒間の会合相の間、その後、3 0 0 秒間の解離相の間監視した。複数サイクル動態形式を使用して、試料を、1 0 m M の H E P E S (p H 7 . 4)、1 5 0 m M の N a C l、0 . 0 5 % の T w e e n 2 0 (H B S P) 中に泳動させた。B I A e v a l u a t i o n ソフトウェアを使用して、データを分析し、1 : 1 の結合モデルにフィットさせた。結果として生じる親和性 (K_D) 値を、図 8 A ~ D に示す。(例えば、重要な残基の脱アミド化のために) 親和性が損なわれた抗体が、I g G 捕捉レベル (「リガンドレベル」) には等しく寄与するが、測定される T a u 結合にはより少ない寄与をすることが予想されるという理論的根拠、及びこれが実験的に導き出される R m a x の値に反映される理論的根拠を使用して、安定性指数もまた計算した。捕捉される各抗体の量の変化を説明するために、R m a x を (「リガンドレベル」、つまり抗体捕捉中に固定化される応答単位によって測定される) 抗体捕捉レベルについて正規化した。したがって、正規化 R m a x は、「リガンドレベル」(h I g G 捕捉ステップ中に捕捉された R U を表す評価結果、単位 = R U) で割った実験的 R m a x (単位 = R U) として計算され、安定性指数は、本明細書において、正規化 R m a x (応力後) を正規化 R m a x (応力前) で割ったものとして計算される。

【 0 4 1 9 】

選択された抗体を、C H O 細胞の一過性トランスフェクションによって発現させ、精製した。次いで、抗体に 1 m g / m L で 2 週間応力をかけ、D T T 還元による R C M トリプシンペプチドマッピング、I A A キャッピング、及び p H 8 . 2 消化を使用して、L C - M S / M S によって脱アミド化分析した。結果 (表 1 4) は、変異形 h u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4 が、N ^{2 8} G ^{2 9} N ^{3 0} モチーフ上の脱アミド化に対する感受性を低減したことを示した。残基は、A s n - 2 8 残基の側近に位置せず (図 9)、F 3 3 L 変異がどのように A s n - 2 8 を安定化し得るかが明らかでないため、h u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4 の脱アミド化の低減は予想外であった。

表 1 4 : 脱アミド化への応力試験における h u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4 変異形の安定性

抗体		熱応力条件	軽鎖 N ²⁸ G ²⁹ N ³⁰ の脱アミド化の増加
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 1	h I g G 1	アセテート緩衝液中 4 0 °C、p H 5 . 5	1 6 . 5 %
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5	h I g G 1	アセテート緩衝液中 4 0 °C、p H 5 . 5	1 1 %
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4	h I g G 1	アセテート緩衝液中 4 0 °C、p H 5 . 5	N ²⁸ : 2 . 8 % N ³⁰ : 0 . 2 %
		P B S 中 3 7 °C、p H 7 . 4	N ²⁸ : 5 . 3 % N ³⁰ : N D
	h I g G 4 . S 2 2 8 P . Y T E	アセテート緩衝液中 4 0 °C、p H 5 . 5	N ²⁸ : 0 % N ³⁰ : 0 %
		P B S 中 3 7 °C、p H 7 . 4	N ²⁸ : 1 0 . 4 % N ³⁰ : 2 . 0 %

10

20

【 0 4 2 0 】

実施例 6 : ヒト化抗 T a u 抗体選択及び特性評価

抗体選択及び特性評価 : ヒト T a u タンパク質への結合

B i a c o r e T 2 0 0 機器、G E B i a c o r e ヒト I g G 捕捉キット及び C M 5 S e r i e s S チップを使用して、選択された抗体の親和性を 2 5 で評価した。h I g G を、1 0 m M H E P E S (p H 7 . 4)、1 5 0 m M の N a C l、0 . 0 5 % の T w e e n 2 0 (泳動緩衝液、H B S P) 中、0 . 2 5 μ g / m L まで希釈し、1 0 μ L / 分の流量で 1 5 0 秒間捕捉した。3 0 μ L / 分の流量、3 0 0 秒間の会合相、及び 6 0 0 秒間の解離相を使用して、H B S P 中、0、0 . 4、1 . 2、3 . 7、1 1、1 1、3 3、及び 1 0 0 n M の濃度で注入されたヒト T a u モノマーの動態データを収集した。サイクル間に、1 0 μ L / 分での 3 M の M g C l の 2 回連続の 3 0 秒間の注入を使用して、表面を再生させた。データを 1 : 1 の結合モデルにフィットさせた (表 1 5)。

30

表 1 5 : 選択されたヒト化抗 T a u 抗体変異形の動態データ

抗体	アイソタイプ	K_D (nM)	k_{on} (1 / M s)	k_{off} (1 / s)
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4	h I g G 1	1 . 5	$6 . 9 \times 10^5$	$1 . 1 \times 10^{-3}$
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5	h I g G 1	1 . 0	$7 . 5 \times 10^5$	$0 . 8 \times 10^{-3}$
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5	h I g G 4 . S 2 2 8 P	1 . 3	$7 . 1 \times 10^5$	$0 . 9 \times 10^{-3}$
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 1	h I g G 4 . S 2 2 8 P	2 . 0	$6 . 7 \times 10^5$	$1 . 3 \times 10^{-3}$

10

20

【 0 4 2 1 】

抗体特性評価：h I g G 4 . S 2 2 8 P . Y T E フォーマットのヒト T a u タンパク質への結合

B i a c o r e T 2 0 0 機器、G E B i a c o r e ヒト F A b 捕捉キット及び C M 5 S e r i e s S チップを使用して、親和性を 2 5 で評価した。h I g G を、1 0 m M の H E P E S (p H 7 . 4)、1 5 0 m M の N a C l、0 . 0 5 % の T w e e n 2 0 (泳動緩衝液、H B S P) 中、0 . 5 μ g / m L まで希釈し、1 0 μ L / 分の流量で 1 8 0 秒間捕捉した。3 0 μ L / 分の流量、3 0 0 秒間の会合相、及び 6 0 0 秒間の解離相を使用して、H B S P 中、0、0 . 4、1 . 2、3 . 7、1 1、1 1、3 3、及び 1 0 0 n M の濃度で注入されたヒト T a u モノマーの動態データを収集した。サイクル間に、1 0 m M のグリシン (p H 2 . 1) の 2 回連続の 6 0 秒間の注入を使用して、表面を再生させた。データを 1 : 1 の結合モデルにフィットさせた。動態データを表 1 6 に示す。

30

表 1 6 : 表面プラズモン共鳴による、ヒト T a u への、h u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 . S 2 2 8 P . Y T E の結合動態

抗体	抗体調製物	K_D (nM)	k_{on} (1 / M s)	k_{off} (1 / s)
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4	調製物 1	1 . 4	6×10^5	9×10^{-4}
h I g G 4 . S 2 2 8 P . Y T E	調製物 2	1 . 4	6×10^5	9×10^{-4}

40

【 0 4 2 2 】

抗体特性評価：カニクイザル T a u タンパク質への結合

B i a c o r e T 2 0 0 機器、G E B i a c o r e ヒト I g G 捕捉キット及び C M 5 S e r i e s S チップを使用して、親和性を 2 5 で評価した。h I g G を、1 0 m M の H E P E S (p H 7 . 4)、1 5 0 m M の N a C l、0 . 0 5 % の T w e e n 2 0 (泳動緩衝液、H B S P) 中、2 μ g / m L まで希釈し、1 0 μ L / 分の流量で 1 5 秒間

50

捕捉した。1.2 ~ 100 nMの間の最低5つの異なる非ゼロ濃度（1つの反復濃度）で注入されたヒトTauモノマーの動態データを収集した。30 µL / 分の流量、300秒間の会合相、及び600秒間の解離相を使用して、動態を評価した。サイクル間に、10 µL / 分の流量で、3 Mの塩化マグネシウムの30秒間の再生注入を実行した。結果を1 : 1の結合モデルにフィットさせた。動態データを表17に示す。

表17：モノマーカニクイザルTauのヒト化抗Tau抗体の親和性

抗体	リガンドレ ベル (RU)	R m a x (RU)	K _D (nM)	k _{on} (1 / Ms)	k _{off} (1 / s)
h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4	1 1 3 . 9	6 2 . 6	0 . 7	1.7×10^{-5}	1×10^{-3}
h u 3 7 D 3 . v 2 8 . F 1	1 2 6 . 9	6 1 . 2	1 . 3	1.2×10^{-5}	2×10^{-3}
h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 1 2	1 6 2 . 6	8 5 . 2	1 . 0	1.7×10^{-5}	2×10^{-3}
h u 3 7 D 3 . v 2 9 . 2	1 6 8 . 6	8 6 . 0	1 . 4	1.7×10^{-5}	2×10^{-3}
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5	1 2 5 . 1	5 5 . 5	0 . 6	1.5×10^{-5}	1×10^{-3}
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 1	1 3 0 . 2	5 1 . 7	0 . 8	2.0×10^{-5}	1×10^{-3}

【0423】

ヒト化抗体 h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 及び h u 3 7 D 3 . v 2 8 . F 1 もまた、リン酸化Tau (pTau) に結合する。

【0424】

実施例7：抗Tau抗体の薬物動態

インビボでの抗Tau 37 D 3 - H 9 m I g G 2 a 抗体の薬物動態を評価するために、C57BL / 6マウス（意識のあるマウス）に、10 mg / kgの用量で単回静脈内（IV）または腹腔内（IP）ボラス注入を投与した。投与後最大28日目までの様々な時点で、血漿試料を収集して、抗Tau抗体濃度を決定した。

【0425】

マウス血漿中の投薬された抗体の濃度を、マウス抗m u I g G 2 a 抗体コートを使用し、一般的ELISAで測定し、その後、1 : 100の希釈度で開始して血漿試料を添加し、マウス抗m u I g G 2 a - ビオチン複合体、次いで、検出のために西洋ワサビペルオキシダーゼに複合体化されたストレプトアビジンを添加することによって終了した。アッセイは、1.56 ~ 200 ng / mLの標準的曲線範囲、及び0.16 µg / mLの検出限界を有した。この検出限界未満の結果を、報告可能未満（LTR）として報告した。

【0426】

図10は、抗Tau 37 D 3 - H 9 m I g G 2 a の薬物動態分析の結果を示す。抗Tau 37 D 3 - H 9 m I g G 2 a は、野生型C57BL / 6マウスにおいてアイソタイプ対照抗体と同様の曝露及びクリアランスを有し、クリアランスは6.31 mL / 日 / kgであった。

【 0 4 2 7 】

インビボでの抗 T a u 9 4 B 2 - C 1 m I g G 2 a 及び抗 t a u 1 2 5 B 1 1 - H 3 m I g G 2 a の薬物動態を評価するために、意識のある C 5 7 B L / 6 マウスに、1 0 m g / k g の用量で抗体の単回腹腔内ボーラス注入を投与した。投与後最大 2 8 日目までの様々な時点で、血漿試料を収集して、抗 T a u 抗体濃度を決定した。

【 0 4 2 8 】

マウス血漿中の投薬された抗体の濃度及びを、マウス抗 m u I g G 2 a 抗体コートを使用して一般的 E L I S A で測定し、その後、1 : 1 0 0 の希釈度で開始して血漿試料を添加し、マウス抗 m u I g G 2 a - ビオチン複合体、次いで、検出のために西洋ワサビペルオキシダーゼに複合体化されたストレプトアビジンを添加することによって終了した。アッセイは、0 . 7 8 ~ 1 0 0 n g / m L の標準的曲線範囲、及び 0 . 0 7 8 μ g / m L の検出限界を有した。濃度はまた、組み換え T a u をコートとして使用して特異的 E L I S A でも測定し、その後、1 : 1 0 の希釈度で開始して血漿試料を添加し、検出のために西洋ワサビペルオキシダーゼに複合体化されたヤギ抗 m I g G 2 a を添加することによって終了した。アッセイは、0 . 0 7 8 ~ 1 0 n g / m L の標準的曲線範囲、及び 0 . 0 0 0 8 μ g / m L の検出限界を有した。この検出限界未満の結果を、報告可能未満 (L T R) として報告した。

【 0 4 2 9 】

これらの実験の結果を図 1 6 及び 1 7 に示す。一般的アッセイを使用して濃度を分析した場合、抗 T a u 9 4 B 2 m I g G 2 a は、野生型 C 5 7 B L / 6 マウスにおいてアイソタイプ対照抗体と同様の曝露及びクリアランスを有したが、特異的アッセイを使用して濃度を分析した場合、より低い曝露及びより速いクリアランスを有した。図 1 6 を参照されたい。一般的アッセイによって決定されるクリアランスは、4 . 0 6 m L / 日 / k g であり、特異的アッセイによって決定されるクリアランスは、7 . 5 3 m L / 日 / k g であった。これらの結果は、抗体が、その標的を認識するその能力を損なうインビボ変化を経時的に受ける可能性があることを示唆する。抗 T a u 1 2 5 B 1 1 - H 3 m I g G 2 a は、どのアッセイが濃度を生成したかに関わらず、野生型 C 5 7 B L / 6 マウスにおいてアイソタイプ対照抗体と同様の曝露及びクリアランスを有した。図 1 7 を参照されたい。一般的アッセイによって決定されるクリアランスは、4 . 9 6 m L / 日 / k g であり、特異的アッセイによって決定されるクリアランスは、4 . 9 0 m L / 日 / k g である。

【 0 4 3 0 】

表 1 8 は、マウスにおける抗 T a u 抗体 3 7 D 3 - H 9 、 9 4 B 2 - C 1 、及び 1 2 5 B 1 1 - H 3 の薬物動態パラメータを示す。

表 1 8 : 抗 T a u 抗体の薬物動態パラメータ

	投与経路	アッセイ	C m a x (μ g / m L)	A U C i n f (μ g / m L * 日)	C L または C L / F (m L / 日 / k g)
3 7 D 3 - H 9	静脈内 腹腔内	一般的	1 8 5	1 5 9 0	6 . 3 1
		一般的	1 0 7	1 6 8 0	6 . 7 6
9 4 B 2 - C 1	腹腔内 腹腔内	一般的	1 5 1	2 4 6 0	4 . 0 6
		特異的	1 4 1	1 3 3 0	4 . 9 1
1 2 5 B 1 1 - H 3	腹腔内 腹腔内	一般的	1 2 7	2 0 2 0	4 . 9 6
		特異的	1 5 1	2 0 4 0	4 . 9 0

【 0 4 3 1 】

h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 . S 2 2 8 P 及び h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A

4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E 抗体の薬物動態を評価するために、カニクイザル (M a c a c a f a s c i c u l a r i s) (意識のあるサル) に、1 m g / k g の用量で単回静脈内ボラス注入を投与した。投与後最大 4 9 日目までの様々な時点で、血漿試料を収集して、抗 T a u 抗体濃度を決定した。

【 0 4 3 2 】

サル血漿中の投薬された抗体の濃度及びを、ヒツジ抗ヒト I g G 抗体コートを使用して一般的 E L I S A で測定し、その後、1 : 1 0 0 の希釈度で開始して血漿試料を添加し、検出のために西洋ワサビペルオキシダーゼに複合体化されたヤギ抗ヒト I g G を添加することによって終了した。アッセイは、0 . 1 5 6 ~ 2 0 n g / m L の標準的曲線範囲、及び 0 . 0 2 μ g / m L の検出限界を有した。この検出限界未満の結果を、報告可能未満 (L T R) として報告した。

10

【 0 4 3 3 】

図 1 1 は、h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 . S 2 2 8 P 及び h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E の薬物動態分析の結果を示す。図 1 1 において、各組のデータ点は 1 匹の動物を表し、線は抗体及びアッセイ群内の全ての動物の平均を表す。表 1 9 は、カニクイザルにおける h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 . S 2 2 8 P 及び h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E の薬物動態パラメータを示す。

表 1 9 は、カニクイザルにおける h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 . S 2 2 8 P 及び h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E の薬物動態パラメータ

20

抗体	アッセイ	C m a x (μ g / m L)	A U C i n f (日 * μ g / m L)	C L (m L / d a y / k g)	V s s (m L / k g)
抗 g D h l g G 4	一般的	3 4 . 6	3 8 6	2 . 6 6	5 5 . 5
h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 . S 2 2 8 P	一般的 特異的	3 5 . 7 ± 2 . 5 9 3 5 . 4 ± 1 . 3 7	5 5 9 ± 2 0 9 4 1 9 ± 8 9 . 9	1 . 9 7 ± 0 . 7 4 3 2 . 4 7 ± 0 . 5 8 1	7 1 . 9 ± 1 6 . 0 6 0 . 8 ± 3 . 4 9
h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 . S 2 2 8 P . Y T E	一般的 特異的	3 4 . 5 ± 5 . 2 3 3 3 . 5 ± 2 . 7 2	5 7 8 ± 4 3 . 5 5 2 0 ± 3 9 . 0	1 . 7 4 ± 0 . 1 2 5 1 . 9 3 ± 0 . 1 3 9	6 0 . 5 ± 1 . 8 7 5 6 . 5 ± 4 . 9 0

30

【 0 4 3 4 】

実施例 8 : 抗 T a u 抗体の更なるエピトープ特性評価

ビオチン標識された T a u モノマー及びビオチン標識されたペプチド (M A P T _ 1 0 - 2 4) への 3 7 D 3 - H 9 結合の比較後、追加のビオチン標識されたペプチドへの 3 7 D 3 - H 9 の結合もまた、評価した。N u n c m a x i s o r p の 9 6 ウェルマイクロプレート、4 で 1 2 時間超、5 0 m M の炭酸ナトリウム緩衝液 (p H 9 . 6) 中 2 μ g / m L に希釈したニュートラアビジンでコーティングした。その後の全てのインキュベーションは、室温で実行した。コーティング後、プレートを S u p e r b l o c k (商標) (P B S) 遮断緩衝液 (T h e r m o F i s h e r S c i e n t i f i c) で 2 時間遮断し、次いで、P B S 、 0 . 0 5 % のポリソルベート 2 0 で徹底的に洗浄した。次いで、1 μ g / m L のビオチン標識された T a u ペプチド (表 2 0) または A v i タグでビ

40

50

オチン標識されたTauモノマーにウェルを1時間暴露し、既にあるように洗浄した。標準的固相Fmoc化学を使用して、ペプチドを合成した（例えば、Fmoc solid phase peptide synthesis: A practical approach; Chan, W. C., White, P. D., Eds.; Oxford University Press: New York, 2000を参照）。90%のSuperblock（商標）（PBS）遮断緩衝液中、500nMから50pMまで段階希釈した抗体37D3-H9 mlgG2a及びhu37D3-H9.v5 hIgG1を、ビオチン標識されたTauでコーティングされたウェルに90分間結合させた。ウェルを既にあるように洗浄し、Superblock（商標）遮断緩衝液（それぞれ、ウサギ抗マウスIgGまたはヤギ抗ヒトIgG（H+L））中1/1000に希釈したペルオキシダーゼ複合体化二次抗体（Invitrogen/Life Technologies）で結合した抗体を検出した。20分後、ウェルを既にあるように洗浄し、TMB Microwell 2-Component Substrate（KPL）でシグナルを発生させた。1Mのリン酸を添加することによって反応を停止させ、SpectraMax M2プレートリーダーで450nmでの吸光度を測定した。

表20：ペプチド配列

MAPT配列	ペプチド配列	配列番号
MAPT（10-24）	VMEDHAGTYGLGDRK	592
MAPT（2-24）	AEP RQEF E VMEDHAGTYGLGDRK	593
MAPT（2-34）	AEP RQEF E VMEDHAGTYGLGDRK DQG GY TMHQD	594
MAPT（10-44）	VMEDHAGTYGLGDRK DQG GY TMHQD QEGD TDAGLK	595

【0435】

その実験の結果を図12に示す。図12Aは、示されるペプチドへの、示される抗体のそれぞれの結合を示す。その実験において、抗体37D3-H9及び94B2-C1はともに断片10～24に強い結合を示し、抗体94B2-C1もまた断片1～15に強い結合を示した。抗体19F8-C11及び123E9-A1は断片19～33に強い結合を示した一方で、抗体89F4-A1は断片28～42及び37～51に強い結合を示した。図12Aを参照されたい。抗体37D3-H9 mlgG2a及びhu37D3-H9.v5 hIgG1はともにTau断片2～24及び2～34に強い結合を示し、断片10～24に弱い結合を示した。図12B及び12Cを参照されたい。これらの結果は、抗体37D3-H9 mlgG2a及びhu37D3-H9.v5 hIgG1が、成熟タンパク質のアミノ酸2～24内のTauのエピトープに結合することを示唆する。

【0436】

アラニンスキャニング置換実験において、変異Y18A及びL20Aは、マウス抗体37D3-H9によるTau断片（断片2～21）への結合を抑止することが見出され、これは、抗体がこれらのTau残基に接触することを示唆した。一連の15アミノ酸長のオフセットペプチドを使用すると、マウス抗体37D3-H9が、断片10～24と同様の断片9～23への結合を示すことが見出され、断片7～21、8～22、及び11～25への中程度の結合もまた示された。

【0437】

実施例9：37D3-H9ヒト化抗体の細胞に基づく特性評価

方法

一次海馬及びミクログリア培養物ならびに海馬-ミクログリア共培養物

胎生期（16～17日）の野生型C57BL/6Nマウスから、解離した一次海馬ニューロンを調製した。細胞を、PDL/ラミニンでコーティングされた8ウェルのチャンバースライド（Biocoat、354688 Corning）上に25,000個の細胞/ウェルでプレーティングした。細胞をプレーティングし、NbActiv4（Brain Bits）中で維持し、半分の培地を1週間に2回交換した。組み換えtau及び抗体を、18細胞分裂で培養物に適用した。

【0438】

ミクログリア培養物について、出生後1～2日のC57BL/6Nマウスに由来する皮質及び海馬を解離させ、225mm²の培養フラスコ内、DMEM中10%のFBS中で10～12日間成長させた。培養フラスコを穏やかに振盪してミクログリア解離させ、DMEM中10%のFBS中の細胞を、撮像のために、30,000個の細胞/ウェルでPDL/ラミニンでコーティングされた8ウェルのチャンバースライド上に、またはサイトカインアッセイのために、100,000個の細胞/ウェルでコーティングされていない48ウェルプレート（3548、Corning）上にのいずれかに再プレーティングした。プレーティングの4～5時間後、細胞を無血清低グルコースDMEMに交換し、一晚維持してから、組み換えtau及び抗体で処理した。

10

【0439】

225mm²の培養フラスコから解離させたミクログリアを、8ウェルのスライドチャンバ（1ウェル当たり12,500個のミクログリア及び25,000個のニューロン）中、インビトロでの培養日数が18日の一次海馬ニューロン上に再プレーティングすることによって、海馬-ミクログリア共培養物を調製した。ミクログリアプレーティングの4時間後、共培養物を組み換えtau及び抗体で処理した。

20

【0440】

組み換えtau及び抗体のインビトロ処理

インビトロでの培養日数が18日の海馬培養物または海馬-ミクログリア共培養物について、組み換えヒトオリゴマーtau及び抗体（1：1比率で各500nM）または対照を、37℃で、ニューロン培養培地（インビトロでの培養日数が18日の海馬培養物：新鮮なNbActiv4（1：1）に由来する馴化培地）中で1時間プレインキュベートしてから、それらを細胞に添加した。細胞を、培地中、tau抗体混合物または対照とともに72時間（海馬培養物）または48時間（海馬-ミクログリア共培養物）インキュベートした。細胞をPBSで3回洗浄してから、固定した。

30

【0441】

ミクログリア培養物について、組み換えヒトオリゴマーtau及び抗体または対照を、血清の不在下、37℃で、低グルコースDMEM中、各125nM（免疫細胞化学/撮像法）または各250nM（サイトカインアッセイ）で1時間プレインキュベートしてから、細胞に添加した。免疫細胞化学/撮像法について、細胞をtau抗体混合物または対照とともに10分間インキュベートし、PBSで3回洗浄してから、固定した。サイトカインアッセイについて、細胞をtau抗体混合物または対照とともに24時間インキュベートし、各ウェルの培地をサイトカインアッセイのために収集した。

40

【0442】

免疫細胞化学、撮像法、及び定量化

細胞をPBS中4%のパラホルムアルデヒドで15分間固定、PBS中0.1%のTriton X-100で10分間透過処理した。遮断に10%のロバ血清を使用し、細胞を、4℃、PBS中で一次抗体とともに一晚インキュベートし、その後、ロバにおいて発達される適切な種（Invitrogen）に対して、Alexa-フルオロフォアで標識された二次抗体とともにインキュベートした。使用した一次抗体は、抗tau（DAKO）（アミノ酸11～24に及ぶヒトtau N末端領域に対して発達した、ウサギ抗ヒトtau）、抗MAP2（ab5392、Abcam）、及び抗Iba-1（ab5076、Abcam）であった。スライドをProlong Gold DAPI（P36935、Invitrogen）及び1番カバースリップとともにマウントした。

50

【0443】

Zen2010ソフトウェア(Carl Zeiss, Inc.)を使用するLSM780(Carl Zeiss, Inc.)によって、共焦点蛍光撮像法を実行した。海馬培養物及び海馬-ミクログリア共培養物の撮像のために、Plan Apochromat 20kakeru/0.8M27対物レンズを使用して、0.98 μ m間隔の5つのzスタック画像を収集した。MAP2断片化アッセイのために、画像スタックの最大強度のz投射を作製し、Metamorph(Molecular Devices, Sunnyvale, CA)を使用して分析した。メジアンフィルタ及び最近傍逆重畳を、ノイズ低減に使用した。神経突起成長モジュール、その後、形態学的処理を使用して、神経突起及び細胞体長を分析した。15ピクセル(6.225 μ m)未満の断片を、総シグナル長に対して正規化して、MAP2断片化の基準を得た。

10

【0444】

α -Plan Apochromat 100 $\times$ /1.46 M27対物レンズで、ミクログリアを撮像した。Image J(1.43u、64ビット、National Institute of Health)で、細胞内での組み換えtauの取り込みの定量化を実行した。Iba-1シグナルを基準として使用して、細胞面積の関心領域を手作業で描いた。関心領域のtau免疫活性の面積及び統合強度を測定して、面積に対して正規化されたtau免疫活性を得た。全ての分析は、実験条件に対して盲検方式で実行した。

20

【0445】

結果

この実験の結果を図13に示す。図13Aに示すように、完全なエフェクター機能を有する抗体は、ニューロン-ミクログリア共培養物中、Tau毒性に対して保護されなかった。図13Bは、オリゴマーTau及び抗体と接触したニューロン-ミクログリア共培養物の画像(下部パネル)を示す。エフェクター機能を欠く抗体37D3-H9 hIgG4及びhu37D3-H9 hIgG1(N297G)はTau毒性に対して保護されていた一方で、37D3-H9 hIgG1は保護されていなかった。

【0446】

実施例10: 37D3-H9 IgG2aまたは37D3-H9 IgG2a DANGを投与したTau Tgマウスにおける、Tau病理の用量依存性低減

30

Thy1プロモーター下、ヒトTau P301Lを発現するトランスジェニックマウス(Tau P301L-Tg)を、C57BL/6N(Charles River)バックグラウンド上で維持した。Tau P301L-Tg及び野生型のマウスの同腹仔を治療群に割り当て、1週間に1回、30mg/kgのIgG2a対照(抗gp120)、3、10、または30mg/kgの抗tau37D3-H9 WT IgG2a、3、10、または30mg/kgの抗tau37D3-H9 DANG IgG2aのいずれかを、腹腔内(i.p.)に投薬した。DANGとは、IgG2aにおけるD265A/N297G変異を指し、これはエフェクター機能を抑止する。全ての抗体投薬溶液は、10mMのヒスチジン(pH5.8)、6%のスクロース、0.02%のTween20中に10mg/mLの濃度で調製した。治療は、生後13週間で開始した。インビボ研究のマウス群はオスであり、3つのコホートへとずらした。更に、いかなる治療も受けさせることなく、3匹のTau P301L-Tgマウスを生後3ヶ月で採取して、治療開始時の病理のベースラインレベルを決定した。

40

【0447】

組織を採取するために、2.5%のトリプロモエタノール(25gの体重当たり0.5mL)でマウスを麻酔し、PBSで経心灌流した。脳を採取し、二分した。右半球を4%のパラホルムアルデヒド中に4で一晩固定し、次いで、リン酸緩衝食塩水に移してから、免疫組織化学的検査のために処理した。左半球を氷上で解剖分割し、次いで、生化学的分析のために-80で凍結させた。全てのマウスから尾クリップを取って、遺伝子型を確認した。

50

【0448】

M u l t i B r a i n (登 録 商 標) ブ ロ ッ ク (N e u r o S c i e n c e A s s o c i a t e s , K n o x v i l l e , T N) を 使 用 し て 、 ゼ ラ チ ン マ ト リ ッ ク ス に 半 脳 を 多 重 包 埋 処 理 し 、 2 5 μ m の 厚 さ で 冠 状 に 切 開 し た 。 各 ブ ロ ッ ク 内 で 、 遺 伝 子 型 及 び 治 療 に 対 し て 脳 の 位 置 を ラ ン ダ ム 化 し た 。 個 々 の マ ウ ス の 半 脳 ま た は M u l t i B r a i n (登 録 商 標) ブ ロ ッ ク の 浮 遊 切 片 を 既 に 記 載 さ れ る よ う に (L e P i c h o n e t a l . , 2 0 1 3 , P L o S O n e , 8 (4) : e 6 2 3 4 2) 染 色 し た が 、 T r i s 緩 衝 食 塩 水 の 代 わ り に P B S で 洗 浄 し 、 室 温 の 代 わ り に 4 で 一 次 抗 体 イ ン キ ュ ベ ー シ ョ ン し た 。 一 次 抗 体 は 、 ウ サ ギ 抗 p T a u 2 1 2 / 2 1 4 (自 家 生 成 、 0 . 0 1 μ g / m L) で あ っ た 。 高 バ ッ ク グ ラ ウ ン ド 染 色 を 回 避 す る た め に 、 サ ブ タ イ プ 特 異 的 な マ ウ ス 一 次 抗 体 の 場 合 、 本 発 明 者 ら は 、 対 応 す る サ ブ タ イ プ 特 異 的 二 次 抗 体 (例 え ば 、 ビ オ チ ン 標 識 さ れ た 抗 マ ウ ス I g G 3 、 B e t h y l A 9 0 - 1 1 1 B) を 使 用 し た 。

10

【0449】

2 0 0 $\times$ 拡 大 率 の ス ラ イ ド ス キ ャ ニ ン グ シ ス テ ム 及 び 0 . 5 μ m / ピ ク セ ル の 解 像 度 で あ る 、 L e i c a S C N 4 0 0 (L e i c a M i c r o s y s t e m s ; B u f f a l o G r o v e , I L) を 使 用 し て 、 免 疫 組 織 化 学 染 色 し た ス ラ イ ド を 撮 像 し た 。 1 匹 の 動 物 当 たり 4 つ の 一 致 し た 海 馬 レ ベ ル 上 に 、 関 心 領 域 (R O I) を 手 作 業 で 描 き 、 そ れ ら の R O I 内 の 染 色 の 量 を 、 以 下 に 記 載 さ れ る 2 つ の エ ン ド ポ イ ン ト を 使 用 し て 自 動 化 し た 様 式 で 定 量 化 し た 。 全 て の 画 像 分 析 は 、 遺 伝 子 型 及 び 治 療 群 に 対 し て 盲 検 方 式 で 実 行 し た 。 I H C 染 色 の 定 量 化 の た め の 正 ピ ク セ ル 面 積 分 析 の た め に 、 抗 体 標 識 さ れ た 脳 切 片 の デ ジ タ ル 画 像 を 既 に 記 載 さ れ る よ う に 分 析 し た (L e P i c h o n e t a l . , 2 0 1 3) 。 総 正 ピ ク セ ル を R O I の 総 ピ ク セ ル 面 積 に 対 し て 正 規 化 す る こ と に よ っ て 、 染 色 さ れ た 面 積 パ ー セ ン ト を 計 算 し た 。 正 ピ ク セ ル 面 積 に の み 、 ラ ン ベ ル ト ・ ベ ー ル の 法 則 、 吸 光 度 = - l o g (伝 達 さ れ た 光 強 度 / 入 射 光 強 度) を 使 用 し て 、 統 合 強 度 を 計 算 し た 。

20

【0450】

そ の 実 験 の 結 果 を 図 1 4 に 示 す 。 抗 t a u 3 7 D 3 - H 9 W T I g G 2 a ま た は 抗 t a u 3 7 D 3 - H 9 D A N G I g G 2 a の 投 与 は 、 海 馬 内 で p T a u 2 1 2 / 2 1 4 の 用 量 依 存 性 の 低 減 を も た ら し た 。

30

【0451】

実 施 例 1 1 : ヒ ト 化 3 7 D 3 - H 9 カ ッ パ 1 変 異 形

カ ッ パ 1 軽 鎖 を 有 す る h u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 に 基 づ く ヒ ト 化 抗 体 変 異 形 を 作 製 し 、 N ^{2 8} 安 定 性 に つ い て 試 験 し た 。 h u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 で 試 験 し た 3 つ の 変 異 形 の 軽 鎖 可 変 領 域 の 整 列 を 、 図 1 8 に 示 す 。 3 つ の 変 異 形 の 軽 鎖 可 変 領 域 は 互 い に 異 な り 、 H u 3 7 D 3 . v 3 9 は 変 異 F 3 3 L を 含 有 し 、 H u 3 7 D 3 . v 4 0 は 変 異 G 2 9 T を 含 有 し 、 H u 3 7 D 3 . v 4 1 は 変 異 N 3 0 Q を 含 有 す る 。

40

【0452】

抗 体 試 料 に 以 下 の よ う に 熱 応 力 を か け た 。 試 料 を 、 2 0 m M の 酢 酸 ヒ ス チ ジ ン 、 2 4 0 m M の ス ク ロ ー ス 、 (p H 5 . 5) へ と 緩 衝 液 交 換 し 、 1 m g / m L の 濃 度 に 希 釈 し た 。 1 m L の 試 料 に 4 0 で 2 週 間 応 力 を か け 、 2 番 目 を 対 照 と し て - 7 0 で 保 管 し た 。 次 い で 、 ト リ プ シ ン を 使 用 し て 両 方 の 試 料 を 消 化 し て 、 液 体 ク ロ マ ト グ ラ フ ィ ー (L C) - 質 量 分 析 法 (M S) 分 析 を 使 用 し て 分 析 さ れ 得 る ペ プ チ ド を 作 製 し た 。 試 料 中 の 各 ペ プ チ ド に つ い て 、 L C か ら の 保 持 時 間 、 な ら び に 高 解 像 度 精 密 質 量 及 び ペ プ チ ド イ オン 断 片 化 情 報 (ア ミ ノ 酸 配 列 情 報) を 、 M S に お い て 取 得 し た 。 抽 出 イ オン ク ロ マ ト グ ラ ム (X I C) を 、 $\pm 1 0$ p p m の ウ イ ン ド ウ に お け る デ ー タ 組 か ら 目 的 と さ れ る ペ プ チ ド (天 然 及 び 修 飾 ペ プ チ ド イ オン) に つ い て 行 い 、 ピ ーク を 統 合 し て 、 面 積 を 決 定 し た 。 (修 飾 ペ プ チ ド の 面 積) を (修 飾 ペ プ チ ド の 面 積 + 天 然 ペ プ チ ド の 面 積) で 除 し 、 1 0 0 を 乗 る こ と に よ っ て 、 各 試 料 に 対 す る 修 飾 の 相 対 的 パ ー セ ン テ ー ジ を 計 算 し た 。 次 い で 、 対 照 (t = 0) 試 料 と 応 力 を か け た (t = 2 週 間) 試 料 の 間 の こ れ ら の 相 対 的 パ ー セ ン テ ー ジ を 比 較 し た 。 示 さ れ る パ ー セ ン テ ー ジ は 、 応 力 を か け た (t = 2 週 間) 値 か ら 対 照 (t = 0)

50

値を引いたものを表す。結果を表 2 1 に示す。結果は、F 3 3 L 変異が、カップ 1 ヒト化軽鎖内の脱アミド化の低減に有効であることを示す。

表 2 1 - 脱アミド化への応力試験における h u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 変異形の安定性

抗体		軽鎖 N ²⁸ G ²⁹ N ³⁰ の脱アミド化の増加
h u 3 7 D 3 . v 3 9	h I g G 4 . S 2 2 8 P . Y T E	N ²⁸ : 2 . 7 % N ³⁰ : 有意な増加は検出されず
h u 3 7 D 3 . v 4 0	h I g G 4 . S 2 2 8 P . Y T E	N ²⁸ : 1 2 . 1 % N ³⁰ : 3 . 9 %
h u 3 7 D 3 . v 4 1	h I g G 4 . S 2 2 8 P . Y T E	N ²⁸ : 6 . 0 % N ³⁰ : グルタミンで置換した残基

10

【 0 4 5 3 】

B i a c o r e T 2 0 0 機器、G E B i a c o r e ヒト F A b 捕捉キット、及び C M 5 S e r i e s S チップを使用して、ヒト化抗体変異形の親和性を 2 5 で測定した。抗体を、H B S P (1 0 m M の H E P E S (p H 7 . 4) 、 1 5 0 m M の N a C l 、 0 . 0 5 % の T w e e n 2 0) 中、1 μ g / m L まで希釈し、1 0 μ L / 分の流量で 1 8 0 秒間捕捉した。単一サイクル動態方法論及び 3 0 μ L / 分の流量を使用して、H B S P 中、1 . 2、3 . 7、1 1、3 3、及び 1 0 0 n M で注入されたヒト T a u モノマーの動態データを収集した。各濃度の T a u モノマーを 3 分間の間注入し、解離を 1 0 分間監視した。サイクル間に、1 0 m M のグリシン (p H 2 . 1) の 2 回連続の 1 分間の注入で、表面を再生させた。B I A E v a l u a t i o n ソフトウェアを使用して、データを 1 : 1 の結合モデルにフィットさせた。各抗体を実験内で 2 回分析し、表 2 2 のデータは平均 ± 範囲として示す。

20

表 2 2 : モノマー T a u への h u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 変異形の親和性

	K _D (n M)	k _{o n} (1 / M s)	K _{o f f} (1 / s)
h u 3 7 D 3 . v 1 h I g G 1	2 . 3 ± 0 . 3	6 ± 0 . 5 x 1 0 ⁵	1 ± 0 . 1 x 1 0 ⁻³
h u 3 7 D 3 . v 1 h I g G 4	2 . 3 ± 0 . 3	6 ± 0 . 2 x 1 0 ⁵	1 ± 0 . 1 x 1 0 ⁻³
h u 3 7 D 3 . v 3 9 h I g G 4 . Y T E	1 . 9 ± 0 . 2	6 ± 0 . 6 x 1 0 ⁵	1 ± 0 . 0 2 x 1 0 ⁻³
h u 3 7 D 3 . v 4 0 h I g G 4 . Y T E	4 . 4 ± 0 . 5	8 ± 0 . 9 x 1 0 ⁵	3 ± 0 . 0 2 x 1 0 ⁻³
h u 3 7 D 3 . v 4 1 h I g G 4 . Y T E	5 . 4 ± 0 . 3	9 ± 1 . 2 x 1 0 ⁵	5 ± 0 . 3 x 1 0 ⁻³

30

40

【 0 4 5 4 】

実施例 1 2 : カニクイザルにおける h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P 及び h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E の薬物動態及び薬力学

h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 . S 2 2 8 P 及び h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A

50

4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E 抗体の薬物動態及び薬力学を評価するために、1 群当たり5 匹の意識のあるカニクイザル (M a c a c a f a s c i c u l a r i s) に、第1 相において5 0 m g / k g の用量で単回静脈内ボラス注入を投与した。同様に5 0 m g / k g の用量で、抗 g D h I g G 4 を対照として使用した。投与後最大3 5 日目までの様々な時点で、血漿及びC S F 試料を収集して、抗 T a u 抗体濃度を決定した。最終試料収集後、第2 相の開始前に動物を6 3 ~ 6 4 日間回復させた。[参考] 第2 相において、第1 相の1 5 匹の動物 + 追加の3 匹の動物を2 つの群に分け、いずれも5 0 m g / k g で、第1 の群 (n = 9) に抗体 h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 . S 2 2 8 P を投与し、第2 の群 (n = 9) に h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E 抗体を投与した。投与後2 日目及び1 0 日目に、1 群当たり4 または5 匹の動物の脳を採取した。

10

【 0 4 5 5 】

カニクイザル血漿、C S F、及び脳ホモジネート (以下に記載) 内のヒト I g G 4 抗体を、ヒツジ抗ヒト I g G サル吸着抗体コートを使用して E L I S A で測定し、その後、1 : 1 0 0 の希釈度で開始して血漿試料を添加、1 : 2 0 の希釈度で開始して C S F 試料を添加、または1 : 1 0 の希釈度で開始してホモジネート試料を添加し、検出のためにサル吸着した西洋ワサビペルオキシダーゼに複合体化されたヤギ抗ヒト I g G 抗体を添加することによって終了した。3 , 3 ' , 5 , 5 ' - テトラメチルベンジジンを使用して色を発生させ、1 M のリン酸を使用して中和した。4 5 0 / 6 2 0 n m で試料を読み取った。アッセイは、0 . 1 5 6 ~ 2 0 n g / m L の標準的曲線範囲、ならびに血漿では0 . 0 2 μ g / m L、C S F では0 . 0 0 3 μ g / m L、及びホモジネートでは0 . 0 0 2 μ g / m L の検出限界を有する。この濃度未満の結果を、報告可能未満 (L T R) として報告した。

20

【 0 4 5 6 】

薬物動態分析の結果を、図 1 9 A (血漿) 及び 1 9 B (C S F)、ならびに表 2 3 及び 2 4 に示す。抗治療抗体陽性 (A T A +) であると疑われた動物は、分析から除外した。これらのデータは、h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 . S 2 2 8 P の F c 領域への Y T E 変異の導入が、約 2 倍だけ、抗体の抹消及び C S F クリアランス率を減速させたことを示す。

表 2 3 : 単回静脈内ボラス投与後の平均 (± 標準偏差) 血漿クリアランス及び C_{m a x} 推定

30

抗体	血漿クリアランス (m L / 日 / k g)	C _{m a x} (μ g / m L)
抗 g D h I g G 4	1 . 6 7 ± 0 . 4 1 5	1 9 5 0 ± 1 7 4
h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 . S 2 2 8 P	2 . 0 9 ± 0 . 2 2 9	1 9 7 0 ± 1 4 4
h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E	1 . 1 2 ± 0 . 2 3 3	1 8 5 0 ± 1 5 6

40

表 2 4 : 単回静脈内ボラス投与後の平均 (± 標準偏差) C S F C_{m a x} 推定

抗体	$C_{max} (\mu g / mL)$
抗 g D h I g G 4	1 . 3 9 ± 0 . 7 5 1
h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 . S 2 2 8 P	0 . 9 1 0 ± 0 . 5 5 2
h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E	2 . 5 1 ± 1 . 9 3

【 0 4 5 7 】

注入後 2 及び 10 日目の抗体の脳濃度を、以下のように決定した。脳組織を秤量し、次いで、c O m p l e t e (商 標)、M i n i、無 E D T A プロテアーゼ阻害剤カクテル錠剤を含有するリン酸緩衝食塩水中 1 % の N P - 4 0 中でホモジナイズした。次いで、ホモジナイズした脳試料を 4 で 1 時間回転させてから、14,000 r p m で 20 分間スピンのした。上記の E L I S A による脳抗体測定のために上清を単離させた。その実験の結果を図 2 1 A ~ D に示す。脳内の抗体 h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E の濃度、及び抗体 h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E の脳：血漿濃度の比率は、抗体 h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 . S 2 2 8 P よりも高い経口があった。

10

【 0 4 5 8 】

血漿中での薬力学的応答もまた、決定した。電気化学ルミネセンス (E C L) イムノアッセイ (R o c h e P r o f e s s i o n a l D i a g n o s t i c s (R P D) , P e n z b e r g , G e r m a n y) を使用して、 K_2 E D T A 血漿中の総 T a u の濃度を決定した。E l e c s y s (登 録 商 標) イムノアッセイをヒト C S F 中の総 T a u の定量化について検証し、ヒト T a u と カニクイザル T a u の間の類似性のために、C S F 及び血漿中のカニクイザル T a u の測定に許容されると見なされた。アッセイは、ヒト T a u 及びカニクイザル T a u のアミノ酸 1 5 9 ~ 2 2 4 (リン酸化状態とは独立して、全ての既知のアイソフォームに存在する領域) を捕捉し、検出する。アッセイの検出下限 (L D L) は、1 . 0 1 p g / m L である。アッセイは、1 5 . 0 m g / m L の H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E に耐性がある。

20

【 0 4 5 9 】

薬力学的分析の結果を図 2 0 に示す。A T A + であると疑われた動物、及びベースライン値を欠いた別の動物を除外した後、1 群当たり 3 匹の動物が存在した。驚くべきことに、投薬の第 1 日目の間に、血漿 T a u レベルは、非 Y T E 変異形で治療した動物に対して、Y T E 変異形で治療した動物において、より大きな程度まで上昇する。更に、初期時点では変異形間で P K は同様であるため、その結果は、薬物動態応答 (図 2 0) からは予想されていない。試料採取の期間全体にわたって Y T E 変異形で治療した動物では、より頑強な応答が持続される。

30

【 0 4 6 0 】

実施例 1 3 : カニクイザル脳における h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E の薬物動態及び薬力学

40

脳内の抗体薬物動態を評価するために、1 群当たり 1 2 匹の意識のあるカニクイザル (M a c a c a f a s c i c u l a r i s) に、5 0 m g / k g の用量で h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E の単回静脈内ボラス注入を投与した。同様に 5 0 m g / k g の用量で、抗 g D h I g G 4 を対照として使用した。投与後最大 4 2 日目までの様々な時点で、血漿試料を収集して、抗 T a u 抗体濃度を決定した。更に、最大 4 2 日目までの様々な時点で、2 匹のサルを屠殺し、抗体の脳及び C S F 濃度を決定した。

【 0 4 6 1 】

抗体濃度は、実質的に実施例 1 2 に記載されるように決定した。

【 0 4 6 2 】

50

図 2 2 A ~ B は、対数 (A) 及び直線 (B) スケールでプロットした、投与後の様々な時点でのカニクイザル脳内の抗体の濃度を示す。表 2 5 は、脳濃度パラメータを示す。

表 2 5 : 単回静脈内ボラス投与後の、平均 (± 標準偏差) 脳 P K パラメータ推定

群	C m a x (μ g / m l)	A U C a l l (日 * μ g / m L)
抗 g D h I g G 4	0 . 1 7 5 ± 0 . 0 2	4 . 2 6 ± 0 . 3 5
h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E	0 . 1 2 . ± 0 . 0 3	3 . 8 8 ± 0 . 8 9

10

h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E 抗体は、抗 g D と比較して、終了時点で脳濃度の増加を示した。

【 0 4 6 3 】

海馬、小脳、及び前頭皮質を含む、脳の様々な領域内の抗体の濃度もまた決定した。図 2 3 A ~ C 及び表 2 6 ~ 2 8 は、その分析の結果を示す。

表 2 6 : 単回静脈内ボラス投与後の、平均海馬 P K パラメータ推定

群	C m a x (μ g / m L)	A U C a l l (日 * μ g / m L)
抗 g D h I g G 4	0 . 1 5 9	3 . 9 5
h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E	0 . 0 8 7	2 . 8 7

20

表 2 7 : 単回静脈内ボラス投与後の、平均小脳 P K パラメータ推定

群	C m a x (μ g / m L)	A U C a l l (日 * μ g / m L)
抗 g D h I g G 4	0 . 1 9 6	4 . 3 0
h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E	0 . 1 3 9	4 . 5 6

30

表 2 8 : 単回静脈内ボラス投与後の、平均前頭皮質 P K パラメータ推定

群	C m a x (μ g / m L)	A U C a l l (日 * μ g / m L)
抗 g D h I g G 4	0 . 1 7	4 . 6 5
h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E	0 . 1 3 8	4 . 2 2

40

【 0 4 6 4 】

その実験の結果は、単回静脈内注射後の、h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E への、脳の様々な領域の曝露を示す。脳内の全体的曝露は 2 つの群にわたって同等であったが、血漿中での観察と同様に、抗 g D と比較して、抗体 h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E を投与した動物において、終了時点で、脳内の抗体濃度の約 2 倍の増加が存在した。図 2 3 を参照されたい。これらの結果は

50

、YTE抗体の投与後、脳内でのより高いトラフ（終了時）濃度の維持を示唆する。

【0465】

経時的なCSF及び血漿中での抗体の濃度もまた、決定した。図23D（CSF）及び23E（血漿）ならびに以下の表29及び30は、その分析の結果を示す。

表29：単回静脈内ボラス投与後の、平均CSF PKパラメータ推定

群	C m a x (μ g / m l)	A U C a l l (日 * μ g / m L)
抗 g D h I g G 4	1 . 2 7 0	1 8 . 4 0 0
h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E	3 . 9 8 0	2 1 . 1 0 0

10

表30：単回静脈内ボラス投与後の、平均血漿PKパラメータ推定

群	C m a x (μ g / m l)	T m a x 日数	A U C a l l (日 * μ g / m L)	最終 (4 3 日目) μ g / m L
抗 g D h I g G 4	0 . 1 7 5 $\pm$ 0 . 0 2	2	4 . 2 6 $\pm$ 0 . 3 5	3 6 . 3 $\pm$ 1 4 . 1
h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E	0 . 1 2 . $\pm$ 0 . 0 3	3	3 . 8 8 $\pm$ 0 . 8 9	8 9 . 4 $\pm$ 4 2 . 3

20

【0466】

再び、血漿及び脳薬物動態と同様に、抗gDと比較して、抗体hu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P.YTEを投与した動物において、終了時点で、CSF及び血漿中、約2倍の抗体濃度の増加が存在した。図23を参照されたい。

【0467】

カニクイザルから収集された血漿試料を使用して、単回静脈内50mg/kg投与後の抗体hu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P.YTE及び対照抗体の血漿薬力学を評価した。実施例12において考察したE l e c s y s（登録商標）イムノアッセイを使用して、血漿Tauを定量化した。

30

【0468】

薬力学的分析の結果を図24A～Bに示す。図24Aは、ベースラインに対して正規化された平均総血漿Tau濃度を示す。図24Bは、本研究の個々のサルにおける、ベースラインに対して正規化された総血漿Tau濃度を示す。実施例12において観察された結果と同様に、抗体hu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P.YTEの投与は、有意な血漿Tauレベルの増加をもたらした。いかなる特定の理論によっても拘束されることを意図するものではないが、これらのデータは、hu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P.YTEが脳内でTauに結合し、結果としてTauが脳から末梢へと除去されることを示唆する。これらの結果は、hu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P.YTEによる脳内の標的結合と一貫する。

40

【0469】

実施例14：抗原として完全長Tauタンパク質を含有するリボソームワクチンによるマウスのワクチン接種

抗原として完全長ヒトTau-441 (f l T a u , S i g n a l C h e m , C a n a d a) を有するリボソームワクチンを抗体生成に使用した。簡潔には、DMPC、DMPG脂質（いずれもLipoid AG, Switzerlandによる）、コレステロール及びモノホスホリルリピドA（いずれもAvanti Polar Lipids, USAによる）を、それぞれ9:1:7:0.05のモル比で、EtOH中に60で30

50

分間溶解した。ブーストワクチン接種のために同一のバッチを追加で製造したが、アジュバントを含めなかった。多重膜リポソームを、孔径 $0.08 \mu\text{m}$ のポリカーボネートワットマンフィルターを通して押し出した (EmulsiFlex-C5, Avestin, Germany)。抗原として使用した f1Tau タンパク質を、 $100:1$ の TCEP / タンパク質モル比で 30 分間、室温で TCEP (Sigma-Aldrich, Switzerland) により還元した。 f1Tau を、 $30:1$ の脂質 / タンパク質モル比で 4 時間、周囲温度で DSPE-PEG (2000) マレイミド脂質 (Avanti Polar Lipids) に更にカップリングした。カップリングされた産生物を、予備形成されたリポソームとともに 37 で 15 時間インキュベートした。リポソームを、PBS (pH 7.4) 中の超ろ過及び透析ろ過に更に供し、 $0.2 \mu\text{m}$ のポリエーテルスルホン (PES) 膜シリンジフィルターを通過させることにより滅菌濾過して、投与まで 5 で保管した。

【0470】

ワクチン接種のために、雌 C57BL/6JOlaHsd (C57BL/6) 野生型マウス (Harlan, USA) から採血し、ヘパリン化血漿を調製した後、生後 10 週間で開始して上記のリポソームワクチンをワクチン接種した。0、5、8、21、及び 35 日目に、皮下注入 (s.c.) によってワクチン接種を実行し、14、28、及び 35 日目に追加の採血を行った。融合前、55、56、及び 57 日目に、ワクチンの無アジュバント調製物で 3 回マウスをブーストした。マウスを屠殺し、58 日目に骨髓腫細胞との融合を行った。4 匹のマウスからの脾細胞を融合に使用し、合計 3 回の別個の融合のために、2 匹のマウスからの細胞を個々に使用し、2 匹のマウスからのものをプールした。融合産生物をスクリーニングするために、Luminex ビーズに基づく多重技術 (Luminex, The Netherlands) を使用して、 $1:8$ の上清希釈液を泳動させ、IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG2c、及び IgG3 サブクラスに特異的な抗マウス IgG-Fc 抗体で IgG を捕捉した (Jackson ImmunoResearch, USA)。 f1Tau に、及び任意で以下の Tau 断片: Tau50-391、Tau99-441、Tau151-421、Tau151-441、または Tau231-441 (全て SignalChem による) のうちの 1 つに複合体化されたビーズへの結合は、183 ヒットを特定した。 f1Tau に対する、及び任意で上記の Tau 断片のうちの 1 つに対する最良の結合するものについて初回のスクリーニングから選択された 50 ハイブリドーマについて、限界希釈によるサブクロニングを行った。限界希釈の後、最終ハイブリドーマを無血清培地中に適合させ、抗体スクリーニング及び選択のために、安定したコロニーから培地を収集した。抗体 211G6-B6、231G3F10、及び 307H3E8 を、このスクリーニングから特定した。

【0471】

図 2E は、モノマー Tau 及びオリゴマー Tau への、抗体 231G3F10 の結合を示す。

【0472】

エピトープマッピングは、実質的に実施例 2 に記載されるように実行した。表 31 は、211G6-B6、231G3F10、及び 307H3E8 抗体のエピトープを列挙する。表 5 は、抗体 211G6-B6、231G3F10、及び 307H3E8 の K_D 値を示す。

表 31: リポソームワクチンで生成された抗体のエピトープマッピング

抗体	エピトープ
211G6-B6	91-105 (エクソン 3)
231G3F10	37-44
307H3E8	421-429, 422-429

10

20

30

40

50

【 0 4 7 3 】

前述の発明が明瞭な理解のために例証及び実施例によって多少詳細に説明されているが、これらの説明及び実施例は、本発明の範囲を限定するものと解釈されるべきではない。本明細書に引用される全ての特許及び科学文献の開示は、参照によりそれらの全体が明示的に組み込まれる。

配列表

配 列 番 号	説 明	配 列
2	ヒト T a u エピト ープ (2 ~ 2 4)	AEPRQEFVMDHAGTYGLGDRK
4	カニクイザル T a u エピトープ (2 ~ 2 4)	AEPRQEFVMDHAGTYGLGDRK
1 0	3 7 D 3 - H 9 重鎖可変領域 (V H)	EVQLVESGGD LAKPGGSLKL SCTASGLIFR SYGMSWVRQT PDKRLEWVAT INSGGTYTYYPDSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMSSLKSED TAMYVCANSY SGAMDYWGQG TSVTVSS
1 1	3 7 D 3 - H 9 軽鎖可変領域 (V L)	DDLTTQTPLS LPVSLGDPAS ISCRSSQSIV HSNGNTYFEW YLQKPGQSPK LLIYKVSNRFGSGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQGSGLVP WTFGGGTKLE IK
1 2	3 7 D 3 - H 9 H V R - H 1	SYGMS
1 3	3 7 D 3 - H 9 H V R - H 2	TINSGGTYTYYPDSVKG
1 4	3 7 D 3 - H 9 H V R - H 3	SYSGAMDY
1 5	3 7 D 3 - H 9 H V R - L 1	RSSQSIVHSNGNTYFE
1 6	3 7 D 3 - H 9 H V R - L 2	KVSNRFS
1 7	3 7 D 3 - H 9 H V R - L 3	FQGSLVPWT
2 0	3 7 D 3 - H 9 b 重鎖可変領域 (V H)	EVQLVESGGD LAKPGGSLKL SCTASGLIFR SYGMSWVRQT PDKRLEWVAT INSGGTYTYYPDSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMSSLKSED TAMYVCANSY SGAMDYWGQG TSVTVSS
2 1	3 7 D 3 - H 9 b 軽鎖可変領域 (V L)	EDLLTQTPLS LPVSLGDPAS ISCRSSQSIV HSNGNTYFEW YLQKPGQSPK LLIYKVSNRFGSGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQGSGLVP WTFGGGTKLE IK
2 2	3 7 D 3 - H 9 b H V R - H 1	SYGMS
2 3	3 7 D 3 - H 9 b H V R - H 2	TINSGGTYTYYPDSVKG
2 4	3 7 D 3 - H 9 b H V R - H 3	SYSGAMDY
2 5	3 7 D 3 - H 9 b H V R - L 1	RSSQSIVHSNGNTYFE
2 6	3 7 D 3 - H 9 b H V R - L 2	KVSNRFS

10

20

30

40

2 7	3 7 D 3 - H 9 b H V R - L 3	FQGS LVPWT
3 0	1 1 E 1 0 - B 8 重鎖可変領域 (V H)	EVQLVESGGD LVKPGGSLKL SCAASGFTFR SYGMSWVRQT PDKRLEWVAT ISGGGSYTTY PDSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMSSLKSED TAMYICAVSY DGAMDYWGQG TSVTVSS
3 1	1 1 E 1 0 - B 8 軽鎖可変領域 (V L)	DVLTMTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSIV HSNGNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYKVS NRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGL YYCFQGSHVP WTFGGGTKLE IK
3 2	1 1 E 1 0 - B 8 H V R - H 1	SYGMS
3 3	1 1 E 1 0 - B 8 H V R - H 2	TISGGGSYTYYPDSVKG
3 4	1 1 E 1 0 - B 8 H V R - H 3	SYDGAMDY
3 5	1 1 E 1 0 - B 8 H V R - L 1	RSSQSIVHSNGNTYLE
3 6	1 1 E 1 0 - B 8 H V R - L 2	KVSNRFS
3 7	1 1 E 1 0 - B 8 H V R - L 3	FQGSHVPWT
4 0	5 4 C 1 - H 1 1 及び 6 1 E 7 - C 4 重鎖可変領 域 (V H)	EVQLVESGGD LVKPGGSLKV SCVASGFTFR SYGMSWVRQT PDKRLDWVAT ISSGGNYTTY PDSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMSSLKSED TAMYICASSY SGAMDYWGQG TSVTVSS
4 1	5 4 C 1 - H 1 1 及び 6 1 E 7 - C 4 軽鎖可変領 域 (V L)	DTVMTQSPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSIV HSNGNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYTVS NRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQGSHVP WTFGGGTKLE IK
4 2	5 4 C 1 - H 1 1 及び 6 1 E 7 - C 4 H V R - H 1	SYGMS
4 3	5 4 C 1 - H 1 1 及び 6 1 E 7 - C 4 H V R - H 2	TISSGGNYTYYPDSVKG
4 4	5 4 C 1 - H 1 1 及び 6 1 E 7 - C 4 H V R - H 3	SYSGAMDY
4 5	5 4 C 1 - H 1 1 及び 6 1 E 7 -	RSSQSIVHSNGNTYLE

10

20

30

40

	C 4 H V R - L 1	
4 6	5 4 C 1 - H 1 1 及 び 6 1 E 7 - C 4 H V R - L 2	TVSNRFS
4 7	5 4 C 1 - H 1 1 及 び 6 1 E 7 - C 4 H V R - L 3	FQGSHVPWT
5 0	3 A 4 - H 4 重 鎖可変領域 (V H)	EVQLVESGGD LVKPGGSLKL SCAASGFTFS SYGMSWVRQT PDKRLEWVAT ISSGGTYTTY PDSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMSSLKSED TAMYFCATSY DGAMDYWGQG TSVTVSS
5 1	3 A 4 - H 4 軽 鎖可変領域 (V L)	DVLMTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQNIV HSNNGNTYLEW YLQKPGQSPK LLIIYKVS NRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQGTLVP WTFGGGTKLE IK
5 2	3 A 4 - H 4 H V R - H 1	SYGMS
5 3	3 A 4 - H 4 H V R - H 2	TISSGGTYTYYPDSVKG
5 4	3 A 4 - H 4 H V R - H 3	SYDGAMDY
5 5	3 A 4 - H 4 H V R - L 1	RSSQNIVHSNNGNTYLE
5 6	3 A 4 - H 4 H V R - L 2	KVSNRFS
5 7	3 A 4 - H 4 H V R - L 3	FQGTLPWT
6 0	1 9 H 6 - F 7 重鎖可変領域 (V H)	EVQLVESGGD LVKPGGSLKL SCAASGFTFS SYGMSWVRQT PDKRLEWVAT ISSGGTYTTY PDSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMSSLKSED TAMYFCATSY DGAMDYWGQG TSVTVSS
6 1	1 9 H 6 - F 7 軽鎖可変領域 (V L)	DVLMTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSIV HSNNGNTYLEW YLQKPGQSPK LLIIYKVS NRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQGSLVP WTFGGGTKLE IK
6 2	1 9 H 6 - F 7 H V R - H 1	SYGMS
6 3	1 9 H 6 - F 7 H V R - H 2	TISSGGTYTYYPDSVKG
6 4	1 9 H 6 - F 7 H V R - H 3	SYDGAMDY
6 5	1 9 H 6 - F 7 H V R - L 1	RSSQSIVHSNNGNTYLE

10

20

30

40

6 6	1 9 H 6 - F 7 H V R - L 2	KVSNRFS
6 7	1 9 H 6 - F 7 H V R - L 3	FQGS LVPWT
7 0	9 4 B 2 - C 1 重鎖可変領域 (V H)	EVQLQQSGPE LVKPGASMKI SCKASGYSLT GYTMNWKQS HGKNLEWIGL ISPYNGVTSY NQKFKGKATL TVDKSSNTAY MELLSLTFED SAVYYCARQG AYWGQGT LVT VSA
7 1	9 4 B 2 - C 1 軽鎖可変領域 (V L)	DVMTQTPLT LSVTIGQPAS ISCKSSQSL DSDGKTYLNW LLQRPQGSPK RLIYLVSKLD SGVPDRFTGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCWQGT HFP WTFGGGTKLE IK
7 2	9 4 B 2 - C 1 H V R - H 1	GYTMN
7 3	9 4 B 2 - C 1 H V R - H 2	LISPYNGVTSYNQKFKG
7 4	9 4 B 2 - C 1 H V R - H 3	QGAY
7 5	9 4 B 2 - C 1 H V R - L 1	KSSQSLLDSDGKTYLN
7 6	9 4 B 2 - C 1 H V R - L 2	LVSKLDS
7 7	9 4 B 2 - C 1 H V R - L 3	WQGT HFPWT
8 0	1 2 5 B 1 1 - H 3 重鎖可変領域 (V H)	EVKLEESGGG LVQPGGSMKL SCVASRFIFS NYWMNWVRQS PEKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYAESVKGRF TISRDDSKSS VYLQMNNLRA EDTGIYYCTG GTTYWQGTT LTVSS
8 1	1 2 5 B 1 1 - H 3 軽鎖可変領域 (V L)	DIVMTQSQKF LSTSVGDRVN ITCKASQNVG TAVAWYQQKP GQSPGLLIYS ASIRYTGVPD RFTGNGSGTD FTLTISDMQS EDLADYFCQQ FRTYPYTFGG GTKLEIK
8 2	1 2 5 B 1 1 - H 3 H V R - H 1	NYWMN
8 3	1 2 5 B 1 1 - H 3 H V R - H 2	QIRLKSDNYA THYAESVKG
8 4	1 2 5 B 1 1 - H 3 H V R - H 3	GT TY
8 5	1 2 5 B 1 1 - H 3 H V R - L 1	KASQNVGTAVA
8 6	1 2 5 B 1 1 - H 3 H V R - L 2	SASIRYT
8 7	1 2 5 B 1 1 - H 3 H V R - L 3	QQFRTYPYT
9 0	1 1 3 F 5 - F 7 重鎖可変領域 (V	EVKLEESGGG LVQPGGSMRL SCVASEFTFS NYWMNWIRQS PEKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYAESVKGRF TISRNASNFS

10

20

30

40

	H)	VYLQMNNLRA EDTGIYYCTG GTSYWGQGT LTVSS
9 1	1 1 3 F 5 - F 7 軽鎖可変領域 (V L)	DIVMTQSQKI MSTSVGDRVS ITCKASQNVG TAVAWYQQRP GHSPKLLIYS ASRRFSGVPD RFTGSGSGTD FTLTIINVQS EDLADYFCQQ FSTYPYTFGV GTKLEIK
9 2	1 1 3 F 5 - F 7 H V R - H 1	NYWMN
9 3	1 1 3 F 5 - F 7 H V R - H 2	QIRLKSDNYATHYAESVKG
9 4	1 1 3 F 5 - F 7 H V R - H 3	GTSY
9 5	1 1 3 F 5 - F 7 H V R - L 1	KASQNVGTAVA
9 6	1 1 3 F 5 - F 7 H V R - L 2	SASRRFS
9 7	1 1 3 F 5 - F 7 H V R - L 3	QQFSTYPYT
1 0 0	2 6 C 1 - B 1 1 重鎖可変領域 (V H)	EVHLQQSGAE LVRSGASVKL SCTASGFNIK DYYMYWVKQR PEQGLEWIGW IDPENGDTY FPKFQ GKATM TADTSSKTAY LQLSSLTSED TAVYYCNAWR ARATNSALDY WGQGTSVTVS S
1 0 1	2 6 C 1 - B 1 1 軽鎖可変領域 (V L)	DVVMQTPLT LSVTIGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW LLRRPGQSPK RLIYLVSKLD SGVPDRFTGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCWQGTHFP WTFGGGTKLE IK
1 0 2	2 6 C 1 - B 1 1 H V R - H 1	DYYMY
1 0 3	2 6 C 1 - B 1 1 H V R - H 2	WIDPENGDTY FPKFQG
1 0 4	2 6 C 1 - B 1 1 H V R - H 3	WRARATNSAL DY
1 0 5	2 6 C 1 - B 1 1 H V R - L 1	KSSQSLLDSD GKTYLN
1 0 6	2 6 C 1 - B 1 1 H V R - L 2	LVSKLDS
1 0 7	2 6 C 1 - B 1 1 H V R - L 3	WQGTHFPWT
1 1 0	2 6 C 1 - C 8 重鎖可変領域 (V H)	EVHLQQSGAE LVRSGASVKL SCTASGFNIK DYYMYWVKQR PEQGLEWIGW IDPENGDTY FPKFQ GKATM TADTSSKTAY LQLSSLTSED TAVYYCNAWR ARATNSALDY WGQGTSVTVS S
1 1 1	2 6 C 1 - C 8 軽鎖可変領域 (V	DVVMQTPLT LSVTIGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW LLRRPGQSPK RLIYLVSKLD SGVPDRFTGS GSGTDFTLKI

10

20

30

40

		L)	SRVEAEDLGV YYCWQGTHFP WTFGGGTKLE IK
1	1	2 6 C 1 - C 8	DYYMY
2		H V R - H 1	
1	1	2 6 C 1 - C 8	WIDPENGDT E YFPKFQG
3		H V R - H 2	
1	1	2 6 C 1 - C 8	WRARATNSAL DY
4		H V R - H 3	
1	1	2 6 C 1 - C 8	KSSQSLLDSD GKTYLN
5		H V R - L 1	
1	1	2 6 C 1 - C 8	LVS KLDS
6		H V R - L 2	
1	1	2 6 C 1 - C 8	WQGTHFPWT
7		H V R - L 3	
1	2	3 0 G 1 - B 2	QVQLQQSGAE LVRPGASVTL SCKASGYTFT DYEMYWVKQT
0		重鎖可変領域 (V H)	PVHGLEWIGA IDPETGDTAY NQKFKGKATL TADKSSNTAY
			MELRSLTSED SAVYYCIRQY GNWFPYWGQG TLVTVSA
1	2	3 0 G 1 - B 2	DVVMQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSLV HANGNTYLHW
1		軽鎖可変領域 (V L)	FLQKPGLSPK LLIYKVS NRF SGVPDRFSGG GSGTDFTLKI
			TRLEAEDLGV YFCSQSTHVP FTFGSGTKLE IK
1	2	3 0 G 1 - B 2	DYEMY
2		H V R - H 1	
1	2	3 0 G 1 - B 2	AIDPETGDTAYNQKFKG
3		H V R - H 2	
1	2	3 0 G 1 - B 2	QYGNWFPY
4		H V R - H 3	
1	2	3 0 G 1 - B 2	RSSQSLVHANGNTYLH
5		H V R - L 1	
1	2	3 0 G 1 - B 2	KVSNRFS
6		H V R - L 2	
1	2	3 0 G 1 - B 2	SQSTHVPFT
7		H V R - L 3	
1	3	6 6 F 5 - A 1	QVQLQQSGAE LVRPGASVTL SCKASGYTFI DYEMNWVKQT
0		重鎖可変領域 (V H)	PVHGLEWIGA IDPENGDTAY NQKFKGKAIV TADKSSSTAY
			MELRSLTSED SAVYYCSGPH FDYWGQGTTL TVSS
1	3	6 6 F 5 - A 1	DIVMTQSPSS LAMSVGQKVT MSCKSSQSLN NSSTQKNYLA
1		軽鎖可変領域 (V L)	WYQQKPGQSP KLLVYFASTR ESGVPDRFIG SSGTDFTLT
			ISSVQAEDLA DYFCQQHYST PYTFGGGTKL EIK
1	3	6 6 F 5 - A 1	DYEMN
2		H V R - H 1	

10

20

30

40

1 3	6 6 F 5 - A 1 H V R - H 2	AIDPENGGA YNKFKG	
1 4	6 6 F 5 - A 1 H V R - H 3	PHFDY	
1 5	6 6 F 5 - A 1 H V R - L 1	KSSQSLNNS TQKNYLA	
1 6	6 6 F 5 - A 1 H V R - L 2	FASTRES	10
1 7	6 6 F 5 - A 1 H V R - L 3	QQHYSTPYT	
1 0	1 2 3 E 9 - A 1 重鎖可変領域 (V H)	EVQLQQSGPE LVKPGASVKM SCKASGYTFT DYMKWVKQS HGKSLEWIGD IDPNNGGTSY NQKFKGKATL TVDKSSSTAY MQLNSLTSED SAVYYCARSA GFGDSFSFWG LGTLTVSA	
1 1	1 2 3 E 9 - A 1 軽鎖可変領域 (V L)	DVLTMTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSIV HSNNGTYLEW YLQKPGQSPK LLIYKVSNRG SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGF YYCFQGSHVP PTFGGGTKLE IK	20
1 2	1 2 3 E 9 - A 1 H V R - H 1	DYMK	
1 3	1 2 3 E 9 - A 1 H V R - H 2	DIDPNNGGTSYNKFKG	
1 4	1 2 3 E 9 - A 1 H V R - H 3	SAGFGDSFSF	
1 5	1 2 3 E 9 - A 1 H V R - L 1	RSSQSIVHSNNGTYLE	30
1 6	1 2 3 E 9 - A 1 H V R - L 2	KVSNRFS	
1 7	1 2 3 E 9 - A 1 H V R - L 3	FQGSHVPPT	
1 0	1 5 C 6 - A 7 重鎖可変領域 (V H)	EVQLQQSGPE LVKPGASVMM TCKASGYTFT DYMKWVKQS NGKSLEWIGD LDPYTGANY NQKFKGKATL TVDKSSSTAY MHLNSLTSED SAVYYCARSR GYGSFAYWG QGTLTVSA	
1 1	1 5 C 6 - A 7 軽鎖可変領域 (V L)	DVLTMTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQNIV HSNNGTYLEW YLQKPGQSPK LLIYKVSNRG SGVPDKFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YFCFQGSHVP PTFGGGTKLE IK	40
1 2	1 5 C 6 - A 7 H V R - H 1	DYMK	
1 3	1 5 C 6 - A 7 H V R - H 2	LDLPYTGAN YNKFKG	

1 4	5	1 5 C 6 - A 7 H V R - H 3	SRGYGDSFAY	
1 5	5	1 5 C 6 - A 7 H V R - L 1	RSSQNIVHSN GNTYLE	
1 6	5	1 5 C 6 - A 7 H V R - L 2	KVSNRFS	
1 7	5	1 5 C 6 - A 7 H V R - L 3	FQGSHVPPT	
1 0	6	1 9 F 8 - B 1 重鎖可変領域 (V H)	EVQLQQSGPE LVKPGASVKM SCKASGYTFT DYYMKWVKQS HGKSLEWIGD LNPNGGTLY NQKFKGQATL TVDKSSSTAY MQFNSLTSED SAVYYCARSA GYGDSFAYWG QGTLVTVSA	10
1 1	6	1 9 F 8 - B 1 軽鎖可変領域 (V L)	DVLTMTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQNIV HSNNGNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYKVSNRFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGI YFCFQGSHVP PTFGGGTKLE IK	
1 2	6	1 9 F 8 - B 1 H V R - H 1	DYYMK	20
1 3	6	1 9 F 8 - B 1 H V R - H 2	DLNPNGGTLY NQKFKG	
1 4	6	1 9 F 8 - B 1 H V R - H 3	SAGYGDSFAY	
1 5	6	1 9 F 8 - B 1 H V R - L 1	RSSQNIVHSN GNTYLE	
1 6	6	1 9 F 8 - B 1 H V R - L 2	KVSNRFS	30
1 7	6	1 9 F 8 - B 1 H V R - L 3	FQGSHVPPT	
1 0	7	2 4 A 1 1 - D 5 重鎖可変領域 (V H)	EVQLQQSGPE LVKPGASVKM SCKASGYTFT DYYMKWVKQS HGKSLEWIGD LNPKNGGIIY NQKFKGQATL TVDKSSSTAY MQLNSLTSED SAVFYCARSG GYGDSFAYWG QGTLVTVSA	
1 1	7	2 4 A 1 1 - D 5 軽鎖可変領域 (V L)	DVLTMTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQNIV HSNNGNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYKVSNRFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGI YFCFQGSHVP PTFGGGTKLE IK	40
1 2	7	2 4 A 1 1 - D 5 H V R - H 1	DYYMK	
1 3	7	2 4 A 1 1 - D 5 H V R - H 2	DLNPKNGGII NQKFKG	
1 4	7	2 4 A 1 1 - D 5 H V R - H 3	SGGYGDSFAY	
1 5	7	2 4 A 1 1 - D 5 H V R - L 1	RSSQNIVHSN GNTYLE	

1 6	7 2 4 A 1 1 - D 5 H V R - L 2	KVSNRFS
1 7	7 2 4 A 1 1 - D 5 H V R - L 3	FQGSHVPPT
1 0	8 1 2 6 F 1 1 - G 1 1 重鎖可変領域 (V H)	EVQLQQSGAE LVRPGASVKL SCTASGFNIK DDYMHVVKQR PEQGLEWIGW IDPENGDEY ASKFQ GKATI TTDTSNTAY LQLSSLTSED TAVYYCLDFA YGYWGQTTL TVSS
1 1	8 1 2 6 F 1 1 - G 1 1 軽鎖可変領域 (V L)	DVLTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSIV HSN GNTYLEW YLQKPGQSPK LLIKYKVS NRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQ GSHVP PAFGGG TKLE IK
1 2	8 1 2 6 F 1 1 - G 1 1 H V R - H 1	DDYMH
1 3	8 1 2 6 F 1 1 - G 1 1 H V R - H 2	WIDPENGDE YASKFQG
1 4	8 1 2 6 F 1 1 - G 1 1 H V R - H 3	FAYGY
1 5	8 1 2 6 F 1 1 - G 1 1 H V R - L 1	RSSQSIVHSN GNTYLE
1 6	8 1 2 6 F 1 1 - G 1 1 H V R - L 2	KVSNRFS
1 7	8 1 2 6 F 1 1 - G 1 1 H V R - L 3	FQGSHVPPA
1 0	9 8 9 F 4 - A 1 重鎖可変領域 (V H)	EVQLVESGGG LVQPKGSLKL SCAASGFTFN TYAMNWVRQA PGKGLEWVAR IRSKSN NYAA YFADSVKDRF TISRDDS QTM LYLQMNNLKS EDTAMY YCVS GGNYPFAYW GQGT LVTVSA
1 1	9 8 9 F 4 - A 1 軽鎖可変領域 (V L)	NIMMTQSPSS LAVSAGEKVT MSCKSSQSVF YSSEQ RNYLA WYQQKPGQSP KLLISWASTR ESGVPDRFTG SGSGTDFTLT ISSVQGEDLA VYYCHQYLSS FTFGSGTKLE IK
1 2	9 8 9 F 4 - A 1 H V R - H 1	TYAMN
1 3	9 8 9 F 4 - A 1 H V R - H 2	RIRSKSN NYA AYFADSVKD
1 4	9 8 9 F 4 - A 1 H V R - H 3	GGNYVPFAY
1 5	9 8 9 F 4 - A 1 H V R - L 1	KSSQSVFYSS EQ RNYLA

10

20

30

40

1 6	9	8 9 F 4 - A 1 H V R - L 2	WASTRES	
1 7	9	8 9 F 4 - A 1 H V R - L 3	HQYLSSFT	
2 0	0	9 3 A 8 - D 2 重鎖可変領域 (V H)	EVQLQQSGPV LVKPGASVKM SCKASGYTFT DYYVNWVKQS HGKGLEWIGL INPNNGRTSY NQNFNDKATL TVDKSSSTAF MDLNSLTSED SAVYYCTREG GTGYWGQGT LSVSS	
2 1	0	9 3 A 8 - D 2 軽鎖可変領域 (V L)	DVVTQTPLT LSVTIGQPAS ISCKSSQSL DSDGKTYLNW LLQRPQGSPR RLIYLVSKLD SGVPDRFTGS GSGTDFTLKI SRVAAEDLGV YYCWQGTHFP RTFGGGTKLE IK	10
2 2	0	9 3 A 8 - D 2 H V R - H 1	DYYVN	
2 3	0	9 3 A 8 - D 2 H V R - H 2	LINPNNGRTSYNQNFND	
2 4	0	9 3 A 8 - D 2 H V R - H 3	EGGTGY	
2 5	0	9 3 A 8 - D 2 H V R - L 1	KSSQSLLDSDGKTYLN	20
2 6	0	9 3 A 8 - D 2 H V R - L 2	LVSKLDS	
2 7	0	9 3 A 8 - D 2 H V R - L 3	WQGTHFPRT	
2 0	1	1 4 F 5 - D 9 重鎖可変領域 (V H)	EVKLVESGGG LVQPGGSLRL SCATSGFTFS DFYMEWVRQS PGKRLEWIAA SKNKANDYTT EYNASVKDRF FVSRDTSQSI LYLQMNALRA EDTAIYYCAR DALGTVFAYW GQGTLVTVSA	
2 1	1	1 4 F 5 - D 9 軽鎖可変領域 (V L)	DVVTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSLV HSNGNTYLHW YLQKPGQSPK LLIYKVFNR F SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YFCSQSTLVP LTFGAGTKLE LK	30
2 2	1	1 4 F 5 - D 9 H V R - H 1	DFYME	
2 3	1	1 4 F 5 - D 9 H V R - H 2	ASKNKANDYT TEYNASVKD	
2 4	1	1 4 F 5 - D 9 H V R - H 3	DALGTVFAY	
2 5	1	1 4 F 5 - D 9 H V R - L 1	RSSQSLVHSN GNTYLH	40
2 6	1	1 4 F 5 - D 9 H V R - L 2	KVFNRFS	
2 7	1	1 4 F 5 - D 9 H V R - L 3	SQSTLVPLT	
2 0	2	7 3 H 6 - B 8 重鎖可変領域 (V	QVQLKESGPG LVAPSQSLSI TCTISGFSLT SYGVHWVRQP PGKGLEWL VV IWS DGSTTYN SALKSRLSIS KDNSKSVQVFL	

	H)	KMNSLQTD D T A M Y Y C A R Q G G F I T T A Y Y A M D Y W G Q G T S V T V S S
2 2 1	7 3 H 6 - B 8 軽鎖可変領域 (V L)	DIVMSQSPSS LAVSAGEKVT MSCKSSQSLL NSRTRKNYLA WYQQKPGQSP KLLIYWASTR ESGVPDRFTG SGSGTDFTLT ISSVQAEDLA VYYCKQSYNL YTFGGGKLE IK
2 2 2	7 3 H 6 - B 8 H V R - H 1	SYGVH
2 2 3	7 3 H 6 - B 8 H V R - H 2	VIWSDGSTTY NSALKS
2 2 4	7 3 H 6 - B 8 H V R - H 3	QGGFITTAYY AMDY
2 2 5	7 3 H 6 - B 8 H V R - L 1	KSSQSLLNSR TRKNYLA
2 2 6	7 3 H 6 - B 8 H V R - L 2	WASTRES
2 2 7	7 3 H 6 - B 8 H V R - L 3	KQSYNLYT
2 3 0	2 2 G 7 - C 9 重鎖可変領域 (V H)	QIQLVQSGPE LKKPGETVKI SCKASGYTFT DCSIHWVKQA PGEGLKWMGW INTETGEPSY ADDFKGRFAF SLETSASTAF LQINNLSKED TASYFCGTAY YRYDGALDYW GQGTSVTVSS
2 3 1	2 2 G 7 - C 9 軽鎖可変領域 (V L)	DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCRASQSVS TSSYSYMHWF QQKPGQPPKL LIKYASNLES GVPARFSGSG SGTDFTLNIH PVEEEDTATY YCQHSWELPW TFGGGTKLEI K
2 3 2	2 2 G 7 - C 9 H V R - H 1	DCSIH
2 3 3	2 2 G 7 - C 9 H V R - H 2	WINTETGEPS YADDFKG
2 3 4	2 2 G 7 - C 9 H V R - H 3	AYYRYDGALD Y
2 3 5	2 2 G 7 - C 9 H V R - L 1	RASQSVSTSS YSYMH
2 3 6	2 2 G 7 - C 9 H V R - L 2	YASNLES
2 3 7	2 2 G 7 - C 9 H V R - L 3	QHSWELPWT
2 4 0	7 A 1 1 - C 1 2 重鎖可変領域 (V H)	QIQLVQSGPD LKKPGETVKI SCKASGYTFT NYGMNWKQA PGKGLKWMGW INTNTGEPTY AEEFKGRFAF SLETSASTAY LQIDNLKNED TATYFCARGT VSPYWGQGT LVTVSA
2 4 1	7 A 1 1 - C 1 2 軽鎖可変領域 (V L)	DVMSQTPLS LPVSLGDHAS ISCRSSQNLV HSDGNTYLHW YLQKPGQSPK LLIYKVSNRG SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YFCSQSTHVI FTFGSGTKLE IK
2 4 2	7 A 1 1 - C 1 2 H V R - H 1	NYGMN

10

20

30

40

2 3	4	7 A 1 1 - C 1 2 H V R - H 2	WINTNTGEPT YAEFFKG
2 4	4	7 A 1 1 - C 1 2 H V R - H 3	GTVSFPY
2 5	4	7 A 1 1 - C 1 2 H V R - L 1	RSSQNLVHSD GNTYLH
2 6	4	7 A 1 1 - C 1 2 H V R - L 2	KVSNRFS
2 7	4	7 A 1 1 - C 1 2 H V R - L 3	SQSTHVIFT
2 0	5	1 2 A 1 0 - E 8 重鎖可変領域 (V H)	QIQLVQSGPE LKKPGETVKI SCKASGYTFT NYGMNWVKQA PGKGLKWMGW INMYTGEPTY GDDFKGRFVF SLETSVSTVY LQINNKKED TATFFCARGG RPDYWGQGS VTVSS
2 1	5	1 2 A 1 0 - E 8 軽鎖可変領域 (V L)	DVLMTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSIV HSNGNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYKVFNRFG SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI NRVEAEDLGV YYCLQGSHVP YTFGGGTKLE IK
2 2	5	1 2 A 1 0 - E 8 H V R - H 1	NYGMN
2 3	5	1 2 A 1 0 - E 8 H V R - H 2	WINMYTGEPT YGDDFKG
2 4	5	1 2 A 1 0 - E 8 H V R - H 3	GGRPDY
2 5	5	1 2 A 1 0 - E 8 H V R - L 1	RSSQSIVHSN GNTYLE
2 6	5	1 2 A 1 0 - E 8 H V R - L 2	KVFNRFS
2 7	5	1 2 A 1 0 - E 8 H V R - L 3	LQGSHVPYT
2 0	6	5 5 E 7 - F 1 1 重鎖可変領域 (V H)	EVKLEESGGG LVQPGGSMKL SCVASGFTFS NYWMNWVRQS PEKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYAESVKGRF TISRDDSKSS VYLQMNNLRA EDTGIYYCAG YFYGGYFDVW GTGTTVTVSS
2 1	6	5 5 E 7 - F 1 1 軽鎖可変領域 (V L)	ELVLTQSPTT MAASPGKKIT ITCSASSSIS SNYLHWYQQK PGFSPKLLIY RTSNLASGVP ARFSGSGSGT SYSLTIGTME AEDVATYYCQ QGSSLPFTFG SGTKEIK
2 2	6	5 5 E 7 - F 1 1 H V R - H 1	NYWMN
2 3	6	5 5 E 7 - F 1 1 H V R - H 2	QIRLKSDNYA THYAESVKG
2 4	6	5 5 E 7 - F 1 1 H V R - H 3	YFYGGYFDV
2 5	6	5 5 E 7 - F 1 1 H V R - L 1	SASSSISSNY LH

10

20

30

40

2 6 6	5 5 E 7 - F 1 1 H V R - L 2	RTSNLAS
2 6 7	5 5 E 7 - F 1 1 H V R - L 3	QQGSSLPFT
2 7 0	5 2 F 6 - F 1 1 重鎖可変領域 (V H)	QVQLQQSGTE LAKPGASVKL SCKASGYTFT HYWMHWIKQR PGQGLEWIGY IYPTNDYTKY NQNFRDKATL TADESSNSAY MQLNSLTIED SAVYYCARAG NRVDFWGGG TTLTVSS
2 7 1	5 2 F 6 - F 1 1 軽鎖可変領域 (V L)	QAVVTQESAL TTSPGETVTL TCRSSTGAVT TSNFANWVQE KPDHLFTGLI GGTNNRAPGV PARFSGSLIG DKAALTITGA QTEDEAIYFC ALWYSNLWVF GGGTKLTVL
2 7 2	5 2 F 6 - F 1 1 H V R - H 1	HYWMH
2 7 3	5 2 F 6 - F 1 1 H V R - H 2	YIYPTNDYTK YNQNFRD
2 7 4	5 2 F 6 - F 1 1 H V R - H 3	AGNRVDF
2 7 5	5 2 F 6 - F 1 1 H V R - L 1	RSSTGAVTTS NFAN
2 7 6	5 2 F 6 - F 1 1 H V R - L 2	GTNNRAP
2 7 7	5 2 F 6 - F 1 1 H V R - L 3	ALWYSNLWV
2 8 0	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 重鎖可変 領域 (V H)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTYYTY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLTVTVSS
2 8 1	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 軽鎖可変 領域 (V L)	EDQLTQSPSS LSASVGDRTV ITCRSSQSIV HSNGNTYFEW YQQKPGKSPK LLIYKVSNRG SGVPSRFSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCFQGS LVP WTFGQGTKVE IK
2 8 2	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 H V R - H 1	SYGMS
2 8 3	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 H V R - H 2	TINSGGTYYTYYPDSVKG
2 8 4	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 H V R - H 3	SYSGAMDY
2 8 5	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 H V R - L 1	RSSQSIVHSNGNTYFE
2 8 6	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 H V R -	KVSNRFS

10

20

30

40

	L 2	
2 8 7	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 H V R - L 3	FQGS LVPWT
2 8 8	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 I g G 1 重鎖	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTYTTY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVTVPS SSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSV MHE ALHNHYTQKS LSLSPGK
2 8 9	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 I g G 1 軽鎖	EDQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSIV HSNNGTYFEW YQQKPGKSPK LLIYKVS NRF SGVPSRFS GS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCFQGSLVP WTFGQGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSPV TKSFNREGC
2 9 0	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 重鎖可変 領域 (V H)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTYTTY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSS
2 9 1	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 軽鎖可変 領域 (V L)	EDVLTQTPLS LPVTPGQPAS ISCRSSQSIV HSNNGTYFEW YLQKPGQSPQ LLIYKVS NRF SGVPDRFS GS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCFQGSLVP WTFGQGTKVE IK
2 9 2	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 H V R - H 1	SYGMS
2 9 3	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 H V R - H 2	TINSGGTYTYYPDSVKG
2 9 4	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 H V R - H 3	SYSGAMDY
2 9 5	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 H V R - L 1	RSSQSIVHSNNGTYFE
2 9 6	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 H V R -	KVSNRFS

10

20

30

40

	L 2	
2 9 7	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 H V R - L 3	FQGS LVPWT
3 0 0	H u 9 4 B 2 . v 1 0 5 重鎖可変領 域 (V H)	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSLT GYTMNWVRQA PGQG LEWIGL ISPYNGVTSY NQKFKGRATL TVDKSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARQG AYWGQGT LVT VSS
3 0 1	H u 9 4 B 2 . v 1 0 5 輕鎖可変領 域 (V L)	DIVMTQTPLS LPVTPGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW LLQKPGQSPQ RLIYLVSKLD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCWQGTHFP WTFGQGT KVE IK
3 0 2	H u 9 4 B 2 . v 1 0 5 H V R - H 1	GYTMN
3 0 3	H u 9 4 B 2 . v 1 0 5 H V R - H 2	LISPYNGVTSYNQKFKG
3 0 4	H u 9 4 B 2 . v 1 0 5 H V R - H 3	QGAY
3 0 5	H u 9 4 B 2 . v 1 0 5 H V R - L 1	KSSQSLLDSDGKTYLN
3 0 6	H u 9 4 B 2 . v 1 0 5 H V R - L 2	LVSKLDS
3 0 7	H u 9 4 B 2 . v 1 0 5 H V R - L 3	WQGTHFPWT
3 1 0	h u 1 2 5 B 1 1 . v 1 7 重鎖可変 領域 (V H)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASRFIFS NYWMNWVRQA PGKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYAESVKGRF TISRDDSKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYCTG GTTYWGQGT L VTVSS
3 1 1	h u 1 2 5 B 1 1 . v 1 7 輕鎖可変 領域 (V L)	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQNVG TAVAWYQQKP GKSPKLLIYS ASIRYTGVPs RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYFCQQ FRTYPYTFGQ GTKVEIK
3 1 2	h u 1 2 5 B 1 1 . v 1 7 H V R - H 1	NYWMN
3 1 3	h u 1 2 5 B 1 1 . v 1 7 H V R - H 2	QIRLKSDNYATHYAESVKG
3 1 4	h u 1 2 5 B 1 1 . v 1 7 H V R -	GT TY

10

20

30

40

	H 3	
3 1 5	h u 1 2 5 B 1 1 . v 1 7 H V R - L 1	KASQNVGTAVA
3 1 6	h u 1 2 5 B 1 1 . v 1 7 H V R - L 2	SASIRYT
3 1 7	h u 1 2 5 B 1 1 . v 1 7 H V R - L 3	QQFRTPYPT
3 2 0	h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 6 重鎖可変 領域 (V H)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASRFIFS NYWMNWVRQA PGKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYAESVKGRF TISRDN SKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYCTG GTTYWGQGT L VTVSS
3 2 1	h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 6 軽鎖可変 領域 (V L)	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQNVG TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS ASIRYTGVP S RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYFCQQ FRTYPYTFGQ GTKVEIK
3 2 2	h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 6 H V R - H 1	NYWMN
3 2 3	h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 6 H V R - H 2	QIRLKSDNYATHYAESVKG
3 2 4	h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 6 H V R - H 3	GT TY
3 2 5	h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 6 H V R - L 1	KASQNVGTAVA
3 2 6	h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 6 H V R - L 2	SASIRYT
3 2 7	h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 6 H V R - L 3	QQFRTPYPT
3 3 0	h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 8 重鎖可変 領域 (V H)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASRFIFS NYWMNWVRQA PGKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYAESVKGRF TISRDN SKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYCTG GTTYWGQGT L VTVSS
3 3 1	h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 8 軽鎖可変 領域 (V L)	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQNVG TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS ASIRYTGVP S RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ FRTYPYTFGQ GTKVEIK
3 3 2	h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 8 H V R -	NYWMN

10

20

30

40

	H 1		
3 3 3	h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 8 H V R - H 2	QIRLKSDNYATHYAESVKG	
3 3 4	h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 8 H V R - H 3	GTTY	
3 3 5	h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 8 H V R - L 1	KASQNVGTAVA	10
3 3 6	h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 8 H V R - L 2	SASIRYT	
3 3 7	h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 8 H V R - L 3	QQFRTPYPT	
3 4 0	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4 重鎖可変領域 (V H)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTYTTY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTSS	20
3 4 1	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4 軽鎖可変領域 (V L)	DDVLTQTPLS LPVTPGQPAS ISCRSSQSIV HSNGNTYLEW YLQKPGQSPQ LLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDGVV YYCFQGSLVP WTFQGQTKVE IK	
3 4 2	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4 H V R - H 1	SYGMS	30
3 4 3	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4 H V R - H 2	TINSGGTYTYYPDSVKG	
3 4 4	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4 H V R - H 3	SYSGAMDY	
3 4 5	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4 H V R - L 1	RSSQSIVHSNGNTYLE	40
3 4 6	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4 H V R - L 2	KVSNRFS	
3 4 7	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4 H V R - L 3	FQGSLVPWT	

3 8	4	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4 I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E 重鎖	EVQLVESGGG PGKGLEWVAT LQMNSLRAED KGPSVFPLAP GALTSGVHTF NVDHKPSNTK PPKPKDTLYI VHNAKTKPRE SNKGLPSSIE SLTCLVKGFY FFLYSRLTVD SLGK	LVQPGGSLRL INSGGTYYTY TAVYYCANSY CSRSTSESTA PAVLQSSGLY VDKRVESKYG TREPEVTCVV EQFNSTYRVV KTISKAKGQP PSDIAVEWES KSRWQEGNVF	SCAASGLIFR PDSVKGRFTI SGAMDYWGQG ALGCLVKDYF SLSSVTVPS PPCPPCPAPE VDVSQEDPEV SVLTVLHQDW REPQVYTLPP NGQPENNYKT SCSVMHEALH	SYGMSWVRQA SRDNSKNTLY TLVTVSSAST PEPVTVSWNS SSLGTKTYTC FLGGPSVFLF QFNWYVDGVE LNGKEYKCKV SQEEMTKNQV TPPVLDSDGS NHYTQKSLSL	10
6 2	0	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4 I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E d e s - K 重鎖	EVQLVESGGG PGKGLEWVAT LQMNSLRAED KGPSVFPLAP GALTSGVHTF NVDHKPSNTK PPKPKDTLYI VHNAKTKPRE SNKGLPSSIE SLTCLVKGFY FFLYSRLTVD	LVQPGGSLRL INSGGTYYTY TAVYYCANSY CSRSTSESTA PAVLQSSGLY VDKRVESKYG TREPEVTCVV EQFNSTYRVV KTISKAKGQP PSDIAVEWES KSRWQEGNVF	SCAASGLIFR PDSVKGRFTI SGAMDYWGQG ALGCLVKDYF SLSSVTVPS PPCPPCPAPE VDVSQEDPEV SVLTVLHQDW REPQVYTLPP NGQPENNYKT SCSVMHEALH	SYGMSWVRQA SRDNSKNTLY TLVTVSSAST PEPVTVSWNS SSLGTKTYTC FLGGPSVFLF QFNWYVDGVE LNGKEYKCKV SQEEMTKNQV TPPVLDSDGS NHYTQKSLSL	20
3 9	4	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4 I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E 輕鎖	DDVLTQTPLS YLQKPGQSPQ SRVEAEDVGV FIFPPSDEQL SGNSQESVTE VTHQGLSPV	LPVTPGQPAS LLIYKVSNR YYCFQGS KSGTASVVCL QDSKDSTYSL TKSFNRGEC	ISCRSSQSIV SGVPDRFSGS WTFGQGTKVE LNNFYPREAK SSTLTLSKAD	HSNGNTYLEW GSGTDFTLKI IKRTVAAPSV VQWKVDNALQ YEKHKVYACE	30
4 2	4	h u 1 2 5 B 1 1 - H 3 . L C 1	DIQMTQSPSS GKSPKLLIYS EDFATYFCQQ	LSASVGDRVT ASIRYTGVP FRTYPYTFGQ	ITCKASQNVG RFGSGSGTD GTKVEIK	TAVAWYQQKP FTLTISSLQP	40
4 3	4	h u 1 2 5 B 1 1 - H 3 . L C 2	DIQMTQSPSS GKAPKLLIYS EDFATYFCQQ	LSASVGDRVT ASIRYTGVP FRTYPYTFGQ	ITCKASQNVG RFGSGSGTD GTKVEIK	TAVAWYQQKP FTLTISSLQP	
4 4	4	h u 1 2 5 B 1 1 - H 3 . L C 3	DIQMTQSPSS GKSPKLLIYS EDFATYFCQQ	LSASVGDRVT ASIRYTGVP FRTYPYTFGQ	ITCKASQNVG RFGSGSGTD GTKVEIK	TAVAWYQQKP FTLTISSLQP	
4 5	4	h u 1 2 5 B 1 1 - H 3 . L C 4	DIQMTQSPSS GKAPKLLIYS EDFATYFCQQ	LSASVGDRVT ASIRYTGVP FRTYPYTFGQ	ITCKASQNVG RFGSGSGTD GTKVEIK	TAVAWYQQKP FTLTISSLQP	
4 4	4	h u 1 2 5 B 1 1	EVQLVESGGG	LVQPGGSLRL	SCAASRFIFS	NYWMNWVRQA	

6	— H 3 . H C 1	PGKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYAESVKGRF TISRDDSKNT VYLQMNSLRA EDTAVYYCTG GTTYWGQGT L VTVSS
4 4 7	h u 1 2 5 B 1 1 — H 3 . H C 2	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASRFIFS NYWMNWVRQA PGKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYAESVKGRF TISRDN SKNT VYLQMNSLRA EDTAVYYCTG GTTYWGQGT L VTVSS
4 4 8	h u 1 2 5 B 1 1 — H 3 . H C 3	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASRFIFS NYWMNWVRQA PGKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYAESVKGRF TISRDDSKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYCTG GTTYWGQGT L VTVSS
4 4 9	h u 1 2 5 B 1 1 — H 3 . H C 4	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASRFIFS NYWMNWVRQA PGKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYAESVKGRF TISRDN SKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYCTG GTTYWGQGT L VTVSS
4 5 0	h u 1 2 5 B 1 1 — H 3 . H C 5	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASRFIFS NYWMNWVRQA PGKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYAESVKGRF TISRDDSKNT VYLQMNSLRA EDTAVYYCTG GTTYWGQGT L VTVSS
4 5 1	h u 1 2 5 B 1 1 — H 3 . H C 6	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASRFIFS NYFMNWVRQA PGKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYAESVKGRF TISRDDSKNT VYLQMNSLRA EDTAVYYCTG GTTYWGQGT L VTVSS
4 5 2	H u 9 4 B 2 . H C 1	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSLT GYTMNWVRQA PGQGLEWIGL ISPYNGVTSY NQKFKGRATL TVDKSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARQG AYWGQGT LVT VSS
4 5 3	H u 9 4 B 2 . H C 2	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSLT GYTMNWVRQA PGQGLEWIGL ISPYNGVTSY NQKFKGRVTL TVDKSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARQG AYWGQGT LVT VSS
4 5 4	H u 9 4 B 2 . H C 3	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSLT GYTMNWVRQA PGQGLEWIGL ISPYNGVTSY NQKFKGRATI TVDKSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARQG AYWGQGT LVT VSS
4 5 5	H u 9 4 B 2 . H C 4	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSLT GYTMNWVRQA PGQGLEWIGL ISPYNGVTSY NQKFKGRATL TRDKSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARQG AYWGQGT LVT VSS
4 5 6	H u 9 4 B 2 . H C 5	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSLT GYTMNWVRQA PGQGLEWIGL ISPYNGVTSY NQKFKGRATL TVDTSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARQG AYWGQGT LVT VSS
4 5 7	H u 9 4 B 2 . H C 6	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSLT GYTMNWVRQA PGQGLEWIGL ISPYNGVTSY NQKFKGRVTI TVDKSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARQG AYWGQGT LVT VSS
4 5 8	H u 9 4 B 2 . H C 7	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSLT GYTMNWVRQA PGQGLEWIGL ISPYNGVTSY NQKFKGRVTI TRDKSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARQG AYWGQGT LVT VSS
4 5 9	H u 9 4 B 2 . H C 8	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSLT GYTMNWVRQA PGQGLEWIGL ISPYNGVTSY NQKFKGRVTI TVDTSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARQG AYWGQGT LVT VSS
4 6	H u 9 4 B 2 . L C	DVVMQTPLS LPVTPGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW

10

20

30

40

0	9	LLQKPGQSPQ RLIYLVSKLD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCWQGTTHFP WTFGQGTKVE IK
4 6 1	H u 9 4 B 2 . L C 1 0	DVMTQTPLS LPVTPGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW LLQKPGQSPQ LLIYLVSKLD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCWQGTTHFP WTFGQGTKVE IK
4 6 2	H u 9 4 B 2 . L C 1 1	DVMTQTPLS LPVTPGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW YLQKPGQSPQ RLIYLVSKLD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCWQGTTHFP WTFGQGTKVE IK
4 6 3	H u 9 4 B 2 . L C 1 2	DVMTQTPLS LPVTPGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW YLQKPGQSPQ LLIYLVSKLD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCWQGTTHFP WTFGQGTKVE IK
4 6 4	H u 9 4 B 2 . L C 1 3	DVMTQTPLS LPVTPGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW LLQKPGQSPQ RLIYLVSKLD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCWQGTTHFP WTFGQGTKVE IK
4 6 5	H u 9 4 B 2 . L C 1 4	DVMTQTPLS LPVTPGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW LLQKPGQSPQ LLIYLVSKLD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCWQGTTHFP WTFGQGTKVE IK
4 6 6	H u 9 4 B 2 . L C 1 5	DVMTQTPLS LPVTPGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW YLQKPGQSPQ RLIYLVSKLD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCWQGTTHFP WTFGQGTKVE IK
4 6 7	H u 9 4 B 2 . L C 1 6	DVMTQTPLS LPVTPGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW YLQKPGQSPQ LLIYLVSKLD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCWQGTTHFP WTFGQGTKVE IK
4 6 8	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 . 1 H V R - L 1	RSSQSIVHSNANTYFE
4 6 9	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 . 2 H V R - L 1	RSSQSIVHSSGNTYFE
4 7 0	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 . 3 H V R - L 1	RSSQSIVHSDGNTYFE
4 7 1	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 . 4 H V R - L 1	RSSQSIVHSQGNTYFE
4 7 2	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 . 5 H V R - L 1	RSSQSIVHSEGNTYFE
4 7 3	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 . 6 H V R - L 1	RSSQSIVHSAGNTYFE
4 7	H u 3 7 D 3 - H	RSSQSIVHSNGDNTYFE

10

20

30

40

4	9 . v 5 . 7 H V R - L 1	
4 7 5	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 . 8 H V R - L 1	RSSQSIVHSNGQTYFE
4 7 6	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 . 9 H V R - L 1	RSSQSIVHSNGETTYFE
4 7 7	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 . 1 0 H V R - L 1	RSSQSIVHSNGATYFE
4 7 8	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 . 1 1 H V R - L 1	RSSQSIVHSNGSTYFE
4 7 9	H u 3 7 D 3 . v 2 8 H V R - L 1	RSSQSIVHSNGNTYFE
4 8 0	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 2 H V R - L 1	RSSQSIVHSNGNTYFE
4 8 1	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 H V R - L 1	RSSQSIVHSNGNTYLE
4 8 2	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 6 H V R - L 1	RSSQSIVHSNGNTYLE
4 8 3	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 8 H V R - L 1	RSSQSIVHSNGNTYFE
4 8 4	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 1 0 H V R - L 1	RSSQSIVHSNGNTYFE
4 8 5	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 1 2 H V R - L 1	RSSQSIVHSNGNTYLE
4 8 6	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 1 4 H V R - L 1	RSSQSIVHSNGNTYLE
4 8 7	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 1 6 H V R - L 1	RSSQSIVHSNGNTYFE
4 8 8	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 1 8 H V R	RSSQSIVHSNGNTYFE

10

20

30

40

	— L 1		
4 8 9	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 2 0 H V R — L 1	RSSQSIVHSNGNTYLE	
4 9 0	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 2 2 H V R — L 1	RSSQSIVHSNGNTYLE	
4 9 1	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 2 4 H V R — L 1	RSSQSIVHSNGNTYFE	10
4 9 2	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 2 6 H V R — L 1	RSSQSIVHSNGNTYFE	
4 9 3	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 2 8 H V R — L 1	RSSQSIVHSNGNTYLE	
4 9 4	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 3 0 H V R — L 1	RSSQSIVHSNGNTYLE	20
4 9 5	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . B 1 H V R — L 1	RSSQSIVHSIGNTFFE	
4 9 6	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . B 2 H V R — L 1	RSSQSIVHSMGNTFFE	
4 9 7	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . B 3 H V R — L 1	RSSQSIVHSQGNTWFE	30
4 9 8	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . B 4 H V R — L 1	RSSQSIVHSQGNTHFE	
4 9 9	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . B 6 H V R — L 1	RSSQSIVHSDGNTRFE	
5 0 0	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . B 7 H V R — L 1	RSSQSIVHSDGNTKFE	40
5 0 1	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . B 8 H V R — L 1	RSSQSIVHSEGNTRFE	
5 0 2	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . C 1 H V R —	RSSQSIVHSNNNTYFE	

	L 1	
5 0 3	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . C 2 H V R — L 1	RSSQSIVHSNDNTYFE
5 0 4	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . D 1 H V R — L 1	RSSQSIVHANGNTYFE
5 0 5	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . E 1 H V R — L 1	RSSQSIVNSNGNTYFE
5 0 6	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . E 2 H V R — L 1	RSSQSIVQSNGNTYFE
5 0 7	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . E 3 H V R — L 1	RSSQSIVDSDGNTYFE
5 0 8	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . F 1 H V R — L 1	RSSQSIVHSNTNTYFE
5 0 9	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . F 2 H V R — L 1	RSSQSIVHTNGNTYFE
5 1 0	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . F 3 H V R — L 1	RSSQSIVHTNANTYFE
5 1 1	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . 5 1 H V R — L 1	RSSQSIVHSHGNTYFE
5 1 2	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . 5 2 H V R — L 1	RSSQSIVHSKGNTYFE
5 1 3	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . 5 3 H V R — L 1	RSSQSIVHSRGNTYFE
5 1 4	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . 5 4 H V R — L 1	RSSQSIVHSLGNTYFE
5 1 5	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . 5 5 H V R — L 1	RSSQSIVHSNQNTYFE
5 1 6	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . 5 6 H V R —	RSSQSIVHSNYNTYFE

10

20

30

40

	L 1		
5 1 7	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . 5 7 H V R - L 1	RSSQSIVHSNFNTYPE	
5 1 8	H u 3 7 D 3 . v 2 9 . 1 H V R - L 1	RSSQSIVHSNGDTYPE	
5 1 9	H u 3 7 D 3 . v 2 9 . 2 H V R - L 1	RSSQSIVHSNGQTYPE	10
5 2 0	H u 3 7 D 3 . v 2 9 . 3 H V R - L 1	RSSQSIVHSNGETTYPE	
5 2 1	H u 3 7 D 3 . v 2 9 . 4 H V R - L 1	RSSQSIVHSNGATYPE	
5 2 2	H u 3 7 D 3 . v 2 9 . 5 H V R - L 1	RSSQSIVHSNGHTYPE	20
5 2 3	H u 3 7 D 3 . v 2 9 . 6 H V R - L 1	RSSQSIVHSNGKTYPE	
5 2 4	H u 3 7 D 3 . v 2 9 . 7 H V R - L 1	RSSQSIVHSNGLTYPE	
5 2 5	H u 3 7 D 3 . v 2 9 . 8 H V R - L 1	RSSQSIVHSNADTYPE	30
5 2 6	H u 3 7 D 3 . v 2 9 . 9 H V R - L 1	RSSQSIVHSNAQTYPE	
5 2 7	H u 3 7 D 3 . v 2 9 . 1 0 H V R - L 1	RSSQSIVHSNAETYPE	
5 2 8	H u 3 7 D 3 . v 2 9 . 1 1 H V R - L 1	RSSQSIVHSNAATYPE	40
5 2 9	H u 3 7 D 3 . v 2 9 . 1 2 H V R - L 1	RSSQSIVHSNAHTYPE	
5 3 0	H u 3 7 D 3 . v 2 9 . 1 3 H V R -	RSSQSIVHSNAKTYPE	

	L 1	
5 3 1	H u 3 7 D 3 . v 2 9 . 1 4 H V R - L 1	RSSQSIVHSNALTYFE
5 3 2	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 0 . 1 H V R - L 1	RSSQSIVHSGGNTYFE
5 3 3	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 0 . 2 H V R - L 1	RSSQSIVHSTGNTYFE
5 3 4	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 0 . 3 H V R - L 1	RSSQSIVHSVGNTYFE
5 3 5	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 0 . 4 H V R - L 1	RSSQSIVHSLGNTYFE
5 3 6	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 0 . 5 H V R - L 1	RSSQSIVHSIGNTYFE
5 3 7	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 0 . 6 H V R - L 1	RSSQSIVHSPGNTYFE
5 3 8	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 0 . 7 H V R - L 1	RSSQSIVHSFGNTYFE
5 3 9	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 0 . 8 H V R - L 1	RSSQSIVHSYGNTYFE
5 4 0	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 0 . 9 H V R - L 1	RSSQSIVHSHGNTYFE
5 4 1	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 0 . 1 0 H V R - L 1	RSSQSIVHSKGNTYFE
5 4 2	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 0 . 1 1 H V R - L 1	RSSQSIVHSRGNTYFE
5 4 3	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 1 . 1 H V R - L 1	RSSQSIVHSNAGTYFE
5 4 4	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 1 . 2 H	RSSQSIVHSAVNTYFE

10

20

30

40

		V R - L 1	
5 4	5	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 1 . 3 H V R - L 1	RSSQSIVHSNAITYFE
5 4	6	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 1 . 4 H V R - L 1	RSSQSIVHSNAPTYFE
5 4	7	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 1 . 5 H V R - L 1	RSSQSIVHSNAFTYFE
5 4	8	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 1 . 6 H V R - L 1	RSSQSIVHSNAYTYFE
5 4	9	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 1 . 7 H V R - L 1	RSSQSIVHSNARTYFE
5 5	0	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 1 . 8 H V R - L 1	RSSQSIVHSNANVYFE
5 5	1	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 1 . 9 H V R - L 1	RSSQSIVHSNANIYFE
5 5	2	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 1 . 1 0 H V R - L 1	RSSQSIVHSNANPYFE
5 5	3	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 1 . 1 1 H V R - L 1	RSSQSIVHSNANFYFE
5 5	4	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 1 . 1 2 H V R - L 1	RSSQSIVHSNANYFE
5 5	5	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 1 . 1 3 H V R - L 1	RSSQSIVHSNANNYFE
5 5	6	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 1 . 1 4 H V R - L 1	RSSQSIVHSNANRYFE
5 5	7	ヒ ト T a u 7 ~ 2 4 ペ プ チ ド	EFEVMEDHAGTYGLGDRK
5 5	8	ヒ ト T a u 7 ~ 2 0 ペ プ チ ド	EFEVMEDHAGTYGL
5 6		H u 3 7 D 3 . v 3	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA

10

20

30

40

0	9 重鎖可変領域 (V H)	PGKGLEWVAT INSGGTYTYT PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSS
5 6 1	H u 3 7 D 3 . v 3 9 軽鎖可変領域 (V L)	EDQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSIV HSNGNTYLEW YQQKPGKSPK LLIYKVSNRFG SGVPSRFSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCFQGSLVP WTFGQGTKVE IK
5 6 2	H u 3 7 D 3 . v 3 9 H V R - H 1	SYGMS
5 6 3	H u 3 7 D 3 . v 3 9 H V R - H 2	TINSGGTYTYYPDSVKG
5 6 4	H u 3 7 D 3 . v 3 9 H V R - H 3	SYSGAMDY
5 6 5	H u 3 7 D 3 . v 3 9 H V R - L 1	RSSQSIVHSNGNTYLE
5 6 6	H u 3 7 D 3 . v 3 9 H V R - L 2	KVSNRFS
5 6 7	H u 3 7 D 3 . v 3 9 H V R - L 3	FQGSLVPWT
5 6 8	H u 3 7 D 3 . v 3 9 I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E 重鎖	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTYTYT PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTGPS SSLGKTITTC NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPPCPAPE FLGGPSVFLF PPKPKDTLYI TREPEVTCVV VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSGDS FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLGK
5 6 9	H u 3 7 D 3 . v 3 9 I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E 軽鎖	EDQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSIV HSNGNTYLEW YQQKPGKSPK LLIYKVSNRFG SGVPSRFSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCFQGSLVP WTFGQGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPRKAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSPV TKSFNREGC
5 7 0	H u 3 7 D 3 . v 4 0 重鎖可変領域 (V H)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTYTYT PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSS
5 7 1	H u 3 7 D 3 . v 4 0 軽鎖可変領域 (V L)	EDQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSIV HSNTNTYFEW YQQKPGKSPK LLIYKVSNRFG SGVPSRFSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCFQGSLVP WTFGQGTKVE IK
5 7	H u 3 7 D 3 . v 4	SYGMS

10

20

30

40

2	0	H V R - H 1	
5	7	H u 3 7 D 3 . v 4	TINSGGTYTYYPDSVKG
3	0	H V R - H 2	
5	7	H u 3 7 D 3 . v 4	SYSGAMDY
4	0	H V R - H 3	
5	7	H u 3 7 D 3 . v 4	RSSQSIVHSNTNTYFE
5	7	H u 3 7 D 3 . v 4	KVSNRFS
6	0	H V R - L 2	
5	7	H u 3 7 D 3 . v 4	FQGSLVPWT
7	0	H V R - L 3	
5	7	H u 3 7 D 3 . v 4	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA
8	0	I g G 4 - S	PGKGLEWVAT INSGGTYTYYP PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY
	2 2 8	P . Y T E 重鎖	LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSSAST
			KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS
			GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVTVPS SSLGTKTYTC
			NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPPCAPE FLGGPSVFLF
			PPKPKDTLYI TREPEVTCVV VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE
			VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV
			SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SQEEMTKNQV
			SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSGGS
			FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL
			SLGK
5	7	H u 3 7 D 3 . v 4	EDQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSIV HSNTNTYFEW
9	0	I g G 4 - S	YQQKPGKSPK LLIYKVSNRF SGVPSRFSGS GSGTDFTLTI
	2 2 8	P . Y T E 輕鎖	SSLQPEDFAT YYCFQGSLVP WTFGQGTKVE IKRTVAAPSV
			FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ
			SGNSQESVTE QDSKDYSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE
			VTHQGLSSPV TKSFNRGEC
5	8	H u 3 7 D 3 . v 4	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA
0	1	重鎖可變領域 (V H)	PGKGLEWVAT INSGGTYTYYP PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY
			LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSS
5	8	H u 3 7 D 3 . v 4	EDQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSIV HSNGQTYFEW
1	1	輕鎖可變領域 (V L)	YQQKPGKSPK LLIYKVSNRF SGVPSRFSGS GSGTDFTLTI
			SSLQPEDFAT YYCFQGSLVP WTFGQGTKVE IK
5	8	H u 3 7 D 3 . v 4	SYGMS
2	1	H V R - H 1	
5	8	H u 3 7 D 3 . v 4	TINSGGTYTYYPDSVKG
3	1	H V R - H 2	
5	8	H u 3 7 D 3 . v 4	SYSGAMDY
4	1	H V R - H 3	
5	8	H u 3 7 D 3 . v 4	RSSQSIVHSNGQTYFE

10

20

30

40

5	1	H V R - L 1	
5 8	H u 3 7 D 3 . v 4	KVSNRFS	
6	1	H V R - L 2	
5 8	H u 3 7 D 3 . v 4	FQGSVPWT	
7	1	H V R - L 3	
5 8	H u 3 7 D 3 . v 4	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA	
8	1 I g G 4 - S	PGKGLEWVAT INSGGTYYTY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY	
	2 2 8 P . Y T E 重鎖	LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSSAST	10
		KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS	
		GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVTVPS SSLGTKITYTC	
		NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPPCPAPE FLGGPSVFLF	
		PPKPKDTLYI TREPEVTCVV VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE	
		VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV	
		SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SQEEMTKNQV	
		SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSGGS	
		FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL	20
		SLGK	
5 8	H u 3 7 D 3 . v 4	EDQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSIV HSNQQTYFEW	
9	1 I g G 4 - S	YQQKPGKSPK LLIYKVSNRFG SGVPSRFSGS GSGTDFTLTI	
	2 2 8 P . Y T E 輕鎖	SSLQPEDFAT YYCFQGSLVP WTFQGQTKVE IKRTVAAPSV	
		FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ	
		SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE	
		VTHQGLSSPV TKSFNRGEC	
5 9	H u 3 7 D 3 - H	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA	
0	9 . v 1 I g G 4	PGKGLEWVAT INSGGTYYTY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY	
	- S 2 2 8 P 重鎖	LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSSAST	30
		KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS	
		GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVTVPS SSLGTKITYTC	
		NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPPCPAPE FLGGPSVFLF	
		PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE	
		VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV	
		SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SQEEMTKNQV	
		SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSGGS	
		FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL	40
		SLGK	
5 9	H u 3 7 D 3 - H	EDQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSIV HSNQNTYFEW	
1	9 . v 1 I g G 4	YQQKPGKSPK LLIYKVSNRFG SGVPSRFSGS GSGTDFTLTI	
	輕鎖	SSLQPEDFAT YYCFQGSLVP WTFQGQTKVE IKRTVAAPSV	
		FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ	
		SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE	
		VTHQGLSSPV TKSFNRGEC	
5 9	M A P T (1 0 - 2	VMEDHAGTYGLGDRK	

2	4)	
5 9 3	M A P T (2 - 2 4)	AEPRQEFVMEHDHAGTYGLGDRK
5 9 4	M A P T (2 - 3 4)	AEPRQEFVMEHDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQD
5 9 5	M A P T (1 0 - 4 4)	VMEHDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLK
5 9 6	M A P T (2 - 2 4) Y 1 8 A	AEPRQEFVMEHDHAGTAGLGDRK
5 9 7	M A P T (2 - 2 4) L 2 0 A	AEPRQEFVMEHDHAGTYGAGDRK
5 9 8	h u 1 1 3 F 5 - F 7 . L C 1	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQNVG TAVAWYQQKP GKSPKLLIYS ASRRFSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYFCQQ FSTYPYTFGQ GTKVEIK
5 9 9	h u 1 1 3 F 5 - F 7 . L C 2	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQNVG TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS ASRRFSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYFCQQ FSTYPYTFGQ GTKVEIK
6 0 0	h u 1 1 3 F 5 - F 7 . L C 3	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQNVG TAVAWYQQKP GKSPKLLIYS ASRRFSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ FSTYPYTFGQ GTKVEIK
6 0 1	h u 1 1 3 F 5 - F 7 . L C 4	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQNVG TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS ASRRFSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ FSTYPYTFGQ GTKVEIK
6 0 3	2 3 1 G 3 F 1 0 重鎖可変領域	EVLVESGGG LVQPKGSLKL SCAASGFSFN TYAMNWVRQA PGKGLEWVAR IRSKRNNFAT YYADSVKDRF TISRDDSKSM LYLQMNNLKT EDTAMYYCVR WGYDDPYAMD YWGQGTSTVTV SS
6 0 4	2 3 1 G 3 F 1 0 軽鎖可変領域	NIMMTQSPSS LAVSAGEKVT MSCKSSQSVL YSSNQKNYLA WYQQKPGQSP KLLIYWASAR ESGVPDRFTG SGSGTDFTLT ISSVQAEDLA VYYCHQYFSS FTFGSGTKLE IK
6 0 5	2 3 1 G 3 F 1 0 H V R - H 1	TYAMN
6 0 6	2 3 1 G 3 F 1 0 H V R - H 2	RIRSKRNNFATYYADSVKD
6 0 7	2 3 1 G 3 F 1 0 H V R - H 3	WGYDDPYAMDY
6 0 8	2 3 1 G 3 F 1 0 H V R - L 1	KSSQSVLYSSNQKNYLA
6 0 9	2 3 1 G 3 F 1 0 H V R - L 2	WASARES
6 1	2 3 1 G 3 F 1 0	HQYFSSFT

10

20

30

40

0		H V R - L 3	
6 1	1	3 0 A 1 C 9 重鎖 可変領域	GVQLQQSGPE LVKPGASVKI SCKTSGYTFT EYTMHWMKQS HGKSLEWIGG IDPNTGNTNY NQKFKGKATL TVDKSSSTAY MDLRSLTSED SAVYYFYGSG YWGQGTILTV SS
6 2	1	3 0 A 1 C 9 軽鎖 可変領域	DVLMTQSPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSIV HSNGNTYLEW FLQKPGQSPK LLIYKVSNRFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQASHVP RTFGGGTKLE IK
6 3	1	3 0 A 1 C 9 H V R - H 1	EYTMH
6 4	1	3 0 A 1 C 9 H V R - H 2	GIDPNTGNTNYNQKFKG
6 5	1	3 0 A 1 C 9 H V R - H 3	SGY
6 6	1	3 0 A 1 C 9 H V R - L 1	RSSQSIVHSNGNTYLE
6 7	1	3 0 A 1 C 9 H V R - L 2	KVSNRFS
6 8	1	3 0 A 1 C 9 H V R - L 3	FQASHVPRT
6 9	1	2 1 1 G 6 - B 6 重鎖可変領域	QVQLKESGPG LVAPSQSLSI TCTVSGFSLT SYAISWVRQP PGKGLEWLGVIWTGGGTNYN SALKSRLSIT KDNSKNQVFF RMNSLQTDDT ARYYCARKKL YDYDGGYFFD YWGQGTTLTV SS
6 0	2	2 1 1 G 6 - B 軽鎖 可変領域	DIVMSQSPSS LAMSVGEKVT MSCKSNQSLL YSSNQKNYLA WYQQKPGQSP KLLIYWASTR ESGVPDRFTG SSGTDFTLT ISSVKAEDLA VYYCHQYYSY PWTFGGGTKL EIK
6 1	2	2 1 1 G 6 - B 6 H V R - H 1	SYAIS
6 2	2	2 1 1 G 6 - B 6 H V R - H 2	VIWTGGGTNYNSALKS
6 3	2	2 1 1 G 6 - B 6 H V R - H 3	KKLYDYDGGYFFDY
6 4	2	2 1 1 G 6 - B 6 H V R - L 1	KSNQSLLYSSNQKNYLA
6 5	2	2 1 1 G 6 - B 6 H V R - L 2	WASTRES
6 6	2	2 1 1 G 6 - B 6 H V R - L 3	HQYYSYPWT
6 7	2	7 7 D 1 - D 2 重鎖	EVQLQQSVAE LVRPGASVTL SCTSSGFNIK NTYMHWVIQR

10

20

30

40

7	鎖可変領域	PEQGLEWIGK IDPAIVNTKY APKFQ GKATI TADTSSNTAY LQLSSLTSED TGIYYCAEGA LLYWGLGTSV TVSS
6 2 8	7 7 D 1 - D 2 軽 鎖可変領域	DVVMQTPLS LSVTIGQPAS ISCKSSQSLL HSNGKTYLWN LQQRPGQAPK LLMYLVSKVD PGIPDRFSGS GSETDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQGTYYP HTFGGGTKLE IK
6 9	7 7 D 1 - D 2 H V R - H 1	NTYMH
6 0	7 7 D 1 - D 2 H V R - H 2	KIDPAIVNTKYAPKFQG
6 1	7 7 D 1 - D 2 H V R - H 3	GALLY
6 2	7 7 D 1 - D 2 H V R - L 1	KSSQSLLHSNGKTYLN
6 3	7 7 D 1 - D 2 H V R - L 2	LVSKVDP
6 4	7 7 D 1 - D 2 H V R - L 3	FQGTYYPHT
6 5	7 1 H 8 - D 6 及 び 8 3 E 1 0 - D 6 重鎖可変領域	EVQLQQSGAE LVRSGASVKL SCTASGFNIK DYYIQWVKQR PEQGLEWIGW IDPENGDTDY APKFQ GKATM TADTSSNTAY LQFSSLTSED TAVYYCNRGW GYWGQGTTLT VSS
6 6	7 1 H 8 - D 6 及 び 8 3 E 1 0 - D 6 軽鎖可変領域	DVVMQTPLT LPITLGQPAS ISCKSSQSLL HSDGKTYLSW LLQRPQGSPK RLIYLVSELD SGVPDRFTGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGL YYCWQGTTHFP QTFGGGTKLE IK
6 7	7 1 H 8 - D 6 及 び 8 3 E 1 0 - D 6 H V R - H 1	DYYIQ
6 8	7 1 H 8 - D 6 及 び 8 3 E 1 0 - D 6 H V R - H 2	WIDPENGDTDYAPKFQG
6 9	7 1 H 8 - D 6 及 び 8 3 E 1 0 - D 6 H V R - H 3	GWGY
6 0	7 1 H 8 - D 6 及 び 8 3 E 1 0 - D 6 H V R - L 1	KSSQSLLHSDGKTYLS
6 1	7 1 H 8 - D 6 及 び 8 3 E 1 0 - D 6 H V R - L 2	LVSELD

10

20

30

40

6 2	4	7 1 H 8 - D 6 及 び 8 3 E 1 0 - D 6 H V R - L 3	WQGT HFPQT	
6 3	4	3 0 7 H 3 E 8 重 鎖可変領域	EVKFEESGGG LVQPGGSMKL SCVASGFTFS NYWMNWVRQS PEKGLEWVAQ IRLKSDNHAT HYAESVKGRF TISRDDSKST VYLQMNNLGA EDTGIYFCTE GGAYFDYWGQ GTTLTVSS	
6 4	4	3 0 7 H 3 E 8 軽鎖可変領域	DVVMQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQNLV HSNNGTYFHW YLQKPGQSPK LLIYKVS NRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YVCSQSTHVP PTFGGGTKLE IK	10
6 5	4	3 0 7 H 3 E 8 H V R - H 1	NYWMN	
6 6	4	3 0 7 H 3 E 8 H V R - H 2	QIRLKSDNHATHYAESVKG	
6 7	4	3 0 7 H 3 E 8 H V R - H 3	GGAYFDY	
6 8	4	3 0 7 H 3 E 8 H V R - L 1	RSSQNLVHSNGNTYFH	20
6 9	4	3 0 7 H 3 E 8 H V R - L 2	KVSNRFS	
6 0	5	3 0 7 H 3 E 8 H V R - L 3	SQSTHVPPT	
6 1	5	6 3 H 3 - D 8 重 鎖可変領域	QIQLVQSGPE LKKPGETVKI SCKASGYTFT SHGMSWVKQA PGKGLKWMGW INTYSGVPTY ADDFKGRFAF SLETSASTAY LQINNKNED TATYFCARSE LSWFAYWGQG TLTVSA	
6 2	5	6 3 H 3 - D 8 軽 鎖可変領域	DIVMTQSPAT LSVTPGDRVS LSCRASQSIGS DYLHWYQQKS HESPRLLIKY ASQSIGIPS RFSGSGSGSD FTLSINSVEP EDVGVIYCQN GHSPYTFGG GTKLEIK	30
6 3	5	6 3 H 3 - D 8 H V R - H 1	SHGMS	
6 4	5	6 3 H 3 - D 8 H V R - H 2	WINTYSGVPTYADDFKG	
6 5	5	6 3 H 3 - D 8 H V R - H 3	SELSWFAY	
6 6	5	6 3 H 3 - D 8 H V R - L 1	RASQSIGSYLH	40
6 7	5	6 3 H 3 - D 8 H V R - L 2	YASQSIGS	
6 8	5	6 3 H 3 - D 8 H V R - L 3	QNGHSPYTF	
6 9	5	6 4 B 9 - F 1 2 重鎖可変領域 (V H)	QIQLVQSGPELRKPGETVKISCKASGYTFTTYGMSWVKQAPGEGLK WMGWINTYSGMPTYADDFKGRFAFSLETSARTAYLQINNKNEDTA TYFCARSELSWFAYWGQGLTVSA	

6 0	6 6	6 4 B 9 - F 1 2 軽鎖可変領域 (V L)	DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSCRASQ SISDYLHWYQQKSHESPRL LIKYASQSIGIPSRFSGSGSDFTLSIN SVEPEDVGVYYCQNGH NFPYTFGGGTKLEIK	
6 1	6 6	6 4 B 9 - F 1 2 H V R - H 1	TYGMS	
6 2	6 6	6 4 B 9 - F 1 2 H V R - H 2	WINTYSGMPTYADDFKG	
6 3	6 6	6 4 B 9 - F 1 2 H V R - H 3	SELWFAY	10
6 4	6 6	6 4 B 9 - F 1 2 H V R - L 1	RASQSIDYLH	
6 5	6 6	6 4 B 9 - F 1 2 H V R - L 2	YASQSIG	
6 6	6 6	6 4 B 9 - F 1 2 H V R - L 3	QNGHNFPYT	
6 7	6 6	7 2 E 1 2 - H 9 重鎖可変領域 (V H)	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLS CVASGFTFSNYWMNWVRQSPEK GLE WVAQIRLKSDNYATHYAESV KGRFTISRDDSKSSVYLQMN NLRAED TGIYYCAGYFYGGYFDVWGT GTTVTVSS	20
6 8	6 6	7 2 E 1 2 - H 9 軽鎖可変領域 (V L)	ELVLTQSPTTMAASPGKKITIT CSASSSISSNYLHWYQQKPGF SPK LLIYRTSNLASGVPARFSGSG SGTSYSLTIGTMEAEDVATYYC QQG SSLPFTFGSGTKLEIK	
6 9	6 6	7 2 E 1 2 - H 9 H V R - H 1	NYWMN	
6 0	6 7	7 2 E 1 2 - H 9 H V R - H 2	QIRLKSDNYATHYAESVKG	
6 1	6 7	7 2 E 1 2 - H 9 H V R - H 3	YFYGGYFDV	30
6 2	6 7	7 2 E 1 2 - H 9 H V R - L 1	SASSSISSNYLH	
6 3	6 7	7 2 E 1 2 - H 9 H V R - L 2	RTSNLAS	
6 4	6 7	7 2 E 1 2 - H 9 H V R - L 3	QQGSSLPFT	
6 5	6 7	3 0 D 1 2 - B 5 重鎖可変領域 (V H)	EVQLQQSGAELVKPGASVKLS CTTSGFNIKDTYMHVWKQRPE QGLE WIGGIDPANGNTKYDPKFQ GKATITADTSSNTAYLQLSSL TSED TAVYYCAHGNFVYWGQGLV TVSA	40
6 6	6 7	3 0 D 1 2 - B 5 軽鎖可変領域 (V L)	DVMTQTPLSLSVTIGQPASIS CKSSQSLLYSNGKTYLNWFQ QRP GQAPKHLMYQVSKLDGP GIPDRFSGSGSETDFTLKISR VEAEDLG VYYCLQGTYYPLTFGAGTN LELK	
6 7	6 7	3 0 D 1 2 - B 5 H V R - H 1	DTYMH	
6 7	6 7	3 0 D 1 2 - B 5	GIDPANGNTKYDPKFQG	

8	H V R - H 2	
6 7 9	3 0 D 1 2 - B 5 H V R - H 3	GNFVY
6 8 0	3 0 D 1 2 - B 5 H V R - L 1	KSSQSLLYSNGKTYLN
6 8 1	3 0 D 1 2 - B 5 H V R - L 2	QVSKLDP
6 8 2	3 0 D 1 2 - B 5 H V R - L 3	LQGTYYPLT
6 8 3	4 9 G 1 0 - F 4 重鎖可変領域 (V H)	QVQLQQPGAELVQPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQRPQGGL WIGEIDPSDSYTNYNQNFKD KATLTVDTSRTAYMQLSSLTSEDSA VYYCTRRWYINSVRYFDVWGTGTTVTSA
6 8 4	4 9 G 1 0 - F 4 軽鎖可変領域 (V L)	DVLTMTQPLSLASLGDAQASISCRSSQSIVHSNGNIYLEWYLQKPG QSPKLLIYKVSNRFSGVSDRFGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYY CFQGAHVPFTFGAGTKLEIK
6 8 5	4 9 G 1 0 - F 4 H V R - H 1	NYWMQ
6 8 6	4 9 G 1 0 - F 4 H V R - H 2	EIDPSDSYTNYNQNFKD
6 8 7	4 9 G 1 0 - F 4 H V R - H 3	RWYINSVRYFDV
6 8 8	4 9 G 1 0 - F 4 H V R - L 1	RSSQSIVHSNGNIYLE
6 8 9	4 9 G 1 0 - F 4 H V R - L 2	KVSNRFS
6 9 0	4 9 G 1 0 - F 4 H V R - L 3	FQGAHVPFT
6 9 1	6 5 B 1 - A 2 重 鎖可変領域 (V H)	QVQLKESGPGLVAPSQSLITCTISGFSLTITYGVHWVRQPPGKGL WLVVIWSDGSTTYSALKSRLSISKDNSKQVFLKMNSLQTDATAM YYCARQGGFITTAYYAMDYWGQGTSTVTVSS
6 9 2	6 5 B 1 - A 2 軽 鎖可変領域 (V L)	DIVMSQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLLNSRTRKNYLAWYQQKP GQSPKLLIYWASTRESGVDPDRFTGSGSGTDFTLTISVQAEDLAVY YCKQSYNLYTFGGGKLEIK
6 9 3	6 5 B 1 - A 2 H V R - H 1	TYGVH
6 9 4	6 5 B 1 - A 2 H V R - H 2	VIWSDGSTTYSALKS
6 9 5	6 5 B 1 - A 2 H V R - H 3	QGGFITTAYYAMDY
6 9 6	6 5 B 1 - A 2 H V R - L 1	KSSQSLLNSRTRKNYLA
6 9	6 5 B 1 - A 2	WASTRES

10

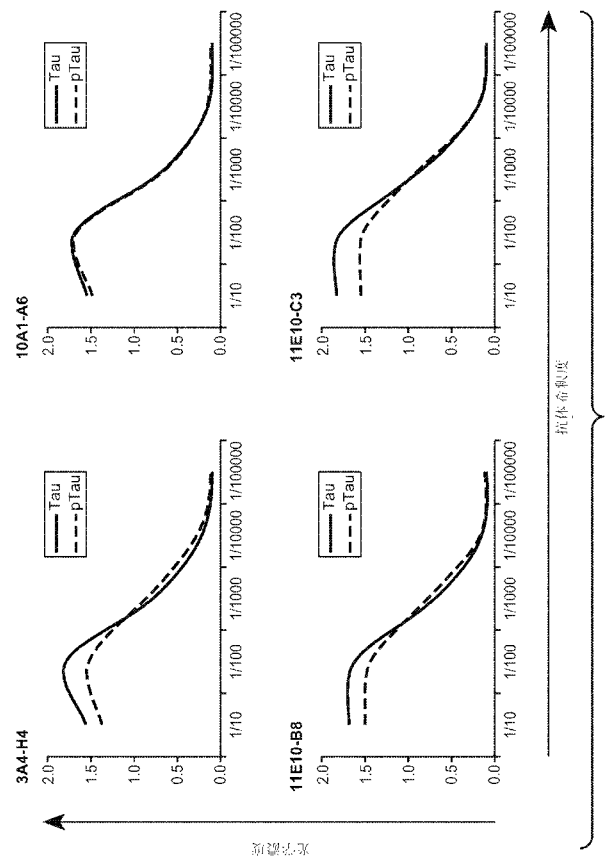
20

30

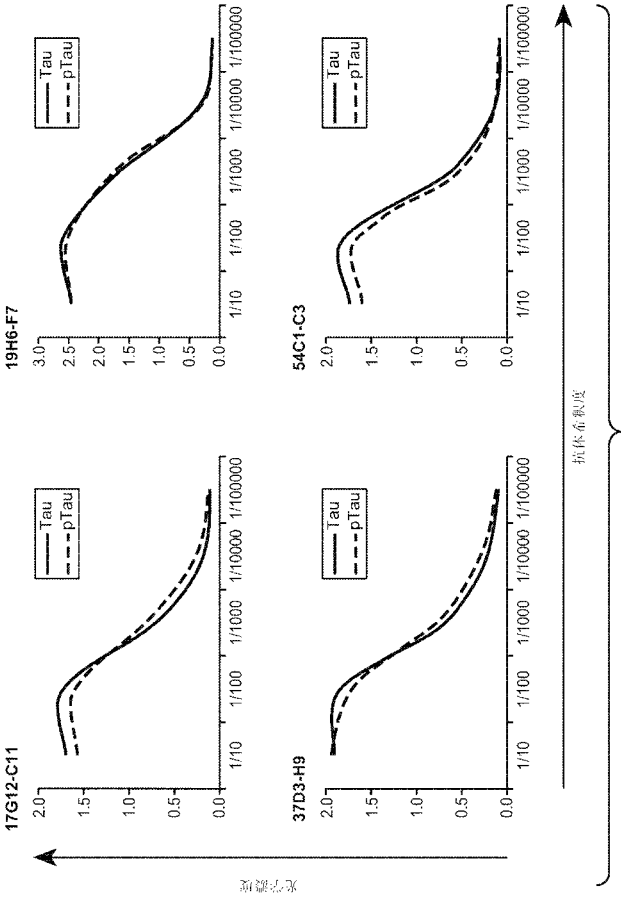
40

7		H V R - L 2	
6	9	6 5 B 1 - A 2	KQSYNLYT
8		H V R - L 3	

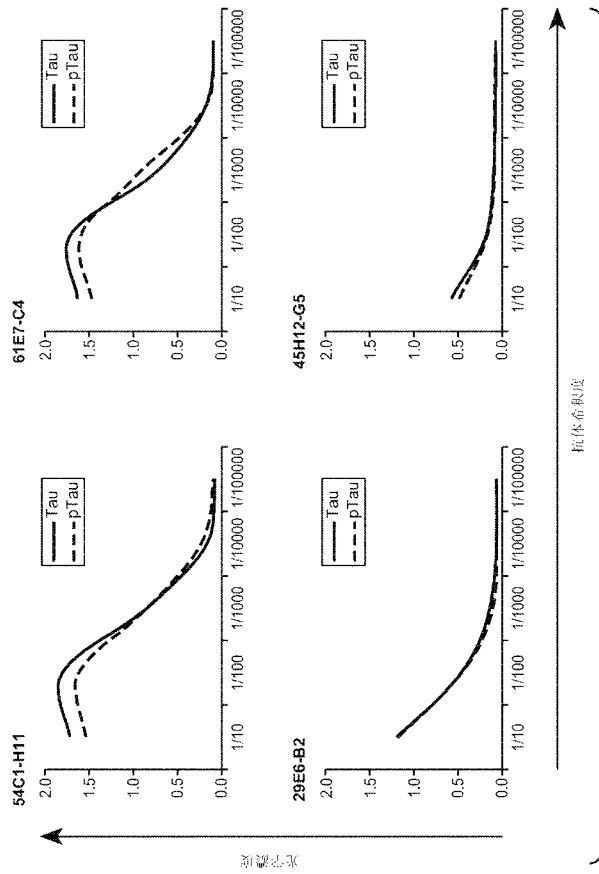
【 図 1 A 】



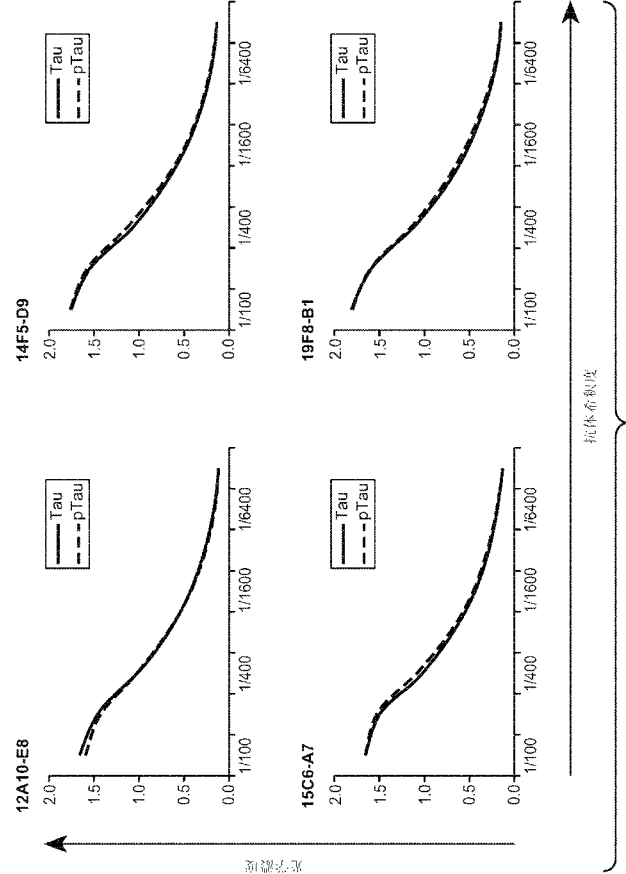
【 図 1 B 】



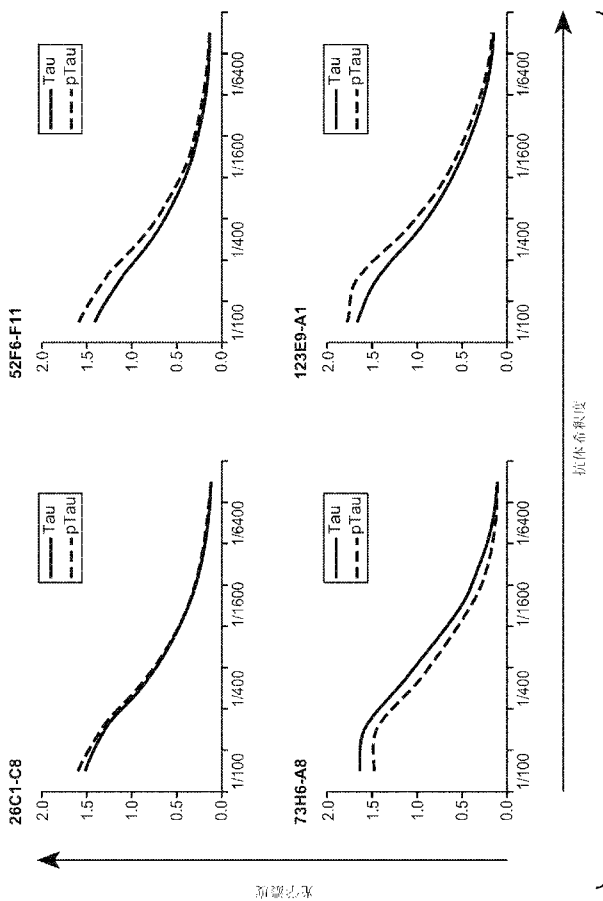
【図 1 C】



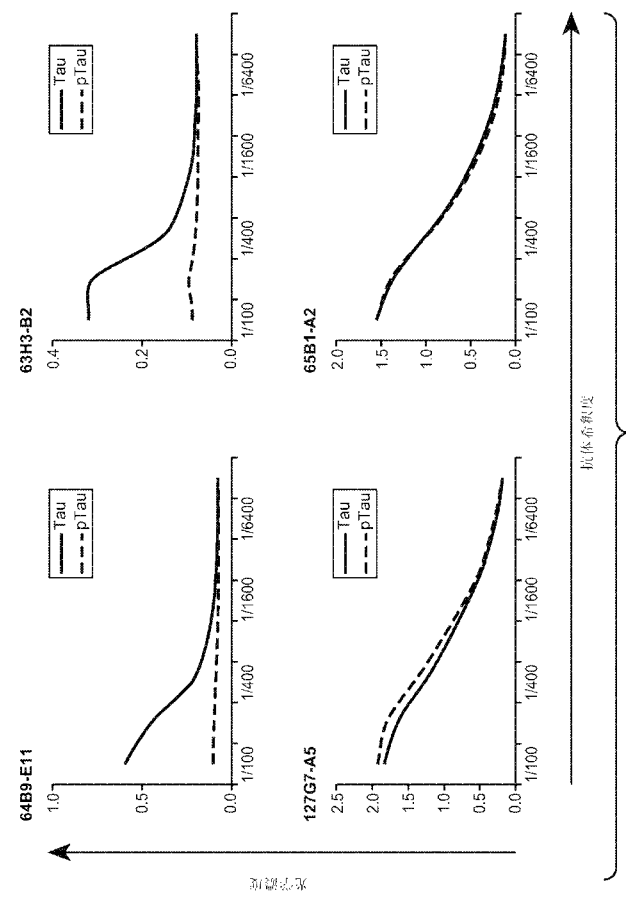
【図 1 D】



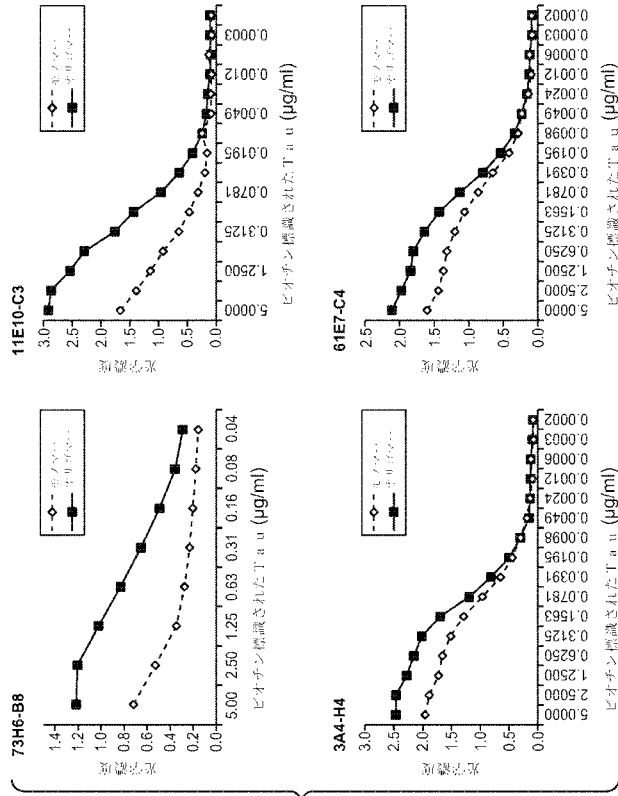
【図 1 E】



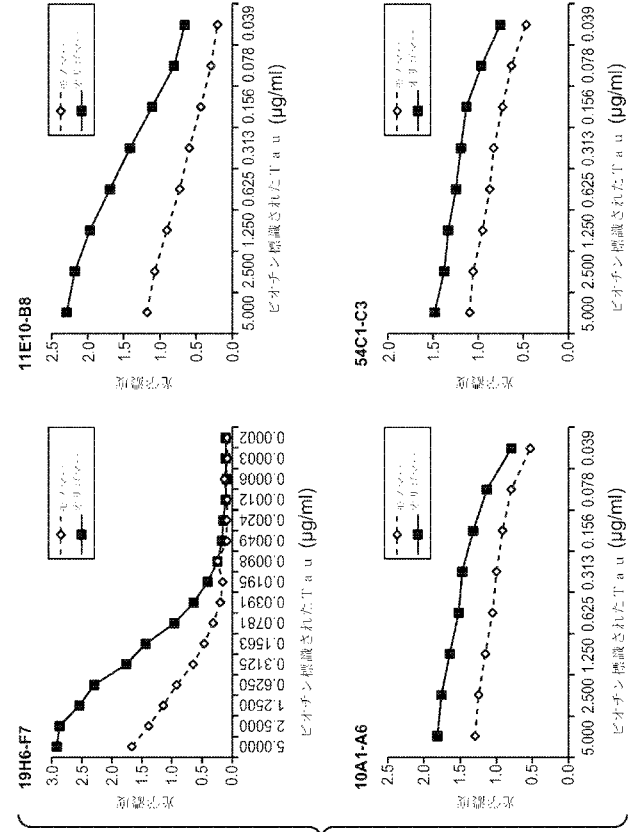
【図 1 F】



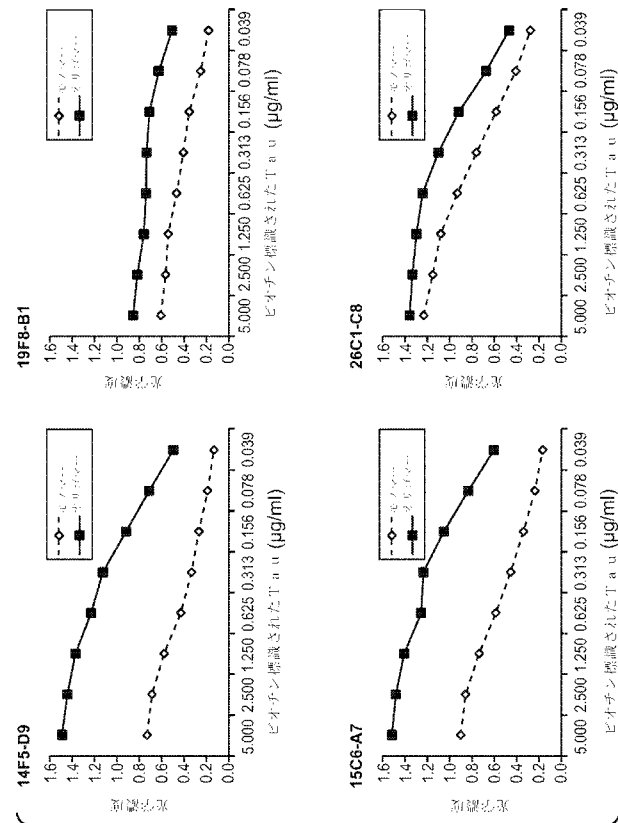
【図 2 A】



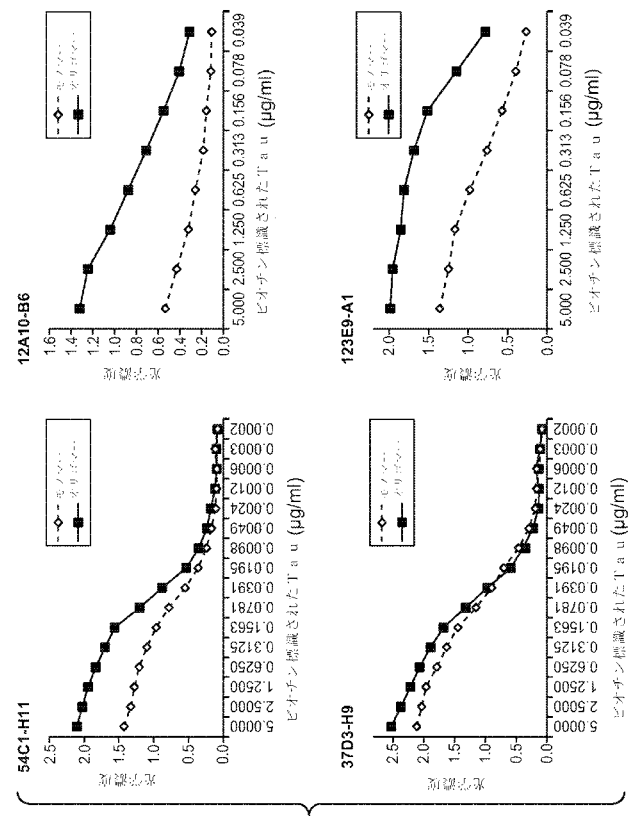
【図 2 B】



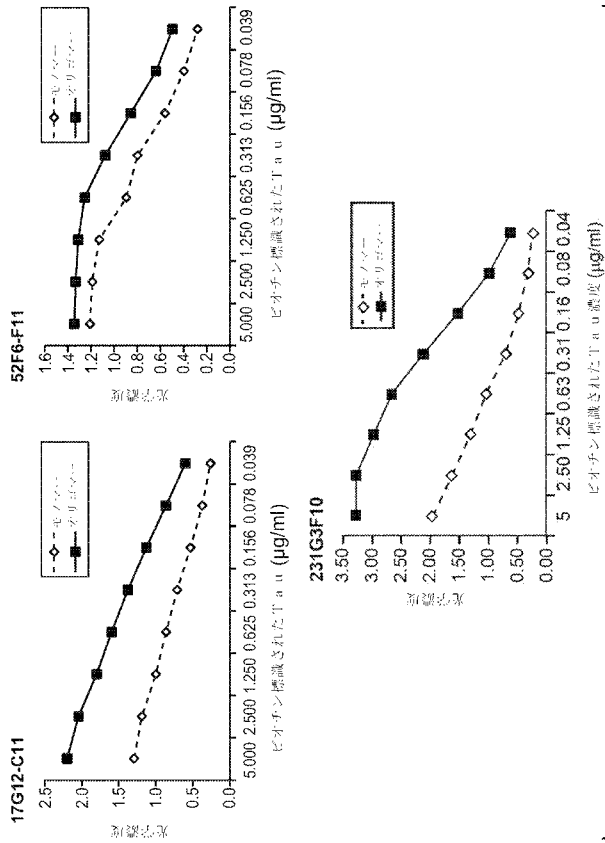
【図 2 C】



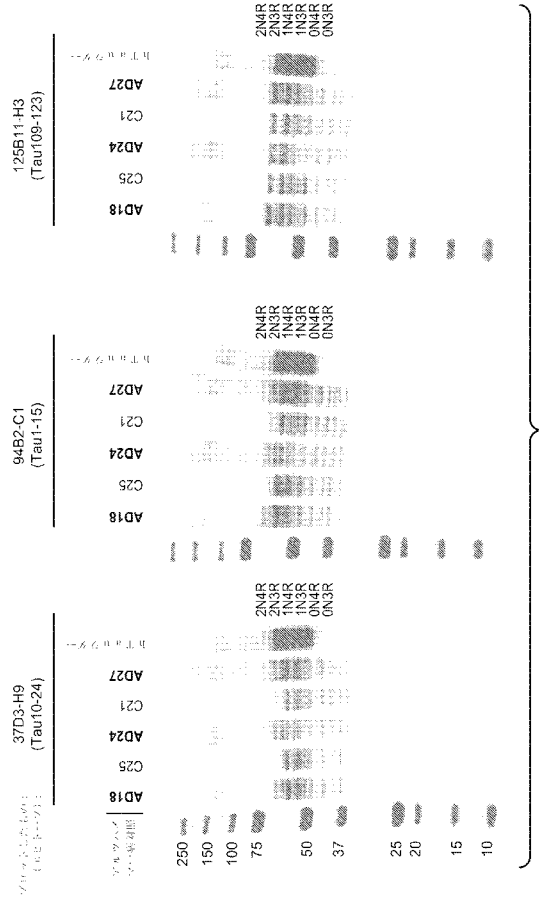
【図 2 D】



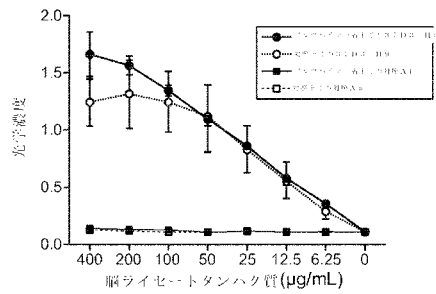
【図 2 E】



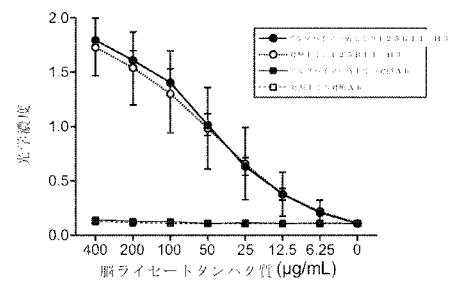
【図 3】



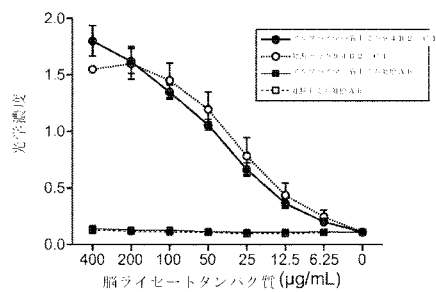
【図 4 A】



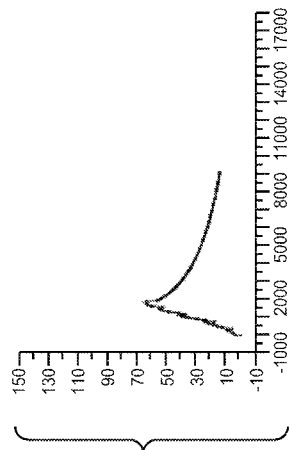
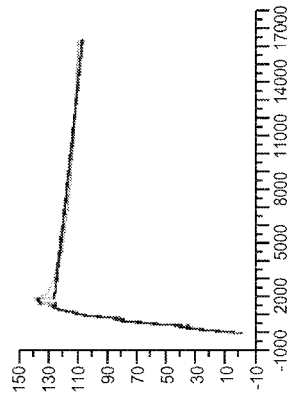
【図 4 C】



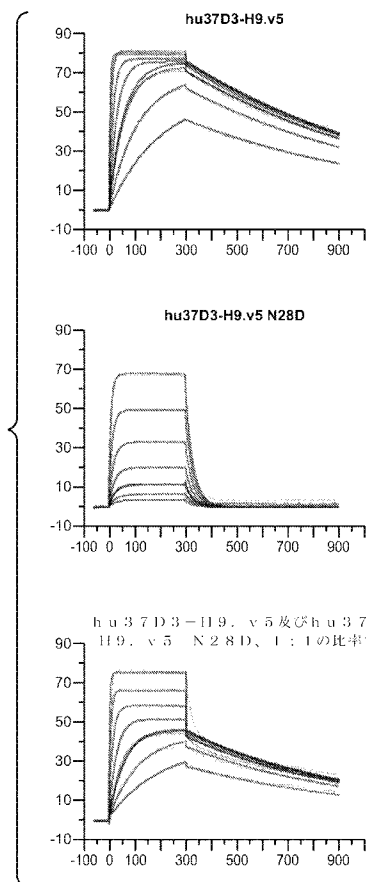
【図 4 B】



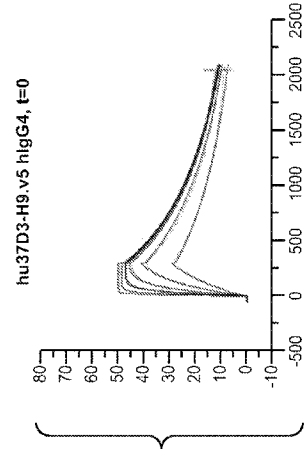
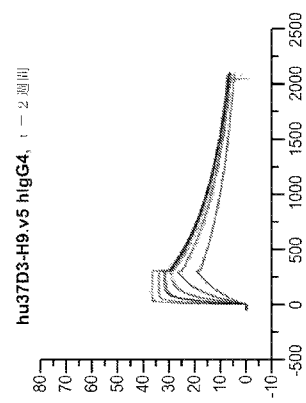
【図 5】



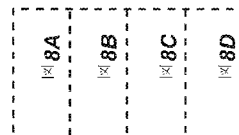
【図 7】



【図 6】



【図 8】



【図 8 A】

抗体	KD (nM)	安定性増強 C ₁₂ -12、1.0%R ₁₀ AS 増強 正相化R ₁₀ AS (35万面) 0.1 μg	選択された位置でのV _L 残基 (K ₁ n ₁ n ₂ n ₃ n ₄ n ₅ n ₆ n ₇ n ₈ n ₉ n ₁₀ n ₁₁ n ₁₂)										配列番号				
			1	2	4	27D	27E	28	29	30	31	32		33	93		
正相化R ₁₀ AS (35万面) (平均 n = 9)	1.0	106%	はい	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L	350	
hu37D3.v28.A5	0.9	73%	はい	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L	351	
hu37D3.v28.A6	4.0	72%	はい	E	D	L	H	S	N	A	G	N	T	Y	F	L	352
hu37D3.v28.A7	10.9	97%	はい	E	D	L	H	S	N	S	G	N	T	Y	F	L	353
hu37D3.v28.A8	73.2	70%	はい	E	D	L	H	S	D	G	N	T	Y	F	L	354	
hu37D3.v28.A9	36.1	78%	-	E	D	L	H	S	D	G	N	T	Y	F	L	355	
hu37D3.v28.A10	64.5	75%	-	E	D	L	H	S	E	G	N	T	Y	F	L	356	
hu37D3.v28.A11	36.6	67%	はい	E	D	L	H	S	A	G	N	T	Y	F	L	357	
hu37D3.v28.A12	13.0	67%	はい	E	D	L	H	S	N	G	D	Q	T	Y	F	L	358
hu37D3.v28.A13	2.2	90%	はい	E	D	L	H	S	N	G	D	Q	T	Y	F	L	359
hu37D3.v28.A14	5.3	95%	はい	E	D	L	H	S	N	G	E	T	Y	F	L	360	
hu37D3.v28.A15	4.7	78%	はい	E	D	L	H	S	N	G	E	T	Y	F	L	361	
hu37D3.v28.A16	97.7	71%	はい	E	D	L	H	S	N	G	S	T	Y	F	L	362	
hu37D3.v28	0.9	78%	はい	D	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L	363	
hu37D3.v28.A2	32.6	72%	はい	D	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	H	364	
hu37D3.v28.A4	1.2	96%	はい	D	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	L	L	365	
hu37D3.v28.A6	38.3	82%	はい	D	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	L	L	366	
hu37D3.v28.A8	1.8	57%	はい	D	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	H	367	

【図 8 C】

抗体	KD (nM)	安定性増強 C ₁₂ -12、1.0%R ₁₀ AS 及変性阻害剤R ₁₀ AS (電力面) 0.1 μg	配列番号 (平均 n = 9)	選択された位置でのV _L 残基 (K ₁ n ₁ n ₂ n ₃ n ₄ n ₅ n ₆ n ₇ n ₈ n ₉ n ₁₀ n ₁₁ n ₁₂)											
				1	2	4	27D	27E	28	29	30	31	32	33	93
	1.0	106%	389	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v28.E1	20.1	46%	390	D	D	L	N	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v28.E2	22.5	28%	391	D	D	L	Q	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v28.E3	1.1	364%	392	D	D	L	Q	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v28.F1	2.1	81%	393	D	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v28.F2	1.9	51%	394	D	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v28.F3	9.5	70%	395	D	D	L	H	S	N	A	N	T	Y	F	L
hu37D3.v28.E5	35.6	74%	396	E	D	L	H	S	H	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v28.E2	17.6	80%	397	E	D	L	H	S	K	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v28.E3	22.9	76%	398	E	D	L	H	S	R	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v28.E4	24.8	82%	399	E	D	L	H	S	L	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v28.E5	2.6	82%	400	D	D	L	H	S	N	Q	N	T	Y	F	L
hu37D3.v28.E6	5.4	76%	401	D	D	L	H	S	N	Y	N	T	Y	F	L
hu37D3.v28.E7	4.4	88%	402	D	D	L	H	S	N	F	N	T	Y	F	L
hu37D3.v29.1	13.5	70%	403	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v29.2	2.6	88%	404	E	D	L	H	S	N	G	Q	T	Y	F	L
hu37D3.v29.3	5.6	93%	405	E	D	L	H	S	N	G	E	T	Y	F	L
hu37D3.v29.4	4.9	76%	406	E	D	L	H	S	N	G	A	T	Y	F	L
hu37D3.v29.5	1.4	64%	407	E	D	L	H	S	N	G	H	T	Y	F	L
hu37D3.v29.6	1.4	62%	408	E	D	L	H	S	N	G	K	T	Y	F	L
hu37D3.v29.7	4.6	90%	409	E	D	L	H	S	N	G	K	T	Y	F	L
hu37D3.v29.8	40.9	77%	410	E	D	L	H	S	N	A	D	T	Y	F	L
hu37D3.v29.9	7.3	86%	411	E	D	L	H	S	N	A	Q	T	Y	F	L
hu37D3.v29.10	17.4	100%	412	E	D	L	H	S	N	A	Q	T	Y	F	L

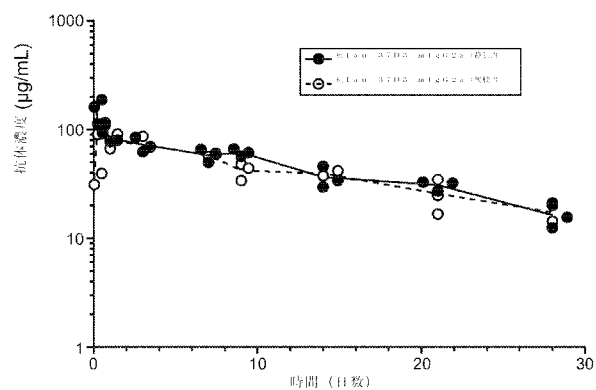
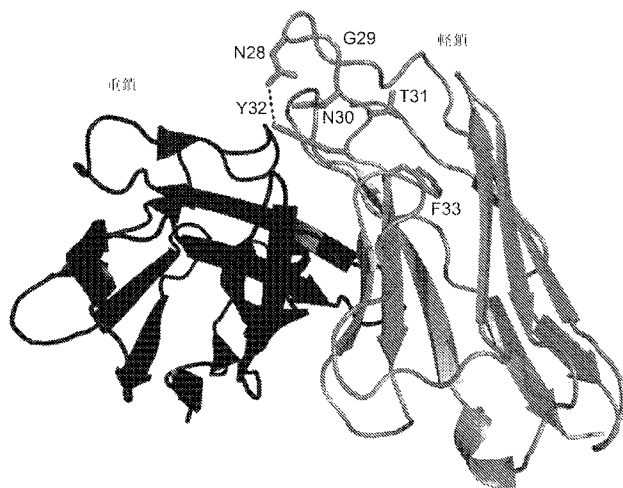
【図 8 B】

抗体	368	F	H	T	N	G	N	S	H	D	D	い	37%	41.8	hu37D3.v28.A10
	369	L	L	T	N	G	N	S	H	D	D	い	88%	1.8	hu37D3.v28.A12
	370	L	H	T	N	G	N	S	H	D	D	い	70%	51.4	hu37D3.v28.A14
	371	F	L	T	N	G	N	S	H	D	D	い	89%	3.9	hu37D3.v28.A16
	372	F	H	T	N	G	N	S	H	D	D	い	83%	17.3	hu37D3.v28.A18
	373	L	L	T	N	G	N	S	H	D	D	い	93%	7.1	hu37D3.v28.A20
	374	L	H	T	N	G	N	S	H	D	D	い	70%	27.8	hu37D3.v28.A22
	375	F	L	T	N	G	N	S	H	D	D	い	95%	4.7	hu37D3.v28.A24
	376	F	H	T	N	G	N	S	H	D	D	い	78%	22.5	hu37D3.v28.A26
	377	L	L	T	N	G	N	S	H	D	D	い	89%	11.4	hu37D3.v28.A28
	378	L	H	T	N	G	N	S	H	D	D	い	77%	34.4	hu37D3.v28.A30
	379	F	L	T	N	G	N	S	H	D	D	い	101%	24.3	hu37D3.v28.B1
	380	F	L	T	N	G	N	S	H	D	D	い	83%	31.8	hu37D3.v28.B2
	381	F	L	T	N	G	N	S	H	D	D	-	208%	0.4	hu37D3.v28.B3
	382	F	L	T	N	G	N	S	H	D	D	-	288%	10.5	hu37D3.v28.B4
	383	F	L	T	N	G	N	S	H	D	D	い	46%	85.6	hu37D3.v28.B6
	384	F	L	T	N	G	N	S	H	D	D	-	607%	4.1	hu37D3.v28.B7
	385	F	L	T	N	G	N	S	H	D	D	い	456%	1.8	hu37D3.v28.B8
	386	F	L	T	N	G	N	S	H	D	D	い	77%	1.4	hu37D3.v28.C1
	387	F	L	T	N	G	N	S	H	D	D	い	75%	9.6	hu37D3.v28.C2
	388	F	L	T	N	G	N	S	H	D	D	い	73%	5.7	hu37D3.v28.D1

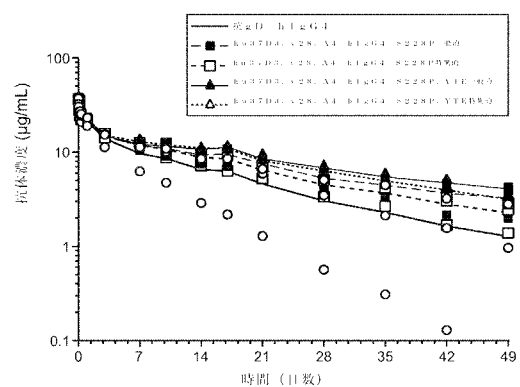
【図 8 D】

抗体	KD (nM)	安定性増強 C ₁₂ -12、1.0%R ₁₀ AS 増強 負相化R ₁₀ AS (25万面) 0.1 μg	配列番号 (平均 n = 9)	選択された位置でのV _L 残基 (K ₁ n ₁ n ₂ n ₃ n ₄ n ₅ n ₆ n ₇ n ₈ n ₉ n ₁₀ n ₁₁ n ₁₂)											
				1	2	4	27D	27E	28	29	30	31	32	33	93
配列番号	1.0	106%	413	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v29.11	27.9	67%	414	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v29.12	7.0	50%	415	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v29.13	6.7	79%	416	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v29.14	22.0	92%	417	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v30.1	22.5	87%	418	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v30.2	4.2	96%	419	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v30.3	38.1	83%	420	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v30.4	22.0	87%	421	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v30.5	29.1	80%	422	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v30.6	19.1	270%	423	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v30.7	34.9	93%	424	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v30.8	31.4	105%	425	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v30.9	36.4	63%	426	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v30.10	16.1	84%	427	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v30.11	20.9	86%	428	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v31.1	41.2	72%	429	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v31.2	10.6	90%	430	E	D	L	H	S	N	A	V	T	Y	F	L
hu37D3.v31.3	9.8	93%	431	E	D	L	H	S	N	A	V	T	Y	F	L
hu37D3.v31.4	0.8	533%	432	E	D	L	H	S	N	A	P	T	Y	F	L
hu37D3.v31.5	15.2	85%	433	E	D	L	H	S	N	A	F	T	Y	F	L
hu37D3.v31.6	15.5	90%	434	E	D	L	H	S	N	A	R	T	Y	F	L
hu37D3.v31.7	6.9	83%	435	E	D	L	H	S	N	A	N	I	Y	F	L
hu37D3.v31.8	10.9	78%	436	E	D	L	H	S	N	A	N	I	Y	F	L
hu37D3.v31.9	7.5	81%	437	E	D	L	H	S	N	A	N	I	Y	F	L
hu37D3.v31.10	5.5	261%	438	E	D	L	H	S	N	A	N	P	Y	F	L
hu37D3.v31.11	22.7	126%	439	E	D	L	H	S	N	A	N	P	Y	F	L
hu37D3.v31.12	41.6	99%	440	E	D	L	H	S	N	A	N	N	Y	F	L
hu37D3.v31.13	48.1	83%	441	E	D	L	H	S	N	A	N	N	Y	F	L
hu37D3.v31.14	35.5	86%	442	E	D	L	H	S	N	A	N	N	Y	F	L

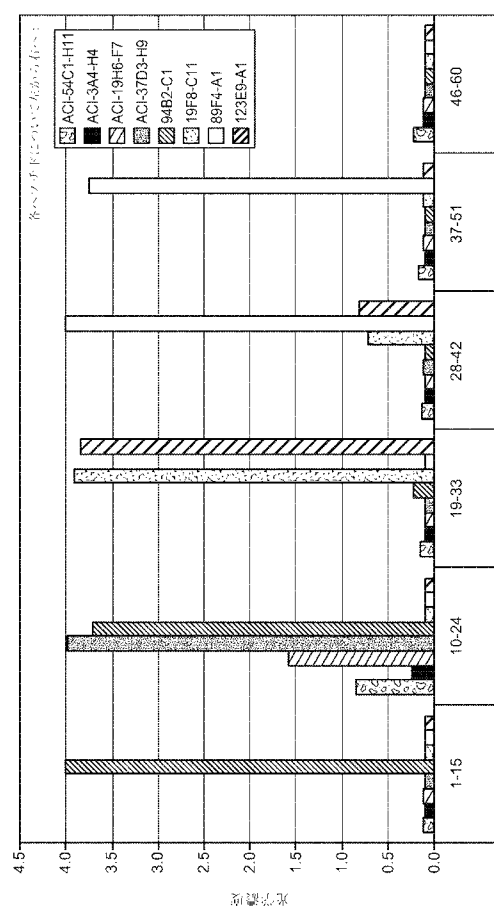
【 図 1 0 】



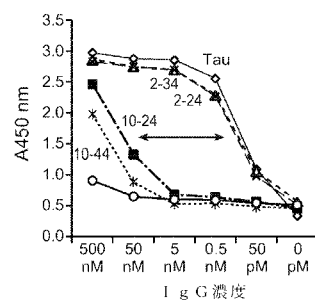
【 図 1 1 】



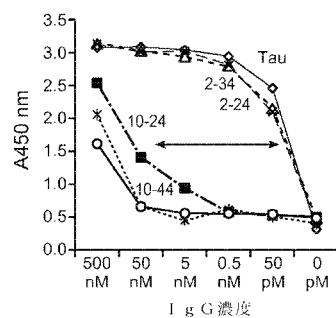
【 図 1 2 A 】



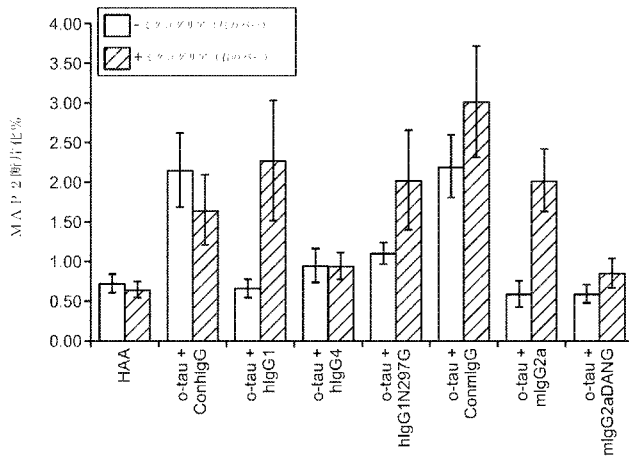
【 図 1 2 B 】



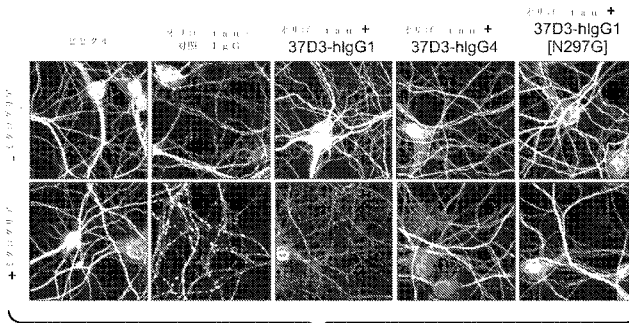
【 図 1 2 C 】



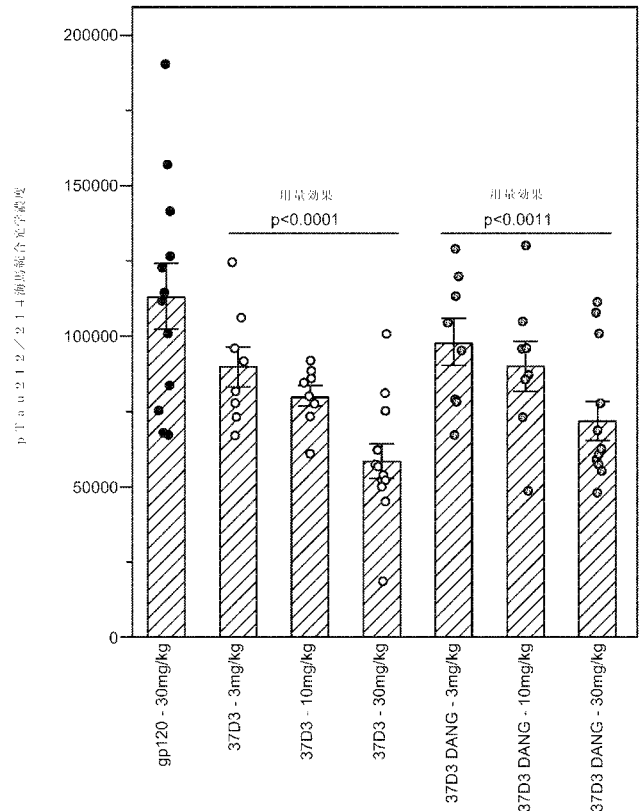
【図 13 A】



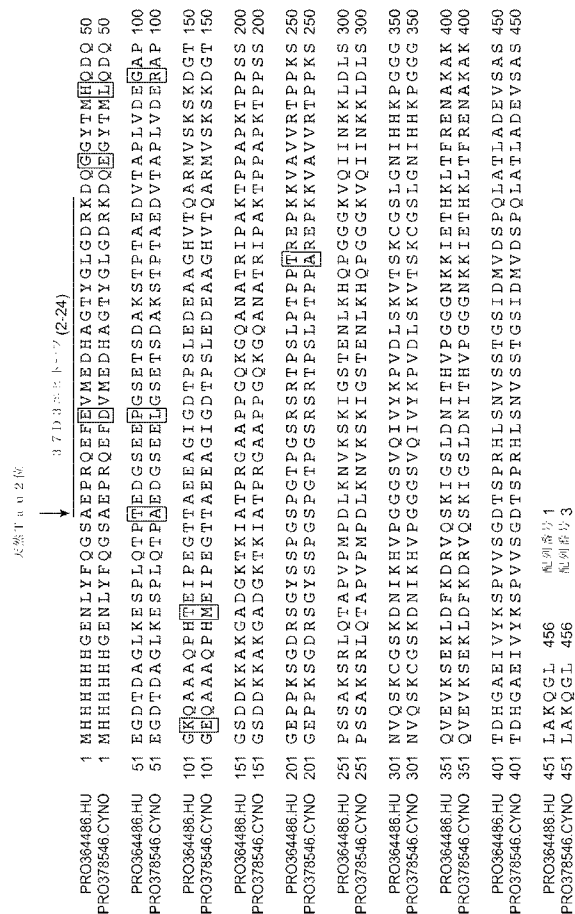
【図 13 B】



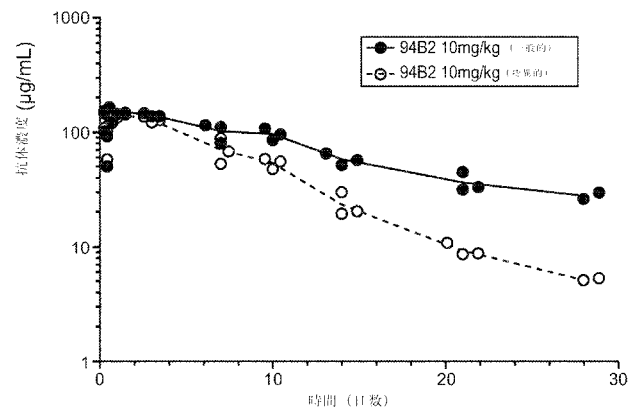
【図 14】



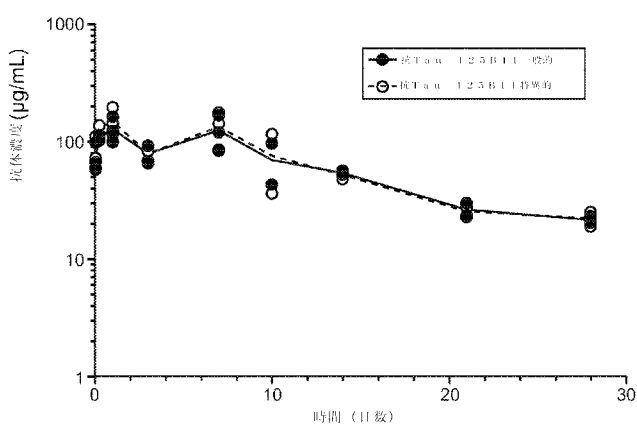
【図 15】



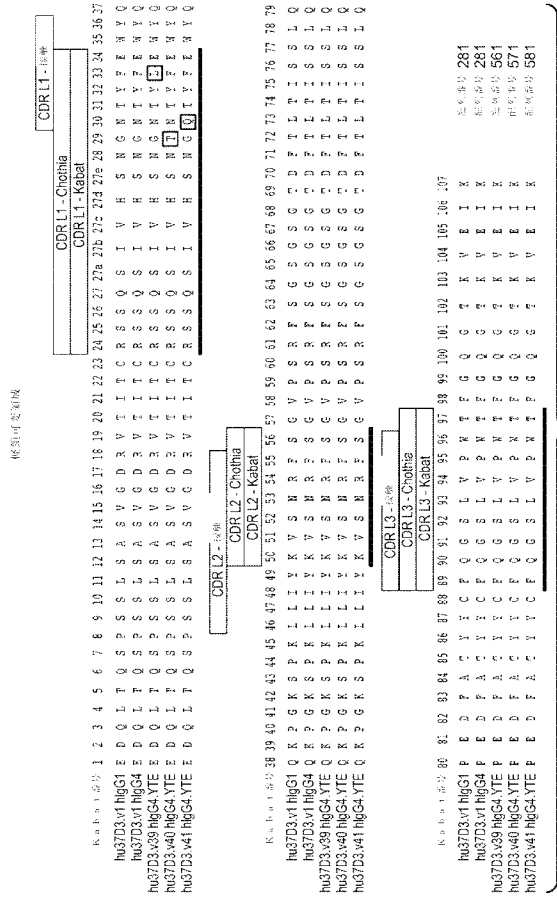
【図 16】



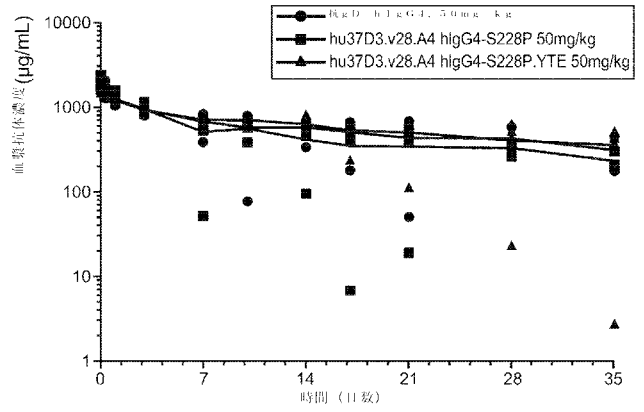
【図 17】



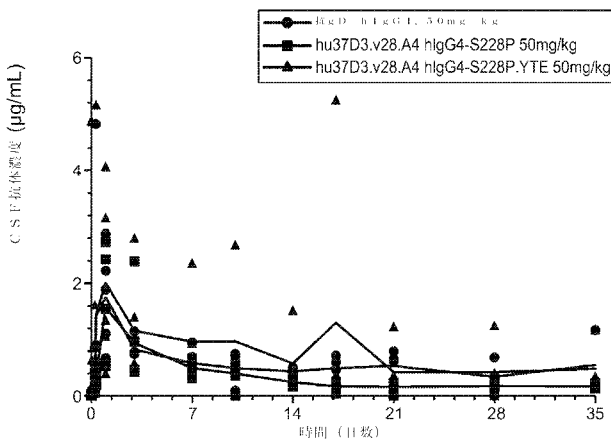
【図 18】



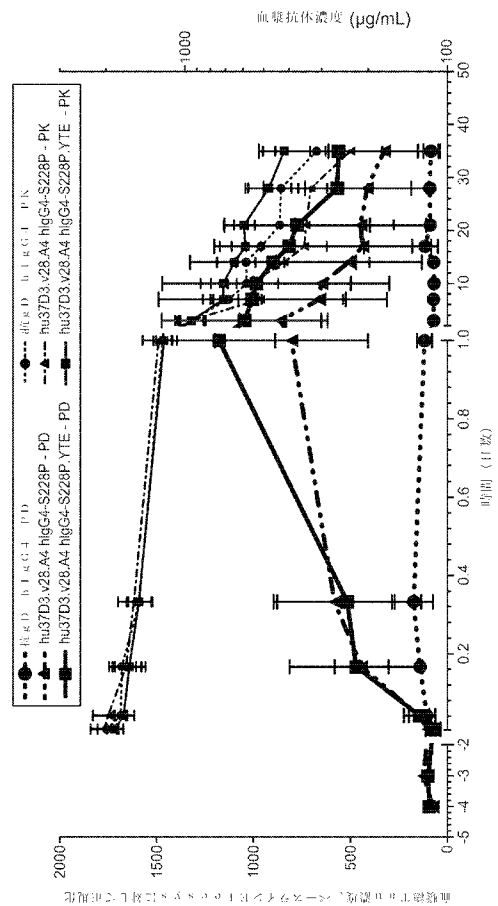
【図 19 A】



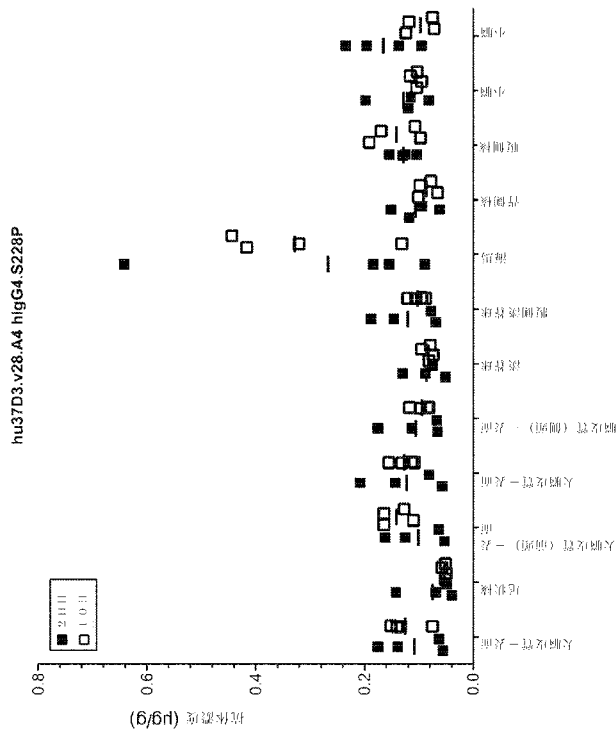
【図 19 B】



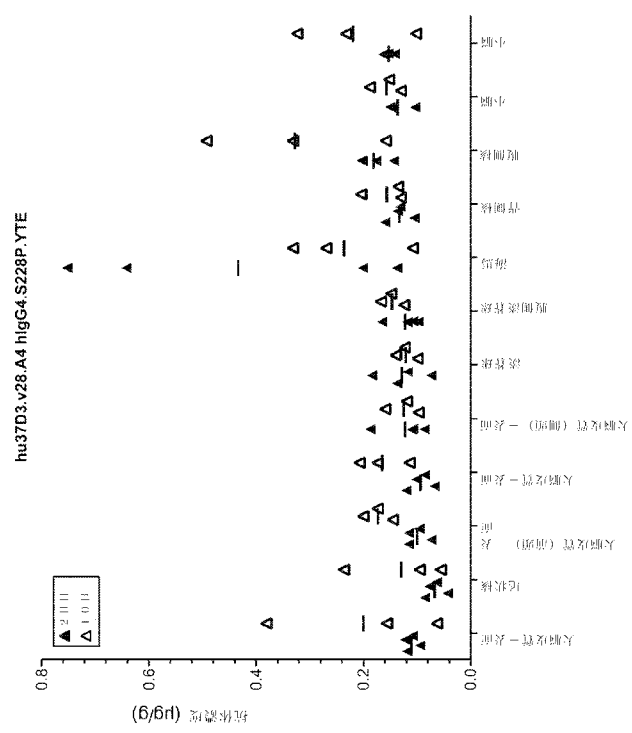
【図 20】



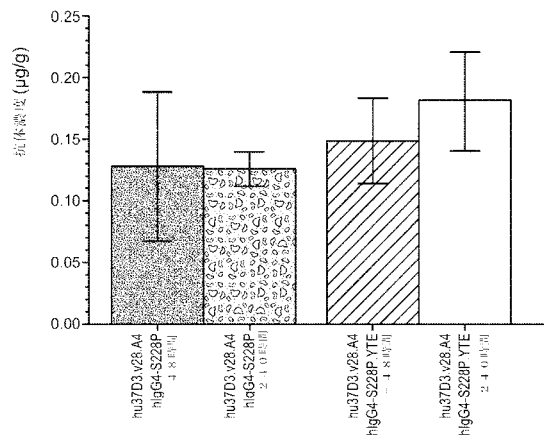
【図 2 1 A】



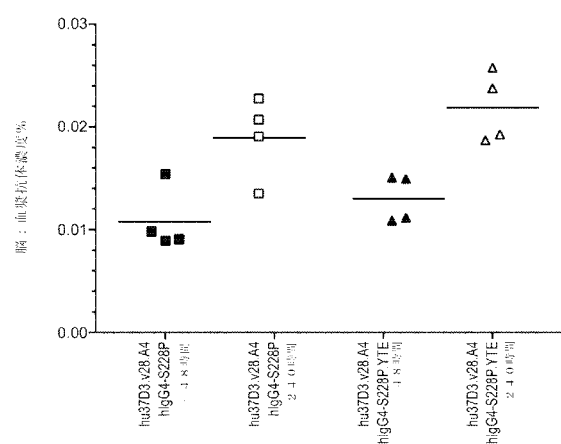
【図 2 1 B】



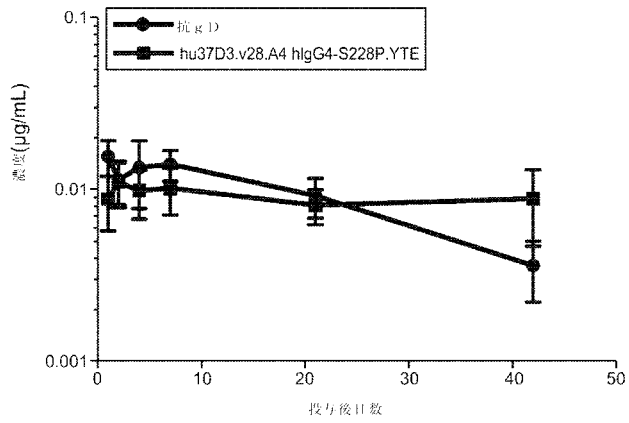
【図 2 1 C】



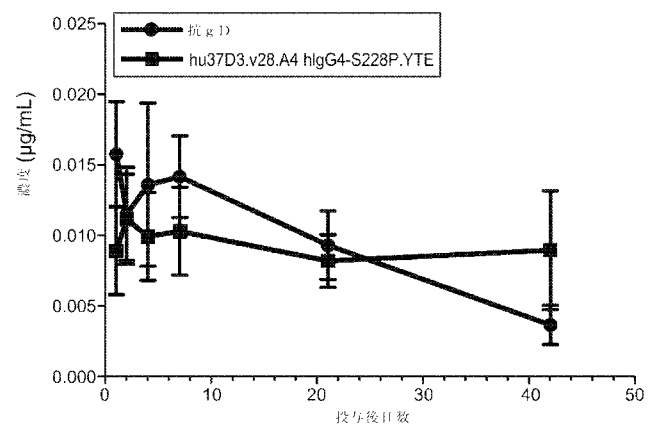
【図 2 1 D】



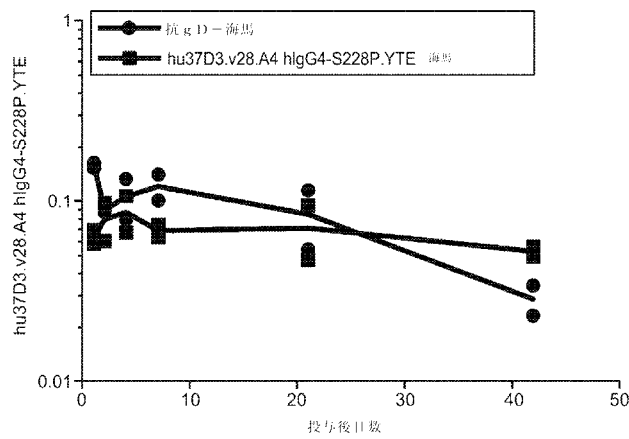
【図 2 2 A】



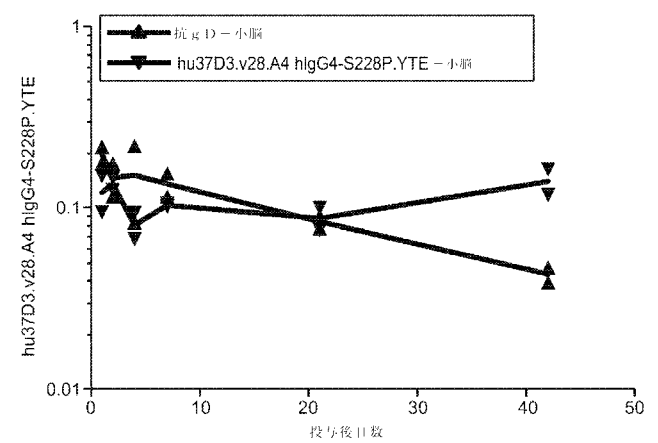
【図 2 2 B】



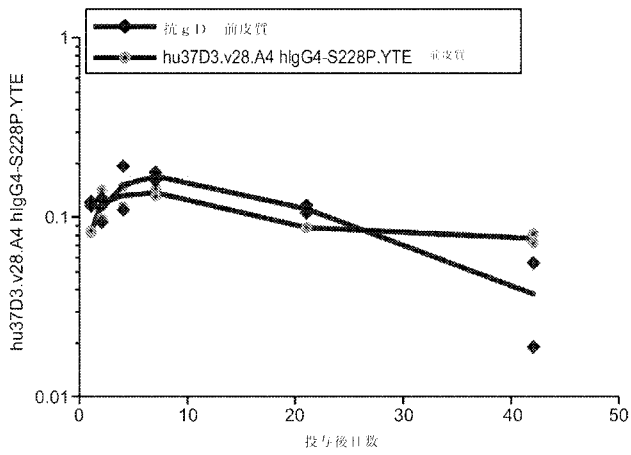
【図 2 3 A】



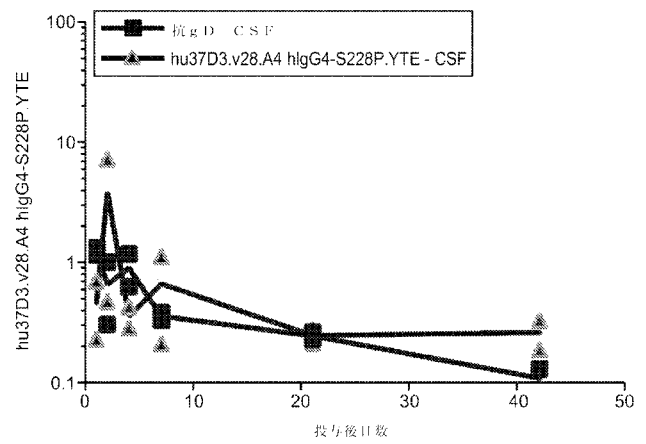
【図 2 3 B】



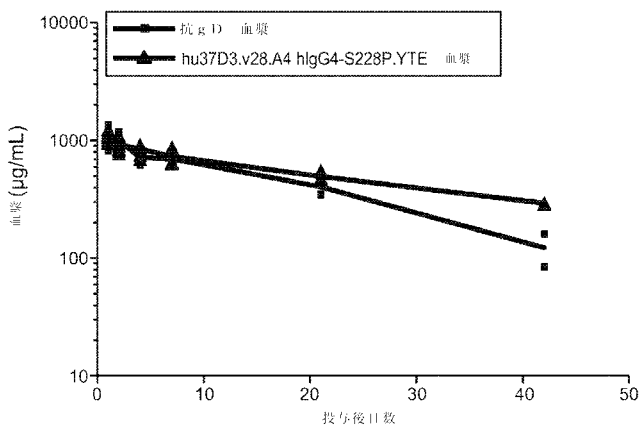
【図 2 3 C】



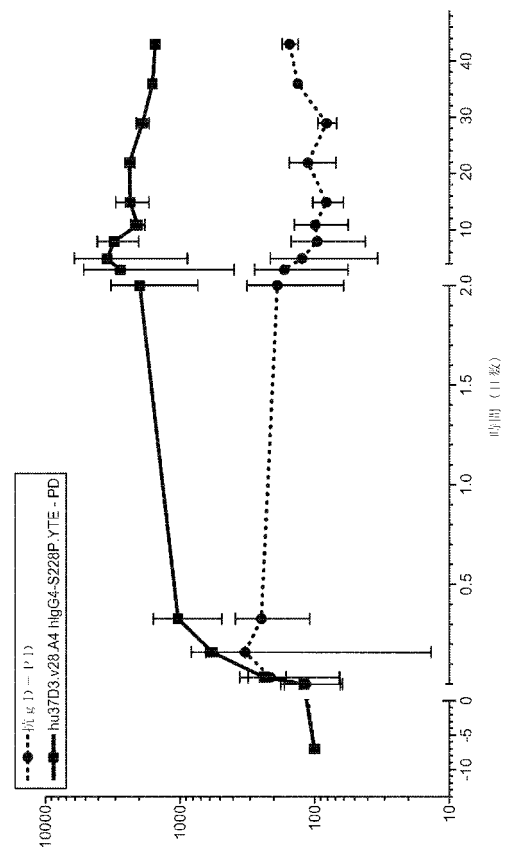
【図 2 3 D】



【図 2 3 E】

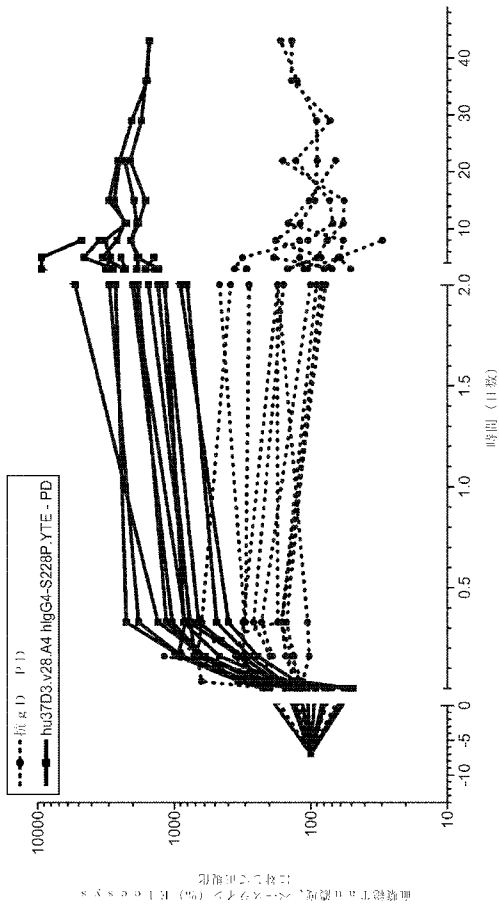


【図 2 4 A】



血漿中の抗gD濃度、抗gD濃度 (%) に対して血漿中

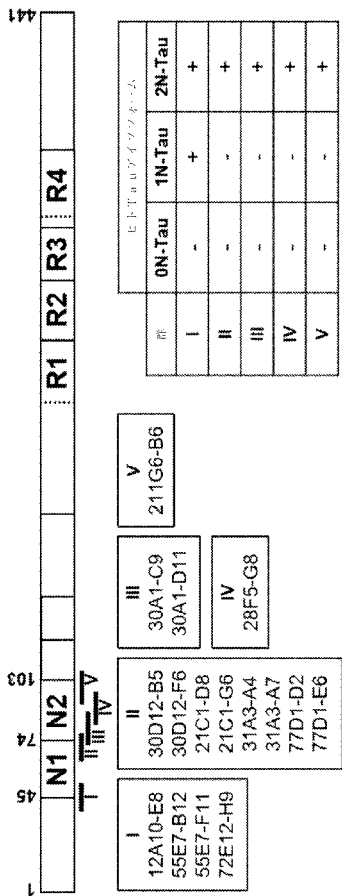
【図24B】



【図25】

抗体	Tauアイソフォーム選択性	使用されたワクチン
12A10-E8	1N-及び2N-Tau	オリゴTauワクチン
55E7-B12	1N-及び2N-Tau	オリゴTauワクチン
55E7-F11	1N-及び2N-Tau	オリゴTauワクチン
72E12-H9	1N-及び2N-Tau	オリゴTauワクチン
30D12-B5	2N-Tau	オリゴTauワクチン
30D12-F6	2N-Tau	オリゴTauワクチン
21C1-D8	2N-Tau	オリゴTauワクチン
21C1-G6	2N-Tau	オリゴTauワクチン
31A3-A4	2N-Tau	オリゴTauワクチン
31A3-A7	2N-Tau	オリゴTauワクチン
77D1-D2	2N-Tau	オリゴTauワクチン
77D1-E6	2N-Tau	オリゴTauワクチン
30A1-C9	2N-Tau	オリゴTauワクチン
30A1-D11	2N-Tau	オリゴTauワクチン
28F5-G8	2N-Tau	オリゴTauワクチン
211G6-B6	2N-Tau	フルTauリボソームワクチン

【図26】



【配列表】

2020511937000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2017/064855

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 G01N

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CHANG LIU ET AL: "Profiling Murine Tau with 0N, 1N and 2N Isoform-Specific Antibodies in Brain and Peripheral Organs Reveals Distinct Subcellular Localization, with the 1N Isoform Being Enriched in the Nucleus", PLOS ONE, vol. 8, no. 12, 30 December 2013 (2013-12-30), page e84849, XP055472035, DOI: 10.1371/journal.pone.0084849 The whole document, in particular Fig.1-3; use of Tau5 mAb ----- -/--	1-46

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

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of 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

7 August 2018

Date of mailing of the international search report

20/08/2018

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Chapman, Rob

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2017/064855

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JOELLE ROSSELS ET AL: "Tau Monoclonal Antibody Generation Based on Humanized Yeast Models", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 290, no. 7, 24 December 2014 (2014-12-24), pages 4059-4074, XP055250974, US ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/jbc.M114.627919 The whole document, in particular, Table 3 and Fig.1 -----	1-46
X	YANAMANDRA KIRAN ET AL: "Anti-Tau Antibodies that Block Tau Aggregate Seeding In Vitro Markedly Decrease Pathology and Improve Cognition In Vivo", NEURON, vol. 80, no. 2, 19 March 2014 (2014-03-19) , pages 402-414, XP028757368, ISSN: 0896-6273, DOI: 10.1016/J.NEURON.2013.07.046 The whole document, in particular, Fig.1 -----	1-46
X	D. L. CASTILLO-CARRANZA ET AL: "Passive Immunization with Tau Oligomer Monoclonal Antibody Reverses Tauopathy Phenotypes without Affecting Hyperphosphorylated Neurofibrillary Tangles", THE JOURNAL OF NEUROSCIENCE : THE OFFICIAL JOURNAL OF THE SOCIETY FOR NEUROSCIENCE, vol. 34, no. 12, 19 March 2014 (2014-03-19), pages 4260-4272, XP055250997, ISSN: 0270-6474, DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3192-13.2014 The whole document, in particular, Table 1, Fig.1 and 2 -----	1-46
X	FRANCK R. PETRY ET AL: "Specificity of Anti-Tau Antibodies when Analyzing Mice Models of Alzheimer's Disease: Problems and Solutions", PLOS ONE, vol. 9, no. 5, 2 May 2014 (2014-05-02), page e94251, XP055207209, DOI: 10.1371/journal.pone.0094251 The whole document, in particular, Table 1 and Fig.1. mAb HJ8.5 binds an epitope comprising amino acids 25-30 of hTau (see results). ----- -/--	1-46

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2017/064855

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SEUNG-HYE LEE ET AL: "Antibody-Mediated Targeting of Tau In Vivo Does Not Require Effector Function and Microglial Engagement", CELL REPORTS, vol. 16, no. 6, 1 August 2016 (2016-08-01) , pages 1690-1700, XP055472499, US ISSN: 2211-1247, DOI: 10.1016/j.celrep.2016.06.099 the whole document -----	1
X,P	WO 2016/196726 A1 (GENENTECH INC [US]; AC IMMUNE SA [CH]) 8 December 2016 (2016-12-08) the whole document -----	1-46
X	US 2016/102138 A1 (IQBAL KHALID [US] ET AL) 14 April 2016 (2016-04-14) The whole document, in particular, Para. 38, 57 and Tables 1 and 2 -----	1-46
X	WO 2014/100600 A2 (BIOGEN IDEC INC [US]; BIOGEN IDEC INTERNAT NEUROSCIENCE GMBH [CH]) 26 June 2014 (2014-06-26) The whole document, in particular, Example 11 and Table 7 -----	1-46
X	WO 2012/106363 A2 (INTELLECT NEUROSCIENCES INC [US]; CHAIN DANIEL G [US]) 9 August 2012 (2012-08-09) The whole document, in particular the examples -----	1-46

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2017/064855**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

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

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

2. ☒ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

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

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

3. ☒ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
1-46(partially)

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

Remark on Protest

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

International Application No. PCT/ US2017/ 064855

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 1-46(partially)

Antibodies capable of binding to to monomeric, oligomeric, phosphorylated and non-phosphorylated forms of mature human Tau within amino acids 19-33 thereof, and related subject-matter.

2. claims: 1-46(partially)

Antibodies capable of binding to to monomeric, oligomeric, phosphorylated and non-phosphorylated forms of mature human Tau within amino acids 37-44 thereof, and related subject-matter.

3. claims: 1-46(partially)

Antibodies capable of binding to to monomeric, oligomeric, phosphorylated and non-phosphorylated forms of mature human Tau within amino acids 37-51 thereof, and related subject-matter.

4. claims: 1-46(partially)

Antibodies capable of binding to to monomeric, oligomeric, phosphorylated and non-phosphorylated forms of mature human Tau within amino acids 64-78 thereof, and related subject-matter.

5. claims: 1-46(partially)

Antibodies capable of binding to to monomeric, oligomeric, phosphorylated and non-phosphorylated forms of mature human Tau within amino acids 73-87 thereof, and related subject-matter.

6. claims: 1-46(partially)

Antibodies capable of binding to to monomeric, oligomeric, phosphorylated and non-phosphorylated forms of mature human Tau within amino acids 91-105 thereof, and related subject-matter.

7. claims: 1-46(partially)

Antibodies capable of binding to to monomeric, oligomeric, phosphorylated and non-phosphorylated forms of mature human

International Application No. PCT/ US2017/ 064855

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Tau within amino acids 109-123 thereof, and related subject-matter.

8. claims: 1-46(partially)

Antibodies capable of binding to to monomeric, oligomeric, phosphorylated and non-phosphorylated forms of mature human Tau within amino acids 190-204 thereof, and related subject-matter.

9. claims: 1-46(partially)

Antibodies capable of binding to to monomeric, oligomeric, phosphorylated and non-phosphorylated forms of mature human Tau within amino acids 421-429 or 422-429 thereof, and related subject-matter.

10. claims: 47-58

Methods of predicting, selecting or monitoring an undisclosed anti-Tau treatment.

11. claims: 59-72

Methods of selecting and monitoring patients using an anti-Tau 2N isoform-specific antibody.

International Application No. PCT/ US2017/ 064855

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210**Continuation of Box II.2**

Claims Nos.: 47, 49, 51, 58, 59, 62, 64, 69, 71(completely);
1-46(partially)

The present application comprises 72 claims relating to antibodies binding to multiple possible epitope bins, further defined by 144 possible combinations of VH and VL HCDRS1-3 and LCDR1-3. The examiner is unable to search all the combinations claimed without undue burden.

It is not clear whether the parameters stated (epitope bins) have been tested for the prior art, which would not allow comparison for these features. A complete search of claims 1-46 is thus not possible. Furthermore, the application relates to sequence combinations which may or may not generate an antibody with defined technical properties.

In view of the importance of the role played by each single amino acid in the binding of an antibody to its target, especially at the level of its CDRs (see Rudikoff et.al., PNAS 1982, Vol.79, pp. 1979-1983), a claim to an antibody which is structurally characterised by less than the full sequence of all the CDRs, and their specific order, cannot be seen to sufficiently disclose an antibody with any particular properties. Thus, it is apparent that a search of all possible combinations of claimed sequences would not be useful, since only an antibody defined by at least 6 CDRs (HCDR1-3, LCDR1-3) has any defined technical properties of binding.

In response to a clarification request, the Applicant defined the antibodies disclosed in the application which bind to each bin. For example, antibodies 63H3-D8 (defined in claims 6(g) and 7(g)) and 64B9-F12 (defined in claims 6(h) and 7(h)), bind to an epitope within amino acids 19-33 of human Tau.

The ISA has thus limited the search of claims 6-34 to antibodies disclosed in the description which are defined by at least HCDR1-3 and LCDR1-3.

Claims 47, 49, 51, 59, 62 and 64 relate to multiple methods. According to Rule 6.1(a) PCT, the number of claims shall be reasonable in consideration of the nature of the invention claimed, which is not the case here. Furthermore, all these claims lack method steps to permit the purpose of said methods to be achieved, and thus lack clarity to the extent that they cannot be compared to methods of the prior art. Claims 59, 62 and 64 are not even directed to defined antibodies.

Claims 58, 69 and 71 refer to unclear internal designations which cannot be searched.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase

International Application No. PCT/ US2017/ 064855

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guidelines C-IV, 7.2), should the problems which led to the Article 17(2) declaration be overcome.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2017/064855

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2016196726 A1	08-12-2016	AR 104875 A1 AU 2016270858 A1 CA 2986942 A1 CN 107849124 A CO 2018000046 A2 EP 3303386 A1 JP 2018519810 A KR 20180014764 A PE 03172018 A1 PH 12017502165 A1 TW 201713687 A US 2016376351 A1 WO 2016196726 A1	23-08-2017 18-01-2018 08-12-2016 27-03-2018 28-03-2018 11-04-2018 26-07-2018 09-02-2018 09-02-2018 04-06-2018 16-04-2017 29-12-2016 08-12-2016
US 2016102138 A1	14-04-2016	NONE	
WO 2014100600 A2	26-06-2014	AU 2013361107 A1 BR 112015014751 A2 CA 2896066 A1 CN 105324394 A EA 201591020 A1 EP 2935326 A2 HK 1216538 A1 JP 6284548 B2 JP 2016503065 A KR 20150099572 A PH 12015501420 A1 SG 10201705104U A SG 11201504822V A US 2015344553 A1 US 2017369560 A1 WO 2014100600 A2	30-07-2015 10-10-2017 26-06-2014 10-02-2016 30-12-2015 28-10-2015 18-11-2016 28-02-2018 01-02-2016 31-08-2015 21-09-2015 28-07-2017 30-07-2015 03-12-2015 28-12-2017 26-06-2014
WO 2012106363 A2	09-08-2012	CA 2826286 A1 EP 2670434 A2 US 2012244146 A1 US 2012244174 A1 US 2016122422 A1 US 2017253649 A1 WO 2012106363 A2	09-08-2012 11-12-2013 27-09-2012 27-09-2012 05-05-2016 07-09-2017 09-08-2012

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P 21/08	
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	D
A 6 1 P 39/02 (2006.01)	A 6 1 P 39/02	
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D
	A 6 1 K 39/395	N

(81) 指定国・地域 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, 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, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T R I T O N

2. U N I X

(72) 発明者 アドルフソン, オスカル
スイス国 1 0 1 5 ローザンヌ, ビルディング ビー, イーピーエフエル イノベーション パーク

(72) 発明者 ワイルドスミス, クリスティン ルース
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, ディエヌエーウェイ 1

(72) 発明者 ファン デル ブルグ, マルセル
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, ディエヌエーウェイ 1

(72) 発明者 ムース, アンドレアス
スイス国 1 0 1 5 ローザンヌ, ビルディング ビー, イーピーエフエル イノベーション パーク

F ターム(参考) 4B064 AG27 CA02 CA10 CA19 CC15 CC24 CE11 CE12 DA01 DA13
4B065 AA26X AA90X AA92X AB01 AB05 AC14 BA02 BD14 CA25 CA44
CA46
4C084 AA19 NA05 ZA151 ZA161 ZC371 ZC751
4C085 AA13 AA14 AA16 BB36 CC01 DD23 EE01 EE03
4H045 AA11 AA20 AA30 DA76 EA20 EA50 FA74 GA23 GA26

專利名称(译)	抗tau抗体及其使用方法		
公开(公告)号	JP2020511937A	公开(公告)日	2020-04-23
申请号	JP2019530076	申请日	2017-12-06
[标]申请(专利权)人(译)	健泰科生物技术公司 应用细胞μ利SA下跌		
申请(专利权)人(译)	Genentech公司 应用细胞免疫ES呃.		
[标]发明人	アドルフソンオスカル ムースアンドレアス		
发明人	アドルフソン, オスカル ワイルドスミス, クリスティン ルース ファン デル プルグ, マルセル ムース, アンドレアス		
IPC分类号	C12N15/13 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12P21/08 G01N33/53 A61P39/02 A61P25/28 A61P43/00 A61K45/00 A61K39/395		
CPC分类号	A61P25/28 C07K16/18 C07K2317/24 C07K2317/33 C07K2317/34 C07K2317/565 C07K2317/567 C07K2317/92 C07K2317/94 G01N2333/435 A61K45/06 C07K2317/31 C07K2317/56		
FI分类号	C12N15/13 C07K16/18.ZNA C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12P21/08 G01N33/53.D A61P39/02 A61P25/28 A61P43/00.121 A61K45/00 A61K39/395.D A61K39/395.N		
F-TERM分类号	4B064/AG27 4B064/CA02 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC15 4B064/CC24 4B064/CE11 4B064/ /CE12 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA26X 4B065/AA90X 4B065/AA92X 4B065/AB01 4B065/ /AB05 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/BD14 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA19 4C084/NA05 4C084/ZA151 4C084/ZA161 4C084/ZC371 4C084/ZC751 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA16 4C085/BB36 4C085/CC01 4C085/DD23 4C085/EE01 4C085/EE03 4H045/AA11 4H045/ /AA20 4H045/AA30 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74 4H045/GA23 4H045/GA26		
优先权	62/431183 2016-12-07 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)	(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2020-511937 (P2020-511937A)	
	本発明提供了抗-Tau抗体及其使用方法。			(43) 公表日		令和2年4月23日 (2020. 4. 23)	
				(51) Int. Cl.		F I	
				C 1 2 N 15/13 (2006.01)		C 1 2 N 15/13	
				C 0 7 K 16/18 (2006.01)		C 0 7 K 16/18	
				C 1 2 N 1/15 (2006.01)		C 1 2 N 1/15	
	C 1 2 N 1/19 (2006.01)		C 1 2 N 1/19		Z N A		
	C 1 2 N 1/21 (2006.01)		C 1 2 N 1/21		4 B O 6 4		
					4 B O 6 5		
					4 C O 8 4		
				4 C O 8 5			
				4 H O 4 5			
				審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 183 頁) 最終頁に続く			
(21) 出願番号		特願2019-530076 (P2019-530076)		(71) 出願人		509012625	
(86) (22) 出願日		平成29年12月6日 (2017. 12. 6)				ジェネンテック、 インコーポレイテッド	
(85) 翻訳文提出日		令和1年7月29日 (2019. 7. 29)				アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サウス	
(86) 国際出願番号		PCT/US2017/064855				サンフランシスコ ディーエヌエー	
(87) 国際公開番号		W02018/106776				ウェイ I	
(87) 国際公開日		平成30年6月14日 (2018. 6. 14)		(71) 出願人		513022966	
(31) 優先権主張番号		62/431, 183				エーシー イミューン エス、エー、	
(32) 優先日		平成28年12月7日 (2016. 12. 7)				スイス国 ツェーハー1015 ローザンヌ、	
(33) 優先権主張国・地域又は機関		米国 (US)				ビルディングビー、 イービーエフ	
				(74) 代理人		110002077	
						園田・小林特許事務所	
						最終頁に続く	