



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 106659759 B

(45) 授权公告日 2022.04.15

(21) 申请号 201580046263.9

(22) 申请日 2015.06.26

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 106659759 A

(43) 申请公布日 2017.05.10

(30) 优先权数据  
62/018436 2014.06.27 US  
62/080903 2014.11.17 US  
62/170036 2015.06.02 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2017.02.27

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/US2015/038002 2015.06.26

(87) PCT国际申请的公布数据  
WO2015/200806 EN 2015.12.30

(73) 专利权人 C2N诊断有限责任公司  
地址 美国密苏里州

(72) 发明人 T.韦斯特 D.S.阿思瓦尔  
T.D.琼斯 F.J.卡尔  
R.G.E.霍尔加特

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

代理人 李唐 周齐宏

(51) Int.Cl.  
A61K 38/00 (2006.01)  
A61K 39/00 (2006.01)  
C12N 5/16 (2006.01)

(56) 对比文件  
WO 2014008404 A1,2014.01.09  
CN 103339146 A,2013.10.02  
US 2013295021 A1,2013.11.07  
US 2013136735 A1,2013.05.30  
WO 2014028777 A2,2014.02.20  
JP 2014503178 A,2014.02.13  
Kiran Yanamandra et al., "Anti-Tau Antibodies that Block Tau Aggregate Seeding In Vitro Markedly Decrease Pathology and Improve Cognition In Vivo".《Neuron》.2013,第80卷  
宋明洁等."tau蛋白过磷酸化与阿尔茨海默病".《生命科学》.2013,第25卷(第3期),

审查员 彭丹丹

权利要求书1页 说明书21页  
序列表24页 附图15页

(54) 发明名称  
人源化抗TAU抗体

(57) 摘要  
本文提供了特异性结合tau的分离的抗体或抗原结合片段,所述抗体或片段包含具有本文所述的氨基酸序列的重链可变(VH)区和轻链可变(VL)区。还提供了预防或治疗主体中的tau蛋白病变的方法,其包括向需要tau蛋白病变的疗法的人施用一种或多种如本文所述的抗体或片段,其中所述抗体或抗原结合片段在有效地预防或治疗tau蛋白病变的条件和量下施用。

1. 分离的单克隆抗-tau抗体,其包含轻链和重链,所述轻链包含SEQ ID NO:2所示的轻链可变区的氨基酸序列,所述重链包含SEQ ID NO:5所示的重链可变区的氨基酸序列。
2. 权利要求1的抗体,其中所述抗体是含有S241P铰链稳定突变的人IgG4抗体。
3. 分离的单克隆抗-tau抗体,其包含轻链和重链,所述轻链由SEQ ID NO:18的氨基酸序列组成,所述重链由SEQ ID NO:13的氨基酸序列组成。

## 人源化抗TAU抗体

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请根据35 U.S.C. §119 (e) 主张2015年6月2日申请的美国系列号62/170,036、2014年11月17日申请的美国系列号62/080,903和2014年6月27日申请的美国系列号62/018,436的优先权利益,所述申请的全部内容以其整体通过引用并入本文。

[0003] 序列表的并入

[0004] 所附序列表中的材料通过引用入本申请中而并入本文。所附序列表文本文件名称为C2N1120\_4W0\_序列表,创建于2015年6月26日且为9 kb。该文件可以在使用Windows OS的计算机上使用Microsoft Word来评估。

### 发明领域

[0005] 本发明涉及以下领域:结合至tau的人源化抗体和其抗原结合片段以及使用此类抗体治疗tau蛋白病变(tauopathies)的方法。具体而言,本发明涉及结合至tau的特异性表位且防止tau播散(seeding)的人源化抗体和抗原结合片段。

[0006] 发明背景

[0007] Tau蛋白病变通常具有不可溶、过度磷酸化的tau蛋白在脑中的累积。超过20种不同神经退行性病症的特征在于一定程度的神经原纤维退化且可归类为tau蛋白病变(Williams 2006)。原型tau蛋白病变(诸如进行性核上性麻痹(PSP)和皮质基底核退化症(CBD))的特征在于tau内含物(inclusions)为唯一或主要的中枢神经系统病灶。原型tau蛋白病变与在其他神经病理学特征(如阿尔茨海默病(AD)中发现的淀粉样蛋白 $\beta$ (A $\beta$ )斑或帕金森氏病(PD)中发现的路易体(Lewy body))存在的情况下发现tau聚集物的其他tau蛋白病变不同。在这些非原型tau蛋白病变中,更不确定tau病理是否代表原发性疾病驱动因素或其是否继发于其他蛋白错误折叠和神经变性。

[0008] 进行性核上性麻痹(PSP,也称为Steele-Richardson-Olszewski综合征)是进行性神经退行性病症,且估计的每年发病率为5-7/100,000(Golbe 2014)。在美国,疾病影响约20,000个个体。PSP频率无明显的地理、民族、性别或人种差异。PSP最初可呈现类似于其他脑病症(包括特发性帕金森氏病)的临床症状。出于该原因,有时延迟PSP的正确诊断,通常在临床症状最初发作后1至3年发生。症状发作最经常在50岁至70岁之间,且尽管临床病程可变,但从症状发作时的典型存活期为5至9年(Houghton, 2007)。尽管存在临床表现的异质性,但最常见且最初描述的PSP综合征(现称为理查德森氏综合征(Richardson's Syndrome))存在导致跌倒的显著的姿势不稳和轴向刚度(axial rigidity)、引起视力范围受损的核上性凝视麻痹、额叶-皮质下痴呆和导致抽吸(aspiration)的吞咽困难。疾病的病程是进行性的且一律致死的(Williams和Lees 2009)。

[0009] 在病理学上,PSP的特征在于tau蛋白的过度磷酸化不可溶聚集物异常累积于脑干、小脑、基底神经节和大脑皮质中的神经元和神经胶质中(Williams和Lees 2009)。在生命期间,PSP中tau聚集的程度和分布与PSP症状学密切相关(Schofield等人,2012)。描述理查德森氏综合征的国家神经病症研究院和进行性核上性麻痹学会(National Institute

of Neurological Disorders and the Society for Progressive Supranuclear Palsy, NINDS-SPSP) 研究标准可高度预测潜在PSP病理 (Litvan等人,1996)。各个脑区域中的神经元损失伴随由tau聚集物构成的神经原纤维缠结(NFT)。同样出现多发性神经递质异常,包括影响特定多巴胺能、胆碱能、GABA能和去甲肾上腺素能系统的那些。

[0010] 当前没有批准用于PSP的治疗 (Stamelou等人,2010)。PSP的治疗效力研究的消极结果排除推荐基于证据的标准疗法 (Boxer等人,2014)。在任何有效的疾病改善或神经保护性疗法不存在的情况下,PSP代表迫切的尚未满足的医学需求。

[0011] 阿尔茨海默病(AD)是常见的慢性进行性神经退行性疾病,其中存在认知和行为功能的不可逆损失。该疾病可持续超过10年,从轻度症状发展至极端严重的表现。AD据说折磨约10%的超过65岁的群体和超过30%的超过80岁的群体。阿尔茨海默病自身在病理学上呈现为细胞外淀粉样蛋白斑和细胞内神经原纤维缠结。神经原纤维缠结由例如组装成对螺旋丝和直丝的微管结合蛋白tau构成。已表明,这些实体可在功能上相关,尽管淀粉样蛋白沉积促进病理性tau丝组装(或反之亦然)的机制并不清楚。

[0012] tau蛋白病变的细胞内神经原纤维结构(神经原纤维缠结、营养不良性神经突和神经毡线(neurophil threads))具有成对螺旋丝(PHF)。PHF的主要蛋白亚基是异常过度磷酸化形式的微管结合蛋白tau。具有神经原纤维变化的神经元退化,且该退化的程度与受影响个体的痴呆症的程度直接相关。

[0013] 已知具有含有微管结合蛋白tau的丝状的细胞内含物的其他tau蛋白病变包括匹克氏病(PiD)、统称为与染色体17相关的伴有帕金森症的额颞叶痴呆(FTDP-17)的一组相关病症、肌萎缩性侧索硬化症(ALS)、库贾氏病(Creutzfeldt-Jakob disease,CJD)、拳击手痴呆症(DP)、Gerstmann-Straussler-Scheinker病(GSSD)、路易体病、慢性创伤性脑病(CTE)和亨廷顿病。尽管这些疾病的病因、临床症状、病理性发现和丝状的细胞内含物的生物化学组成是不同的,但新出现的证据表明,参与正常细胞蛋白聚集以形成各种丝状内含物的机制是相当的。拒信微管结合蛋白tau的构象的最初变化用于起始丝组装的核或种子的产生,是关键特征之一。该过程可受正常蛋白的翻译后修饰、某些基因的突变或缺失和结合正常蛋白且因此改变其构象的因子的影响。

[0014] 发明概述

[0015] 作为本发明的一个方面,提供特异性结合tau的分离的抗体或抗原结合片段。所述抗体或片段包含重链可变(VH)区和轻链可变(VL)区,且VH和VL区中的每个具有选自图1和2中所示的氨基酸序列的序列。更具体而言,VL区可具有选自SEQ ID NO:1、2、3和4的氨基酸序列[VK1、VK2、VK3和VK4],且VH区可具有选自SEQ ID NO:5、6、7和8的氨基酸序列[VH1、VH2、VH3和VH4]。在一些实施方案中,VL区具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列[VK2],且VH区具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列[VH1]。在一些实施方案中,抗体包含Fc区,其可以是人IgG1、IgG2、IgG3、IgG4或其变体的Fc区,诸如含有S241P较链稳定突变的人IgG4的Fc区。抗体可包含人同种型 $\kappa$ 或其变体的轻链恒定区。在一些实施方案中,抗体或片段是scFv或Fab。在一些实施方案中,抗体或片段是人源化抗体或片段或嵌合抗体或片段。抗体或片段可以是单克隆抗体。在一些实施方案中,抗体或片段与HJ8.5竞争特异性结合至人tau蛋白。在一些实施方案中,抗体或片段以至少 $10^{-4}$ M的平衡解离常数(Kd)结合人tau蛋白。

[0016] 作为本发明的另一个方面,提供具有多个抗原结合区域的多特异性抗体或抗原结

合片段。多特异性抗体或片段的至少一个抗原结合区域结合至人tau蛋白。或者,提供具有两个抗原结合区域的双特异性抗体或抗原结合片段。双特异性抗体或片段的抗原结合区域中之一结合至人tau蛋白。或者,提供了其中抗体或抗原结合片段的一个臂与HJ8.5竞争特异性结合至人tau蛋白的双特异性抗体或抗原结合片段。或者,提供了其中抗体或抗原结合片段的一个臂包含重链可变(VH)区和轻链可变(VL)区的双特异性抗体或抗原结合片段,其中VH和VL区中的每个具有选自图1和2中所示的氨基酸序列的序列。

[0017] 前述抗体或抗原结合片段中的任一者可进一步包含毒性有效负载,任选地药物缀合物或放射性核素。

[0018] 作为本发明的又一个方面,提供了分离的核酸分子,其编码前述抗体或抗原结合片段中的任一者或图1或2中所示的VH区或VL区。可提供包含此核酸分子的载体(诸如表达载体)。可提供包含此载体的分离的宿主细胞。宿主细胞可以是原核或真核细胞,诸如哺乳动物细胞。

[0019] 作为本发明的另一个方面,提供了药物组合物。药物组合物包含前述抗体或抗原结合片段中的任一者或如本文所述的核酸分子和药学上可接受的载体。

[0020] 作为本发明的又一个方面,提供了含有如图1和2中所示轻链中之一的序列的分离的氨基酸序列。可选地或额外地,提供了含有如图1和2中所示重链中之一的序列的分离的氨基酸序列。

[0021] 作为本发明的另一个方面,提供了分离的人源化抗体或抗原结合片段,其特异性结合包含氨基酸序列DQGGYT (SEQ ID NO:9)的表位。抗体或抗原结合片段可含有来自供体抗体的VH和VL区的CDR。在一些实施方案中,抗体包含Fc区,诸如Fc区是IgG1、IgG2、IgG3、IgG4或其变体的Fc区。Fc区可以是人IgG4或其变体,此人IgG4含有S241P铰链稳定突变。抗体可包含人同种型κ或其变体的轻链恒定区。在一些实施方案中,抗体或片段是scFv或Fab。在一些实施方案中,抗体或片段是人源化抗体或片段或嵌合抗体或片段。抗体或片段可以是单克隆抗体。抗体或片段可以是双特异性抗体或抗原结合片段,其中抗体或片段的一个臂特异性结合包含氨基酸序列DQGGYT (SEQ ID NO:9)的表位。在一些实施方案中,提供了免疫缀合物,其包含连接至可检测或治疗部分的前述抗体或片段之一。

[0022] 作为另一个方面,提供了分离的人源化抗体或抗原结合片段,其特异性结合包含氨基酸序列GYTMHQDQ (SEQ ID NO:10)的表位。抗体或片段可具有来自供体抗体的VH和VL区的CDR。在一些实施方案中,抗体或片段包含Fc区,诸如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4或其变体的Fc区。Fc区可以是含有S241P铰链稳定突变的人IgG4和其变体。抗体可包含轻链恒定区。在一些实施方案中,抗体或片段是scFv或Fab。还提供了双特异性抗体或抗原结合片段,其中抗体的一个臂特异性结合包含氨基酸序列GYTMHQDQ (SEQ ID NO:10)的表位。在一些实施方案中,包含前述抗体或片段中任一者的免疫缀合物连接至可检测或治疗部分。

[0023] 作为本发明的另一个方面,预防或治疗主体的tau蛋白病变的方法,其包括向需要tau蛋白病变疗法的人施用本文所述的抗体或片段中的一种或多种。抗体或抗原结合片段在有效地预防或治疗tau蛋白病变的条件和量下施用。tau蛋白病变可以是以下中的一种或多种:阿尔茨海默病(AD)、进行性核上性麻痹(PSP)、皮质基底核退化症(CBD)、匹克氏病(PiD)、统称为与染色体17相关的伴有帕金森症的额颞叶痴呆(FTDP-17)的一组相关病症、肌萎缩性侧索硬化症(ALS)、库贾氏病(CJD)、拳击手痴呆症(DP)、Gerstmann-Straussler-

Scheinker病 (GSSD)、路易体病、慢性创伤性脑病 (CTE) 或亨廷顿病。

[0024] 提供了用于治疗tau蛋白病变的方法,其包括向需要治疗的主体施用抗tau抗体或片段,其中抗体或抗原结合片段特异性结合tau且包含重链可变(VH)区和轻链可变(VL)区,其中VH和VL区中的每个具有选自图1和2中所示的氨基酸序列的序列,且抗体或片段以约0.1mg/kg至约250mg/kg、或者约1mg/kg至约25mg/kg的剂量施用于主体。在一些实施方案中,抗体或片段具有包含选自SEQ ID NO:1、2、3和4的氨基酸序列的VL区[VK1、VK2、VK3和VK4];可选地或额外地,抗体或片段具有包含选自SEQ ID NO:5、6、7和8的氨基酸序列的VH区[VH1、VH2、VH3和VH4]。

[0025] 附图简述

[0026] 图1显示鼠HJ8.5抗体的可变区序列以及针对重链和轻链中的每个的4个人源化变体序列(4个VH序列和4个VL/VK序列)。图1显示了MuVL (SEQ ID NO:11);VK1 (SEQ ID NO:1);VK2 (SEQ ID NO:2);VK3 (SEQ ID NO:3);VK4 (SEQ ID NO:4);MuVH (SEQ ID NO:12);VH1 (SEQ ID NO:5);VH2 (SEQ ID NO:6);VH3 (SEQ ID NO:7);VH4 (SEQ ID NO:8)的序列。

[0027] 图2A显示重链VH1的人源化可变区和恒定区序列的序列(SEQ ID NO:13)。图2B显示重链VH2的人源化可变区和恒定区序列的序列(SEQ ID NO:14)。图2C显示重链VH3的人源化可变区和恒定区序列的序列(SEQ ID NO:15)。图2D显示重链VH4的人源化可变区和恒定区序列的序列(SEQ ID NO:16)。将可变重链移植至含有S241P铰链稳定突变的人IgG4的恒定重链。图2E显示重链VL1的人源化可变区和恒定区序列的序列(SEQ ID NO:17)。图2F显示重链VL2的人源化可变区和恒定区序列的序列(SEQ ID NO:18)。图2G显示重链VL3的人源化可变区和恒定区序列的序列(SEQ ID NO:19)。图2H显示重链VL4的人源化可变区和恒定区序列的序列(SEQ ID NO:20)。

[0028] 图3显示用编码VH和VK区的多核苷酸转染的细胞的两轮瞬时表达的表达式数据。概述基于人源化重链和轻链可变区的不同组合的13种人源化抗tau抗体的结果,且观察到不同的表达水平。

[0029] 图4显示以ELISA型形式评估本发明抗tau抗体与原始鼠HJ8.5(亲本抗体)竞争结合至人tau的能力的功效测定的数据。

[0030] 图5概述表面等离子共振 (SPR) 分析的结果,所述分析测定6种最佳表达人源化构建体针对人tau的结合动力学。

[0031] 图6显示在夹心式ELISA中四种人源化抗体变体与可溶性人tau的结合。

[0032] 图7A至7H显示人源化和对照抗体与来自野生型小鼠(阴性对照组织)、P301S小鼠(其表达具有P301S突变的人tau且发展年龄相关的tau病理)和患有阿尔茨海默病或进行性核上性麻痹(PSP)的人的组织的结合。图7A. 嵌合体(阳性对照)与小鼠和人组织的结合;图7B. 非特异性人IgG4(阴性对照)与小鼠和人组织的结合。图7C. VH1/VK2与小鼠和人组织的结合。图7D. VH1/VK3与小鼠和人组织的结合。图7E. VH2/VK2与小鼠和人组织的结合。图7F. VH2/VK3与小鼠和人组织的结合。图7G. VH3/VK2与小鼠和人组织的结合。图7H. VH3/VK3与小鼠和人组织的结合。

[0033] 图8显示鼠抗体HJ8.5针对人tau的氨基酸序列的表位定位。图8显示人、恒河猴和小鼠tau序列(分别为SEQ ID NOs:21、22、23)。

[0034] 图9显示HJ8.5和C<sub>2</sub>N-8E12的详细的基于肽的表位定位。该定位指示C<sub>2</sub>N-8E12的结合表位是<sub>25</sub>DQGGYT<sub>30</sub>(SEQ ID NO:9)且匹配鼠亲本HJ8.5的表位。图9显示了肽PEP\_2875800至PEP\_2875830的序列(分别为SEQ ID NOs:24至54)。

[0035] 图10举例说明不同的抗人tau抗体与人或恒河猴tau的结合结果。结果表明C<sub>2</sub>N-8E12和HJ8.5并不结合至恒河猴tau,而其的确显示与人tau的阳性结合。HJ8.7结合至人和恒河猴tau两者。

[0036] 图11显示人源化抗tau抗体与来自患有多种tau蛋白病变的人主体的CSF中的tau的结合。评估C<sub>2</sub>N-8E12与诊断为患有多种tau蛋白病变的主体的CSF样品中的tau的结合。

[0037] 发明描述

[0038] 存在强烈实验证据和生物原理以支持tau免疫疗法策略作为抵抗神经变性的tau病理的方式。首先,tau通常是高度可溶性、天然非折叠的细胞内蛋白,因此细胞外抗体不可能影响tau的正常功能。第二,在tau蛋白病变的人和转基因小鼠模型中,tau病理的负荷与进行性神经元功能障碍、突触损失和功能衰退相关。第三,在病理性条件下,tau变得错误折叠且聚集至由病理性tau原纤维构成的神经元内神经原纤维缠结(NFT)中。在人tau蛋白病变中,该病理以疾病特异性模式从一个脑区域进展至另一个。实验数据表明tau聚集物可从细胞扩散至细胞以诱导脑中的进一步tau聚集和tau病理扩散。该数据表明在一个细胞中产生的聚集物释放至细胞外空间中且可促进相邻或连接细胞中的聚集。最后,现有技术表明抗tau抗体可预防或减缓携带tau的突变人形式的小鼠的脑中tau病理的进展。

[0039] “人源化抗体”是已经修饰以在施用后降低非人抗体在人中引发免疫反应的风险的抗体或其变体、衍生物、类似物或片段。如本文所使用,人源化抗体免疫特异性结合至与非人抗体(供体抗体)相同或相似的表位。在一些实施方案中,人源化抗体包含实质上具有人抗体的氨基酸序列的框架(FR)区和实质上具有非人抗体的氨基酸序列的互补决定区(CDR)。术语“实质上”在CDR的背景下是指氨基酸序列与非人抗体CDR的氨基酸序列至少80%、优选至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%相同的CDR。人源化抗体包含实质上所有的至少一个、且通常两个可变结构域(Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、FabC、Fv),其中所有或实质上所有的CDR区都对应于非人免疫球蛋白(即供体抗体)的那些,且所有或实质上所有的框架区都为人免疫球蛋白共有序列的那些。优选地,人源化抗体也包含免疫球蛋白恒定区(Fc)、通常人免疫球蛋白恒定区的至少一部分。包含新型框架区的人源化抗体提供于本发明中。

[0040] 在一些实施方案中,人源化抗体含有轻链以及重链的至少可变结构域两者。抗体也可包括重链的CH1区、铰链区、CH2区、CH3区和CH4区。在一些实施方案中,人源化抗体仅含有人源化轻链。在一些实施方案中,人源化抗体仅含有人源化重链。在特定实施方案中,人源化抗体仅含有轻链的人源化可变结构域和/或人源化重链。

[0041] 抗体可选自任一种类的免疫球蛋白,包括IgM、IgG、IgD、IgA和IgE,和任何同种型(包括但不限于IgG1、IgG2、IgG3和IgG4)。人源化抗体可包含多于一个种类或同种型的序列,且可使用本领域众所周知的技术选择具体恒定结构域以优化期望的效应子功能。

[0042] 抗体或其抗原结合片段选自:二硫键(disulfide)连接的Fv、单克隆抗体、单链可变片段(scFv)、嵌合抗体、CDR移植抗体、双抗体、人源化抗体、多特异性抗体、Fab(抗原结合片段)、双特异性抗体、F(ab')<sub>2</sub>(双重臂,通常通过用胃蛋白酶切割抗体制备的抗原结合片

段)、Fab' (通常通过温和还原将F(ab')<sub>2</sub>分裂成两个抗原结合片段的结果)或F<sub>v</sub> (抗原结合可变片段)。

[0043] 术语“嵌合抗体”是指包含来自一个物种的重链和轻链可变区序列和来自另一物种的恒定区序列的抗体,诸如具有连接至人恒定区的鼠重链和轻链可变区的抗体。

[0044] “VH区”、“VL区”或“VK区”分别是指重链可变区(VH)、轻链λ可变区(VL)或轻链κ可变区(VK)。VH和VL区可进一步细分成超变区(称为互补决定区(CDR)),其点缀有更保守的区域(称为框架区(FR))。每个VH和VL由三个CDR和四个FR构成,其从氨基端至羧基端以下列顺序布置:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。免疫球蛋白分子可以是任何类型(例如IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY)、类别(例如IgG 1、IgG2、IgG 3、IgG4、IgA1和IgA2)或子类。

[0045] 术语“框架”或“框架序列”是指可变区减去CDR的剩余序列。因为可通过不同系统确定CDR序列的准确定义,所以框架序列的含义进行相应不同的解释。六个CDR(轻链的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3和重链的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3)也在每条链上将轻链和重链上的框架区分成四个亚区(FR1、FR2、FR3和FR4),其中CDR1位于FR1与FR2之间,CDR2位于FR2与FR3之间,且CDR3位于FR3与FR4之间。在未将具体亚区指定为FR1、FR2、FR3或FR4的情况下,如其他提及的框架区代表单一、天然存在的免疫球蛋白链的可变区内的组合FR。FR代表四个亚区中之一,且FRs代表构成框架区的四个亚区中的两个或更多个。

[0046] 先前已描述(Jones等人,Verhoeyen等人,Riechmann等人)的许多人源化免疫球蛋白已包含与具体人免疫球蛋白链的框架相同的框架、受体和三个来自非人供体免疫球蛋白链的CDR。“人源化抗tau”抗体是指已从能够结合tau的非人(供体)抗体产生的抗体且所述结合转移至人抗体(受体)。

[0047] 术语“CDR”是指抗体可变序列内的互补决定区。对于可变区的每个,在重链和轻链可变区的每个中存在三个CDR,其命名为CDR1、CDR2和CDR3。请求保护的发明的VH和VL/K区的CDR的氨基酸序列记载于图1中。

[0048] 如本文所使用,术语单链F<sub>v</sub>(也称为单链抗体)是指工程改造的抗体构建体,其通过分离结合抗体的结合结构域(重链和轻链两者)并供应允许保留结合功能的连接部分来制备。插入两条链之间的接头肽允许稳定可变结构域而不干扰正确折叠和活性结合位点的产生。该接头的长度可为5-30个氨基酸且通常由“GGGS”(Gly)4Ser氨基酸序列(SEQ ID NO:55)的重复组成。这本质上形成显著缩短的抗体,其仅具有结合抗原所需的可变结构域。

[0049] 双抗体、三链抗体(triabodies)和四链抗体(tetrabodies)和更高阶变体通常通过将上文所提及的接头肽的长度从0个改变成几个氨基酸来产生。变体是多价、多特异性抗体,其中VH和VL结构域在多肽链上表达,但使用太短以致不允许相同链上的两个结构域之间配对的接头,由此迫使所述结构域与另一链的互补结构域配对并产生两个抗原结合位点(参见,例如,Holliger, P.等人(1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448; Poljak, R. J.等人(1994) Structure 2:1121-1123)。此类抗体结合部分是本领域已知的(Kontermann和Dubel编辑,Antibody Engineering (2001) Springer-Verlag. New York. 第790页(ISBN 3-540-41354-5)。或者,本领域还众所周知的是,可使用连接至可变结构域的自组装单元来产生多价结合抗体变体。

[0050] 双特异性、三特异性或多特异性抗体通过组合一种抗体的重链和轻链与一种或多种其他抗体的重链和轻链来产生。这些链可共价连接。例如,术语“双特异性抗体”是指通过

以下产生的全长抗体：四源杂交瘤 (quadroma) 技术 (参见Milstein和Cuello (1983) Nature 305 (5934): 537-40)、两种不同单克隆抗体的化学缀合 (参见Staerz等人, (1985) Nature 314 (6012): 628-31) 或在Fc区中引入突变的结入洞 (knob-into-hole) 或类似方法 (参见Holliger等人 (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90 (14): 6444-6448), 导致产生多种不同的免疫球蛋白种类, 其中仅一种是功能性双特异性抗体。通过分子功能, 双特异性抗体在其两个结合臂 (一个HC/LC对) 之一上结合一种抗原 (或表位), 并在其第二臂 (不同HC/LC对) 上结合不同抗原 (或表位)。双特异性抗体具有两个不同的抗原结合臂 (在特异性和CDR序列两者中), 且针对其结合的每种抗原是单价的。

[0051] 已使用本领域已知的方法产生一系列能够结合tau的鼠抗体。参见Holtzman等人, W02014/08404。此外, 已经筛选这些抗体以鉴定具有可使其成为治疗用途的合适候选物的特定生物活性的抗体。

[0052] 在一个方面, 本公开提供了复合人源化抗体。复合人抗体<sup>TM</sup> 技术通过以使得消除与潜在T细胞表位的结合的方式鉴定供体抗体和工程改造抗体或抗原结合片段的可变区 (V区) 序列中的潜在T细胞表位来产生人源化抗体 (参见EP2,388,871)。与使用单一人轻链和重链V区框架或人共有框架作为来自供体抗体 (通常鼠) 的各自互补决定区 (CDR) 的轻链和重链“受体”的其他人源化技术不同; 复合人抗体<sup>TM</sup> 包含源自多个不相关人抗体的V区的多个序列区段 (“复合物”)。

[0053] 在确定认为对起始抗体的抗原结合至关重要的氨基酸后, 选择源自不相关人V区的数据库的序列区段。使用本领域已知的计算机芯片上工具针对潜在CD4+ T细胞表位的存在过滤源自人V区数据库的所有所选序列区段。由于人序列区段与起始抗体V区的所有部分的紧密配合, 复合人抗体<sup>TM</sup> 保留好于标准人源化抗体的亲和力和特异性。复合人抗体<sup>TM</sup> 缺失T细胞表位, 且因此视为人源化和去免疫化两者。

[0054] 在一个实施方案中, 来自供体抗体的鼠可变区替代人受体IgG的人可变区, 导致产生嵌合抗体。

[0055] 在另一个实施方案中, 来自供体抗体的鼠CDR序列替代人受体IgG的CDR序列, 以产生人源化抗体。将其他变化并入人源化抗体中以移除认为对维持供体抗体的结合特征至关重要的潜在T细胞表位和框架残基。本领域技术人员将知道其他方法诸如CDR移植可用于将抗体人源化。

[0056] 在另一个实施方案中, 将能够结合至人tau的非人抗体人源化。

[0057] 本发明抗体可展现与供体抗体相比改变的结合亲和力和/或改变的免疫原性。在一些实施方案中, 嵌合或人源化抗体具有与供体抗体实质上相同的关于tau的表位的结合亲和力。

[0058] 在另一个实施方案中, 基于如本文所述的人源化抗体 (例如人源化抗tau抗体) 的单链可变片段可以作为单体结合。

[0059] 在另一个实施方案中, 使用抗体片段的多价结合可以通过使用双抗体、三链抗体、四链抗体和可制备的其他更高阶变体来实现。

[0060] 在另一个实施方案中, 人源化抗tau抗体的重链和轻链可与其他抗体的重链和轻链组合以形成双特异性抗体或其他额外多特异性抗体。

[0061] 此外, 本发明的人源化抗体 (例如人源化抗tau抗体) 也可呈抗体片段 (例如Fab)、

Fab' 单体、F(ab)'<sub>2</sub>二聚体或完整免疫球蛋白分子的形式。

[0062] 在一个实施方案中,本发明提供了由氨基酸序列DQGGYT (SEQ ID NO: 9)组成的分离的肽。此肽是本文所述的抗体(如C<sub>2</sub>N-8E12或HJ8.5)的核心表位。在本发明的一个方面,该肽包括X<sub>(0-8)</sub>DQGGYTX<sub>(0-8)</sub> (SEQ ID NO: 56),其中X是任何氨基酸。尽管说明性实例显示15聚体(参见图11),但本领域技术人员将认识到本发明包括不同长度的肽。因此,本发明抗体或片段可特异性结合含有氨基酸序列DQGGYT (SEQ ID NO: 9)的表位。该表位可以是线性或构象表位且可为约6至22个氨基酸长度。

[0063] 在其他实施方案中,本发明方法涉及用抗体或抗原结合片段治疗tau蛋白病变,其中所述抗体或片段以一定剂量施用于患有tau蛋白病变的主体。

[0064] 抗体或抗原结合片段的合适剂量可以mg药物/kg主体体重来表示。抗体或抗原结合片段的合适剂量包括至少约0.1mg/kg、或者约0.2mg/kg、或者约0.25mg/kg、或者约0.3mg/kg、或者约0.5mg/kg、或者约0.75mg/kg、或者约1mg/kg、或者约1.25mg/kg、或者约1.5mg/kg、或者约2mg/kg、或者约5mg/kg、或者约7.5mg/kg、或者约10mg/kg、或者约12.5mg/kg、或者约15mg/kg、或者约20mg/kg、或者约25mg/kg、或者约30mg/kg、或者约50mg/kg、或者约100mg/kg。抗体或抗原结合片段的合适剂量可以是至多约250mg/kg、或者至多约200mg/kg、或者至多约175mg/kg、或者至多约150mg/kg、或者至多约125mg/kg、或者至多约100mg/kg、或者至多约75mg/kg、或者至多约50mg/kg、或者至多约25mg/kg、或者至多约20mg/kg、或者至多约15mg/kg。前述最小值和最大值中的任一者可一起定义范围(例如,约0.1mg/kg至约250mg/kg),只要该范围的最小值低于该范围的最大值。

[0065] 抗体或抗原结合片段的合适剂量可以mg施用于主体的药物来表示。人源化抗体或抗原结合片段的合适剂量包括至少约2.5mg、或者至少约5mg、或者至少约10mg、或者至少约15mg、或者至少约20mg、或者至少约25mg、或者至少约30mg、或者至少约40mg、或者至少约50mg、或者至少约60mg、或者至少约70mg、或者至少约80mg、或者至少约90mg、或者至少约100mg、或者至少约125mg、或者至少约150mg、或者至少约175mg、或者至少约200mg、或者至少约250mg、或者至少约100mg、或者至少约125mg、或者至少约300mg。抗体或抗原结合片段的合适剂量可以是至多约2500mg、或者至多约2000mg、或者至多约1500mg、或者至多约1000mg、或者至多约750mg、或者至多约500mg、或者至多约400mg、或者至多约300mg、或者至多约275mg、或者至多约250mg、或者至多约200mg、或者至多约150mg。前述最小值和最大值中的任一者可一起定义范围(例如,约5mg至约2500mg),只要该范围的最小值低于该范围的最大值。

[0066] C<sub>2</sub>N-8E12是人源化重组IgG4抗人tau抗体。C<sub>2</sub>N-8E12的IgG4骨架含有尽可能降低半抗体的形成的S241P铰链稳定突变。C<sub>2</sub>N-8E12结合至人tau的氨基酸25-30(DQGGYT) (SEQ ID NO: 9),其为存在于所有人tau剪接变体以及tau的氨基端片段中的序列。在来自tau蛋白病变的人脑组织中,该抗体结合至单体tau和聚集的tau。C<sub>2</sub>N-8E12是高度稳定的,且聚集或降解非常少。C<sub>2</sub>N-8E12的一般物理性质示于表1中。

[0067] 表1

[0068] 分子量	145.72 kDa
立体化学	L-氨基酸
外观	澄清,无色至淡黄色液体

溶解度	~130 mg/mL
-----	------------

[0069] 尽管本发明已参照随附实施例描述,但应理解修改和变型涵盖于本发明的精神和范围内。此处的随附物是本发明的说明性实例且以其整体通过引用并入本文。

#### [0070] 实施例1

[0071] 本实施例描述将鼠抗tau抗体HJ8.5人源化的工作和结果。所述工作产生四个人源化轻链可变区 (VL或VK) 和四个人源化重链可变区 (VH)。

[0072] 人源化通常是指降低与使用非人单克隆抗体相关的潜在免疫原性用于慢性治疗的技术。两种通常用于降低免疫原性的方法是CDR移植和去免疫化。使用由Antitope开发的方法将鼠抗体HJ8.5去免疫化。

[0073] CDR移植是蛋白工程改造方法。简言之,它依赖于对抗体的基本架构的理解和其在物种间的保守性两者。鼠和人抗体共享常用/保守架构。抗体结构分成恒定区和可变区。可变区可进一步分成所谓的框架区和CDR区。可观察到可变区由四个框架 (Fwk) 和三个CDR构成。框架和CDR的布置在轻链和重链可变结构域中是相同的。

[0074] 在CDR移植中,用人恒定区替代非人恒定区,产生所谓的嵌合抗体。此外,将鼠CDR区转移至人框架区中;所得可变结构域是人框架和鼠CDR的混合物。作为最后步骤,转移多个认为在维持亲和力方面发挥重要作用的鼠框架残基(未显示)。

[0075] 去免疫化:据称来自Antitope的复合人抗体<sup>TM</sup>技术是与鉴定被认为在结合中发挥作用的CDR和框架中的关键氨基酸两者结合使用的去免疫化技术。所得全人源化抗体保留起始单克隆抗体的结合亲和力和特异性且还不含CD4+ T细胞表位,这避免在人类中不期望的免疫原性。

[0076] 复合人抗体<sup>TM</sup>通过组合来自包含100,000个不相关全人抗体可变区序列的Antitope数据库的人抗体序列的多个区段来产生。使用HJ8.5抗体的可变区序列的初始建模来鉴定对抗体结合至关重要的氨基酸,其然后用来限制人序列区段的选择。然后使用两种专有计算机芯片上技术 (iTope<sup>TM</sup>和TCED<sup>TM</sup>) 来分析个别序列区段和相邻区段之间的接合用于选择不含CD4+ T细胞表位的全人可变区序列。合成编码复合人抗体的可变区的DNA,将其克隆至具有人恒定区的表达载体中且转染至哺乳动物细胞中用于产生人源化抗体。

[0077] HJ8.5的人源化:使用Swiss PDB来产生HJ8.5鼠抗Tau412抗体V区的结构模型并分析,以鉴定V区中可能是抗体的结合性质所必需的重要的“限制性”氨基酸。根据分析,多个限制性框架残基被鉴定为用于包括在全人源化V区中的候选物。选择人可变区序列的区段以包括这些残基中的一个或多个。

[0078] 选择可用于产生全人源化HJ8.5抗体的人序列区段的初步集合,并使用iTope<sup>TM</sup>技术(用于肽与人MHC II类等位基因的结合的计算机芯片上分析(Perry等人,2008))和使用已知抗体序列相关的T细胞表位的TCED<sup>TM</sup> (T细胞表位数据库)(Bryson等人,2010)来分析。丢弃鉴定为人MHC II类的重要非人种系结合剂或针对TCED<sup>TM</sup>评分为显著命中的序列区段。还分析序列区段的组合以确保区段之间的接合不含潜在的T细胞表位。然后组合所选区段来产生用于合成的重链和轻链V区序列。对于HJ8.5,设计且构建四条VH链和四条Vk链。

[0079] 图1显示鼠HJ8.5抗体的可变区序列以及重链和轻链中每个的4个人源化变体序列(4个VH序列和4个VL/VK序列)。那四条VH链和四条Vk链的氨基酸序列记载于图1中。如由Kabat等人定义的CDR序列以红色突出显示(加下划线)。来自原始小鼠序列的框架变化以蓝

色和粗体突出显示。

[0080] 表B-1概述在重链和轻链可变结构域的每种变体中引入的框架变化的数量。

[0081] 表B-1

可变结构域	框架变化的数量
VH1	4
VH2	5
VH3	10
VH4	11
VK1	6
VK2	7
VK3	11
VK4	12

[0083] 图2显示重链和轻链中每个人源化可变区和恒定区序列的序列(4个VH序列和4个VL/VK序列)。将可变重链移植至含有S241P铰链稳定突变的人IgG4的恒定重链。将可变轻链移植至人κ轻链的恒定轻链。该表还列举理论等电点(PI)和分子量(Mw)。

[0084] 图3显示来自用编码VH和VK区的多核苷酸转染的细胞的2轮瞬时表达的表达数据。概述13种人源化抗tau抗体的结果。重链和轻链的不同组合导致观察到显著不同的表达水平。在第1轮中,将VH和VL区的所有变体彼此组合(仅显示测试的16种中的13种的结果)。在第2轮中,测试在第1轮中观察到的6种最佳表达组合。表达显示为μg测量的抗体/mL培养基。较高表达水平是有利的,因为其表明抗体正确地折叠,如预期分泌,无毒性且通常是稳定的。

[0085] 图4显示功效测定的数据。为了进一步表征人源化抗tau抗体变体,该功效测定以ELISA型形式评估抗体与初始鼠HJ8.5(亲本抗体)竞争结合至人tau的能力。该测定形式涉及用人tau包被ELISA板,然后允许测试抗体以及生物素化HJ8.5竞争结合至tau。该测定使得能够测量每种人源化抗体变体的相对IC50值。将IC50值针对嵌合HJ8.5的IC50值均一化以使得能够在各板之间进行比较。该数据表明人源化过程尚未显著改变人源化抗体与人tau的结合。

[0086] 实施例2

[0087] 本研究描述使用Biacore T200来测量和比较基于HJ8.5的六种全人源化(上文实施例1中所述的VH1/VK2、VH1/VK3、VH2/VK2、VH2/VK3、VH3/VK2和VH3/VK3)单克隆抗体和一种嵌合单克隆抗体与重组人Tau-412蛋白之间的相互作用的结合特征。本研究的目的是使用Biacore T200表面等离子共振仪器用于高分辨率动力学表征 Tau-412与这七种mAb之间的相互作用。

[0088] 将抗体储存在4°C下。根据制造商的说明书将Tau-412储存在-20°C下。一旦重构,就将Tau-412溶液储存在冰上并在24小时内使用。将重构Tau-412的等份试样在重构30分钟内冷冻且储存在-20°C下。

[0089] 在Biacore T200评估软件V1.1 (Uppsala, Sweden)上运行Biacore仪器。除非说明,否则所有材料都来自Biacore:

[0090] Biacore Preventative MaintenanceKit 2 BR-1006-51

- [0091] 系列S CM5传感器芯片 BR-1006-68
- [0092] 胺偶联试剂盒 BR-1000-50
- [0093] 10 mM乙酸盐pH 4.5 BR-1003-51
- [0094] HBS-EP运行缓冲液\ BR-1006-69
- [0095] 10mM甘氨酸-HCl pH 1.5 BR-1003-54
- [0096] 10mM甘氨酸-HCl pH 2.0 BR-1003-55
- [0097] 蛋白A (Sigma) P6031
- [0098] 4 M MgCl<sub>2</sub>六水合物(Sigma) M9272-500G 。
- [0099] 所有实验都使用Biacore ‘wizard’ 软件来开发。使用以下Biacore方法：固定化；动力学/亲和力；以及解吸和清洁 (Sanitize)。
- [0100] 在运行任何样品之前和在研究期间，进行系统检查 (Biacore Preventative Maintenance Kit 2)。所测试的所有系统 (试剂泵、折射计、注射、噪声、混合和缓冲液选择器) 都通过，指示该仪器根据制造商设定的标准来运行。
- [0101] 在插入CM5/蛋白A芯片后，引发系统，然后用BIA均一化溶液 (Biacore Preventative Maintenance Kit 2) 均一化。在25°C下运行所有样品，其中在5°C下孵育样品架。将芯片添加至系统，其中使用HBS-EP作为运行缓冲液。
- [0102] 将mAb如供应时储存且稀释至100nM用于所有固定化 (捕获) 运行。使用Milli-Q水将抗原Tau-412从干燥粉末重构至1mg/mL的最终浓度；进行进一步稀释用于动力学运行。由试剂制造商提供用于浓度计算中的Tau-412的质量和分子量 (100μg/小瓶和42.9 kDa)。不向此溶液中添加载体蛋白。仅当需要时重构抗原的小瓶且以其粉末形式储存在-20°C下直至使用。一旦重构，就将抗原溶液保持在冰上并在24小时内使用。
- [0103] 选择用蛋白A的捕获测定用于该研究。蛋白A表面的性能优于也测试的抗人、蛋白A/G、蛋白G和蛋白L表面。通过使用标准胺偶联化学的固定化来制备蛋白A芯片。在CM5系列S传感器芯片 (Biacore) 上，在10 mM乙酸盐缓冲液 (pH 4.5) 中，以5μg/mL的蛋白浓度实施固定化，以达到500RU的目标反应水平。
- [0104] 蛋白A芯片“全部 (A11)”和指定为F<sub>c</sub>s的最终反应水平显示于表G-1中。
- [0105] 表G-1

	配体	最终反应水平 (RU)
[0106]	F <sub>c</sub> 1 蛋白A	697.1
	F <sub>c</sub> 2 蛋白A	691.4
	F <sub>c</sub> 3 蛋白A	708.3
	F <sub>c</sub> 4 蛋白A	704.6

[0107] 对于动力学实验，需要限制固定化/捕获的配体的量以避免芯片表面上的质量转移效应。对于动力学实验，表面应当理想地具有50-100RU的最大分析物结合水平 (R<sub>max</sub>)。因此，使用方程1计算待固定化的配体的量：

[0108] 分析物结合能力 (RU) =  $\frac{\text{分析物 } MW}{\text{配体 } MW} \cdot \text{固定化的配体 (RU)} \cdot Sm$  。

[0109] 使用分析物Tau-412的42.9kDa的平均MW(由试剂制造商提供)、配体的150kDa(抗体的估计值)(mAb)、 $R_{max}$ 的100RU和作为1的化学计量( $S_m$ ),设定300RU的目标用于捕获所有试验抗体。在该研究内获得的捕获水平从约280-400RU变化。对于第二和第三运行,调节注射抗体的量以接近于期望的300RU捕获水平。

[0110] 非特异性结合可归因于与配体(非特异性且难以检测)、捕获蛋白或传感器芯片表面相互作用的分析物或分析物污染物。通过分析以相对高浓度(40 nM) 300秒注射Tau-412后空白F<sub>c</sub>1表面的反应,对羧基-葡聚糖表面或蛋白A捕获表面没有观察到NSB。在Tau-412浓度>100 nM的情况下,对羧基-葡聚糖芯片表面观察到显著NSB;然而,该范围内的浓度不是后续动力学分析所必需的。

[0111] 进行再生探查(scouting)且在蛋白A表面上再生嵌合和VH1/VK2抗体的最佳条件如下。三次240秒注射10 mM甘氨酸-HCl (pH 1.7),随后一次300秒注射4M MgCl<sub>2</sub>,其都以40 μL/min。在最后一次再生注射后引入600秒等待步骤以允许表面在起始下一结合循环之前稳定。

[0112] 不进行缓冲液探查,因为初始测试指示所选缓冲液“HBS-EP”产生适合于动力学分析的可再生系统。

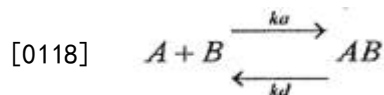
[0113] 通过在动力学运行起始、中间和结束时重复控制注射2.5nM Tau-412来分析表面的性能。在整个动力学运行中观察到稳定结合,这突显了该系统用于动力学分析的适宜性。

[0114] 当缔合速率含有与分析物转移至芯片表面和从芯片表面转移的速率相关的重要组分时,出现质量转移限制。当发现质量转移显著时,所得动力学分析可以是不准确的。减小固定化配体的密度或增加流速可以减少质量转移限制。根据使用低密度表面和类似Mw抗原的先前经验,选择40μL/min的流速用于该研究。

[0115] 使用相关反应控制实验来评价配体-分析物相互作用以检查与1:1结合模型的偏差。持续不同时间段(接触时间)将分析物注射在表面上且分析解离速率以确定其是否随接触时间而变化。如果观察到此关系,则其指示在表面上产生稳定化复合物的初始结合事件后发生第二相互作用事件。

[0116] 根据使用捕获测定形式、1.5的表观结合化学计量以及可以用置信度将1:1模型拟合至所得动力学数据的先前经验,不进行关联的反应控制,因为无额外证据支持更复杂的动力学相互作用。

[0117] 使用1:1结合模型来拟合所得动力学数据(方程2)。由于所捕获抗体量的变化,将参数 $R_{max}$ 设定为局部,这与用于每一抗体动力学分析的整体分析相反。



[0119] 抗体表征:对蛋白A捕获表面进行的表征和对照实验表明这是适于测定Tau-412相互作用的动力学值的系统。通过将饱和浓度的Tau-412(1000 nM)注射在试验蛋白A表面上的277RU的捕获的VH1/VK2上来评价结合化学计量。1000 nM Tau-412的两次依次注射似乎导致在122 RU下的饱和结合。这导致150%的结合化学计量,其高于对一个抗体分子与一个Tau-412分子的结合所预期的结合化学计量。其原因可包括在芯片表面上抗体与两个Tau-412分子的结合或Tau-412寡聚化。

[0120] 在40μL/min的流速下获得动力学数据以尽可能降低任何潜在质量转移效应。将空

白(无抗原)和2.5nM浓度的分析物的两个重复程序化至动力学运行中以检查表面和分析物两者经动力学循环的稳定性。对于初始动力学运行,运行Tau-412从40nM至0.156nM的2倍稀释物。对于动力学分析和在后续运行时,选择20nM至0.625nM的分析物范围。该范围涵盖高于和低于报告的 $K_D$ 的多个分析物浓度。

[0121] 持续500秒监测缔合期以允许一些较高浓度的分析物达到稳态。为了在动力学循环的解离期期间观察到足够的信号减少(>10%),持续1200秒测量解离。如部分5中所讨论,允许 $F_c$ 在每个再生步骤后稳定600秒。从 $F_c$ 2、 $F_c$ 3和 $F_c$ 4的信号减去参考通道 $F_c$ 1的信号。

[0122] 如在Biacore T200上使用蛋白A捕获系统测量的Tau-412与7种mAb的相互作用的动力学参数显示于表F-2中。为了校正每个结合循环之间抗体的捕获水平的差异,在1:1结合模型中使用局部 $R_{max}$ 参数。在三次独立运行中使用Tau-412和抗体的新鲜制备物进行动力学分析。运行1和运行2+3使用不同小瓶的抗原Tau-412;因此与平均反应相关的报告误差可能代表分析物制备物的变化和测定设置和运行的差异。从运行1至运行2+3,调节注射抗体的量以尝试更接近于目标300RU捕获水平。对于运行1,以一式三份运行嵌合抗体且所有三个数据集合的分析显示于表F-2中。源自该三个数据集合的 $K_D$ 的%CV为4.3%,这指示所述结果在测定变化性之内。

[0123] 表F-2

[0124]

配体	芯片	$k_a$ (1/Ms)	SE( $k_a$ )	$k_d$ (1/s)	SE( $k_d$ )	$K_D$ (nM)	SD( $K_D$ )	Chi <sup>2</sup>	附录II
VH1/VK2	A11/1	$2.80 \times 10^5$	$4.40 \times 10^2$	$6.11 \times 10^{-4}$	$2.80 \times 10^{-7}$	2.18		1.28	A3-4
VH1/VK2	A11/3	$3.25 \times 10^5$	$1.00 \times 10^3$	$6.32 \times 10^{-4}$	$8.20 \times 10^{-7}$	1.95		0.44	A5-6
		$k_a$ (1/Ms)	SD( $k_a$ )	$k_d$ (1/s)	SD( $k_d$ )	$K_D$ (nM)	SD( $K_D$ ) (nM)		
平均值		$3.02 \times 10^5$	$3.19 \times 10^2$	$6.21 \times 10^{-4}$	$1.48 \times 10^{-6}$	2.06	0.17		
配体	芯片	$k_a$ (1/Ms)	SE( $k_a$ )	$k_d$ (1/s)	SE( $k_d$ )	$K_D$ (nM)	SD (KD)	Chi <sup>2</sup>	附录II
VH1/VK3	A11/1	$2.80 \times 10^5$	$9.10 \times 10^2$	$6.26 \times 10^{-4}$	$8.50 \times 10^{-7}$	2.24		0.99	A7-8
VH1/VK3	A11/2	$2.95 \times 10^5$	$4.40 \times 10^2$	$5.72 \times 10^{-4}$	$2.70 \times 10^{-7}$	1.94		0.52	A9-10
		$k_a$ (1/Ms)	SD( $k_a$ )	$k_d$ (1/s)	SD( $k_d$ )	$K_D$ (nM)	SD( $K_D$ ) (nM)		
平均值		$2.87 \times 10^5$	$1.07 \times 10^3$	$5.99 \times 10^{-4}$	$3.76 \times 10^{-6}$	2.09	0.21		
配体	芯片	$k_a$ (1/Ms)	SE( $k_a$ )	$k_d$ (1/s)	SE( $k_d$ )	$K_D$ (nM)	SD (KD)	Chi <sup>2</sup>	附录II
VH2/VK2	A11/1	$2.62 \times 10^5$	$4.30 \times 10^2$	$6.28 \times 10^{-4}$	$2.80 \times 10^{-7}$	2.40		0.83	A11-12
VH2/VK2	A11/2	$2.84 \times 10^5$	$4.10 \times 10^2$	$5.87 \times 10^{-4}$	$2.60 \times 10^{-7}$	2.06		0.70	A13-14
		$k_a$ (1/Ms)	SD( $k_a$ )	$k_d$ (1/s)	SD( $k_d$ )	$K_D$ (nM)	SD( $K_D$ ) (nM)		
平均值		$2.73 \times 10^5$	$1.59 \times 10^3$	$6.08 \times 10^{-4}$	$2.94 \times 10^{-6}$	2.23	0.24		
配体	芯片	$k_a$ (1/Ms)	SE( $k_a$ )	$k_d$ (1/s)	SE( $k_d$ )	$K_D$ (nM)	SD (KD)	Chi <sup>2</sup>	附录II
VH2/VK3	A11/1	$2.68 \times 10^5$	$8.80 \times 10^2$	$6.53 \times 10^{-4}$	$9.00 \times 10^{-7}$	2.44		1.11	A15-16
VH2/VK3	A11/2	$2.92 \times 10^5$	$4.40 \times 10^2$	$5.33 \times 10^{-4}$	$2.60 \times 10^{-7}$	1.83		0.50	A17-18
		$k_a$ (1/Ms)	SD( $k_a$ )	$k_d$ (1/s)	SD( $k_d$ )	$K_D$ (nM)	SD( $K_D$ ) (nM)		
平均值		$2.80 \times 10^5$	$1.71 \times 10^3$	$5.93 \times 10^{-4}$	$8.44 \times 10^{-6}$	2.13	0.43		
配体	芯片	$k_a$ (1/Ms)	SE( $k_a$ )	$k_d$ (1/s)	SE( $k_d$ )	$K_D$ (nM)	SD (KD)	Chi <sup>2</sup>	附录II
VH3/VK2	A11/1	$2.62 \times 10^5$	$3.20 \times 10^2$	$5.46 \times 10^{-4}$	$2.20 \times 10^{-7}$	2.08		0.45	A19-20
VH3/VK2	A11/2	$2.90 \times 10^5$	$3.70 \times 10^2$	$4.85 \times 10^{-4}$	$2.20 \times 10^{-7}$	1.67		0.71	A21-22
		$k_a$ (1/Ms)	SD( $k_a$ )	$k_d$ (1/s)	SD( $k_d$ )	$K_D$ (nM)	SD( $K_D$ ) (nM)		
平均值		$2.76 \times 10^5$	$1.99 \times 10^3$	$5.15 \times 10^{-4}$	$4.28 \times 10^{-6}$	1.88	0.29		
配体	芯片	$k_a$ (1/Ms)	SE( $k_a$ )	$k_d$ (1/s)	SE( $k_d$ )	$K_D$ (nM)	SD (KD)	Chi <sup>2</sup>	附录II
VH3/VK3	A11/1	$2.54 \times 10^5$	$3.10 \times 10^2$	$5.59 \times 10^{-4}$	$2.00 \times 10^{-7}$	2.20		0.80	A23-24
VH3/VK3	A11/2	$2.76 \times 10^5$	$3.80 \times 10^2$	$4.54 \times 10^{-4}$	$2.20 \times 10^{-7}$	1.65		0.80	A25-26
		$k_a$ (1/Ms)	SD( $k_a$ )	$k_d$ (1/s)	SD( $k_d$ )	$K_D$ (nM)	SD( $K_D$ ) (nM)		
平均值		$2.65 \times 10^5$	$1.56 \times 10^3$	$5.07 \times 10^{-4}$	$7.40 \times 10^{-6}$	1.92	0.39		
配体	芯片	$k_a$ (1/Ms)	SE( $k_a$ )	$k_d$ (1/s)	SE( $k_d$ )	$K_D$ (nM)	SD (KD)	Chi <sup>2</sup>	附录II
嵌合的	A11/1	$7.18 \times 10^5$	$1.60 \times 10^3$	$1.60 \times 10^{-3}$	$2.40 \times 10^{-6}$	2.23		1.17	A27-29
嵌合的	A11/2	$7.22 \times 10^5$	$3.00 \times 10^3$	$1.30 \times 10^{-3}$	$3.50 \times 10^{-6}$	1.79		0.97	A30-31
嵌合的	A11/3	$7.23 \times 10^5$	$2.60 \times 10^3$	$1.40 \times 10^{-3}$	$3.30 \times 10^{-6}$	1.94		0.49	A32-33
		$k_a$ (1/Ms)	SD( $k_a$ )	$k_d$ (1/s)	SD( $k_d$ )	$K_D$ (nM)	SD( $K_D$ ) (nM)		
平均值		$7.21 \times 10^5$	$2.87 \times 10^3$	$1.43 \times 10^{-3}$	$1.54 \times 10^{-6}$	1.99	0.22		

[0125] Chi<sup>2</sup>值显示缔合和解离数据与提出的1:1结合模型拟合如何好 - 值越小,拟合越好。用于速率常数的相关SE值代表与将数据拟合至所述模型相关的不确定性,且不代表真实动力学值的总体不确定性。平均反应数据代表来自2个或3个独立分析的平均动力学值和相关SD。

[0126] 使用来自表F-2的平均K<sub>D</sub>值,可基于亲和力将抗体排序如下:VH3/VK2 > VH3/VK3 > 嵌合 > VH2/VK3 > VH1/VK3 > VH1/VK2 > VH2/VK2。与平均动力学参数相关的%CV范围为10-20%,因此可能所有抗体都具有非常类似的亲和力且差异仅仅是测定变化的结果。一般而言,抗体之间的结合差异可归因于测定变化,且据信人源化抗体与嵌合抗体相比KD值不存在显著差异。

[0127] 显示了在用于抗体和Tau-412之间的相互作用的Biacore T200上使用蛋白A捕获测定法测定的动力学值的比较。嵌合抗体似乎展现当与人源化抗体相比时显著不同的结合概况,尽管亲和力是类似的。k<sub>d</sub>对k<sub>a</sub>图显示测试抗体和Tau-412相互作用的相对动力学值,如在Biacore T200上使用蛋白A捕获测定法所测定。虚对角线代表等亲和力线。请注意,轴线展现不同的数据范围,其目的是改善图上人源化抗体的清晰度。

[0128] 图5概述来自表面等离子共振 (SPR) 分析的结果,所述分析测定6种最佳表达人源化构建体对人tau的结合动力学。将测试抗体固定化在SPR芯片上,然后允许不同浓度的人tau流经芯片。基于测量的结合事件计算每种变体的缔合和解离速率以及亲和力。还测试嵌合变体。

#### [0129] 实施例3

[0130] 图6显示夹心式ELISA中四种人源化抗体变体与可溶性人tau的结合。依赖于被动吸附的测定方法具有产生人工结合结果的潜能。为了克服该可能性,采用基于溶液的方法来测量人源化抗体变体的结合活性。在该测定形式中,通过相比于HJ8.5识别不同表位的单克隆抗人tau抗体捕获抗原(人tau)。人源化抗tau抗体与捕获的人tau的后续结合取决于抗原浓度,而IgG4同种型对照完全不显示结合。该测定表明人源化抗tau抗体与人tau的结合是特异性的且所述抗体结合至可溶性人tau。

#### [0131] 实施例4

[0132] 图7(A-H)显示人源化和对照抗体与来自野生型小鼠(阴性对照组织)、P301S小鼠(其表达具有P301S突变的人tau且发展年龄相关的tau病理)和患有阿尔茨海默病或进行性核上性麻痹(PSP)的人的组织的结合。该研究的目的是确认与HJ8.5的嵌合形式相比人源化抗体保留与组织中的聚集tau结合的能力。所述图显示用人源化HJ8.5抗体的不同变体对人和小鼠脑染色的代表性图像。测试4和9月龄的P301S小鼠,且两个时间点都显示tau的病理聚集物,其中9月龄小鼠具有比4月龄小鼠更多的tau病理。对于人染色,检查来自一个患有PSP的主体的脑组织的样品和来自一个患有AD的主体的脑组织的样品。图7A举例说明用嵌合HJ8.5对小鼠和人AD组织的染色。图7B举例说明用阴性对照抗体(非特异性人IgG4)的染色。图7C-7H举例说明用六种人源化抗体的染色。鼠HJ8.5抗体的所有人源化变体都结合至在P301S小鼠脑中发现的tau聚集物以及诊断患有AD或PSP的主体的脑组织中发现的tau聚集物。

#### [0133] 实施例5

[0134] 图8显示在人tau中HJ8.5的表位。使用酵母展示定位该表位。对于该方法,通过使用酵母表达涵盖人tau的序列的多个肽。通过免疫荧光测量培养物中HJ8.5抗体与酵母的结合。观察到与表达包括前34个氨基酸的tau变体的酵母的结合,但如果酵母仅表达tau的前32个氨基酸,则无结合。这表明表位在前34个氨基酸内。此外,如果肽包括氨基酸27-135则HJ8.5结合,但如果肽跨越氨基酸30-135则HJ8.5不结合。这表明表位包括大于氨基酸27的氨基酸。基于该数据,表位包含于人tau的27-34序列(GYTMHQDQ)(SEQ ID NO:10)内。图8还显示恒河猴和小鼠tau序列且以红色突出显示与人tau的氨基酸变化。

[0135] 图9显示HJ8.5和C<sub>2</sub>N-8E12的更详细的基于肽的表位定位。产生跨越人tau的完整序列(IN4R,412个氨基酸)的线性15聚体的肽文库。此外,还产生这些肽的双丙氨酸形式(其中氨基酸10和11变成丙氨酸)。对于双丙氨酸文库,位置10或11处的任何天然存在的丙氨酸突变成甘氨酸。将所有肽点至肽阵列上,然后用HJ8.5或C<sub>2</sub>N-8E12探测并测量结合。使用这些肽阵列可靠地定位两种抗体的tau结合表位。C<sub>2</sub>N-8E12的结合表位是<sub>25</sub>DQGGYT<sub>30</sub>(SEQ ID NO:9)且匹配鼠亲本HJ8.5的表位。当表位中的氨基酸D、Q、Y或T用丙氨酸替代时,HJ8.5和C<sub>2</sub>N-8E12与tau肽的结合严重受损,这表明所述氨基酸在抗体结合中起重要作用。然而,当表位中的中央两个甘氨酸用丙氨酸替代时,抗体与tau肽的结合并未严重受损(PEP

2875811)。这可能并不指示这些氨基酸对结合不重要,而是由于丙氨酸和甘氨酸氨基酸之间取代的保守性质。使用这些更详细方法定位的表位略微不同于使用酵母展示定位的表位(图8)。该差异归因于结合测定的差异,其中在酵母展示系统上使用较大肽。15聚体肽阵列方法被认为优于酵母展示方法。

#### [0136] 实施例6

[0137] 图10举例说明不同的抗人tau抗体与人或恒河猴tau的结合结果。测试鼠抗人tau抗体HJ8.5和HJ8.7连同同源化变体VH1/VK2(也称为C<sub>2</sub>N-8E12)。图8显示在请求保护的结合表位序列GYTM(H/L)QDQ(SEQ ID NO:57)中,人和恒河猴tau之间在位置32处的单一氨基酸差异。图8显示在请求保护的结合表位序列DQ(G/E)GYT(SEQ ID NO:58)中,人和恒河猴tau之间在位置27处的单一氨基酸差异。为了确定两个物种的tau之间的这些氨基酸差异是否影响抗体HJ8.5/C<sub>2</sub>N-8E12结合的能力,进行以下实验。通过用各种浓度的人或恒河猴tau包被96孔ELISA板来测量C<sub>2</sub>N-8E12、HJ8.5(C<sub>2</sub>N-8E12的鼠前体)和HJ8.7(结合至tau的表位(其中人和恒河猴氨基酸序列为100%保守)的鼠抗人tau抗体)与人和恒河猴tau的结合。我们的结果表明C<sub>2</sub>N-8E12和HJ8.5不与恒河猴tau结合,而其的确显示与人tau的阳性结合。如预期,HJ8.7结合至人和恒河猴tau两者。

#### [0138] 实施例7

[0139] 图11显示同源化抗tau抗体与来自患有多种tau蛋白病变的人主体的CSF中的tau的结合。评估C<sub>2</sub>N-8E12与来自诊断为患有多种tau蛋白病变的主体以及年龄匹配和年轻正常对照主体的CSF样品中的tau的结合。使用夹心ELISA来表明C<sub>2</sub>N-8E12与来自患有AD、CBD、FTD或PSP的主体以及年龄匹配和年轻人/成人对照的人CSF中的tau的结合。使用C<sub>2</sub>N-8E12作为包被抗体以捕获CSF样品中的tau。使用生物素化鼠单克隆tau抗体HJ8.7作为检测抗体。用对照人IgG4包被的孔充当实验的阴性对照。观察到来自C<sub>2</sub>N-8E12包被的孔与对照IgG4包被的孔的信号有较大差异,这表明C<sub>2</sub>N-8E12与人CSF样品中的tau的特异性结合。通过包括标准曲线(重组tau),可得到这些CSF样品中关于tau浓度的定量信息。

#### [0140] 实施例8

[0141] 本研究是待在多达十(10)个中心进行的随机化、双盲、安慰剂对照、单一递增剂量(SAD)1期研究。其被设计以评估C<sub>2</sub>N-8E12的单一剂量施用的安全性、耐受性、免疫原性和PK,且确立用于将来重复给药研究的MTD。

[0142] 本研究的主要目标是确定在患有PSP的主体中单一剂量的C<sub>2</sub>N-8E12的安全性、耐受性、免疫原性和最大耐受剂量(MTD)。安全性评价将包括身体和神经检查、临床安全性实验室研究、免疫原性、不良事件、生命体征和伴随的用药审查。

[0143] 次要目标是确定:单一剂量全身性药代动力学,包括单一输注后的最大血浆浓度;单一输注后的曲线下面积(AUC);实现输注后最大浓度的时间;C<sub>2</sub>N-8E12的终末半衰期;C<sub>2</sub>N-8E12于脑脊液(CSF)中的分配;和通过测量血液和CSF中的可溶性tau水平的生物靶标接合(Biologic target engagement)以及评价C<sub>2</sub>N-8E12-tau复合物的存在。

[0144] 本研究意欲招募32个患有PSP的主体(24个在治疗分支(arm)中且8个在安慰剂分支中)。主体将被招募于8组4个患者中,其中将每一组中的一个患者随机化至安慰剂且将3个随机化至MTD的当前估计值。如果出现DLT,则可招募额外主体。然而,在剂量递增过程期间,不可省略剂量。

[0145] 如统计学设计部分中所述使用剂量递增的连续再评价方法 (CRM)。使用逻辑模型来鉴定通过剂量的DLT的可能性。

[0146] 将C<sub>2</sub>N-8E12作为单次使用瓶中的冷冻液体以20 mg/mL的标称浓度运输至临床地点。每瓶含有300 mg C<sub>2</sub>N-8E12且必须冷冻储存在-70℃至-80℃下。

[0147] 患者将经历筛选以评价是否符合包括和排除标准。筛选也将包括评价血液和CSF以及MRI。在给药当天(第0天),通过IV线施用单一剂量的C<sub>2</sub>N-8E12,并在临床设备下严密监测主体,持续剂量施用后24小时。这包括用于安全性和PK评价的血液样品。在随后3天期间以及在输注后一周和两周时,进行额外临床检查和血液取样。在输注后4天进行额外安全性MRI和CSF取样。每28天随访主体,从给药日起持续不少于两个月(例如第56天)。此后,继续每月测量,直至早期发生以下事件中任一种:(i)在血液中不再检测到C<sub>2</sub>N-8E12;(ii)赞助者确定研究完成;(iii)主体决定提前停止参与研究。

[0148] 1期研究的目标包括确立如通过安全性评估评价的MTD,所述安全性评估包括临床实验室测试、身体和神经检查以及不良事件的发生,以确定用于评估后续2期/MAD研究所推荐的剂量范围。随机指定主体和包括安慰剂分支避免偏差且增加已知和未知风险因素两者在治疗组之间均匀分布的可能性。

[0149] 数据安全性监测委员会(DSMC)将在持续基础上审查安全性数据。安全性监测委员会将最少由以下构成:两个独立医师、一个生物统计学家、一个PSP专业医师和一个来自赞助者的非投票成员。如果任一个别研究主体经历SAE,则将审查主体的所有可获得的安全性数据以确定该事件是否符合DLT的定义和是否已确立MTD。如果尚未确立MTD且继续患者招募,则DSMC将向赞助者提供推荐是否需要任何进一步行动或方案修改来确保后续招募患者的安全性。赞助者将对研究的任何修改或初步终止作出最终决定。

[0150] 剂量限制性毒性被定义为:(i)根据风湿病学常见毒性标准v2的任何3级或更高AE,其中存在C<sub>2</sub>N-8E12引起该事件的合理可能性;(ii)在神经系统和精神疾病的NCI常见不良事件术语标准v4.0.(CTCAE)系统器官类别中的任何2级AE,其被认为在临床上显著的且其中存在C<sub>2</sub>N-8E12引起该事件的合理可能性;或(iii)在C<sub>2</sub>N-8E12输注期间或完成输注后24小时内发生的任何输注相关的毒性(例如,过敏反应/超敏反应),其无法通过降低输注速率和/或支持性护理迅速解决。

[0151] 剂量递增:通过以下规则管控主体至剂量组群的指定:(1)在每一组4个患者内,将1个患者分派至安慰剂分支;(2)需要至少3个患者在递增至较高剂量水平之前的剂量水平下的完全毒性信息;(3)从一个组群递增至下一组群的最大增量为1个剂量水平;且(4)应在MTD剂量水平下向至少12个主体(3组)给药。

[0152] 在每一4患者组群中,依次向患者给药,且连续主体给药之间的最小间隔为至少两天,以提供安全性保证的额外措施。

[0153] 将第一组群分派至d<sub>1</sub>。在获得每一组群的完全毒性信息后升级统计学模型。根据规则,可以在获得最新组群的所有主体的完全信息之前招募一个额外组群。在招募和随机化下一组群之前允许不超过3个患者的不完全毒性数据。

[0154] 将每一后续组群指定至根据上述定义估计为MTD的剂量。在缓慢增长的情况下,可随着招募每一患者和每一后续患者给药至当前估计的MTD而升级该模型。

[0155] 研究群体:本研究将招募患有进行性核上性麻痹(PSP)的年龄为50岁至85岁的男

性和女性主体。

[0156] 包括标准:对于包括于研究中,每一主体必须愿意且能够提供知情同意书。在开始治疗方案之前,确认每一主体能够提供关于治疗方案的同意书。邀请主体参与研究,并在签署知情同意书后进行筛选程序。如果主体无法满足包括标准或符合任一排除标准,则主体将无法招募于筛选评价或治疗时间表中。

[0157] 每一主体必须符合以下标准以招募于本研究中:男性或女性;年龄在50岁和85岁之间;符合根据NNIPPS和AL-108-231临床试验修改的NINDS-SPSP可能或大概标准,其包括:(d)核上性凝视麻痹或眼跳速度减小(decreased saccade velocity), (ii)步态不稳定或在症状之前3年内跌倒;筛选时脑MRI与PSP一致(<4次微出血且无大的中风或重度白质疾病);在PSP等级量表上的评分在20和50之间;能够提供在基线参与的知情同意书,或如果无法提供知情同意书则可提供对参与的同意且具有授权的可提供同意书的医疗代表;具有每周至少5小时看到患者、可伴随患者随访且同意参与研究的研究伴侣;允许其他并发非生物疗法,但剂量必须已在招募前至少30天内稳定;能够在最少帮助下步行5步(一个手臂稳定或使用手杖/步行器);在筛选前至少2个月针对帕金森症稳定用药;包括左旋多巴、多巴胺激动剂、rasagaline、COMT抑制剂、金刚烷胺、美金刚或胆碱酯酶抑制剂;同意在4-18个月内多达3次腰椎穿刺,如果主体将参与1期/SAD研究和2期/MAD研究两者则多达6次腰椎穿刺;签署且注明从主体获得的书面知情同意书的日期;同意使用方案指定的避孕方法(参见下文)。

[0158] 符合以下标准中的任一者的主体将从研究排除:更好符合除PSP外的神经病症类型的标准的进行性神经病症的体征,包括:(a)符合可能的阿尔茨海默病的标准或(b)符合具有路易体的帕金森氏痴呆症、多系统萎缩症(MSA)或肌肉萎缩性侧索硬化症(ALS)的研究标准;在筛选5年内的任何恶性病(除了非转移性皮肤基底细胞癌外);基于研究者的专业判断,在筛选时临床上显著的肾或肝功能障碍;基于研究者的专业判断,在研究进入前三个月内临床上显著的心血管事件;基于研究者的专业判断,在筛选期间临床上显著的异常血液学或化学实验室测试结果;已出于任何原因在最后90天内接受任何先前单克隆抗体疗法或在先前30天或5个半衰期内(以较长者为准)接受任何其他研究性药剂。 $C_{2}N-8E12$ 的先前施用不适用于该排除标准,因此不取消主体参与2期/MAD研究的资格;当前处于任何其他生物或免疫调节疗法;从症状发作起疾病持续时间超过5年;在筛选MRI扫描时中脑体积 $>8,600 \text{ mm}^3$ ;处于专业护理或痴呆症护理设备下的主体;在检查时具有运动神经元疾病的明确证据,与ALS病理(这已描述于具有CBS呈现的C90RF72载体中)一致;基于研究者的专业判断,可解释认知缺陷的任何其他显著不相关的神经或精神疾病(例如,活动性癫痫病症、中风、血管型痴呆症)的诊断;基于临床判断和IGDS的结果,在基线评估时未治疗的严重抑郁症;其他严重精神疾病史;任何先前自杀企图史;如通过MMSE评价(<17)的研究者认为将排除结果测量的集合的重度认知受损;不能参与评估方案;通常来自在筛选时采集的血液样品并将具有安全性风险或干扰研究数据的适当解释的显著异常的值;当前或最近(在筛选前四周内)临床显著的细菌、真菌或分枝杆菌感染史;在筛选时无法耐受MRI扫描或MRI的任何其他禁忌症;在筛选时对腰椎穿刺的任何禁忌症或无法耐受腰椎穿刺,包括使用抗凝药物,诸如华法林(warfarin)。将允许每日施用81mg阿司匹林(aspirin)或类似抗凝剂,只要剂量在筛选前30天内稳定;研究者认为不能或不可能符合给药方案或研究评估的主体;在筛选的3个

月内参与另一研究性临床试验；在筛选的30天内用另一研究性药物进行治疗；超过450ms的任何预先存在的QTcF持续时间；主体是赞助者的雇员或家庭成员或研究机构职员或其家庭成员。

[0159] 主体必须同意在开始基线随访时在整个研究中且直至最后治疗时段的研究药物的最后一个剂量后56天使用(和/或使其伴侣使用)可接受的避孕方法。下文列出可接受的避孕方法。

[0160] 研究药物：1期/SAD研究将使用来自DP批号1018775的C<sub>2</sub>N-8E12 - 当前以Expanded Access IND 119404使用的研究细胞库(RCB)材料。其在25mM乙酸盐缓冲液(pH 5.5)中配制,且其以20mg/mL的浓度提供。安慰剂：安慰剂与C<sub>2</sub>N-8E12相同配制,而无活性研究药物。

[0161] 剂量原理：使用食品和药品监督管理局(FDA)的工业“估计临床试验中治疗剂在健康成年志愿者中的安全起始剂量(Estimating the Safe Starting Dose in the Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers)”的指导计算最大推荐起始剂量(MRSD)。根据指导,对于IV施用的分子量>100,000道尔顿的研究性治疗蛋白,应当通过在物种间均一化而非经由体表面积按比例缩放来估计MRSD。基于小鼠毒物学研究中250mg/kg观察的无观察效应水平(NOEL),10的标准安全系数将剂量限于25mg/kg。

[0162] 1期/SAD研究的起始剂量将为IV给药的2.5mg/kg。基于4周小鼠毒物学研究,该起始剂量为最大允许的起始剂量的1/10,且为涉及C<sub>2</sub>N-8E12的扩大使用(Expanded Access)和同情使用(compassionate use)人治疗方案中施用的当前最大剂量(15mg/kg)的1/6(参见研究者的手册)。

[0163] 基于来自单一患者试验的初步血浆PK,可估计在2.5mg/kg剂量的C<sub>2</sub>N-8E12后的多个时间下CSF中被C<sub>2</sub>N-8E12结合的tau的百分比。对于该计算,假设人源化抗体的CSF浓度是血浆浓度的0.1%,且CSF中tau的浓度为500 pg/mL。基于这些假设,2.5 mg/kg的剂量将导致第一个月内C<sub>2</sub>N-8E12的CSF浓度为CSF中tau的摩尔浓度的3至40倍。基于C<sub>2</sub>N-8E12的K<sub>D</sub>,2.5 mg/kg剂量将导致CSF中3-26%的tau被抗体结合。已对来自迄今为止施用于人的最高剂量(15mg/kg)的PK数据进行类似建模,且估计在28天时段内的平均tau结合为约50%(最大为72%结合,最小为40%)。也将可能在脑中存在大量细胞外tau,其不通过CSF区室接近,但抗体将能够与其结合。因此,剂量递增将进行至25mg/kg以评价可能导致脑中的显著靶标接合的剂量的安全性。

[0164] 除非由研究者批准,否则在治疗时段期间,研究主体不应当接受：任何其他生物或免疫调节疗法；任何其他研究性药剂；华法林；用于在CSF取样前暂时停止治疗将产生医疗危害的病况的任何抗凝剂(除每日81mg阿司匹林外)。

[0165] 知情同意书：在提供知情同意书后,每一主体将经历筛选评价以再次确认可满足的包括标准,并在该方案下不存在接受治疗的禁忌症。具体地,将在筛选时用临床和神经检查评价每一主体以确认诊断。将进行用PSP分级量表和抑郁量表与面谈的简单认知筛选且获得完全医疗和药物/用药史。如果主体满足所有包括标准且缺乏排除标准,则将进行进一步研究。筛选随访在基线/第0天随访前28天至7天进行。

[0166] 药代动力学评价：将在下表3中所述的多个时间点时收集样品进行PK分析。

[0167] 表3

[0168]	剂量前	15分钟 (#)	3小时	6小时	12小时	24小时	48小时	168小时	336小时	28天	28天后
	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	(@)

[0169] (\*) 如果出现早期终止,则将在早期终止随访时获得最终血液样品用于最终PK评价;

[0170] (#) 在输注完成的15分钟内;

[0171] (@) 第28天后,将每28天采集PK样品,直至任一以下事件提早出现:(i) 研究终止;(ii) 不存在C<sub>2</sub>N-8E12的任何可检测到的血液水平。

[0172] 不良事件评价:将进行以下安全性评价以监测AE:生命体征(血压、脉搏/心率、温度、呼吸速率、SPO<sub>2</sub>);完全神经检查,包括认知评价(精神状态测试);实验室测试:(1) 血液学组:微分全血细胞计数(CBC)、血细胞比容、和血红蛋白(Hb)、血小板计数;(2) 化学组:血清电解质、葡萄糖、尿酸、血液尿素氮(BUN)、肌酐、总蛋白、白蛋白、胆红素(总计、直接和间接)、碱性磷酸酶、乳酸脱氢酶(LDH)、肝酶(AST、ALT和GGT)、铁、胆固醇组、CPK、淀粉酶和脂酶;(3) 凝集组:凝血酶原时间(PT)、INR和部分促凝血活酶时间(PTT);尿液分析,包括测量Hb、WBC和蛋白含量;ECG-连续监测或12导联ECG;MRI脑成像,包括流体衰减反转恢复(FLAIR);CSF取样与测量细胞计数(WBC和RBC)、总蛋白和葡萄糖。

[0173] 测定人血浆和CSF中的C<sub>2</sub>N-8E12:已开发夹心ELISA测定用于测量血浆和CSF中C<sub>2</sub>N-8E12的浓度。Charles River Laboratories已验证了这些测定用于多种不同基质中(参见表4)。

[0174] 表4

CRL 研究 #	研究标题
完成的 20056682	用于测定人血浆(K2EDTA)中的 C <sub>2</sub> N-8E12 的酶联免疫吸附测定(ELISA)方法的验证
正在进行的 20057088	用于测定人脑脊液中的 C <sub>2</sub> N-8E12 的酶联免疫吸附测定(ELISA)方法的验证

[0176] 人血浆中的抗-C<sub>2</sub>N-8E12抗体的测定:收集血液样品用于评价在最初给药之前和施用药物后第14天和第28天的抗药物抗体(ADA)发生。在终止时进行最终测量。已开发出基于ECL的夹心ELISA测定法用于测量血浆中针对C<sub>2</sub>N-8E12的抗体(ADA)的存在。Charles River Laboratories已验证该测定用于检测人血浆中的ADA反应(参见表5)。

[0177] 表5

CRL 研究 #	研究标题
完成的 20056686	用于检测人血浆(K2EDTA)中的抗-C <sub>2</sub> N-8E12 抗体的定量电化学发光(ECL)测定的验证

[0179] 临床和功能评价包括哥伦比亚自杀严重程度等级量表(Columbia-Suicide Severity Rating Scale):作为安全性参数,将使用自杀观念的哥伦比亚自杀严重程度等级量表(Posner等人, 2011)。老年抑郁量表(Geriatric Depression Scale):与C-SSRS类

似,在研究期间将使用老年抑郁量表 (GDS) 来评价总体情绪。老年抑郁量表 (GDS) 是用于鉴定老年人中的抑郁症的30项自我报告评价 (Yesavage等人, 1983)。PSP等级量表:在研究的包括筛选以及基线和结束时将使用PSP等级量表 (PSPRS) 以评价量表随时间的变化 (Golbe和Ohman-Strickland 2007)。临床总体印象:将使用临床总体印象变化率 (CGIc) 和临床总体印象严重程度 (CGIs) 量表来评价症状的严重程度。Schwab和England每日生活活动:将使用Schwab和England每日生活活动 (SEADL) 量表作为评价主体进行每日活动能力的手段 (Schwab和England 1969)。盒额颞叶痴呆 (Boxes Frontotemporal Lobe Dementia) 的临床痴呆症分级总和:盒额颞叶痴呆的临床痴呆症分级总和 (CDR-SB-FTLD) 是CDR-SB认知评价测试的形式,其包括评价行为、举动、人格和语言 (Knopman等人 2008)。简易精神状态检查:简易精神状态检查 (MMSE) 是测量认知受损的可靠的30点调查表 (Folstein, Folstein, 和 McHugh 1975)。

[0180] 脑脊液:CSF通过腰椎穿刺从L3-4间隙抽出。如果CSF取样不成功,则可根据本地方案由本地临床机构职员的决定使用CT/荧光引导的腰椎穿刺。将在每一腰椎穿刺/CSF收集后,在当地在适用的临床机构分析CSF的安全性实验 (labs)。这些量度包括:细胞计数 (WBC和RBC)、总蛋白和葡萄糖。其他CSF量度 (例如,  $C_2N-8E12$  浓度、靶标接合和其他探索性生物标记物) 将由适用的指定实验室来分析。

[0181] 成像:主体还将接受基线MRI扫描与结构、FLAIR、扩散加权的和敏感性加权的成像。根据事件的时间表进行给药后成像分析。

[0182] 探索性药物基因组分析:在基线处收集血液样品用于DNA提取。所有主体将经历延长的MAPT单倍型序列分析以确定H1 (A-D) 和H2载体状况。从样品提取DNA并将DNA运输至用于本研究的指定药物基因组中心。

[0183] 主体将被招募于本研究中,直至以下事件中的任一者提早出现:(i) 其完成其参与和整个事件时间表;(ii) 他们或研究者决定终止其参与;或(iii) 适用主体经历研究者认为排除进一步参与本研究且排除后续2期/MAD研究的合格性的任何DLT或任何SAE。此外,根据研究者的决定,可确定在研究期间不再符合任何包括标准或符合一个或多个排除标准的主体对于继续参与本研究或对于后续参与2期/MAD研究不合格。

[0001] 序列表

[0002] <110> C2N DIAGNOSTICS, LLC

[0003] <120> 人源化抗TAU抗体

[0004] <130> ABV12215W0

[0005] <150> PCT/US2015/038002

[0006] <151> 2015-06-26

[0007] <150> 62/170,036

[0008] <151> 2015-06-02

[0009] <150> 62/080,903

[0010] <151> 2014-11-17

[0011] <150> 62/018,436

[0012] <151> 2014-06-27

[0013] <160> 58

[0014] <170> PatentIn version 3.5

[0015] <210> 1

[0016] <211> 111

[0017] <212> PRT

[0018] <213> 智人(Homo sapiens)

[0019] <400> 1

[0020] Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

[0021] 1 5 10 15

[0022] Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Ser

[0023] 20 25 30

[0024] Arg Tyr Ser Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

[0025] 35 40 45

[0026] Lys Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser

[0027] 50 55 60

[0028] Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His

[0029] 65 70 75 80

[0030] Pro Leu Glu Glu Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Ser Trp

[0031] 85 90 95

[0032] Glu Ile Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

[0033] 100 105 110

[0034] <210> 2

[0035] <211> 111

[0036] <212> PRT

[0037] <213> 智人(Homo sapiens)

[0038] <400> 2



[0078]	1	5	10	15
[0079]	Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Ser			
[0080]		20	25	30
[0081]	Arg Tyr Ser Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro			
[0082]		35	40	45
[0083]	Lys Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser			
[0084]		50	55	60
[0085]	Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser			
[0086]		65	70	75
[0087]	Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Ser Trp			
[0088]		85	90	95
[0089]	Glu Ile Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys			
[0090]		100	105	110
[0091]	<210> 5			
[0092]	<211> 124			
[0093]	<212> PRT			
[0094]	<213> 智人(Homo sapiens)			
[0095]	<400> 5			
[0096]	Glu Val Lys Val Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
[0097]	1	5	10	15
[0098]	Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr			
[0099]		20	25	30
[0100]	Trp Val Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
[0101]		35	40	45
[0102]	Ala Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr His Tyr Glu Glu			
[0103]		50	55	60
[0104]	Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser			
[0105]		65	70	75
[0106]	Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Ser Gly Ile Tyr			
[0107]		85	90	95
[0108]	Tyr Cys Thr Asn Trp Glu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr			
[0109]		100	105	110
[0110]	Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe			
[0111]		115	120	
[0112]	<210> 6			
[0113]	<211> 124			
[0114]	<212> PRT			
[0115]	<213> 智人(Homo sapiens)			
[0116]	<400> 6			



[0156] <212> PRT  
 [0157] <213> 智人(Homo sapiens)  
 [0158] <400> 8  
 [0159] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 [0160] 1 5 10 15  
 [0161] Ser Leu Lys Leu Ser Cys Val Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr  
 [0162] 20 25 30  
 [0163] Trp Val Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 [0164] 35 40 45  
 [0165] Ala Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr His Tyr Glu Glu  
 [0166] 50 55 60  
 [0167] Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser  
 [0168] 65 70 75 80  
 [0169] Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr  
 [0170] 85 90 95  
 [0171] Tyr Cys Thr Asn Trp Glu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr  
 [0172] 100 105 110  
 [0173] Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
 [0174] 115 120  
 [0175] <210> 9  
 [0176] <211> 6  
 [0177] <212> PRT  
 [0178] <213> 智人(Homo sapiens)  
 [0179] <400> 9  
 [0180] Asp Gln Gly Gly Tyr Thr  
 [0181] 1 5  
 [0182] <210> 10  
 [0183] <211> 8  
 [0184] <212> PRT  
 [0185] <213> 智人(Homo sapiens)  
 [0186] <400> 10  
 [0187] Gly Tyr Thr Met His Gln Asp Gln  
 [0188] 1 5  
 [0189] <210> 11  
 [0190] <211> 111  
 [0191] <212> PRT  
 [0192] <213> 智人(Homo sapiens)  
 [0193] <400> 11  
 [0194] Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

[0195]	1	5	10	15
[0196]	Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Ser			
[0197]	20	25	30	
[0198]	Arg Tyr Ser Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro			
[0199]	35	40	45	
[0200]	Lys Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala			
[0201]	50	55	60	
[0202]	Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His			
[0203]	65	70	75	80
[0204]	Pro Leu Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Ser Trp			
[0205]	85	90	95	
[0206]	Glu Ile Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys			
[0207]	100	105	110	
[0208]	<210> 12			
[0209]	<211> 124			
[0210]	<212> PRT			
[0211]	<213> 智人(Homo sapiens)			
[0212]	<400> 12			
[0213]	Glu Val Lys Val Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
[0214]	1	5	10	15
[0215]	Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr			
[0216]	20	25	30	
[0217]	Trp Val Asn Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val			
[0218]	35	40	45	
[0219]	Ala Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr His Tyr Glu Glu			
[0220]	50	55	60	
[0221]	Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser			
[0222]	65	70	75	80
[0223]	Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Ser Gly Ile Tyr			
[0224]	85	90	95	
[0225]	Tyr Cys Thr Asn Trp Glu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr			
[0226]	100	105	110	
[0227]	Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe			
[0228]	115	120		
[0229]	<210> 13			
[0230]	<211> 442			
[0231]	<212> PRT			
[0232]	<213> 智人(Homo sapiens)			
[0233]	<400> 13			



[0273]	305	310	315	320
[0274]	Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly			
[0275]		325	330	335
[0276]	Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu			
[0277]		340	345	350
[0278]	Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr			
[0279]		355	360	365
[0280]	Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn			
[0281]		370	375	380
[0282]	Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe			
[0283]		385	390	400
[0284]	Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn			
[0285]		405	410	415
[0286]	Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr			
[0287]		420	425	430
[0288]	Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys			
[0289]		435	440	
[0290]	<210> 14			
[0291]	<211> 442			
[0292]	<212> PRT			
[0293]	<213> 智人(Homo sapiens)			
[0294]	<400> 14			
[0295]	Glu Val Lys Val Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
[0296]	1	5	10	15
[0297]	Ser Leu Lys Leu Ser Cys Val Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr			
[0298]		20	25	30
[0299]	Trp Val Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
[0300]		35	40	45
[0301]	Ala Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr His Tyr Glu Glu			
[0302]		50	55	60
[0303]	Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser			
[0304]		65	70	75
[0305]	Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Gly Ile Tyr			
[0306]		85	90	95
[0307]	Tyr Cys Thr Asn Trp Glu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr			
[0308]		100	105	110
[0309]	Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro			
[0310]		115	120	125
[0311]	Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val			

[0312]	130	135	140
[0313]	Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala		
[0314]	145	150	155
[0315]	Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly		
[0316]		165	170
[0317]	Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly		
[0318]		180	185
[0319]	Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys		
[0320]		195	200
[0321]	Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys		
[0322]		210	215
[0323]	Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro		
[0324]	225	230	235
[0325]	Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys		
[0326]		245	250
[0327]	Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp		
[0328]		260	265
[0329]	Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu		
[0330]		275	280
[0331]	Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu		
[0332]		290	295
[0333]	His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
[0334]	305	310	315
[0335]	Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		
[0336]		325	330
[0337]	Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu		
[0338]		340	345
[0339]	Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
[0340]		355	360
[0341]	Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
[0342]		370	375
[0343]	Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
[0344]	385	390	395
[0345]	Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn		
[0346]		405	410
[0347]	Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
[0348]		420	425
[0349]	Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys		
[0350]		435	440

[0351] <210> 15  
 [0352] <211> 442  
 [0353] <212> PRT  
 [0354] <213> 智人(Homo sapiens)  
 [0355] <400> 15  
 [0356] Glu Val Gln Val Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 [0357] 1 5 10 15  
 [0358] Ser Leu Lys Leu Ser Cys Val Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr  
 [0359] 20 25 30  
 [0360] Trp Val Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 [0361] 35 40 45  
 [0362] Ala Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr His Tyr Glu Glu  
 [0363] 50 55 60  
 [0364] Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser  
 [0365] 65 70 75 80  
 [0366] Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr  
 [0367] 85 90 95  
 [0368] Tyr Cys Thr Asn Trp Glu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr  
 [0369] 100 105 110  
 [0370] Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro  
 [0371] 115 120 125  
 [0372] Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val  
 [0373] 130 135 140  
 [0374] Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala  
 [0375] 145 150 155 160  
 [0376] Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly  
 [0377] 165 170 175  
 [0378] Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly  
 [0379] 180 185 190  
 [0380] Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys  
 [0381] 195 200 205  
 [0382] Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys  
 [0383] 210 215 220  
 [0384] Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
 [0385] 225 230 235 240  
 [0386] Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
 [0387] 245 250 255  
 [0388] Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp  
 [0389] 260 265 270

[0390]	Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
[0391]	275 280 285
[0392]	Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
[0393]	290 295 300
[0394]	His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
[0395]	305 310 315 320
[0396]	Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
[0397]	325 330 335
[0398]	Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu
[0399]	340 345 350
[0400]	Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
[0401]	355 360 365
[0402]	Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
[0403]	370 375 380
[0404]	Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
[0405]	385 390 395 400
[0406]	Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn
[0407]	405 410 415
[0408]	Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
[0409]	420 425 430
[0410]	Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
[0411]	435 440
[0412]	<210> 16
[0413]	<211> 442
[0414]	<212> PRT
[0415]	<213> 智人(Homo sapiens)
[0416]	<400> 16
[0417]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[0418]	1 5 10 15
[0419]	Ser Leu Lys Leu Ser Cys Val Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
[0420]	20 25 30
[0421]	Trp Val Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0422]	35 40 45
[0423]	Ala Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr His Tyr Glu Glu
[0424]	50 55 60
[0425]	Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
[0426]	65 70 75 80
[0427]	Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr
[0428]	85 90 95

[0429]	Tyr Cys Thr Asn Trp Glu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
[0430]	100 105 110
[0431]	Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
[0432]	115 120 125
[0433]	Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
[0434]	130 135 140
[0435]	Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
[0436]	145 150 155 160
[0437]	Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
[0438]	165 170 175
[0439]	Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
[0440]	180 185 190
[0441]	Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
[0442]	195 200 205
[0443]	Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys
[0444]	210 215 220
[0445]	Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
[0446]	225 230 235 240
[0447]	Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
[0448]	245 250 255
[0449]	Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
[0450]	260 265 270
[0451]	Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
[0452]	275 280 285
[0453]	Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
[0454]	290 295 300
[0455]	His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
[0456]	305 310 315 320
[0457]	Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
[0458]	325 330 335
[0459]	Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu
[0460]	340 345 350
[0461]	Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
[0462]	355 360 365
[0463]	Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
[0464]	370 375 380
[0465]	Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
[0466]	385 390 395 400
[0467]	Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn

[0468]		405		410		415
[0469]	Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr					
[0470]		420		425		430
[0471]	Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys					
[0472]		435		440		
[0473]	<210> 17					
[0474]	<211> 218					
[0475]	<212> PRT					
[0476]	<213> 智人(Homo sapiens)					
[0477]	<400> 17					
[0478]	Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly					
[0479]	1	5		10		15
[0480]	Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Ser					
[0481]		20		25		30
[0482]	Arg Tyr Ser Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro					
[0483]		35		40		45
[0484]	Lys Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser					
[0485]		50		55		60
[0486]	Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His					
[0487]	65	70		75		80
[0488]	Pro Leu Glu Glu Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Ser Trp					
[0489]		85		90		95
[0490]	Glu Ile Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg					
[0491]		100		105		110
[0492]	Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln					
[0493]		115		120		125
[0494]	Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr					
[0495]		130		135		140
[0496]	Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser					
[0497]	145	150		155		160
[0498]	Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr					
[0499]		165		170		175
[0500]	Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys					
[0501]		180		185		190
[0502]	His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro					
[0503]		195		200		205
[0504]	Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys					
[0505]		210		215		
[0506]	<210> 18					

[0507] <211> 218  
 [0508] <212> PRT  
 [0509] <213> 智人(Homo sapiens)  
 [0510] <400> 18  
 [0511] Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly  
 [0512] 1 5 10 15  
 [0513] Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Ser  
 [0514] 20 25 30  
 [0515] Arg Tyr Ser Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro  
 [0516] 35 40 45  
 [0517] Lys Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser  
 [0518] 50 55 60  
 [0519] Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His  
 [0520] 65 70 75 80  
 [0521] Pro Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Ser Trp  
 [0522] 85 90 95  
 [0523] Glu Ile Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
 [0524] 100 105 110  
 [0525] Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
 [0526] 115 120 125  
 [0527] Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
 [0528] 130 135 140  
 [0529] Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
 [0530] 145 150 155 160  
 [0531] Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
 [0532] 165 170 175  
 [0533] Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
 [0534] 180 185 190  
 [0535] His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
 [0536] 195 200 205  
 [0537] Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 [0538] 210 215  
 [0539] <210> 19  
 [0540] <211> 218  
 [0541] <212> PRT  
 [0542] <213> 智人(Homo sapiens)  
 [0543] <400> 19  
 [0544] Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly  
 [0545] 1 5 10 15

[0546]	Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Ser
[0547]	20 25 30
[0548]	Arg Tyr Ser Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
[0549]	35 40 45
[0550]	Lys Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
[0551]	50 55 60
[0552]	Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
[0553]	65 70 75 80
[0554]	Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Ser Trp
[0555]	85 90 95
[0556]	Glu Ile Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
[0557]	100 105 110
[0558]	Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
[0559]	115 120 125
[0560]	Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
[0561]	130 135 140
[0562]	Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
[0563]	145 150 155 160
[0564]	Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
[0565]	165 170 175
[0566]	Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
[0567]	180 185 190
[0568]	His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
[0569]	195 200 205
[0570]	Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[0571]	210 215
[0572]	<210> 20
[0573]	<211> 218
[0574]	<212> PRT
[0575]	<213> 智人(Homo sapiens)
[0576]	<400> 20
[0577]	Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
[0578]	1 5 10 15
[0579]	Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Ser
[0580]	20 25 30
[0581]	Arg Tyr Ser Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
[0582]	35 40 45
[0583]	Lys Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
[0584]	50 55 60



[0624]	1	5	10	15
[0625]	Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Glu Gly Tyr Thr Met Leu			
[0626]		20	25	30
[0627]	Gln Asp Gln Glu Gly Asp Thr Asp Ala Gly Leu Lys Glu Ser Pro Leu			
[0628]		35	40	45
[0629]	Gln Thr Pro Ala Glu Asp Gly Ser Glu Glu Leu Gly			
[0630]		50	55	60
[0631]	<210> 23			
[0632]	<211> 49			
[0633]	<212> PRT			
[0634]	<213> 小鼠 (Mus musculus)			
[0635]	<400> 23			
[0636]	Met Ala Asp Pro Arg Gln Glu Phe Asp Thr Met Glu Asp His Ala Gly			
[0637]	1	5	10	15
[0638]	Asp Tyr Thr Leu Leu Gln Asp Gln Glu Gly Asp Met Asp His Gly Leu			
[0639]		20	25	30
[0640]	Lys Glu Ser Pro Pro Gln Pro Pro Ala Asp Asp Gly Ala Glu Glu Pro			
[0641]		35	40	45
[0642]	Gly			
[0643]	<210> 24			
[0644]	<211> 15			
[0645]	<212> PRT			
[0646]	<213> 智人 (Homo sapiens)			
[0647]	<400> 24			
[0648]	Asp His Ala Gly Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly			
[0649]	1	5	10	15
[0650]	<210> 25			
[0651]	<211> 15			
[0652]	<212> PRT			
[0653]	<213> 智人 (Homo sapiens)			
[0654]	<400> 25			
[0655]	Asp His Ala Gly Thr Tyr Gly Leu Gly Ala Ala Lys Asp Gln Gly			
[0656]	1	5	10	15
[0657]	<210> 26			
[0658]	<211> 15			
[0659]	<212> PRT			
[0660]	<213> 智人 (Homo sapiens)			
[0661]	<400> 26			
[0662]	His Ala Gly Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly			

[0663]	1	5	10	15
[0664]	<210> 27			
[0665]	<211> 15			
[0666]	<212> PRT			
[0667]	<213> 智人(Homo sapiens)			
[0668]	<400> 27			
[0669]	His Ala Gly Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Ala Ala Asp Gln Gly Gly			
[0670]	1	5	10	15
[0671]	<210> 28			
[0672]	<211> 15			
[0673]	<212> PRT			
[0674]	<213> 智人(Homo sapiens)			
[0675]	<400> 28			
[0676]	Ala Gly Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr			
[0677]	1	5	10	15
[0678]	<210> 29			
[0679]	<211> 15			
[0680]	<212> PRT			
[0681]	<213> 智人(Homo sapiens)			
[0682]	<400> 29			
[0683]	Ala Gly Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Ala Ala Gln Gly Gly Tyr			
[0684]	1	5	10	15
[0685]	<210> 30			
[0686]	<211> 15			
[0687]	<212> PRT			
[0688]	<213> 智人(Homo sapiens)			
[0689]	<400> 30			
[0690]	Gly Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr			
[0691]	1	5	10	15
[0692]	<210> 31			
[0693]	<211> 15			
[0694]	<212> PRT			
[0695]	<213> 智人(Homo sapiens)			
[0696]	<400> 31			
[0697]	Gly Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Ala Ala Gly Gly Tyr Thr			
[0698]	1	5	10	15
[0699]	<210> 32			
[0700]	<211> 15			
[0701]	<212> PRT			



[0741]	<210>	38		
[0742]	<211>	15		
[0743]	<212>	PRT		
[0744]	<213>	智人(Homo sapiens)		
[0745]	<400>	38		
[0746]	Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His Gln Asp			
[0747]	1	5	10	15
[0748]	<210>	39		
[0749]	<211>	15		
[0750]	<212>	PRT		
[0751]	<213>	智人(Homo sapiens)		
[0752]	<400>	39		
[0753]	Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Ala Ala Met His Gln Asp			
[0754]	1	5	10	15
[0755]	<210>	40		
[0756]	<211>	15		
[0757]	<212>	PRT		
[0758]	<213>	智人(Homo sapiens)		
[0759]	<400>	40		
[0760]	Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His Gln Asp Gln			
[0761]	1	5	10	15
[0762]	<210>	41		
[0763]	<211>	15		
[0764]	<212>	PRT		
[0765]	<213>	智人(Homo sapiens)		
[0766]	<400>	41		
[0767]	Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Ala Ala His Gln Asp Gln			
[0768]	1	5	10	15
[0769]	<210>	42		
[0770]	<211>	15		
[0771]	<212>	PRT		
[0772]	<213>	智人(Homo sapiens)		
[0773]	<400>	42		
[0774]	Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His Gln Asp Gln Glu			
[0775]	1	5	10	15
[0776]	<210>	43		
[0777]	<211>	15		
[0778]	<212>	PRT		
[0779]	<213>	智人(Homo sapiens)		





[0858] Gly Tyr Thr Met His Gln Asp Gln Glu Gly Asp Thr Asp Ala Gly  
 [0859] 1 5 10 15  
 [0860] <210> 55  
 [0861] <211> 5  
 [0862] <212> PRT  
 [0863] <213> 人工序列  
 [0864] <220>  
 [0865] <223> 人工序列描述:合成的肽  
 [0866] <400> 55  
 [0867] Gly Gly Gly Gly Ser  
 [0868] 1 5  
 [0869] <210> 56  
 [0870] <211> 22  
 [0871] <212> PRT  
 [0872] <213> 人工序列  
 [0873] <220>  
 [0874] <223> 人工序列描述:合成的肽  
 [0875] <220>  
 [0876] <221> MOD\_RES  
 [0877] <222> (1) .. (8)  
 [0878] <223> 任何氨基酸或不存在  
 [0879] <220>  
 [0880] <221> MOD\_RES  
 [0881] <222> (15) .. (22)  
 [0882] <223> 任何氨基酸或不存在  
 [0883] <400> 56  
 [0884] Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Xaa Xaa  
 [0885] 1 5 10 15  
 [0886] Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 [0887] 20  
 [0888] <210> 57  
 [0889] <211> 8  
 [0890] <212> PRT  
 [0891] <213> 人工序列  
 [0892] <220>  
 [0893] <223> 人工序列描述:合成的肽  
 [0894] <220>  
 [0895] <221> MOD\_RES  
 [0896] <222> (5) .. (5)

[0897] <223> His或Leu  
[0898] <400> 57  
[0899] Gly Tyr Thr Met Xaa Gln Asp Gln  
[0900] 1 5  
[0901] <210> 58  
[0902] <211> 6  
[0903] <212> PRT  
[0904] <213> 人工序列  
[0905] <220>  
[0906] <223> 人工序列描述:合成的肽  
[0907] <220>  
[0908] <221> MOD\_RES  
[0909] <222> (3) .. (3)  
[0910] <223> Gly或Glu  
[0911] <400> 58  
[0912] Asp Gln Xaa Gly Tyr Thr  
[0913] 1 5

可变区序列

C2N移植的V区序列

轻链

	CDR1	CDR2	CDR3
MuVL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASQSVTSRYSYIHWYQQKPGQPPKLLIKYASNLESVGPARGSGSGGDTFTLNHPLEEEADAATYYCHHSWEIPLTFCAGTKLELK		(SEQ ID NO:11)
VK1	DIVLTQSPDLSLAVSLGERATISCRASQSVTSRYSYIHWYQQKPGQPPKLLIKYASNLESVGPARGSGSGGDTFTLNHPLEEEADAATYYCHHSWEIPLTFCAGTKLEIK		(6) (SEQ ID NO:1)
VK2	DIVLTQSPDLSLAVSLGERATISCRASQSVTSRYSYIHWYQQKPGQPPKLLIKYASNLESVGPARGSGSGGDTFTLNHPLEEEADAATYYCHHSWEIPLTFCAGTKLEIK		(7) (SEQ ID NO:2)
VK3	DIVLTQSPDLSLAVSLGERATISCRASQSVTSRYSYIHWYQQKPGQPPKLLIKYASNLESVGPARGSGSGGDTFTLTISSIQPEDFATYYCHHSWEIPLTFCAGTKLEIK		(11) (SEQ ID NO:3)
VK4	DIVMTQSPDLSLAVSLGERATISCRASQSVTSRYSYIHWYQQKPGQPPKLLIKYASNLESVGPARGSGSGGDTFTLTISSIQPEDFATYYCHHSWEIPLTFCAGTKLEIK		(12) (SEQ ID NO:4)

重链

	CDR1	CDR2	CDR3
MuVH	EVKVVEGGGLVQPGGSKLSCVVGFTFSNYWVWVRRQSPKGLWVAQIRLKSQNYATHYEESVKGRTISRDDSKSVYLQMNLRRAEDSGIYYCTNWEDYWGQTTLTVSSASTKGPSVF		(SEQ ID NO:12)
VH1	EVKVVEGGGLVQPGGSKLSCVVGFTFSNYWVWVRRQAPKGLWVAQIRLKSQNYATHYEESVKGRTISRDDSKSVYLQMNLRRAEDSGIYYCTNWEDYWGQTTVTVSSASTKGPSVF		(4)
VH2	EVKVVEGGGLVQPGGSKLSCVVGFTFSNYWVWVRRQAPKGLWVAQIRLKSQNYATHYEESVKGRTISRDDSKSVYLQMNLRRAEDSGIYYCTNWEDYWGQTTVTVSSASTKGPSVF		(7)
VH3	EVQVVEGGGLVQPGGSKLSCVVGFTFSNYWVWVRRQAPKGLWVAQIRLKSQNYATHYEESVKGRTISRDDSKSVYLQMNLRRAEDTAIYYCTNWEDYWGQTTVTVSSASTKGPSVF		(10)
VH4	EVQVVEGGGLVQPGGSKLSCVVGFTFSNYWVWVRRQAPKGLWVAQIRLKSQNYATHYEESVKGRTISRDDSKSVYLQMNLRRAEDTAIYYCTNWEDYWGQTTVTVSSASTKGPSVF		(12)

关键词:

- Mu: 表示鼠序列
- VH: 表示人源化可变重链
- VL: 表示人源化可变轻链
- CDR: 互补决定区
- AAA: 由Antitope提议的框架变化

图 1

C<sub>2</sub>N重链和轻链变体的完整氨基酸序列移植的重链变体**gVH1 理论 pI/Mw: 6.80 / 48822.90**

EVKVVESGGGLVQPGGSMKLSVVS<sup>G</sup>FTFSNYWVNWVRQAPGKGLEWVAQIRLKS<sup>D</sup>NYATHYEE<sup>S</sup>VKGRFTISR<sup>D</sup>  
 DSKSSVYLQMN<sup>N</sup>LRAEDSGIYYCTN<sup>W</sup>EDYWGQ<sup>T</sup>TVT<sup>V</sup>SSASTK<sup>G</sup>PSV<sup>F</sup>FLAP<sup>C</sup>SR<sup>S</sup>TSE<sup>S</sup>TAA<sup>L</sup>GCL<sup>V</sup>KDY<sup>F</sup>PE  
 PVT<sup>V</sup>SW<sup>N</sup>SGAL<sup>T</sup>SGV<sup>H</sup>T<sup>F</sup>PAVLQ<sup>S</sup>SG<sup>L</sup>YSL<sup>S</sup>SV<sup>V</sup>TP<sup>S</sup>SSL<sup>G</sup>TK<sup>T</sup>Y<sup>T</sup>CN<sup>V</sup>DH<sup>K</sup>PS<sup>N</sup>TK<sup>V</sup>DK<sup>R</sup>VE<sup>S</sup>KY<sup>G</sup>PP<sup>C</sup>PP<sup>C</sup>P  
 APE<sup>F</sup>L<sup>G</sup>GP<sup>S</sup>V<sup>F</sup>LF<sup>P</sup>PK<sup>P</sup>K<sup>D</sup>TL<sup>M</sup>IS<sup>R</sup>TP<sup>E</sup>VT<sup>C</sup>V<sup>V</sup>D<sup>V</sup>SQ<sup>E</sup>DPE<sup>V</sup>Q<sup>F</sup>N<sup>W</sup>Y<sup>V</sup>D<sup>G</sup>VE<sup>V</sup>H<sup>N</sup>AK<sup>T</sup>K<sup>P</sup>RE<sup>E</sup>Q<sup>F</sup>N<sup>S</sup>T<sup>Y</sup>R<sup>V</sup>V<sup>S</sup>V  
 LT<sup>V</sup>L<sup>H</sup>Q<sup>D</sup>W<sup>L</sup>NG<sup>K</sup>EY<sup>K</sup>CK<sup>V</sup>SN<sup>K</sup>GL<sup>P</sup>SS<sup>I</sup>E<sup>K</sup>TI<sup>S</sup>K<sup>A</sup>K<sup>G</sup>Q<sup>P</sup>RE<sup>P</sup>Q<sup>V</sup>Y<sup>T</sup>L<sup>P</sup>PS<sup>Q</sup>E<sup>E</sup>M<sup>T</sup>KN<sup>Q</sup>V<sup>S</sup>LT<sup>C</sup>L<sup>V</sup>K<sup>G</sup>F<sup>Y</sup>PS<sup>D</sup>IA<sup>V</sup>E  
 WES<sup>N</sup>G<sup>Q</sup>PEN<sup>N</sup>Y<sup>K</sup>TT<sup>P</sup>P<sup>V</sup>L<sup>D</sup>SD<sup>G</sup>S<sup>F</sup>FL<sup>Y</sup>S<sup>R</sup>LT<sup>V</sup>DK<sup>S</sup>R<sup>W</sup>Q<sup>E</sup>GN<sup>V</sup>F<sup>S</sup>CS<sup>V</sup>M<sup>H</sup>EAL<sup>H</sup>N<sup>H</sup>Y<sup>T</sup>Q<sup>K</sup>SL<sup>S</sup>LS<sup>L</sup>GL<sup>K</sup>

(SEQ ID NO:13)

图 2A

C<sub>2</sub>N重链和轻链变体的完整氨基酸序列移植的重链变体**gVH2 理论 pI/Mw: 6.80/48791.87**

EVKVVESGGGLVQPGGSLKLSVVS<sup>G</sup>FTFSNYWVNWVRQAPGKGLEWVAQIRLKS<sup>D</sup>NYATHYEE<sup>S</sup>VKGRFTISR<sup>D</sup>  
 DSKSSVYLQMN<sup>S</sup>LRAEDTGIYYCTN<sup>W</sup>EDYWGQ<sup>T</sup>TVT<sup>V</sup>SSASTK<sup>G</sup>PSV<sup>F</sup>FLAP<sup>C</sup>SR<sup>S</sup>TSE<sup>S</sup>TAA<sup>L</sup>GCL<sup>V</sup>KDY<sup>F</sup>PE  
 PVT<sup>V</sup>SW<sup>N</sup>SGAL<sup>T</sup>SGV<sup>H</sup>T<sup>F</sup>PAVLQ<sup>S</sup>SG<sup>L</sup>YSL<sup>S</sup>SV<sup>V</sup>TP<sup>S</sup>SSL<sup>G</sup>TK<sup>T</sup>Y<sup>T</sup>CN<sup>V</sup>DH<sup>K</sup>PS<sup>N</sup>TK<sup>V</sup>DK<sup>R</sup>VE<sup>S</sup>KY<sup>G</sup>PP<sup>C</sup>PP<sup>C</sup>P  
 APE<sup>F</sup>L<sup>G</sup>GP<sup>S</sup>V<sup>F</sup>LF<sup>P</sup>PK<sup>P</sup>K<sup>D</sup>TL<sup>M</sup>IS<sup>R</sup>TP<sup>E</sup>VT<sup>C</sup>V<sup>V</sup>D<sup>V</sup>SQ<sup>E</sup>DPE<sup>V</sup>Q<sup>F</sup>N<sup>W</sup>Y<sup>V</sup>D<sup>G</sup>VE<sup>V</sup>H<sup>N</sup>AK<sup>T</sup>K<sup>P</sup>RE<sup>E</sup>Q<sup>F</sup>N<sup>S</sup>T<sup>Y</sup>R<sup>V</sup>V<sup>S</sup>V  
 LT<sup>V</sup>L<sup>H</sup>Q<sup>D</sup>W<sup>L</sup>NG<sup>K</sup>EY<sup>K</sup>CK<sup>V</sup>SN<sup>K</sup>GL<sup>P</sup>SS<sup>I</sup>E<sup>K</sup>TI<sup>S</sup>K<sup>A</sup>K<sup>G</sup>Q<sup>P</sup>RE<sup>P</sup>Q<sup>V</sup>Y<sup>T</sup>L<sup>P</sup>PS<sup>Q</sup>E<sup>E</sup>M<sup>T</sup>KN<sup>Q</sup>V<sup>S</sup>LT<sup>C</sup>L<sup>V</sup>K<sup>G</sup>F<sup>Y</sup>PS<sup>D</sup>IA<sup>V</sup>E  
 WES<sup>N</sup>G<sup>Q</sup>PEN<sup>N</sup>Y<sup>K</sup>TT<sup>P</sup>P<sup>V</sup>L<sup>D</sup>SD<sup>G</sup>S<sup>F</sup>FL<sup>Y</sup>S<sup>R</sup>LT<sup>V</sup>DK<sup>S</sup>R<sup>W</sup>Q<sup>E</sup>GN<sup>V</sup>F<sup>S</sup>CS<sup>V</sup>M<sup>H</sup>EAL<sup>H</sup>N<sup>H</sup>Y<sup>T</sup>Q<sup>K</sup>SL<sup>S</sup>LS<sup>L</sup>GL<sup>K</sup>

(SEQ ID NO:14)

图 2B

C<sub>2</sub>N重链和轻链变体的完整氨基酸序列移植的重链变体**gVH3 理论 pI/Mw: 6.51 / 48832.88**

EVQVVESGGGLVQPGGSLKLSVVS<sup>G</sup>FTFSNYWVNWVRQAPGKGLEWVAQIRLKS<sup>D</sup>NYATHYEE<sup>S</sup>VKGRFTISR<sup>D</sup>  
 DSKNSVYLQMN<sup>S</sup>LRAEDTAIYYCTN<sup>W</sup>EDYWGQ<sup>T</sup>TVT<sup>V</sup>SSASTK<sup>G</sup>PSV<sup>F</sup>FLAP<sup>C</sup>SR<sup>S</sup>TSE<sup>S</sup>TAA<sup>L</sup>GCL<sup>V</sup>KDY<sup>F</sup>PE  
 PVT<sup>V</sup>SW<sup>N</sup>SGAL<sup>T</sup>SGV<sup>H</sup>T<sup>F</sup>PAVLQ<sup>S</sup>SG<sup>L</sup>YSL<sup>S</sup>SV<sup>V</sup>TP<sup>S</sup>SSL<sup>G</sup>TK<sup>T</sup>Y<sup>T</sup>CN<sup>V</sup>DH<sup>K</sup>PS<sup>N</sup>TK<sup>V</sup>DK<sup>R</sup>VE<sup>S</sup>KY<sup>G</sup>PP<sup>C</sup>PP<sup>C</sup>P  
 APE<sup>F</sup>L<sup>G</sup>GP<sup>S</sup>V<sup>F</sup>LF<sup>P</sup>PK<sup>P</sup>K<sup>D</sup>TL<sup>M</sup>IS<sup>R</sup>TP<sup>E</sup>VT<sup>C</sup>V<sup>V</sup>D<sup>V</sup>SQ<sup>E</sup>DPE<sup>V</sup>Q<sup>F</sup>N<sup>W</sup>Y<sup>V</sup>D<sup>G</sup>VE<sup>V</sup>H<sup>N</sup>AK<sup>T</sup>K<sup>P</sup>RE<sup>E</sup>Q<sup>F</sup>N<sup>S</sup>T<sup>Y</sup>R<sup>V</sup>V<sup>S</sup>V  
 LT<sup>V</sup>L<sup>H</sup>Q<sup>D</sup>W<sup>L</sup>NG<sup>K</sup>EY<sup>K</sup>CK<sup>V</sup>SN<sup>K</sup>GL<sup>P</sup>SS<sup>I</sup>E<sup>K</sup>TI<sup>S</sup>K<sup>A</sup>K<sup>G</sup>Q<sup>P</sup>RE<sup>P</sup>Q<sup>V</sup>Y<sup>T</sup>L<sup>P</sup>PS<sup>Q</sup>E<sup>E</sup>M<sup>T</sup>KN<sup>Q</sup>V<sup>S</sup>LT<sup>C</sup>L<sup>V</sup>K<sup>G</sup>F<sup>Y</sup>PS<sup>D</sup>IA<sup>V</sup>E  
 WES<sup>N</sup>G<sup>Q</sup>PEN<sup>N</sup>Y<sup>K</sup>TT<sup>P</sup>P<sup>V</sup>L<sup>D</sup>SD<sup>G</sup>S<sup>F</sup>FL<sup>Y</sup>S<sup>R</sup>LT<sup>V</sup>DK<sup>S</sup>R<sup>W</sup>Q<sup>E</sup>GN<sup>V</sup>F<sup>S</sup>CS<sup>V</sup>M<sup>H</sup>EAL<sup>H</sup>N<sup>H</sup>Y<sup>T</sup>Q<sup>K</sup>SL<sup>S</sup>LS<sup>L</sup>GL<sup>K</sup>

(SEQ ID NO:15)

图 2C

C<sub>2</sub>N重链和轻链变体的完整氨基酸序列移植的重链变体**gVH4 理论 pI/Mw: 6.51 / 48860.93**

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSKVVSQFTFSNYWVNWVRQAPGKGLEWVAQIRLKSADNYATHYEEESVKGRFTISR  
 DSKNSLYLQMNLSRAEDTAIYYCTNWDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPPLAPCSRSTSESTALGCLVKDYFPE  
 PVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVTPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCP  
 APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMIISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV  
 LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE  
 WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO:16)

图 2D

C<sub>2</sub>N重链和轻链变体的完整氨基酸序列移植的轻链变体**gVL1 理论 pI/Mw: 6.08 / 24100.81**

DIVLTQSPDLSAVSLGERATISCRASQSVSTSRYSYIHWYQQKPGQPPKLLIKYASNLESGVPSRFSGSGSDTDF  
 TLNIHPLEEEDFATYYCHHSWEIPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV  
 QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

(SEQ ID NO:17)

图 2E

C<sub>2</sub>N重链和轻链变体的完整氨基酸序列移植的轻链变体**gVL2 理论 pI/Mw: 6.33 / 24068.81**

DIVLTQSPDLSAVSLGERATISCRASQSVSTSRYSYIHWYQQKPGQPPKLLIKYASNLESGVPSRFSGSGSDTDF  
 TLNIHPLEPEDFATYYCHHSWEIPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV  
 QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

(SEQ ID NO:18)

图 2F

C<sub>2</sub>N重链和轻链变体的完整氨基酸序列移植的轻链变体**gVL3 理论 pI/Mw: 6.57 / 23994.72**

DIVLTQSPDLSAVSLGERATISCRASQSVSTSRYSYIHWYQQKPGQPPKLLIKYASNLESGVPSRFSGSGSDTDF  
 TLTISSLQPEDFATYYCHHSWEIPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV  
 QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

(SEQ ID NO:19)

图 2G

C<sub>2</sub>N重链和轻链变体的完整氨基酸序列

移植的轻链变体

**gVL4** 理论 pI/Mw: 6.57 / 24012.76

DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCRASQSVSTSRYSYIHWYQQKPGQPPKLLIKYASNLESVPSRFSGSGSGTDF  
 TLTISLQPEDFATYYCHHSWEIPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV  
 QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC  
 (SEQ ID NO:20)

图 2H

来自人源化变体的瞬时表达数据

人源化变体	瞬时表达 第1轮 (ug/mL)	瞬时表达 第2轮 (ug/mL)
VH1/VK1	9.0	
VH1/VK2	13.4	13.1
VH1/VK3	22.2	20.2
VH1/VK4	12.4	
VH2/VK1	6.5	
VH2/VK2	11.3	6.2
VH2/VK3	13.7	13.8
VH2/VK4	9.3	
VH3/VK1	7.3	
VH3/VK2	12.0	8.1
VH3/VK3	15.2	15.9
VH3/VK4	6.4	
VH4/VK3	3.6	

图 3

功效测定

抗体	IC <sub>50</sub> (相对于嵌合体)		
	C <sub>2</sub> N. 第1轮	C <sub>2</sub> N. 第2轮	外部
嵌合体	1.00	1.00	1.00
VH1/VK1	1.49	1.11	0.84
VH1/VK2	1.34	0.91	0.78
VH1/VK3.1	1.58	0.92	0.79
VH1/VK3.2	1.93	1.07	1.02
VH1/VK4	2.05	1.02	1.41
VH2/VK1	1.43	1.02	1.02
VH2/VK2	1.37	0.85	1.12
VH2/VK3	1.17	0.97	0.94
VH2/VK4	1.36	1.03	1.37
VH3/VK1	1.16	1.42	1.04
VH3/VK2	0.81	1.28	0.94
VH3/VK3	0.84	1.34	0.93
VH3/VK4	0.89	1.22	1.51
VH4/VK3	1.79	1.9	1.31
HJ8.5	0.79	0.99	1.07

图 4

针对人tau的抗体结合动力学

人源化变体	缔合常数 $K_a$ (1/Ms)	解离常数 $K_d$ (1/s)	亲和力 $K_D$ (M)
嵌合体	7.21E+05	1.43E-03	1.99E-09
VH1/VK2	3.02E+05	6.21E-04	2.06E-09
VH1/VK4	2.87E+05	5.99E-04	2.09E-09
VH2/VK3	2.73E+05	6.08E-04	2.23E-09
VH2/VK4	2.80E+05	5.93E-04	2.13E-09
VH3/VK3	2.76E+05	5.15E-04	1.88E-09
VH3/VK4	2.65E+05	5.07E-04	1.92E-09

图 5

人源化抗体的结合 人源化的结合

### Tau 夹心 ELISA 03152013

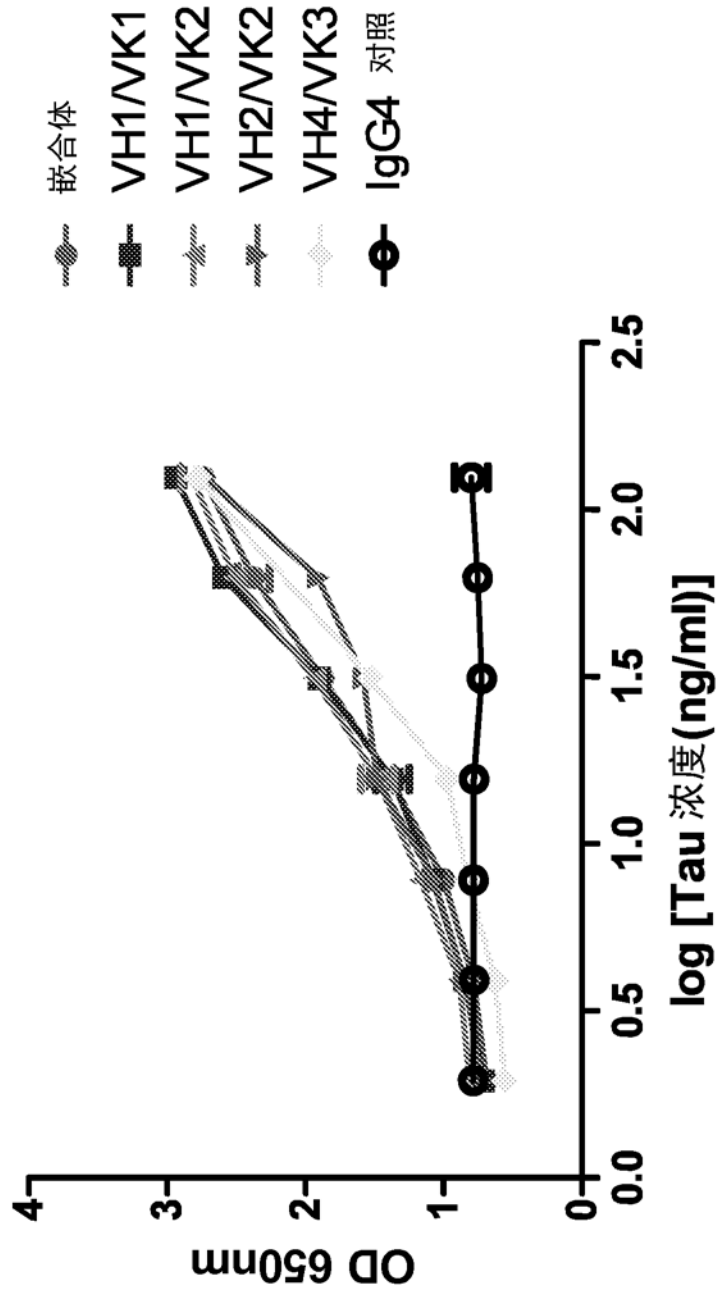
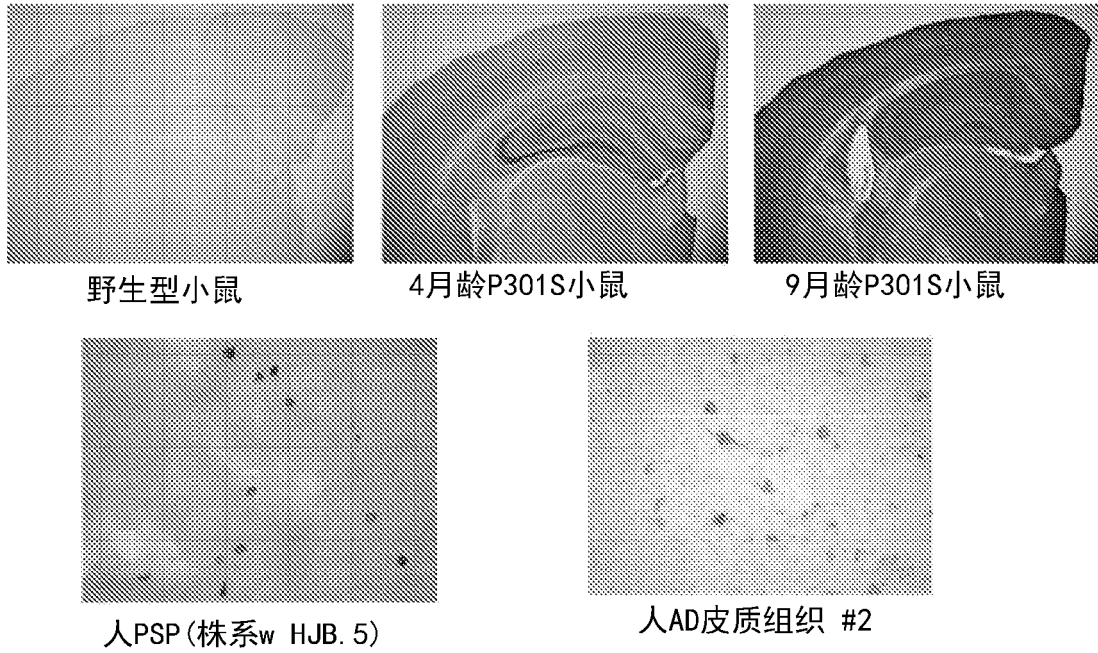


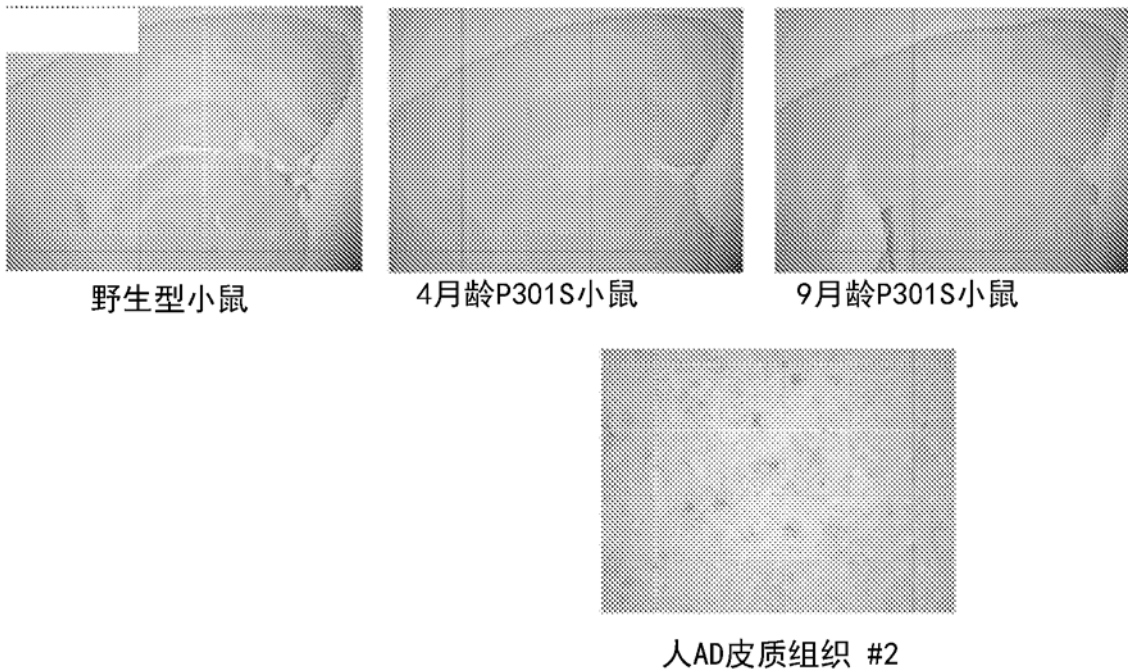
图 6

人源化抗体与人和小鼠脑中的人tau的结合



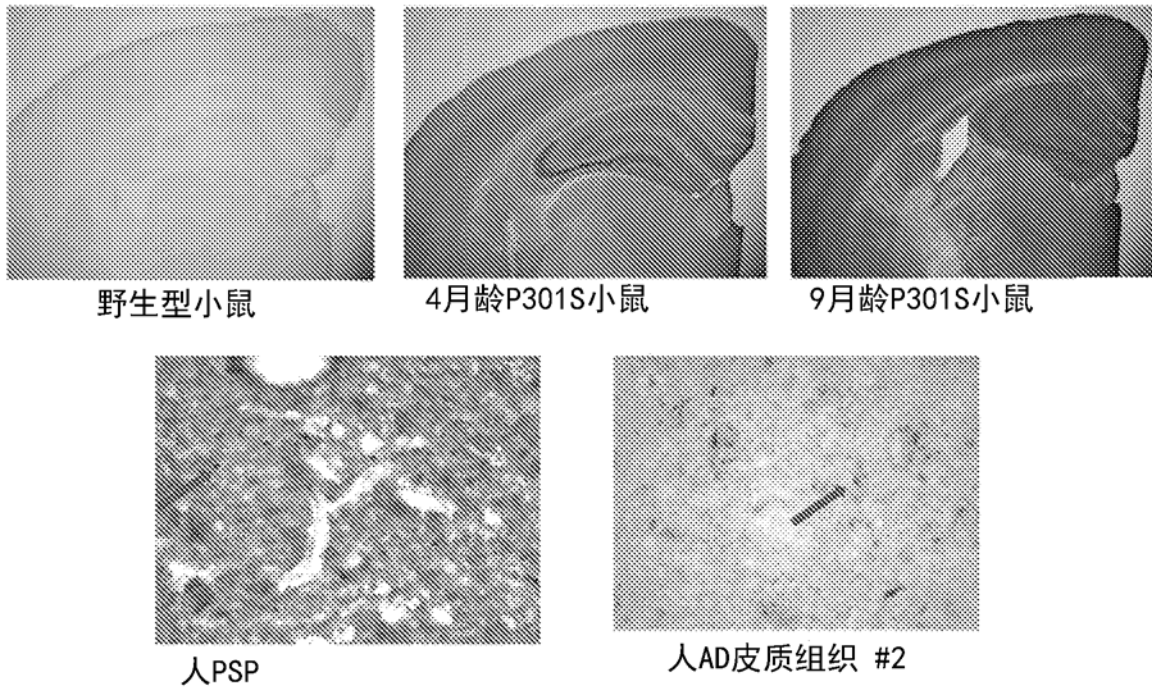
嵌合体 (阳性对照) 与小鼠和人组织的结合

图7A



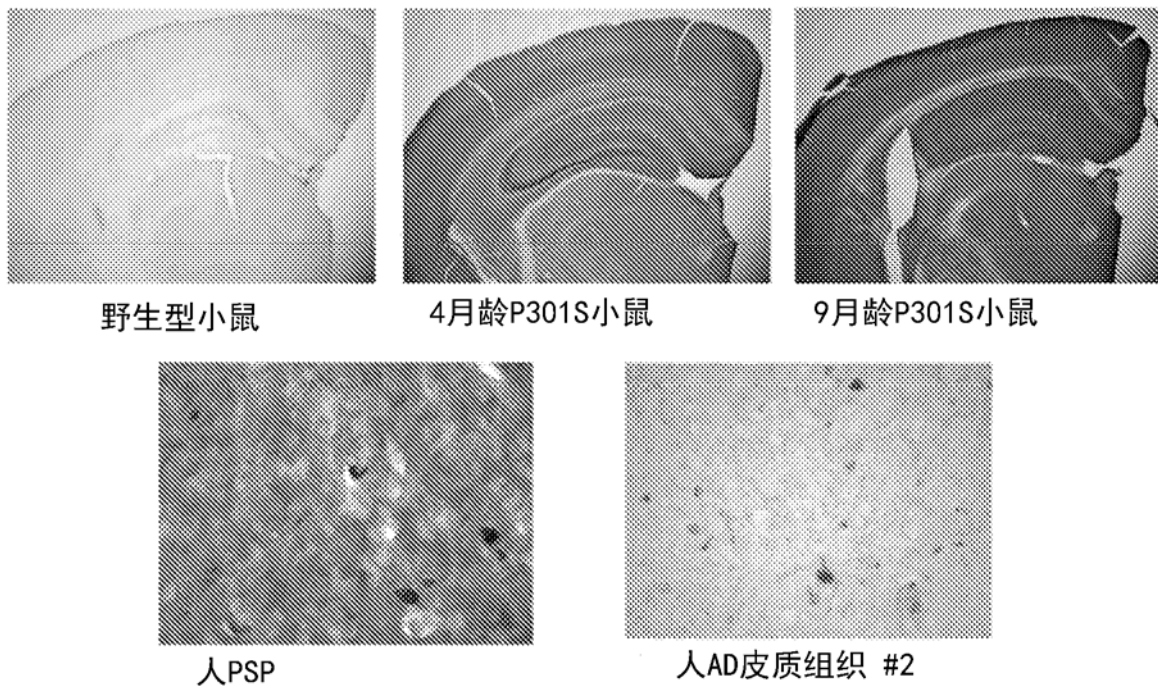
非特异性人IgG4 (阴性对照) 与小鼠和人组织的结合

图 7B



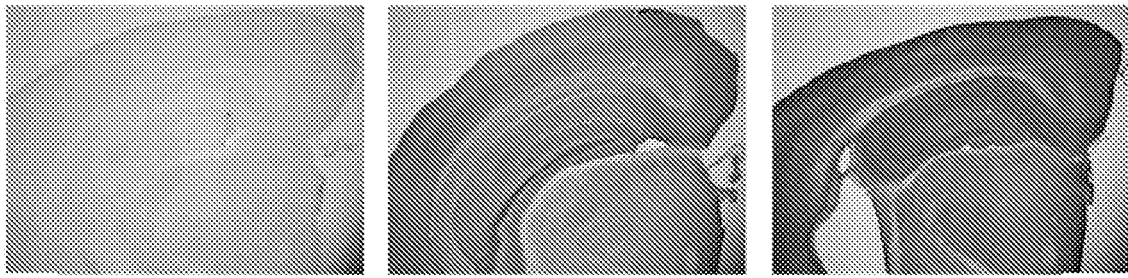
VH1/VK2与小鼠和人组织的结合

图 7C



VH1/VK3与小鼠和人组织的结合

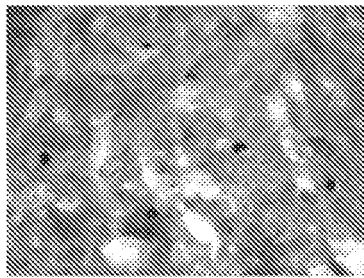
图 7D



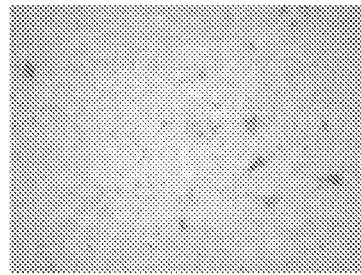
野生型小鼠

4月龄P301S小鼠

9月龄P301S小鼠



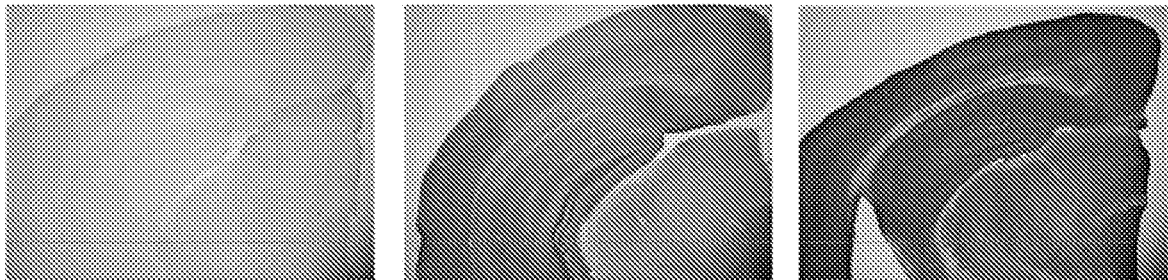
人PSP



人AD皮质组织 #2

VH2/VK2与小鼠和人组织的结合

图 7E



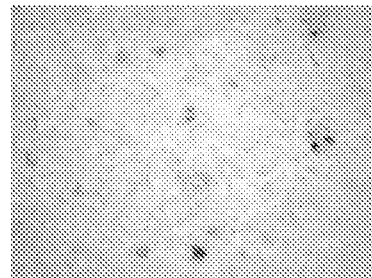
野生型小鼠

4月龄P301S小鼠

9月龄P301S小鼠



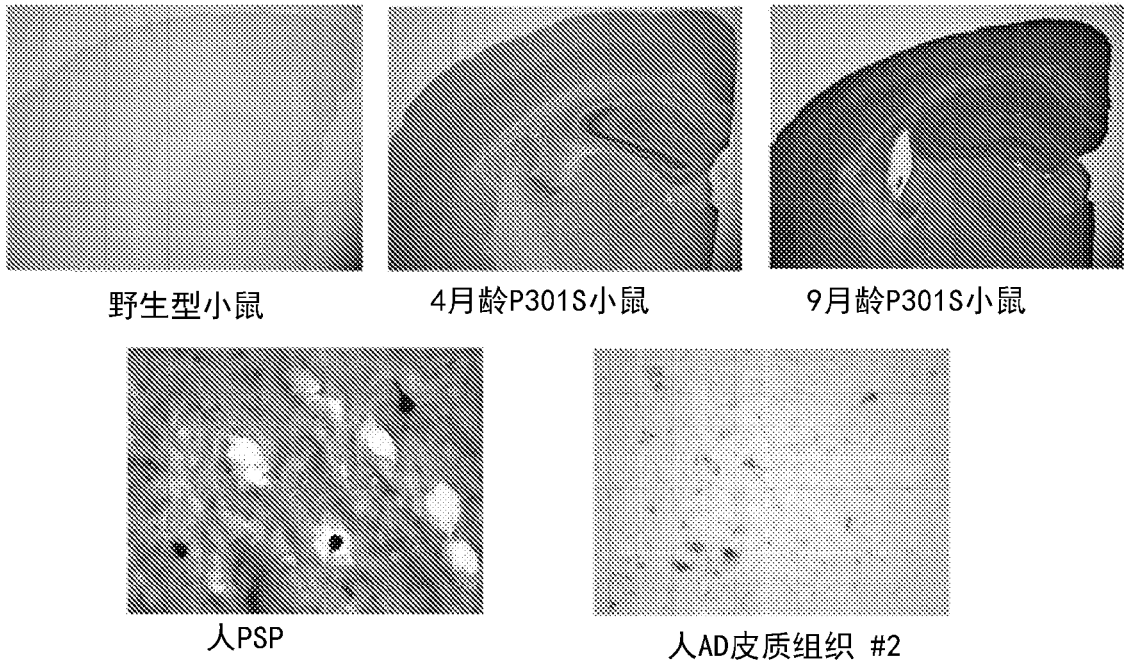
人PSP



人AD皮质组织 #2

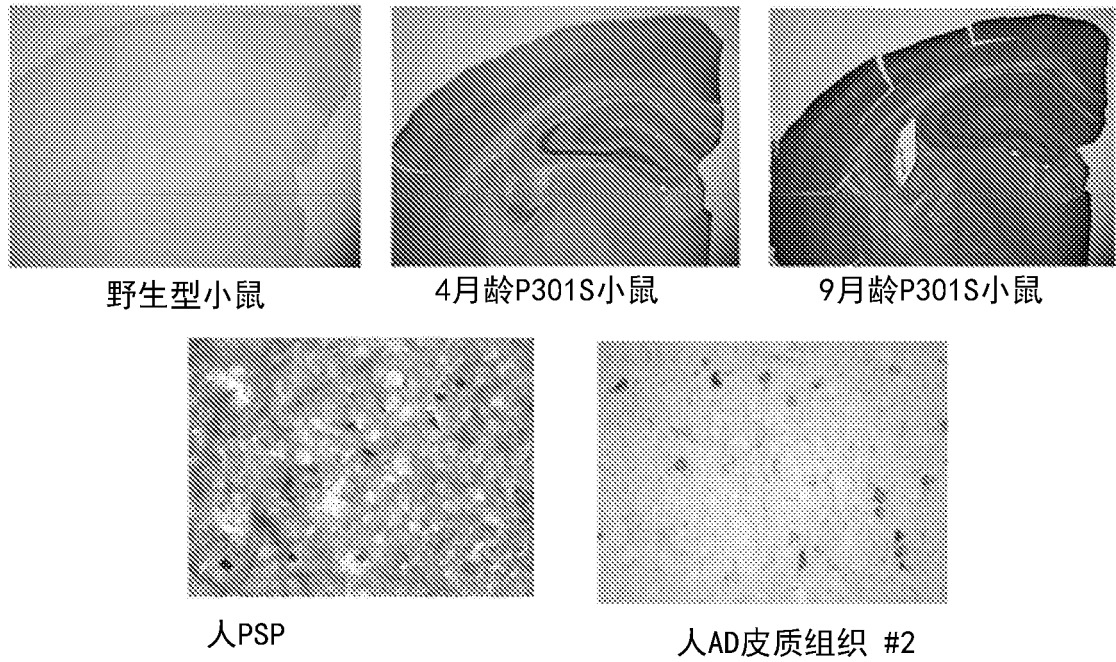
VH2/VK3与小鼠和人组织的结合

图7F



VH3/VK2与小鼠和人组织的结合

图 7G



VH3/VK3与小鼠和人组织的结合

图 7H

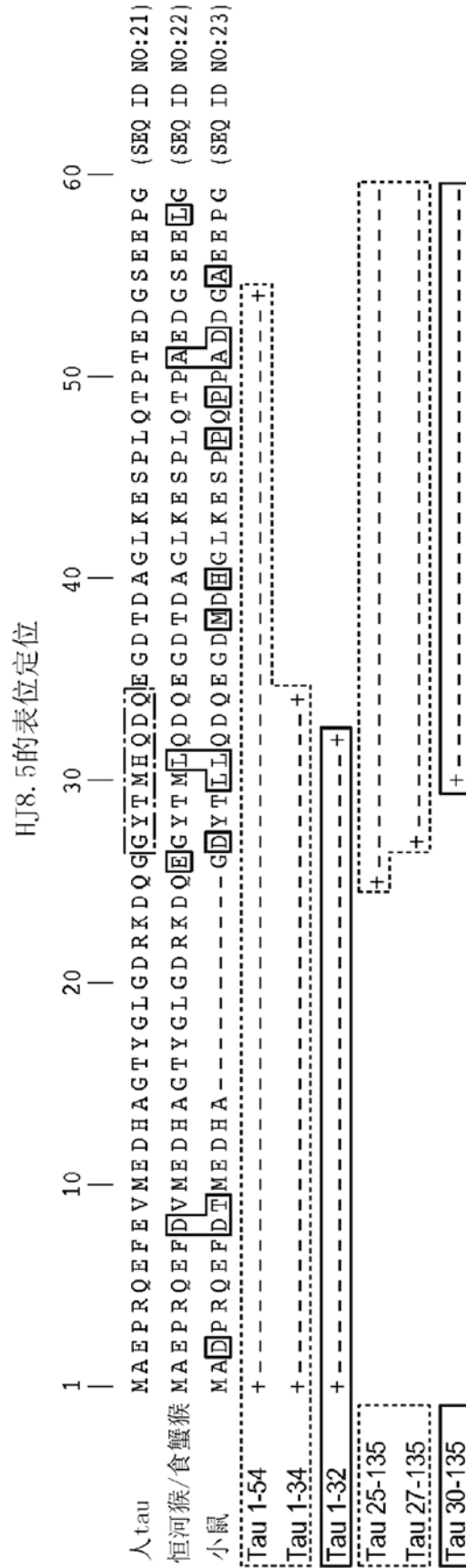


图 8

C<sub>2</sub>N-8E12 和 HJ8.5 的pe定位

		抗体	核心表位			
		HJ8.5 和 C <sub>2</sub> N-8E12	25DQGGYT <sub>30</sub> (SEQ ID NO:9)			
PepLabData	序列	标识符	标记	HJ8.5 (结合 信号)	C <sub>2</sub> N-8E12 (结合 信号)	
PEP_2875800	DHAGTYGLGDRKDQG	SEQ ID NO:24	LIN	61	78	
PEP_2875801	DHAGTYGLGAAKDQG	SEQ ID NO:25	LIN.AA	52	90	
PEP_2875802	HAGTYGLGDRKDQGG	SEQ ID NO:26	LIN	63	65	
PEP_2875803	HAGTYGLGDAADQGG	SEQ ID NO:27	LIN.AA	51	65	
PEP_2875804	AGTYGLGDRKDQGGY	SEQ ID NO:28	LIN	427	1286	
PEP_2875805	AGTYGLGDRAAQGGY	SEQ ID NO:29	LIN.AA	58	76	
PEP_2875806	GTYGLGDRKDQGGYT	SEQ ID NO:30	LIN	2638	1714	
PEP_2875807	GTYGLGDRKAAGGYT	SEQ ID NO:31	LIN.AA	110	114	
PEP_2875808	TYGLGDRKDQGGYTM	SEQ ID NO:32	LIN	2640	2588	
PEP_2875809	TYGLGDRKDAAGYTM	SEQ ID NO:33	LIN.AA	2814	2755	
PEP_2875810	YGLGDRKDQGGYTMH	SEQ ID NO:34	LIN	2844	2671	
PEP_2875811	YGLGDRKDQAAYTMH	SEQ ID NO:35	LIN.AA	1780	1876	
PEP_2875812	GLGDRKDQGGYTMHQ	SEQ ID NO:36	LIN	2824	2729	
PEP_2875813	GLGDRKDQGAATMHQ	SEQ ID NO:37	LIN.AA	80	65	
PEP_2875814	LGDRKDQGGYTMHQD	SEQ ID NO:38	LIN	2835	2749	
PEP_2875815	LGDRKDQGGAAMHQD	SEQ ID NO:39	LIN.AA	69	99	
PEP_2875816	GDRKDQGGYTMHQDQ	SEQ ID NO:40	LIN	2647	2699	
PEP_2875817	GDRKDQGGYAAHQDQ	SEQ ID NO:41	LIN.AA	2635	661	
PEP_2875818	DRKDQGGYTMHQDQE	SEQ ID NO:42	LIN	2692	2788	
PEP_2875819	DRKDQGGYTAAQDQE	SEQ ID NO:43	LIN.AA	2697	2585	
PEP_2875820	RKDQGGYTMHQDQEG	SEQ ID NO:44	LIN	2699	2779	
PEP_2875821	RKDQGGYTMAAQDQEG	SEQ ID NO:45	LIN.AA	2713	2791	
PEP_2875822	KDQGGYTMHQDQEGD	SEQ ID NO:46	LIN	2701	2680	
PEP_2875823	KDQGGYTMHAAQEGD	SEQ ID NO:47	LIN.AA	2707	2712	
PEP_2875824	DQGGYTMHQDQEGDT	SEQ ID NO:48	LIN	2677	2648	
PEP_2875825	DQGGYTMHQAAEGDT	SEQ ID NO:49	LIN.AA	2707	2585	
PEP_2875826	QGGYTMHQDQEGDTD	SEQ ID NO:50	LIN	399	789	
PEP_2875827	QGGYTMHQDAAGDTD	SEQ ID NO:51	LIN.AA	427	636	
PEP_2875828	GGYTMHQDQEGDTDA	SEQ ID NO:52	LIN	109	110	
PEP_2875829	GGYTMHQDQAADTDA	SEQ ID NO:53	LIN.AA	106	118	
PEP_2875830	GYTMHQDQEGDTDAG	SEQ ID NO:54	LIN	77	97	

图 9

人源化抗tau抗体与来自恒河猴的tau的结合

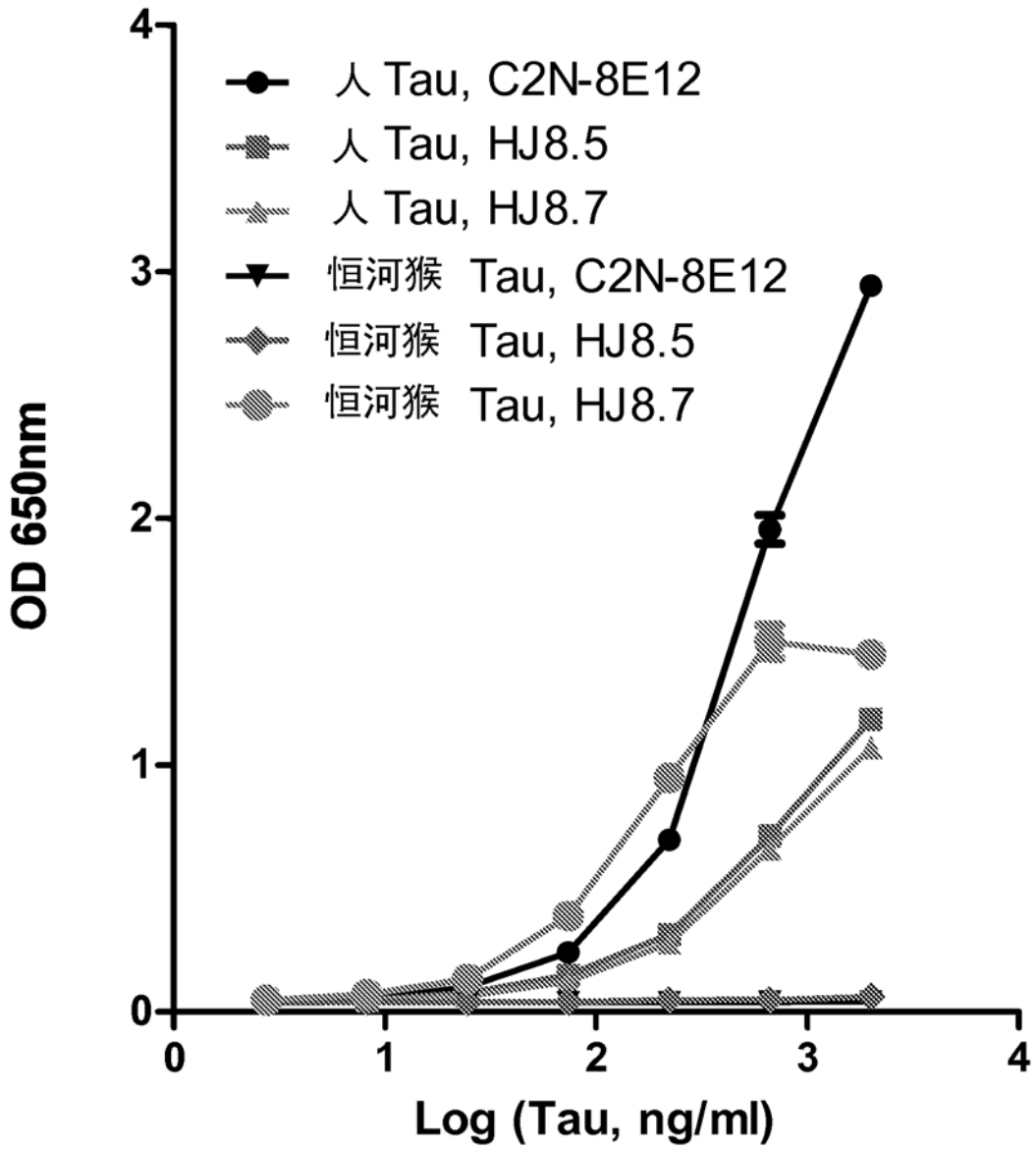


图 10

人源化抗tau抗体与来自患有多种tau蛋白病变的人的CSF中的tau的结合

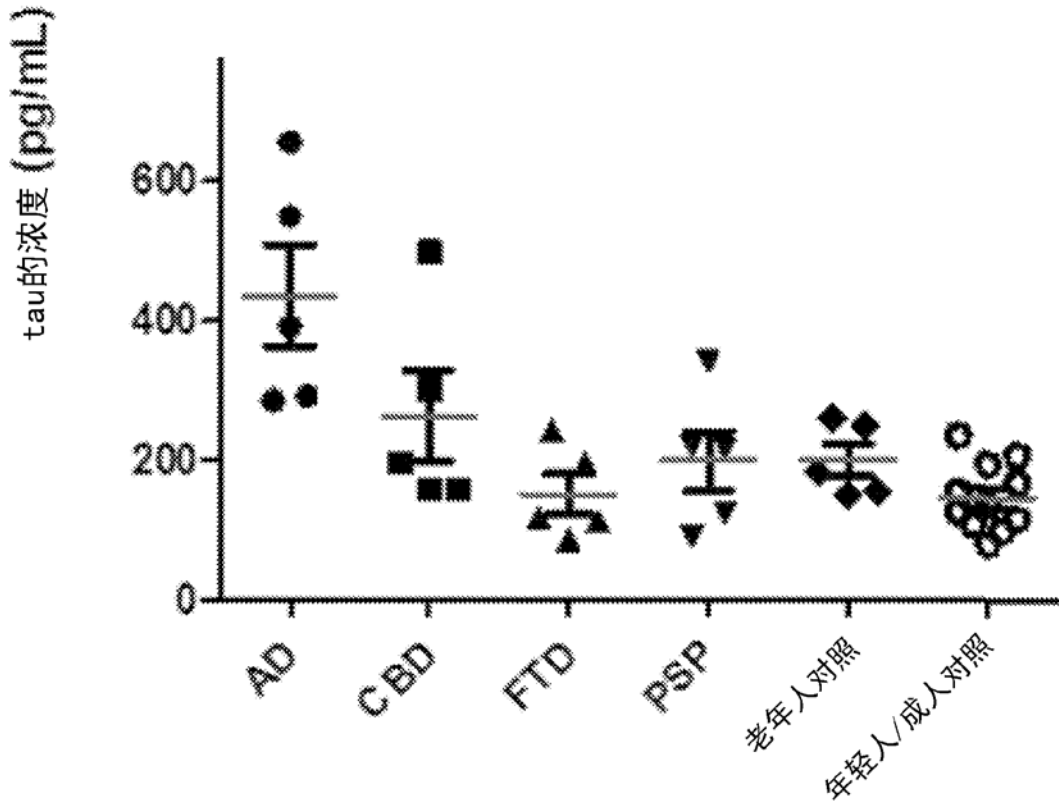


图 11