

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7193457号
(P7193457)

(45)発行日 令和4年12月20日(2022.12.20)

(24)登録日 令和4年12月12日(2022.12.12)

(51)国際特許分類

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

Z N A

C 0 7 K 16/46 (2006.01)

C 0 7 K 16/46

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

請求項の数 68 (全140頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2019-530098(P2019-530098)

(86)(22)出願日 平成29年12月6日(2017.12.6)

(65)公表番号 特表2020-511938(P2020-511938
A)

(43)公表日 令和2年4月23日(2020.4.23)

(86)国際出願番号 PCT/US2017/064869

(87)国際公開番号 WO2018/106781

(87)国際公開日 平成30年6月14日(2018.6.14)

審査請求日 令和2年10月30日(2020.10.30)

(31)優先権主張番号 62/431,180

(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)

(73)特許権者 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

(73)特許権者 513022966

エーシー イミュン 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, イービーエ
フエル イノベーション パーク

(74)代理人 110002077

園田・小林弁理士法人

(72)発明者 アドルフソン, オスカル

スイス国 ツェーハー 1015 ローザ
ンヌ, ビルディング ビー, イービー
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)【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、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、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、前記単離抗体。

【請求項 2】

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 に結合する、請求項 1 に記載の単離抗体。

【請求項 3】

前記抗体が、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、請求項 1 または請求項 2 に記載の単離抗体。

【請求項 4】

モノクローナル抗体である、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載の単離抗体。

【請求項 5】

ヒト化、またはキメラ抗体である、請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載の単離抗体。

【請求項 6】

抗体が、ヒト T a u に結合する抗体断片である、請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の単離抗体。

【請求項 7】

前記ヒト T a u が、配列番号 2 の配列を含む、請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の単離抗体。

【請求項 8】

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) 配列番号 6 0 3 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む V H 及び配列番号 6 0 4 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む V L、
- d) 配列番号 6 1 4 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 5 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) 配列番号 6 1 4 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む V H 及び配列番号 6 1 5 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む 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)、または
- i) 配列番号 6 1 9 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む V H 及び配列番号 6 2 0 と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む V L を含む、請求項 1 ～ 7 のいずれか 1 項に記載の単離抗体。

10

【請求項 9】

前記抗体が、

- a) 配列番号 6 0 3 を含む重鎖可変領域 (V H)、
- b) 配列番号 6 0 4 を含む軽鎖可変領域 (V L)、
- c) 配列番号 6 0 3 を含む V H 及び配列番号 6 0 4 を含む V L、
- d) 配列番号 6 1 4 の配列を含む重鎖可変領域 (V H)、
- e) 配列番号 6 1 5 の配列を含む軽鎖可変領域 (V L)、
- f) 配列番号 6 1 4 の配列を含む V H 及び配列番号 6 1 5 の配列を含む 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)、または
- i) 配列番号 6 1 9 の配列を含む V H 及び配列番号 6 2 0 の配列を含む V L を含む、請求項 1 ～ 8 のいずれか 1 項に記載の単離抗体。

20

30

【請求項 10】

前記抗体が、配列番号 6 0 3、6 1 4、及び 6 1 9 から選択される配列を含む重鎖可変領域、ならびに配列番号 6 0 4、6 1 5、及び 6 2 0 から選択される配列を含む軽鎖可変領域を含む、請求項 1 ～ 9 のいずれか 1 項に記載の単離抗体。

【請求項 11】

ヒト T a u に結合する単離抗体であって、前記抗体が、配列番号 3 4 0、6 0 3、6 1 4、及び 6 1 9 から選択される配列を含む重鎖可変領域、ならびに配列番号 6 0 4、6 1 5、及び 6 2 0 から選択される配列を含む軽鎖可変領域を含む、前記単離抗体。

【請求項 12】

前記抗体が、配列番号 3 4 0 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、ならびに配列番号 6 0 4、6 1 5、及び 6 2 0 から選択される配列を含む軽鎖可変領域を含む、請求項 11 に記載の単離抗体。

40

【請求項 13】

ヒト T a u に結合する単離抗体であって、前記抗体が、配列番号 6 0 3、6 1 4、及び 6 1 9 から選択される配列を含む重鎖可変領域、ならびに配列番号 3 4 1、6 0 4、6 1 5、及び 6 2 0 から選択される配列を含む軽鎖可変領域を含む、前記単離抗体。

【請求項 14】

前記抗体が、配列番号 6 0 3、6 1 4、及び 6 1 9 から選択される配列を含む重鎖可変領域、ならびに配列番号 3 4 1 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、請求項 13 に記載の前記単離抗体。

50

【請求項 15】

前記抗体が、

- (a) 配列番号 603 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、ならびに配列番号 604、615、及び 620 から選択される配列を含む軽鎖可変領域、
- (b) 配列番号 614 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、ならびに配列番号 604、615、及び 620 から選択される配列を含む軽鎖可変領域、
- (c) 配列番号 619 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、ならびに配列番号 604、615、及び 620 から選択される配列を含む軽鎖可変領域、
- (d) 配列番号 603、614、及び 619 から選択される配列を含む重鎖可変領域、ならびに配列番号 604 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、
- (e) 配列番号 603、614、及び 619 から選択される配列を含む重鎖可変領域、ならびに配列番号 615 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、または
- (f) 配列番号 603、614、及び 619 から選択される配列を含む重鎖可変領域、ならびに配列番号 620 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、を含む、請求項 1～10 のいずれか 1 項に記載の単離抗体。

10

【請求項 16】

前記抗体が、(a) 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、(b) 配列番号 614 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 615 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、または (c) 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、請求項 1～15 のいずれか 1 項に記載の単離抗体。

20

【請求項 17】

ヒト Tau に結合する単離抗体であって、前記抗体が、(a) 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、(b) 配列番号 614 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 615 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、または (c) 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、前記単離抗体。

【請求項 18】

前記抗体が、

- a) 配列番号 611 もしくは配列番号 612 の配列と少なくとも 95%、少なくとも 97%、もしくは少なくとも 99% 同一のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 613 の配列と少なくとも 95%、少なくとも 97%、もしくは少なくとも 99% 同一のアミノ酸配列を含む軽鎖、または
- b) 配列番号 611 もしくは配列番号 612 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 613 のアミノ酸配列を含む軽鎖、または
- c) 配列番号 616 もしくは配列番号 617 の配列と少なくとも 95%、少なくとも 97%、もしくは少なくとも 99% 同一のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 618 の配列と少なくとも 95%、少なくとも 97%、もしくは少なくとも 99% 同一のアミノ酸配列を含む軽鎖、または
- d) 配列番号 616 もしくは配列番号 617 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 618 のアミノ酸配列を含む軽鎖、または
- e) 配列番号 621 もしくは配列番号 622 の配列と少なくとも 95%、少なくとも 97%、もしくは少なくとも 99% 同一のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 623 の配列と少なくとも 95%、少なくとも 97%、もしくは少なくとも 99% 同一のアミノ酸配列を含む軽鎖、または
- f) 配列番号 621 もしくは配列番号 622 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 623 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、請求項 1～17 のいずれか 1 項に記載の単離抗体。

30

40

【請求項 19】

ヒト Tau に結合する単離抗体であって、前記抗体が、(a) 配列番号 611 もしくは

50

配列番号 6 1 2 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 6 1 3 のアミノ酸配列を含む軽鎖、(b) 配列番号 6 1 6 もしくは配列番号 6 1 7 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 6 1 8 のアミノ酸配列を含む軽鎖、または(c) 配列番号 6 2 1 もしくは配列番号 6 2 2 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 6 2 3 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、前記単離抗体。

【請求項 2 0】

ヒト T a u に結合する単離抗体であって、前記抗体が、(a) 配列番号 6 1 1 もしくは配列番号 6 1 2 のアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号 6 1 3 のアミノ酸配列からなる軽鎖、(b) 配列番号 6 1 6 もしくは配列番号 6 1 7 のアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号 6 1 8 のアミノ酸配列からなる軽鎖、または(c) 配列番号 6 2 1 もしくは配列番号 6 2 2 のアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号 6 2 3 のアミノ酸配列からなる軽鎖を含む、前記単離抗体。

10

【請求項 2 1】

前記抗体が、I g G 1 または I g G 4 抗体である、請求項 1 ～ 2 0 のいずれか 1 項に記載の単離抗体。

【請求項 2 2】

前記抗体が、I g G 4 抗体である、請求項 2 1 に記載の単離抗体。

【請求項 2 3】

前記抗体が、M 2 5 2 Y、S 2 5 4 T、及び T 2 5 6 E 変異を含む、請求項 2 2 に記載の単離抗体。

20

【請求項 2 4】

前記抗体が、S 2 2 8 P 変異を含む、請求項 2 2 または請求項 2 3 に記載の単離抗体。

【請求項 2 5】

前記抗体が、モノマー T a u、リン酸化 T a u、非リン酸化 T a u、及びオリゴマー T a u の各々に、1 0 0 n M 未満、7 5 n M 未満、5 0 n M 未満、1 0 n M 未満、5 n M 未満、または 1 n M 未満の K_D で結合する、請求項 1 ～ 2 4 のいずれか 1 項に記載の単離抗体。

【請求項 2 6】

前記抗体が、ヒトモノマー T a u に 1 n M 未満の K_D で結合する、請求項 1 ～ 2 5 のいずれか 1 項に記載の単離抗体。

30

【請求項 2 7】

K_D が、3 7 °C で表面プラズモン共鳴によって決定される、請求項 2 5 または請求項 2 6 に記載の単離抗体。

【請求項 2 8】

カニクイザル T a u に結合する、請求項 1 ～ 2 7 のいずれか 1 項に記載の単離抗体。

【請求項 2 9】

請求項 1 ～ 2 8 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 3 0】

請求項 2 9 に記載の核酸を含む、宿主細胞。

【請求項 3 1】

前記抗体の産生に好適な条件下で、請求項 3 0 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。

40

【請求項 3 2】

請求項 1 ～ 2 8 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。

【請求項 3 3】

請求項 1 ～ 2 8 のいずれか 1 項に記載の抗体と、検出可能な標識と、を含む、標識された抗体。

【請求項 3 4】

請求項 1 ～ 2 8 のいずれか 1 項に記載の単離抗体と、薬学的に許容される担体と、を含

50

む、薬学的組成物。

【請求項 35】

請求項 1～28 のいずれか 1 項に記載の単離抗体、または請求項 34 に記載の薬学的組成物を含む、T a u タンパク質関連疾患を治療するための医薬。

【請求項 36】

前記 T a u タンパク質関連疾患が、タウオパチーである、請求項 35 に記載の医薬。

【請求項 37】

前記タウオパチーが、神経変性タウオパチーである、請求項 36 に記載の医薬。

【請求項 38】

前記タウオパチーが、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン病、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 (frontotemporal dementia)、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、ハラホルデン・スパッツ病 (Hallevorden-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、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、請求項 36 または請求項 37 に記載の医薬。

【請求項 39】

前記タウオパチーが、アルツハイマー病または進行性核上性麻痺である、請求項 36～38 のいずれか 1 項に記載の医薬。

【請求項 40】

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であって、請求項 1～28 のいずれか 1 項に記載の単離抗体、または請求項 34 に記載の薬学的組成物を含む、前記医薬。

【請求項 41】

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のための医薬であって、請求項 1～28 のいずれか 1 項に記載の単離抗体、または請求項 34 に記載の薬学的組成物を含む、前記医薬。

【請求項 42】

少なくとも 1 つの追加の療法剤を含む、請求項 35～41 のいずれか 1 項に記載の医薬。

【請求項 43】

前記追加の療法剤が、神経薬、コルチコステロイド、抗生物質、抗ウイルス剤、抗 T a u 抗体、T a u 阻害剤、抗アミロイドベータ抗体、ベーターアミロイド凝集阻害剤、抗 BACE1 抗体、BACE1 阻害剤、コリンエステラーゼ阻害剤 (ChEI)、NMDA 受容体アンタゴニスト、及び栄養素補助剤から選択される、請求項 42 に記載の医薬。

【請求項 44】

ChEI がタクリン、リバスチグミン、ドネペジル、またはガランタミンであり、NMDA 受容体アンタゴニストがメマンチンである、請求項 43 に記載の医薬。

【請求項 45】

抗アミロイドベータ抗体がクレネズマブである、請求項 43 に記載の医薬。

【請求項 46】

医薬品として使用するための、請求項 1～28 のいずれか 1 項に記載の単離抗体。

【請求項 47】

個体におけるタウオパチーの治療に使用するための、請求項 1～28 のいずれか 1 項に

10

20

30

40

50

記載の単離抗体。

【請求項 4 8】

前記タウオパチーが、神経変性タウオパチーである、請求項 4 7 に記載の単離抗体。

【請求項 4 9】

前記タウオパチーが、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン病、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、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、請求項 4 7 または請求項 4 8 に記載の単離抗体。

10

【請求項 5 0】

前記タウオパチーが、アルツハイマー病または進行性核上性麻痺である、請求項 4 7 ～ 4 9 のいずれか 1 項に記載の単離抗体。

【請求項 5 1】

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の、請求項 1 ～ 2 8 のいずれか 1 項に記載の単離抗体。

20

【請求項 5 2】

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の、請求項 1 ～ 2 8 のいずれか 1 項に記載の単離抗体。

【請求項 5 3】

前記抗体が、少なくとも 1 つの追加の療法とともに使用するためのものである、請求項 4 7 ～ 5 2 のいずれか 1 項に記載の単離抗体。

【請求項 5 4】

前記追加の療法が、神経薬、コルチコステロイド、抗生物質、抗ウイルス剤、抗 T a u 抗体、抗アミロイドベータ抗体、抗 B A C E 1 抗体、B A C E 1 阻害剤、コリンエステラーゼ阻害剤 (C h E I)、N M D A 受容体アンタゴニスト、及び栄養素補助剤から選択される、請求項 5 3 に記載の単離抗体。

30

【請求項 5 5】

C h E I がタクリン、リバステグミン、ドネペジル、またはガランタミンであり、N M D A 受容体アンタゴニストがメマンチンである、請求項 5 4 に記載の単離抗体。

【請求項 5 6】

抗アミロイドベータ抗体がクレネズマブである、請求項 5 4 に記載の単離抗体。

【請求項 5 7】

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の、請求項 1 ～ 2 8 のいずれか 1 項に記載の単離抗体の使用。

40

【請求項 5 8】

前記 T a u タンパク質関連疾患が、タウオパチーである、請求項 5 7 に記載の使用。

【請求項 5 9】

前記タウオパチーが、神経変性タウオパチーである、請求項 5 8 に記載の使用。

【請求項 6 0】

前記タウオパチーが、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン病、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

50

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、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、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、請求項58または請求項59に記載の使用。

【請求項61】

前記タウオパチーが、アルツハイマー病または進行性核上性麻痺である、請求項58～60のいずれか1項に記載の使用。

【請求項62】

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の、請求項1～28のいずれか1項に記載の単離抗体の使用。

【請求項63】

前記医薬品が、少なくとも1つの追加の療法とともに投与するためのものである、請求項57～62のいずれか1項に記載の使用。

【請求項64】

前記追加の療法が、神経薬、コルチコステロイド、抗生物質、抗ウイルス剤、抗Tau抗体、抗アミロイドベータ抗体、抗BACE1抗体、BACE1阻害剤、コリンエステラーゼ阻害剤（ChEI）、NMDA受容体アンタゴニスト、及び栄養素補助剤から選択される、請求項63に記載の使用。

【請求項65】

ChEIがタクリン、リバスチグミン、ドネベジル、またはガランタミンであり、NMDA受容体アンタゴニストがメマンチンである、請求項64に記載の使用。

【請求項66】

抗アミロイドベータ抗体がクレネズマブである、請求項64に記載の使用。

【請求項67】

神経原線維変化、神経絨毛糸、または変性神経突起の検出方法であって、単離された生体試料を請求項1～28のいずれか1項に記載の単離抗体と接触させることを含む、前記方法。

【請求項68】

前記単離された生体試料が、脳試料、脳脊髄液試料、または血液試料である、請求項67に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2016年12月7日に出願された米国仮特許出願第62／431,180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。

【0002】

本発明は、抗Tau抗体及びその使用方法に関する。

【背景技術】

【0003】

神経原線維変化及び神経絨毛糸（NT）は、アルツハイマー病（AD）の主要な神経病理学的特徴である。NTは、リン酸化を含む翻訳後修飾を受けた微小管関連Tauタンパク質から構成され、高リン酸化Tauコンフォマーの凝集によって発達する。AD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（FTD）とこの病理を共有する。Tauタンパク質は、AD及び関連する神経変性タウオパチーにおける認知崩壊における主要な役者であるようである。

【0004】

10

20

30

40

50

Tau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Tau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Tau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か、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】

【0005】

本開示は、抗Tau抗体及びその使用方法を提供する。いくつかの実施形態において、ヒト及びカニクイザルTauへの高い親和性を有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、例えば、表面プラズモン共鳴によって測定される、1 nM未満または0.5 nM未満または0.3 nM未満のヒトTauへの親和性を有する。

10

【0006】

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、オリゴマーTau、非リン酸化Tau、及びリン酸化Tauに結合する、単離抗体が提供される。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、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Tau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Tauは、配列番号2の配列を含む。

20

【0007】

いくつかの実施形態において、抗体は、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を含む。

【0008】

いくつかの実施形態において、抗体は、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を含む。

【0009】

いくつかの実施形態において、抗体は、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を含む。

30

【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614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615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を含む。

40

【0011】

いくつかの実施形態において、抗体は、

- a) 配列番号603を含む重鎖可変領域(VH)、
- b) 配列番号604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、

50

- d) 配列番号 6 1 4 の配列を含む重鎖可変領域 (V H)、
- e) 配列番号 6 1 5 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 を含む。

【0012】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 6 0 3、6 1 4、及び 6 1 9 から選択される配列を含む重鎖可変領域、ならびに配列番号 6 0 4、6 1 5、及び 6 2 0 から選択される配列を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 3 4 0、6 0 3、6 1 4、及び 6 1 9 から選択される配列を含む重鎖可変領域、ならびに配列番号 6 0 4、6 1 5、及び 6 2 0 から選択される配列を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 6 0 3、6 1 4、及び 6 1 9 から選択される配列を含む重鎖可変領域、ならびに配列番号 3 4 1、6 0 4、6 1 5、及び 6 2 0 から選択される配列を含む軽鎖可変領域を含む。

10

【0013】

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、(b) 配列番号 6 1 4 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 6 1 5 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、または (c) 配列番号 6 1 9 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 6 2 0 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

20

【0014】

いくつかの実施形態において、抗体は、(a) 配列番号 6 1 1 もしくは配列番号 6 1 2 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 6 1 3 のアミノ酸配列を含む軽鎖、(b) 配列番号 6 1 6 もしくは配列番号 6 1 7 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 6 1 8 のアミノ酸配列を含む軽鎖、または (c) 配列番号 6 2 1 もしくは配列番号 6 2 2 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 6 2 3 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0015】

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、配列番号 6 1 1 または配列番号 6 1 2 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 6 1 3 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号 6 1 1 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 6 1 3 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号 6 1 2 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 6 1 3 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号 6 1 1 または配列番号 6 1 2 のアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号 6 1 3 のアミノ酸配列からなる軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号 6 1 1 のアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号 6 1 3 のアミノ酸配列からなる軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号 6 1 2 のアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号 6 1 3 のアミノ酸配列からなる軽鎖を含む、単離抗体が提供される。

30

40

【0016】

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、配列番号 6 1 6 または 6 1 7 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 6 1 8 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号 6 1 6 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 6 1 8 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号 6 1 7 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 6 1 8 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、単離抗体が提供される。いくつかの実

50

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、配列番号6 1 6または配列番号6 1 7のアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号6 1 8のアミノ酸配列からなる軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号6 1 6のアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号6 1 8のアミノ酸配列からなる軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号6 1 7のアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号6 1 8のアミノ酸配列からなる軽鎖を含む、単離抗体が提供される。

【0017】

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、配列番号6 2 1または配列番号6 2 2のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号6 2 3のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号6 2 1のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号6 2 3のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号6 2 2のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号6 2 3のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号6 2 1または配列番号6 2 2のアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号6 2 3のアミノ酸配列からなる軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号6 2 1のアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号6 2 3のアミノ酸配列からなる軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号6 2 2のアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号6 2 3のアミノ酸配列からなる軽鎖を含む、単離抗体が提供される。

【0018】

本明細書に記載される実施形態のいずれにおいても、抗体は、I g G 1またはI g G 4抗体であってもよい。本明細書に記載される実施形態のいずれにおいても、抗体は、I g G 4抗体であってもよい。いくつかのそのような実施形態において、抗体は、M 2 5 2 Y、S 2 5 4 T、及びT 2 5 6 E変異を含む。本明細書に記載される実施形態のいずれにおいても、抗体は、S 2 2 8 P変異を含んでもよい。本明細書に記載される実施形態のいずれにおいても、抗体は、S 2 2 8 P、M 2 5 2 Y、S 2 5 4 T、及びT 2 5 6 E変異を含んでもよい。本明細書に記載される実施形態のいずれにおいても、抗体は、S 2 2 8 P、M 2 5 2 Y、S 2 5 4 T、及びT 2 5 6 E変異を含むI g G 4抗体であってもよい。いくつかの実施形態において、抗体は、抗体断片である。本明細書に記載される実施形態のいずれにおいても、抗体は、S 2 2 8 P、M 2 5 2 Y、S 2 5 4 T、及びT 2 5 6 E変異を含み、重鎖定常領域のC末端リジン（d e s - K）を欠くI g G 4抗体であってもよい。重鎖定常領域のC末端リジンは、C末端リジンがコードされないように、例えば、抗体の精製中に、または抗体をコードする核酸の組み換え操作によって、除去されてもよい。

【0019】

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、リン酸化T a u、非リン酸化T a u、及びオリゴマーT a uの各々に、1 0 0 n M未満、7 5 n M未満、5 0 n M未満、1 0 n M未満、5 n M未満、または1 n M未満のK_Dで結合する、単離抗体が提供される。いくつかの実施形態において、抗体は、カニクイザルT a uに結合する。いくつかの実施形態において、抗体は、ヒトモノマーT a u及び／またはカニクイザルモノマーT a uに1 n M未満のK_Dで結合する。

【0020】

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。

【0021】

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、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。

【0022】

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。

【0023】

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、T a u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、T a u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、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、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（原発性年齢関連タウオパチー）、変化優位型認知症、亜急性硬化性汎脳症、慢性外傷性脳症（C T E）、球状グリア封入体を伴う白質タウオパチー、レビー小体病（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、グアドループ型パーキンソン症（G u a d e l o u p e a n P a r k i n s o n i s m）、脳内鉄沈着を伴う神経変性、S L C 9 A 6関連知的障害、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。

【0024】

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。

【0025】

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。

【0026】

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、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（原発性年齢関連タウオパチー）、変化優位型認知症、亜急性硬化性汎脳症、慢性外傷性脳症（C T E）、球状グリア封入体を伴う白質タウオパチー、レビー小体病（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、グアドループ型パーキンソン症、脳内鉄沈着を伴う神経変性、S L C 9 A 6 関連知的障害、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

【0027】

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。

【0028】

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、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（原発性年齢関連タウオパチー）、変化優位型認知症、亜急性硬化性汎脳症、慢性外傷性脳症（C T E）、球状グリア封入体を伴う白質タウオパチー、レビー小体病（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、グアドループ型パーキンソン症、脳内鉄沈着を伴う神経変性、S L C 9 A 6 関連知的障害、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。

20

30

【0029】

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。

40

【0030】

いくつかの実施形態において、神経原線維変化、神経絨毛糸、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、試料は、脳試料、脳脊髄液試料、または血液試料である。

【0031】

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

50

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、アミロイドーベータに対する抗体、ベーターセクレターゼ1に対する抗体（「B A C E 1」）、及びベーターセクレターゼ1の阻害剤が挙げられるが、これらに限定されない。

【図面の簡単な説明】

【0032】

【図1A】高リン酸化T a u（p T a u）に対する抗体の結合を、E L I S Aを使用して非リン酸化T a uと比較した。結果を光学濃度（O . D .）で表す。

【図1B】高リン酸化T a u（p T a u）に対する抗体の結合を、E L I S Aを使用して非リン酸化T a uと比較した。結果を光学濃度（O . D .）で表す。

【図1C】高リン酸化T a u（p T a u）に対する抗体の結合を、E L I S Aを使用して非リン酸化T a uと比較した。結果を光学濃度（O . D .）で表す。

【図1D】高リン酸化T a u（p T a u）に対する抗体の結合を、E L I S Aを使用して非リン酸化T a uと比較した。結果を光学濃度（O . D .）で表す。

【図1E】高リン酸化T a u（p T a u）に対する抗体の結合を、E L I S Aを使用して非リン酸化T a uと比較した。結果を光学濃度（O . D .）で表す。

【図1F】高リン酸化T a u（p T a u）に対する抗体の結合を、E L I S Aを使用して非リン酸化T a uと比較した。結果を光学濃度（O . D .）で表す。

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

【図2D】オリゴマーT a uに対する抗体の結合を、オリゴ及びモノT a u捕捉E L I S A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T a uに対する抗体の結合を、オリゴ及びモノT a u捕捉E L I S A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p a n T a u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（A D）及び適合対照ドナーからの脳ライセート中で可溶性T a uに対する結合を示す。A D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T a uの6つのアイソフォームをS D S - P A G E上で泳動させ、膜を3つのp a n T a u抗体（37D3-H9、94B2-C1、及び125B11-H3）でブロットした。A D試料を有するレーンをA D 18、A D 24、及びA D 27として標識し、対照試料を有するレーンをC 25及びC 21として標識する。組み換えヒトT a uの6つのアイソフォームを泳動させたレーンをh T a uラダーとして標識する。

【図4A】P a n T a u抗体は、T a u捕捉E L I S Aを使用すると、A D及び適合対照ドナーからの脳ライセート中で可溶性T a uに対する結合を示す。3つのp a n T a u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】P a n T a u抗体は、T a u捕捉E L I S Aを使用すると、A D及び適合対照ドナーからの脳ライセート中で可溶性T a uに対する結合を示す。3つのp a n T a u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4C】P a n T a u抗体は、T a u捕捉E L I S Aを使用すると、A D及び適合対照ドナーからの脳ライセート中で可溶性T a uに対する結合を示す。3つのp a n T a u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5】F a b（左パネル）として及びI g G（右パネル）として、B i a c o r e チッ

ブ表面に共有結合的にカップリングされたヒトT a u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T a uモノマーに対する、h u 37D3-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、この図においても示されている。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h u 37D3-H9.v5を示し、中間パネルはh u 37D3-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T a uに対するh u 37D3-H9.v5及びh u 37D3-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。

10

【図8A】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(h u 37D3-H9.v5 h I g G 1)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】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(h u 37D3-H9.v5 h I g G 1)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。

20

【図8C】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(h u 37D3-H9.v5 h I g G 1)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】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(h u 37D3-H9.v5 h I g G 1)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。h u 37D3.v28.A4においてL e uに変異した残基33が、不安定なA s n-28残基の近くにはないことに留意されたい。点線は、残基A s n-28と残基T y r-32との間の水素結合を示す。MOEソフトウェアパッケージ(C h e m i c a l C o m p u t i n g G r o u p)を使用して生成された図。

30

【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T a u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射後の、カニクイザルにおけるh u 37D3.v28.A4 h I g G 4-S228P及びh u 37D3.v28.A4 h I g G 4-S228P.YTEの薬物動態を示す。

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

40

【図12B】T a u断片に対する特定の抗T a u抗体の結合。T a u断片10~44、10~24、2~24、2~34、及び完全長T a uに対する抗体37D3-H9 m I g G 2 aの結合を示す。

【図12C】T a u断片に対する特定の抗T a u抗体の結合。T a u断片10~44、10~24、2~24、2~34、及び完全長T a uに対する抗体h u 37D3-H9.v5 h I g G 1の結合を示す。

【図13A】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

50

化パーセント。

【図13B】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14】抗t a u 37D3-H9 WT I g G 2 a または抗t a u 37D3-H9 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 212 / 214 レベル。

【図15】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37D3-H9のエピトープを示す。

【図16】単回の10mg / kg 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94B2-C1の薬物動態を示す。

10

【図17】単回の10mg / kg 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125B11-H3の薬物動態を示す。

【図18】h u 37D3-H9 . v 1、h u 37D3-H9 . v 39、h u 37D3-H9 . v 40、及びh u 37D3-H9 . v 41のカッパ1軽鎖可変領域の整列を示す。

【図19A】50mg / 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血漿抗体濃度（A）を示す。

【図19B】50mg / 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C S F 抗体濃度（B）を示す。

【図20】50mg / 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血漿総T a u 濃度及び血漿抗体濃度を示す。

20

【図21A】50mg / kg のh u 37D3 . v 28 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P （A）及びh u 37D3 . v 28 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E （B）の単回静脈内注射の2日後及び10日後の、カニクイザル脳の様々な領域における抗体濃度、脳内の平均抗体濃度（C）、脳：血漿抗体濃度%（D）を示す。

【図21B】50mg / kg のh u 37D3 . v 28 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P （A）及びh u 37D3 . v 28 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E （B）の単回静脈内注射の2日後及び10日後の、カニクイザル脳の様々な領域における抗体濃度、脳内の平均抗体濃度（C）、脳：血漿抗体濃度%（D）を示す。

【図21C】50mg / kg のh u 37D3 . v 28 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P （A）及びh u 37D3 . v 28 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E （B）の単回静脈内注射の2日後及び10日後の、カニクイザル脳の様々な領域における抗体濃度、脳内の平均抗体濃度（C）、脳：血漿抗体濃度%（D）を示す。

30

【図21D】50mg / kg のh u 37D3 . v 28 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P （A）及びh u 37D3 . v 28 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E （B）の単回静脈内注射の2日後及び10日後の、カニクイザル脳の様々な領域における抗体濃度、脳内の平均抗体濃度（C）、脳：血漿抗体濃度%（D）を示す。

【図22A】対数スケールでプロットした、50mg / 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、カニクイザル脳内の抗体の濃度を示す。

【図22B】直線スケールでプロットした、50mg / 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、カニクイザル脳内の抗体の濃度を示す。

40

【図23A】50mg / 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、カニクイザルの海馬における抗体の濃度を示す。

【図23B】50mg / 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、カニクイザルの小脳における抗体の濃度を示す。

【図23C】50mg / 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、カニクイザルの前頭皮質における抗体の濃度を示す。

【図23D】50mg / 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C S F における抗体の濃度を示す。

【図23E】50mg / 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。

50

【図24A】50mg/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Tau濃度の平均を示す。

【図24B】50mg/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Tau濃度を示す。

【図25A】親和性成熟hu37D3-H9.v76抗体、hu37D3-H9.v83抗体、及びhu37D3-H9.v93抗体と、親hu37D3-H9.v28.A4抗体との間の配列整列を示す。アミノ酸差異には、黒色で陰影を付けてある。

【図25B】親和性成熟hu37D3-H9.v76抗体、hu37D3-H9.v83抗体、及びhu37D3-H9.v93抗体と、親hu37D3-H9.v28.A4抗体との間の配列整列を示す。アミノ酸差異には、黒色で陰影を付けてある。

【図26A】ヒトtauモノマーのhu37D3-H9.v76の親和性測定を示す。

【図26B】カニクイザルtauモノマーのhu37D3-H9.v76の親和性測定を示す。

【発明を実施するための形態】

【0033】

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（VL）フレームワークまたは重鎖可変ドメイン（VH）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、それと同じ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、VLアクセプターヒトフレームワークの配列は、VL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。

【0034】

「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）と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。

【0035】

「親和性成熟」抗体とは、改変を持たない親抗体と比較して、1つ以上の超可変領域（HVR）内で1つ以上のそのような改変を有し、そのような改変によって抗体の抗原に対する親和性が改善される、抗体を指す。

【0036】

「抗Tau抗体」及び「Tauに結合する抗体」という用語は、抗体がTau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Tau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Tau抗体が非関連非Tauタンパク質に結合する程度は、例えば、放射免疫アッセイ（RIA）によって測定される、抗体のTauへの結合の約10%未満である。特定の実施形態において、Tauに結合する抗体は、 $\leq 1 \mu M$ 、 $\leq 100 nM$ 、 $\leq 10 nM$ 、 $\leq 1 nM$ 、 $\leq 0.1 nM$ 、 $\leq 0.01 nM$ 、または $\leq 0.001 nM$ （例えば、 $10^{-8} M$ 以下、例えば、 $10^{-8} M \sim 10^{-13} M$ 、例えば、 $10^{-9} M \sim 10^{-13} M$ ）の解離定数（ K_D ）を有する。特定の実施形態において、抗Tau抗体は、異なる種由来のTau間で保存されるTauのエピトープに結合する。本明細書で使用される場合、「抗Tau抗体」及び「Tau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、「pan-T a u抗体」と呼ばれる。

【0037】

「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。

10

【0038】

「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。

【0039】

基準抗体と「同じエпитープに結合する抗体」とは、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。

20

【0040】

「キメラ」抗体という用語は、重鎖及び／または軽鎖の一部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。

【0041】

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

【0042】

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）；化学療法剤または化学療法薬（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、エトポシド）、ドキソルビシン、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／または変異形を含む）などの毒素；ならびに以下に開示される様々な抗腫瘍剤または抗がん剤が挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0043】

「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。

【0044】

50

ある薬剤、例えば、ある薬学的製剤の「有効量」とは、必要な投薬量及び期間で、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。

【0045】

本明細書における「Fc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Fc領域及び変異形Fc領域を含む。いくつかの実施形態において、ヒトIgG重鎖Fc領域は、Cys226またはPro230から、重鎖のカルボキシル末端に及ぶ。しかしながら、Fc領域のC末端リジン(Lys447)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、Fc領域内または定常領域内のアミノ酸残基の番号付けは、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991に記載されている、EUインデックスとも呼ばれるEU番号付けシステムに従う。

10

【0046】

「フレームワーク」または「FR」とは、超可変領域(HVR)残基以外の可変ドメイン残基を指す。可変ドメインのFRは一般に、4つのFRドメイン:FR1、FR2、FR3、及びFR4からなる。したがって、HVR及びFR配列は一般に、VH(またはVL)において以下の配列:FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4で出現する。

20

【0047】

「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か、または本明細書に定義されるFc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。

【0048】

「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

【0049】

「ヒト抗体」は、ヒトもしくはヒト細胞によって産生された抗体、またはヒト抗体レパー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。

【0050】

「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、VH及びVL)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(FR)及び3つの超可変領域(HVR)を含む同様の構造を有する。(例えば、Kindt et al. Kuby Immunology, 6th ed., W. H. Freeman and Co., page 91 (2007)を参照されたい)。単一のVHドメインまたはVL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、特定の抗原に結合する抗体のVHドメインまたはVLドメインを使用して、その抗原に結合する抗体を単離して、それぞれ相補的VL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。

40

50

【0051】

「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_LまたはV_H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_LまたはV_H配列の選択は、可変ドメイン配列のサブグループから行なわれる。一般に、配列のサブグループは、Kabat 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_Lについて、サブグループは、Kabatら（上記）にあるようなサブグループC₁である。いくつかの実施形態において、V_Hについて、サブグループは、Kabatら（上記）にあるようなサブグループI₁である。

10

【0052】

「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。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。

【0053】

20

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、配列が超可変（「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各々を指す。一般に、抗体は6つのHVRを含み、3つがV_H（H₁、H₂、H₃）にあり、3つがV_L（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)）、

30

（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（Kabat 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

40

（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。

【0054】

別段示されない限り、可変ドメイン内のHVR残基及び他の残基（例えば、FR残基）は、本明細書においてKabatら（上記）に従って番号付けされる。

【0055】

「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。

50

【0056】

「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。特定の実施形態において、個体または対象は、ヒトである。

【0057】

「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、SDS-PAGE、等電点電気泳動（IEF）、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HPLC）によって決定される、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、Flatman et al., J. Chromatogr. B 848: 79-87 (2007)を参照されたい。

10

【0058】

「単離」核酸とは、その自然環境の構成成分から分離されている核酸分子を指す。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。

【0059】

「抗Tau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。

20

【0060】

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／または同じ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か、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、様々な技術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

【0061】

「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。

【0062】

「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IgG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。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、カッパ（κ）及びラムダ（λ）と呼ばれる2種類のうちの1つに割り当てられ得る。

40

【0063】

50

「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、治療製品の商業的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。

【0064】

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、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、かつ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. によって記述され、ソースコードは、ユーザ文書とともに米国著作権局(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。

【0065】

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。

$100 \times \text{分数 } X / Y$

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とBと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における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、AのBへのアミノ酸配列同一性%は、BのAへのアミノ酸配列同一性%とは等しく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

【0066】

「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。

【0067】

「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

【0068】

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」非プロ

セス型 T a u、及び細胞内のプロセッシングから生じる任意の形態 T a u を包含する。この用語はまた、T a u 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。

【0069】

本明細書で使用される場合、「p T a u」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、T a u を指す。いくつかの実施形態において、p T a u 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、p T a u 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、p T a u は、セリン409位上でリン酸化される。

10

【0070】

本明細書で使用される場合、「可溶性 T a u」または「可溶性 T a u タンパク質」という用語は、完全に可溶化した T a u タンパク質／ペプチドモノマー、または T a u 様ペプチド／タンパク質、または修飾もしくは切断された T a u ペプチド／タンパク質、または T a u ペプチド／タンパク質モノマーの他の誘導体と、T a u 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 T a u」は、神経原線維変化（N F T）を具体的に除外する。

【0071】

本明細書で使用される場合、「不溶性 T a u」という用語は、T a u ペプチドもしくはタンパク質、または T a u 様ペプチド／タンパク質、または修飾もしくは切断された T a u 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 T a u 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、T a u または修飾もしくは切断された T a u 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 T a u」は特に、神経原線維変化（N F T）を含む。

20

【0072】

本明細書で使用される場合、「モノマー T a u」または「T a u 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 T a u タンパク質を指す。

30

【0073】

本明細書で使用される場合、「凝集した T a u」、「オリゴマー T a u」、及び「T a u オリゴマー」という用語は、T a u ペプチドもしくはタンパク質、または T a u 様ペプチド／タンパク質、または修飾もしくは切断された T a u 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もしく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 T a u 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）で不溶性もしくは可溶性である、T a u または修飾もしくは切断された T a u 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

【0074】

「p T a u P H F」、「P H F」、及び「対らせん状細線維」という用語は、本明細書で同義に使用され、電子顕微鏡上で可視である160nmの周期性でらせん状に巻きつけられた線維の対を指す。幅は、10～22nmで変動する。P H Fは、アルツハイマー病（A D）の神経原線維変化及び神経絨毛糸における主要構造である。P H F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。P H Fの主要構成成分は、高リン酸化形態の微小管関連タンパク質 t a u である。P H Fの一部には、ジスルフィド結合された逆平行高リン酸化 T a u タンパク質から構成され得る。P H F T a u は、そのC末端の20個のアミノ酸残基が切断され得る。P H F形成の根底にある機序は不明であるが、T a uの高リン酸化は、それを微小管から開放し、ニューロ

50

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。

【0075】

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改変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。

10

【0076】

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。

【0077】

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。

20

【0078】

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（例えば、「軽度のADを有すると診断された患者」）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。

【0079】

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。

【0080】

「MMSE」という用語は、1～30のスコアを提供する簡易知能評価スケールを指す。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上の数値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。

30

【0081】

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、及びそれが導入されている宿主細胞のゲノム内に組み込まれたベクターを含む。特定のベクターは、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。

40

【0082】

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、本明細書に提供される抗体は、ヒトモノマーTauに1 nM未満または0.5 nM未満のK_Dで結合する。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、カニクイザルTauに1 nM未満または0.5 nM未満のK_Dで結合する。いくつかの実施形態において、K_Dは、37℃で表面プラズモン共鳴によって決定される。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

50

、本発明の抗体は、T a u アミノ酸 2 ～ 2 4 内のエピトープに結合し、かつモノマー 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、抗体は、配列 A E P R Q E F E V M E D H A G T Y G L G D R K（配列番号 2）を有するか、またはそれからなる、ヒト T a u 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 A E P R Q E F D V M E D H A G T Y G L G D R K（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 T a u 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 A E P R Q E F E V M E D H A G T Y G L G D R K（配列番号 2）を有するか、またはそれからなる、ヒト T a u のエピトープ、及び配列 A E P R Q E F D V M E D H A G T Y G L G D R K（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 T a u のエピトープに結合する。

10

【 0 0 8 3 】

いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、成熟ヒト T a u のアミノ酸 1 9 ～ 3 3、1 9 ～ 4 2、3 7 ～ 5 1、1 0 0 ～ 1 1 4、1 1 8 ～ 1 3 2、または 1 7 2 ～ 1 7 7 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 T a u のアミノ酸 1 9 ～ 3 3、1 9 ～ 4 2、3 7 ～ 5 1、1 0 0 ～ 1 1 4、1 1 8 ～ 1 3 2、または 1 7 2 ～ 1 7 7 内のエピトープに結合し、かつモノマー 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。

【 0 0 8 4 】

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。

【 0 0 8 5 】

20

A．例示的な抗 T a u 抗体

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－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 を含む。

【 0 0 8 6 】

いくつかの実施形態において、抗体は、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 8 7 】

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－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。

30

【 0 0 8 8 】

上記の実施形態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な H V R を含む、かつ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。

【 0 0 8 9 】

40

別の態様において、抗 T a u 抗体は、配列番号 3 4 0、6 0 3、6 1 4、または 6 1 9 のアミノ酸配列と少なくとも 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。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。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 3 4 0、6 0 3、6 1 4、または 6 1 9 内で置換、挿入、及び／または欠失されている。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

50

抗体は、配列番号 340、603、614、または 619 内の V H 配列（その配列の翻訳後修飾を含む）を含む。特定の実施形態において、V H は、（a）配列番号 605 のアミノ酸配列を含む H V R-H1、（b）配列番号 606 のアミノ酸配列を含む H V R-H2、及び（c）配列番号 607 のアミノ酸配列を含む H V R-H3 から選択される、1つ、2つ、または3つの H V R を含む。

【0090】

別の態様において、抗 T a u 抗体は、配列番号 341、604、615、または 620 のアミノ酸配列と少なくとも 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 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。特定の実施形態において、少なくとも 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または 99% 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。特定の実施形態において、合計 1～10 個のアミノ酸が、配列番号 341、604、615、または 620 内で置換、挿入、及び／または欠失されている。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 341、604、615、または 620 内の V L 配列（その配列の翻訳後修飾を含む）を含む。特定の実施形態において、V L は、（a）配列番号 608 のアミノ酸配列を含む H V R-L1、（b）配列番号 609 のアミノ酸配列を含む H V R-L2、及び（c）配列番号 610 のアミノ酸配列を含む H V R-L3 から選択される、1つ、2つ、または3つの H V R を含む。

【0091】

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 603 と少なくとも 95% 同一の配列を含む重鎖可変領域（V H）、
- 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（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 614 と少なくとも 95% 同一の配列を含む重鎖可変領域（V H）、
- e) 配列番号 615 と少なくとも 95% 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 619 と少なくとも 95% 同一の配列を含む重鎖可変領域（V H）、
- 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（V L）、
- i) （g）にあるような V H 及び（h）にあるような V L を含む。

【0092】

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 603 を含む重鎖可変領域（V H）、
- b) 配列番号 604 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 614 の配列を含む重鎖可変領域（V H）、
- e) 配列番号 615 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 619 の配列を含む重鎖可変領域（V H）、
- h) 配列番号 620 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 を含む。

【0093】

いくつかの実施形態において、抗 T a u 抗体は、配列番号 603、614、及び 619 から選択される配列を含む重鎖可変領域、ならびに配列番号 604、615、及び 620 から選択される配列を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 340、603、614、及び 619 から選択される配列を含む重鎖可変領域、ならびに配列番号 604、615、及び 620 から選択される配列を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 603、614、及び 619 から

選択される配列を含む重鎖可変領域、ならびに配列番号 3 4 1、6 0 4、6 1 5、及び 6 2 0 から選択される配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【0094】

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 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、(b) 配列番号 6 1 4 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 6 1 5 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、または (c) 配列番号 6 1 9 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 6 2 0 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【0095】

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 6 1 1 もしくは配列番号 6 1 2 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 6 1 3 のアミノ酸配列を含む軽鎖、(b) 配列番号 6 1 6 もしくは配列番号 6 1 7 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 6 1 8 のアミノ酸配列を含む軽鎖、または (c) 配列番号 6 2 1 もしくは配列番号 6 2 2 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 6 2 3 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0096】

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、配列番号 6 1 1 または配列番号 6 1 2 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 6 1 3 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号 6 1 1 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 6 1 3 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号 6 1 2 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 6 1 3 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号 6 1 1 または配列番号 6 1 2 のアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号 6 1 3 のアミノ酸配列からなる軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号 6 1 1 のアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号 6 1 3 のアミノ酸配列からなる軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号 6 1 2 のアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号 6 1 3 のアミノ酸配列からなる軽鎖を含む、単離抗体が提供される。

【0097】

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、配列番号 6 1 6 または 6 1 7 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 6 1 8 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号 6 1 6 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 6 1 8 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号 6 1 7 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 6 1 8 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号 6 1 6 または配列番号 6 1 7 のアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号 6 1 8 のアミノ酸配列からなる軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号 6 1 6 のアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号 6 1 8 のアミノ酸配列からなる軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号 6 1 7 のアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号 6 1 8 のアミノ酸配列からなる軽鎖を含む、単離抗体が提供される。

【0098】

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、配列番号 6 2 1 または配列番号 6 2 2 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 6 2 3 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号 6 2 1 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 6 2 3 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号 6 2 2 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 6 2 3 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号 6 2 1 または配列番号 6 2 2 のアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号 6 2 3 のアミノ酸配列からなる軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号 6 2 1 のアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号 6 2 3 のアミノ酸配列からなる軽鎖を含む、単離抗体が提供される。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、配列番号 6 2 2 のアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号 6 2 3 のアミノ酸配列からなる軽鎖を含む、単離抗体が提供される。

【0099】

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 T a u 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、特定の実施形態において、3 7 D 3 - H 9、h u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4、h u 3 7 D 3 - H 9 . v 7 6、h u 3 7 D 3 - H 9 . v 8 3、及び h u 3 7 D 3 - H 9 . v 9 3 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。特定の実施形態において、配列番号 2 のアミノ酸 2 ~ 2 4 からなる T a u 断片内のエピトープに結合する抗体が提供される。特定の実施形態において、配列番号 2 のアミノ酸 7 ~ 2 4 からなる T a u 断片内のエピトープに結合する抗体が提供される。特定の実施形態において、配列番号 2 のアミノ酸 7 ~ 2 0 からなる T a u 断片内のエピトープに結合する抗体が提供される。特定の実施形態において、配列番号 2 のアミノ酸 1 0 ~ 2 4 からなる T a u 断片内のエピトープに結合する抗体が提供される。特定の実施形態において、配列番号 2 のアミノ酸 7 ~ 2 1 からなる T a u 断片内のエピトープに結合する抗体が提供される。特定の実施形態において、配列番号 2 のアミノ酸 8 ~ 2 2 からなる T a u 断片内のエピトープに結合する抗体が提供される。特定の実施形態において、配列番号 2 のアミノ酸 1 1 ~ 2 5 からなる T a u 断片内のエピトープに結合する抗体が提供される。特定の実施形態において、以下の T a u 断片：2 ~ 2 4、7 ~ 2 4、7 ~ 2 0、1 0 ~ 2 4、7 ~ 2 1、8 ~ 2 2、及び 1 1 ~ 2 5 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 5 9 3 の配列を有するペプチドには結合するが、配列番号 5 9 6 または配列番号 5 9 7 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。

【0100】

本発明の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、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。

【0101】

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。

【0102】

1. 抗体親和性

特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、 $\leq 1 \mu\text{M}$ 、 $\leq 100 \text{ nM}$ 、 $\leq 10 \text{ nM}$ 、 $\leq 1 \text{ nM}$ 、 $\leq 0.1 \text{ nM}$ 、 $\leq 0.01 \text{ nM}$ 、または $\leq 0.001 \text{ nM}$ (例えば、 10^{-8} M 以下、例えば、 $10^{-8} \text{ M} \sim 10^{-13} \text{ M}$ 、例えば、 $10^{-9} \text{ M} \sim 10^{-13} \text{ M}$) の解離定数 (K_D) を有する。

【0103】

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 パージョン及びその抗原で実行される。例えば、F a b の抗原に対する溶液結合親和性は、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 (^{125}I) 標識抗原と平衡化し、そ

の後、抗Fab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、Chen et al., J. Mol. Biol. 293: 865-881 (1999) を参照されたい）。アッセイのための条件を確立するために、MICROTITER（登録商標）マルチウェルプレート（Thermo Scientific）を、50mMの炭酸ナトリウム（pH 9.6）中5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の捕捉抗Fab抗体（Cappel Labs）で一晩コーティングし、その後、室温（約23℃）でPBS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（Nunc 番号269620）において、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）。その後、目的とされるFabを一晩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。その後、溶液を除去し、プレートをPBS中0.1%のポリソルベート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）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。

【0104】

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、固定化抗原CM5チップで25℃または37℃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に、5 μL /分の流量で注入して、約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中約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、 k_{off}/k_{on} の比率として計算する。例えば、Chen et al., J. Mol. Biol. 293: 865-881 (1999) を参照されたい。上記の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中20 nMの抗-抗原抗体（Fab形態）（pH 7.2）の蛍光発光強度（励起=295 nm、発光=340 nm、16 nmの帯域通過）の増加または減少を測定する蛍光消光技術を使用することによって決定することができる。

【0105】

2. 抗体断片

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、F(ab)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。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、WO93/16185、ならびに米国特許第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、かつ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。

10

【0106】

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、EP404,097、WO1993/01161、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。

【0107】

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。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., Waltham, MA、例えば、米国特許第6,248,516B1号を参照されたい)。

20

【0108】

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、様々な技術によって作製することができる。

【0109】

3. キメラ抗体及びヒト化抗体

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。特定のキメラ抗体が、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(サルなど)に由来する可変領域)及びヒト定常領域を含む。更なる一例において、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

【0110】

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させながら、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

【0111】

ヒト化抗体及びそれらの作製方法は、例えば、Almagro and Franssón, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008) で概説されており、例えば、Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988)、Queen et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA

50

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) 移植を記載)、Padlan, Mol. Immunol. 28:489-498 (1991) (「リサーフェイシング」を記載)、Dall'Acqua et al., Methods 36:43-60 (2005) (「FRシャフリング」を記載)、ならびにOsborn et al., Methods 36:61-68 (2005) 及びKlimka et al., Br. J. Cancer, 83:252-260 (2000) (FRシャフリングへの「誘導選択」アプローチを記載) に更に記載されている。

【0112】

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るフレームワーク領域 (例えば、Sims et al. J. Immunol. 151:2296 (1993) を参照されたい)、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、Carter et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992) 及びPresta et al. J. Immunol., 151:2623 (1993) を参照されたい)、ヒト成熟 (体細胞変異した) フレームワーク領域またはヒト生殖細胞株フレームワーク領域 (例えば、Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008) を参照されたい)、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、Bac et al., J. Biol. Chem. 272:10678-10684 (1997) 及びRosok et al., J. Biol. Chem. 271:22611-22618 (1996) を参照されたい) が挙げられるが、これらに限定されない。

【0113】

4. ヒト抗体

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術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。

【0114】

ヒト抗体は、抗原投与に应答して、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内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。例えば、XENOMOUSE (商標) 技術を記載する米国特許第6,075,181号及び同第6,150,584号、HUMAB (登録商標) 技術を記載する米国特許第5,770,429号、K-M MOUSE (登録商標) 技術を記載する米国特許第7,041,870号、ならびにVELOCIMOUSE (登録商標) を記載する米国特許出願公開第US2007/0061900号を参照されたい。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。

【0115】

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 (

10

20

30

40

50

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 (1991)を参照されたい)。ヒトB細胞ハイブリドーマ技術によって生成されるヒト抗体もまた、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IgM抗体の産生を記載)及びNi, Xiandai Mianyixue, 26(4):265-268 (2006)(ヒト-ヒトハイブリドーマを記載)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。

【0116】

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。その後、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術が、以下に記載される。

【0117】

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って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)に概説され、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。

【0118】

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内でランダムに組み換えられ、それはその後、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され得る。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、（例えば、ヒトから）クローニングされて、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、Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227:381-388 (1992) によって記載されるように、ナイーブラライブラリはまた、幹細胞から再配列されていない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プライマーを使用して高度可変CDR3領域をコードし、かつインビトロで再配列を達成することによって、合成的に作製することもできる。ヒト抗体ファージライブラリを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。

【0119】

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。

【0120】

6. 多重特異性抗体

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。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。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、他方はアミロイドベータ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пит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。

【0121】

多重特異性抗体を作製するための技術としては、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)を参照されたい)、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)を参照されたい)、「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)を参照されたい)、ならびに一本鎖Fv(sFv)二量体を使用すること(例えば、Gruber et al., J. Immunol., 152:5368 (1994)を参照されたい)、ならびに例えば、Tutt et al. J. Immunol. 147:60 (1991)に記載される三重特異性抗体を調製することによっても作製することができる。

【0122】

「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を参照されたい)。

【0123】

10

20

30

40

50

本明細書における抗体または断片はまた、T a u 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 (D u a l A c t i n g) F A b」または「D A F」も含む (例えば、U S 2 0 0 8 / 0 0 6 9 8 2 0 を参照されたい)。

【0124】

7. 抗体変異形

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内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。

【0125】

a) 置換、挿入、及び欠失変異形

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、H V R 及び F R 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 A D C C もしくは C D C の改善についてスクリーニングされ得る。

表 1

10

20

30

40

50

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

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：N o r l o y s i n e、M e t、A l a、V a l、L e u、I l e；
- (2) 中性親水性：C y s、S e r、T h r、A s n、G l n；
- (3) 酸性：A s p、G l u；
- (4) 塩基性：H i s、L y s、A r g；
- (5) 鎖配向に影響を及ぼす残基：G l y、P r o；
- (6) 芳香族：T r p、T y r、P h e。

【0126】

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。

【0127】

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）の修飾（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術を使用して好都合に生成され得る、親和性成熟抗体である。簡潔には、1つ以上のHVR残基が変異し、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。

【0128】

HVR内に改変（例えば、置換）を行って、例えば、抗体親和性を改善することができる。そのような改変は、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。二次ライブラリを構築し、そこから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。その後、二次ライブラリが作製される。その後、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。多様性を導入するための別の方法は、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。抗原結合に参与する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

【0129】

特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、そのような改変によって抗体が抗原に結合する能力が実質的に低減されない限り、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させない保存的改変（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配列の特定の実施形態において、各HVRは、改変されないか、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。

【0130】

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、抗体と抗原と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。変異形がスクリーニングされて、それらが所望される特性を含有するかが決定され得る。

30

40

【0131】

アミノ酸配列挿入は、長さが1残基から100以上の残基の範囲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。

【0132】

b) グリコシル化変異形

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

50

度を増加または減少させるように改変される。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改変することによって好都合に達成され得る。

【0133】

抗体がFc領域を含む場合、それに結合した炭水化物が改変され得る。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、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。

10

【0134】

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位との間に位置し得る。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号（Presta, L.）、同第US2004/0093621号（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公開の例としては、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号（Presta, L.）、及びWO2004/056312A1（Adam sら、特に実施例11））、ならびにアルファー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を参照されたい）が挙げられる。

20

30

40

【0135】

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、フコシル化の低減及び／またはADCC機能の改善を有し得る。そのような抗体変異体の

50

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号 (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体は、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。

【0136】

c) Fc領域変異形

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。

【0137】

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に要約されている。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号 (例えば、Hellstrom, I. et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83:7059-7063 (1986) を参照されたい) 及びHellstrom, I. et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82:1499-1502 (1985)、同第5,821,337号 (Bruggemann, M. et al., J. Exp. Med. 166:1351-1361 (1987) を参照されたい) 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Cytotox96 (登録商標) 非放射性細胞傷害性アッセイ (Promega, Madison, WI) を参照されたい)。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することができる。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における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. and M. J. Glennie, Blood 103:2738-2743 (2004) を参照されたい)。FcRn結合及びインビボクリアランス／半減期決定もまた、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.

10

20

30

40

50

18 (12) : 1759-1769 (2006) を参照されたい)。

【0138】

エフェクター機能が低減している抗体は、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)。

【0139】

FcRへの結合が改善または縮小された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、及びShields et al., J. Biol. Chem. 9(2):6591-6604(2001)を参照されたい)。

【0140】

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。

【0141】

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、改変は、改変した(すなわち、改善または縮小した)C1q結合及び/または補体依存症細胞傷害性(CDC)をもたらすFc領域内で行われる。

【0142】

母体IgGの胎児への移入に関与する、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(Guyer et al., J. Immunol. 117:587(1976)及びKim et al., J. Immunol. 24:249(1994))が、US2005/0014934A1(Hintonら)に記載されている。それらの抗体は、FcRnに対するFc領域の結合を改善する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、428、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)。

【0143】

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。

【0144】

d) システイン操作された抗体変異形

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、残基の置換は、抗体の接触可能部位において生じる。それらの残基をシステインで置換することによって、反応性チオール基が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。特定の実施形態において、以下の残基のいずれかが1つ以上が、システインで置換され得る:軽鎖のV205(Kabat番号付け)、重鎖のA118(EU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。

10

20

30

40

50

【0145】

e) 抗体誘導体

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（prolypropylene）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などを含むが、これらに限定されない、考慮事項に基づいて決定することができる。

【0146】

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。

【0147】

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。更なる一実施形態において、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。更なる一実施形態において、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抗体の作製方法であって、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地）から回収することを含む、方法が提供される。

【0148】

抗Tau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。

【0149】

抗体をコードするベクターのクローニングまたは発現に好適な宿主細胞は、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Fcエフェクター機能が必要とされない場合に、細菌中で産生され得る。細菌中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。（*E. coli*中での抗体断片の発現を記載する、Charlton, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254もまた参照されたい）。発現後、抗体は、可溶性画分中で細菌細胞ペーストから単離されてもよく、更に精製されてもよい。

【0150】

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、これらには、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、真菌及び酵母株が含まれる。Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004)、及びLi et al., *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006)を参照されたい。

【0151】

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*Spodoptera frugiperda*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。

【0152】

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PLANTIBODIES（商標）技術を記載）を参照されたい。

【0153】

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、SV40 (COS-7) によって形質転換されたサル腎臓CV1株、ヒト胚性腎臓株（例えば、Graham et al., *J. Gen. Virol.* 36:59 (1977) に記載される293または293細胞）、ベビーハムスター腎臓細胞 (BHK)、マウスセルトリ細胞（例えば、Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980) に記載されるTM4細胞）、サル腎臓細胞 (CV1)、アフリカミドリザル腎臓細胞 (VERO-76)、ヒト子宮頸部癌細胞 (HELA)、イヌ腎臓細胞 (MDCK)、バッファローラット肝臓細胞 (BRL3A)、ヒト肺細胞 (W138)、ヒト肝臓細胞 (Hep G2)、マウス乳房腫瘍 (MMT060562)、例えば、Mather et al., *Annals N. Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982) に記載されるTRI細胞、MRC5細胞、及びFS4細胞である。他の有用な哺乳動物宿主細胞株としては、DHFR⁻CHO細胞を含むチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞 (Urlaub et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980)) ならびにY0、NS0、及びSp2/0などの骨髓腫細胞株が挙げられる。抗体産生に好適な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

， T o t o w a ， N J ） ， p p . 2 5 5 - 2 6 8 （ 2 0 0 3 ） を参照されたい。

【 0 1 5 4 】

C. アッセイ

本明細書に提供される抗 T a u 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、スクリーニング、または特性評価することができる。

【 0 1 5 5 】

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、E L I S A、ウェスタンブロットなど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。

【 0 1 5 6 】

別の態様において、競合アッセイを使用して、T a u 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。特定の実施形態において、そのような競合抗体は、3 7 D 3 - H 9、h u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4、h u 3 7 D 3 - H 9 . v 7 6、h u 3 7 D 3 - H 9 . v 8 3、または h u 3 7 D 3 - H 9 . v 9 3 によって結合される、同じエピトープ（例えば、線状または立体構造エピトープ）に結合する。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、M o r r i s （ 1 9 9 6 ） “ E p i t o p e M a p p i n g P r o t o c o l s , ” i 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 . 6 6 （ H u m a n a P r e s s , T o t o w a , N J ） に提供される。

【 0 1 5 7 】

例示的な競合アッセイにおいて、固定化された T a u （モノマー T a u など）は、T a u に結合する第 1 の標識された抗体（例えば、h u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4 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 T a u 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 T a u 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。T a u に対する第 1 の抗体の結合を許容する条件下でインキュベートした後、過剰な未結合抗体を除去し、固定化された T a u に関連する標識の量を測定する。固定化された T a u 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 T a u 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。H a r l o w a n d L a n e （ 1 9 8 8 ） A n t i b o d i e s : A L a b o r a t o r y M a n u a l c h . 1 4 （ C o l d S p r i n g H a r b o r L a b o r a t o r y , C o l d S p r i n g H a r b o r , N Y ） を参照されたい。

【 0 1 5 8 】

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 T a u （例えば、p a n - T a u ）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 T a u （例えば、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）に対するそのような抗体の結合、ならびに T a u 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 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、不溶性非リン酸化 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。

【 0 1 5 9 】

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、T a u トランスジェニックマウス（例えば、P 3 0 1 L）などのタウオパチーの動物モデルを使用して、脳切片に対する、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に対する、抗 T a u 抗体の結合を検出することができる。更に、T a u

10

20

30

40

50

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術を使用して、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）のレベルを低減させるかを評価することができる。

【0160】

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。

【0161】

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、 tc^{99m} 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、*mr i*としても知られる）のためのスピン標識を含み得る。

【0162】

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（SPDP）、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、Vittetta 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で標識された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. 52:127-131 (1992)、米国特許第5,208,020号）が使用されてもよい。

【0163】

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。

【0164】

10

20

30

40

50

E. 診断及び検出のための方法及び組成物

特定の実施形態において、本明細書に提供される抗 T a u 抗体のいずれも、生体試料中の T a u 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。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または組織を含む。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。

【0165】

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 T a u 抗体が提供される。更なる一態様において、生体試料中の T a u の存在の検出方法が提供される。特定の実施形態において、本方法は、T a u に対する抗 T a u 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 T a u 抗体と接触させることと、複合体が抗 T a u 抗体と T a u との間で形成される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 T a u 抗体と T a u と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 T a u 抗体と T a u と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、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。

【0166】

いくつかの実施形態において、例えば、T a u が患者の選択のためのバイオマーカーである場合、抗 T a u 抗体を使用して、抗 T a u 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 T a u （例えば、p a n - T a u ）抗体を使用して、対象が T a u タンパク質疾患もしくは障害を有するか、または対象が T a u 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）かを検出する。

【0167】

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、T a u タンパク質関連疾患もしくは障害、及び神経原線維変化また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また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、記憶容量、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 T a u 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、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。本発明の抗体を使用して診断され得る更なる非限定的な例示的な疾患及び障害としては、P A R T （原発性年齢関連タウオパチー）、変化優位型認知症、亜急性硬化性汎脳症、慢性外傷性脳症（C T E）、球状グリア封入体を伴う白質タウオパチー、レビー小体病（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、グアドループ型パーキンソン症（G u a d e l o u p e a n P a r k i n s o n i s m）、脳内鉄沈着を伴う神経変性、S L C 9 A 6 関連知的障害、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、本発明の抗体を使用して診断され得る障害は、ア

10

20

30

40

50

ルツハイマー病（AD）である。

【0168】

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、直接的に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（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など）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などが挙げられるが、これらに限定されない。

【0169】

F. 薬学的製剤

本明細書に記載される抗Tau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ipient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（insterstitial）薬物分散剤を更に含む。rHuPH20を含む特定の例示的な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される。

【0170】

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

10

20

30

40

50

されるものを含み、後者の製剤は、ヒスチジナー酢酸緩衝液を含む。

【0171】

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、好ましくは互い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の組み合わせで存在する。

【0172】

活性成分は、例えば、コアセルベーション技術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。そのような技術は、Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)に開示されている。

【0173】

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、例えば、フィルム、またはマイクロカプセルの形態である。

【0174】

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。

【0175】

G. 治療方法及び組成物

本明細書に提供される抗Tau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。

【0176】

一態様において、医薬品として使用するための抗Tau抗体が提供される。更なる態様において、Tau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Tau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糸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Tau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Tau抗体が提供される。抗Tau抗体で治療され得る治療され得る例示的なTau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、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、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。抗Tau抗体で治療され得る治療され得る更なる例示的なTauタンパク質関連疾患または障害としては、PART（原発性年齢関連タウオパチー）、変位優位型認知症、亜急性硬化性汎脳症、慢性外傷性脳症（CTE）、球状グリア封入体に伴う白質タウオパチー、レビー小体病（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、グアドループ型パーキンソン症（Guadeloupean Parkinsonism）、脳内鉄沈着を伴う神経変性、SLC9A6関連知的障害、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が非限定的に挙げられる。いくつかの実施形態において、アルツハイマー病（AD）の治療に使用するための抗Tau抗体が本明細書に開示される。いくつかの実

10

20

30

40

50

施形態において、中程度のA β 、軽度～中程度のA β 、軽度のA β 、初期A β 、または前駆A β の治療に使用するための抗T α u抗体が本明細書に提供される。更に、抗T α u抗体で治療され得るT α 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、記憶容量、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。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 α u抗体が提供される。特定の実施形態において、本発明は、上記のT α 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 α u抗体を提供し、本方法は、有効量の抗T α 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。

10

【0177】

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MMSE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MMSEスコアを有する。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。

【0178】

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

20

【0179】

更なる実施形態において、本発明は、個体におけるT α uタンパク質（例えば、総T α u、総可溶性T α u、可溶性リン酸化T α u、総不溶性T α u、不溶性リン酸化T α u、高リン酸化T α u、または高リン酸化T α u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T α u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T α uのレベルの低減に使用するための抗T α u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T α u（例えば、不溶性リン酸化T α u）のレベルの低減に使用するための抗T α u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T α uのレベルの低減に使用するための抗T α u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T α u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T α u抗体を提供する。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T α uタンパク質（例えば、総T α u、総可溶性T α u、可溶性リン酸化T α u、総不溶性T α u、不溶性リン酸化T α u、高リン酸化T α u、または高リン酸化T α 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、有効量の抗T α u抗体を個体に投与して、T α uタンパク質のレベルを低減させることを含む、方法に使用するための抗T α u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。

30

40

【0180】

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T α uタンパク質（例えば、総T α u、総可溶性T α u、可溶性リン酸化T α u、総不溶性T α u、不溶性リン酸化T α u、高リン酸化T α u、または高リン酸化T α u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T α u抗体を提供する。

【0181】

更なる一態様において、本発明は、医薬品の製造または調製における抗T α u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、T α uタンパク質関連疾患また

50

は障害の治療のためのものである。T a u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糸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（A D）、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、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、P A R T（原発性年齢関連タウオパチー）、変化優位型認知症、亜急性硬化性汎脳症、慢性外傷性脳症（C T E）、球状グリア封入体を伴う白質タウオパチー、レビー小体病（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、グアドループ型パーキンソン症、脳内鉄沈着を伴う神経変性、S L C 9 A 6関連知的障害、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、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、記憶容量、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。更なる一実施形態において、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。

【0182】

更なる一実施形態において、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の低減のためのものである。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。

【0183】

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のための方法を提供する。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糸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のための方法を提供する。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、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方法を提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、P A R T（原発性年齢関連タウオパチー）、変化優位型認知症、亜急性硬化性汎脳症、慢性外傷性脳症（C T E）、球状グリア封入体を伴う白質タウオパチー、レビー小体病（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、グアドループ型パーキンソン症、脳内鉄沈着を伴う神経変性、S L C 9 A 6 関連知的障害、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疾患または障害の治療のための方法を提供する。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）の治療のための方法を提供する。特定の実施形態において、本発明は、推理力、状況判断力、記憶容量、学習、または空間進路決定などの、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。

【0184】

更なる一態様において、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）のレベルの低減のための方法を提供する。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のための方法を提供する。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。

【0185】

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のための方法、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つ以上の症状の緩和のための、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。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のための方法、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の低減のための、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。特定の一実施形態において、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。特定の一実施形態において、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。特定の一実施形態において、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。特定の一実施形態において、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、記憶容量、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。

【0186】

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のための方法、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のための方法、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、AD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。

10

【0187】

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のための方法、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、AD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。

20

【0188】

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のための方法、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、ADなど）の発症の予防のための、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リスクにある）個体に投与することを含む。

【0189】

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のための方法、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、ADなど）の発症の遅延のための、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。

30

【0190】

更なる一態様において、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。

40

【0191】

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投与されてもよい。

【0192】

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関連するアミロイド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

50

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。

【0193】

一般に、他の生物活性化合物は、ニューロンー伝達エンハンサー、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、生物活性剤または化合物は、酸化応力に対する化合物、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（3APS）、1,3-プロパンジスルホン酸（1,3PDS）、セクレターゼ活性化剤、ベーター及びガンマーセクレターゼ阻害剤、tauタンパク質、抗tau抗体（WO2012049570、WO2014028777、WO2014165271、WO2014100600、WO2015200806、US8980270、及びUS8980271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、ベーターシートブレイカー、抗炎症性分子、「非定型抗精神病剤」（例えば、クロザピン、ジブラスドン、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（acyetyl）-L-カルニチン、イデベノン、プロペントフィリン、もしくはキサンチン誘導体など）から選択される少なくとも1つの化合物を、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、ならびに疾患の治療の指示書とともに含み得る。

【0194】

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、ベータセクレターゼ、プレセニリン、アミロイド前駆体タンパク質またはその部分、アミロイドベータ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、ビ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、エンタカポン、セレギリン、プラミベキソール、プロモクリプテン、ロチゴチン、セレギリン、ロピニロール、ラサギリン、アポモルヒネ、カルビドパ、レボドパ、ペルゴリド、トルカポン、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（indomethicin）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）；ディメボリン（dimebolin）；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

10

20

30

40

50

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、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、及びトリウムシノロンアセトニドである。

【0195】

いくつかの実施形態において、1つ以上の抗アミロイドベータ（抗A beta）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 beta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、ガンテネルマブ、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つ以上のベータ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。非限定的な例示的なベータ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（Exebryl-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 Co., Ltd.）、AZD3293（LY3314814、AstraZeneca, Eli Lilly & Co.としても知られる）、MK-8931（ベルベセスタット（verubecestat））、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（ロイコーメチルチオニウムまたはTrx-0237、TauRx Therapeutics Ltd.としても知られる）、Rember（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。

【0196】

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。

【0197】

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「非定型抗精神病剤」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。

【0198】

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

10

20

30

40

50

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頁）、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頁を参照されたい）、ならびにプロドラッグ（９３及び９４頁）を含む、例えば、WO 2004/058258（特に１６及び１７頁を参照されたい）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。

【０１９９】

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じ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、それと同時に、及び／またはその後生じ得る。いくつかの実施形態において、抗T_{au}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。

【０２００】

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応じて、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、ボラス投与、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。

【０２０１】

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、及び上記に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じ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。

【０２０２】

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、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応じて、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１μg/kg～１５mg/kg（例えば、０．１mg/kg～１０mg/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日投薬量は、上記に言及される要因に応じて、約１μg/kg～１００mg/kg以上の範囲であり得る。病態に応じ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。抗体の例示的な投薬量は、約０．０５mg/kg～約１０mg/kgの範囲内であるだろう。したがって、約０．５mg/kg、２．０mg/kg、４．０mg/kg、もしくは１０mg/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

10

20

30

40

50

、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、従来の技術及びアッセイによって容易に監視される。

【0203】

上記の製剤または治療方法のいずれも、抗T a u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。

【0204】

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む製造品が提供される。製造品は、容器と、容器上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などが挙げられる。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、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、選択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、または別の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（B W F I）、リン酸緩衝食塩水、リンガー溶液、及びデキストロー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。

【0205】

上記の製造品のいずれも、抗T a u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。

【0206】

III．実施例

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。

【0207】

実施例1：免疫化のためのT a uの生成

モノマー組み換えT a uの生成

組み換えヒトT a u構築物、2N4Rアイソフォーム（アミノ酸2-441）をN末端H i s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p E T 5 2 bベクター（Novagen）へとクローニングし、E . c o l i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℃で攪拌しながら、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H i s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H i s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H i s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% (v/v) のTriton x-114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でのUV吸光によって、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セート (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 (<0.5 EU/mg)。

【0208】

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、0.5 μM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。

【0209】

モノマーTauのインビトロオリゴマー化

モノマーTau2-441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、20mM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)、25mM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。

【0210】

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% (v/v) 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ポド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。

【0211】

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。

【0212】

CpG及びAl (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 μ Lの各注射は、60 μ g (30 nmol) のCpG、1mgのAl、及び50 μ g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せずに、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 μ g) を追加でワクチン接種した。

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Tau 用量 (μ g/注射)	アジュバント	ワクチン接種経路
A	C57BL/6	50	CpG/Al	皮下
B	C57BL/6	50	Ribi	皮下
C	Balb/c	50	CpG/Al	皮下
D	Balb/c	60	CpG/Al	踵関節+腹腔内
E	Balb/c	5	CpG/Al	皮下
F	Balb/c	50	Ribi	皮下
G	Tauノックアウト	10	Ribi	踵関節+腹腔内

【0213】

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、殺し、脾細胞を骨髄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。

【0214】

サブクロ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10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、299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、その後、以下に記載される完全長ヒトTau及びオリゴTau結合のためのELISAアッセイを使用して、最良のハイブリドーマをサブクロ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中で成長させ、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。

【0215】

ELISA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。その後、目的とされる抗体を含有する上清をELISA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。ELISAアッセイを使用して、以下、完全長ヒトTau (fLTau, SignalChem, Canada) への結合、高リン酸化fLTau (Genentech, USA) への結合、fLTauのオリゴマー対モノマー調製物への結合、及び特定の抗体Tauエпитープ (複数可) への結合を決定した。簡潔には、96ウェルのMaxisorp ELISAプレート (Nunc, Denmark) 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. ELISAスクリーニングアッセイに使用した標的。

10

20

30

40

50

アッセイ	E L I S A 設定	標的
f l T a u への結合	直接 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	直接 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	直接 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 個のアミノ 酸 (a a) のオフセット及び 6 a a の重複を有す る、ヒト T a u の 4 4 1 a a に及ぶ、ビオチン標識 された 1 5 アミノ酸長のペプチド
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

10

20

【0216】

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、その後、37℃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。その後、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、37℃で 2 時間インキュベートしてから、プレートを既に記載したように洗浄した。

30

【0217】

直接 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、37℃で 2 時間添加した。最終洗浄後、プレートを p - ニトロフェニルリン酸二ナトリウム六水和物 (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。

【0218】

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、500 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、その後、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 e r l a n d) のシグナル定量化のために、ストレプトアビジン - H R P 及び A B T S 基質を使用した。結果を O . D . として表す。

40

【0219】

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、B i a c o r e T - 1 0 0 機

50

器 (G E H e a l t h c a r e , U n i t e d K i n g d o m) 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 I g G バイオセンサチップ上に固定化し、f l T a u (S i g n a l C h e m , C a n a d a) 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。

【0220】

S D S - P A G E アッセイ及びウェスタンブロットアッセイ

ヒト脳内での、T a u に対する選択した p a n T a u 抗体の結合を、3 人の A D ドナー及び 2 人の同年齢の非 A D 対照ドナーに由来する脳ライセート (T i s s u e S o l u t i o n s , U n i t e d K i n g d o m) を使用して、ウェスタンブロット (W B) で試験した。ライセートをプロセッシングして、無洗剤可溶性 T a u 画分を得た。プロセッシングしたライセートを 4 ~ 12 % のビスートリスゲル (N o v e x , L i f e T e c h n o l o g i e s , S w i t z e r l a n d) に充填し、I m m o b i l o n P V D F 膜上に移し、それとともに試験される抗体及び I R D y e 800 C W ヤギ抗マウス二次抗体 (L i - C o r , U S A) でブロットした。

【0221】

ヒト脳ライセートを使用する E L I S A アッセイ

A D 及び対照脳ライセート中での、非変性ヒト T a u に対する選択された抗体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。その後、A D 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 μ g/mL のタンパク質、全て T i s s u e S o l u t i o n s , U n i t e d K i n g d o m から) 中の T a u を捕捉し、ポリクローナルウサギ p a n T a u 抗体 (A b C a m , U n i t e d K i n g d o m) 、その後、F c - γ 断片特異的抗ウサギ I g G - A P (J a c k s o n I m m u n o R e s e a r c h , U S A) を使用して、検出を実行した。T a u 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 p N P P (S i g m a - A l d r i c h) 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 405 nm で読み取った。結果を光学濃度 (O . D .) として表す。

【0222】

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 A n t i t o p e (A n t i t o p e , U n i t e d K i n g d o m) に供給した。簡潔には、I g G 可変重鎖 (V H) 、I g M V H 、I g カップ可変軽鎖 (K V L) 、及び I g λ V L の各々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、R T - P C R を実行した。I g M または I g G 特異的定常領域プライマーのいずれかとともに、V H シグナル配列に特異的な 6 つの縮重プライマープール (H A ~ H F) の組を使用して、重鎖 V 領域 m R N A 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 クラスター (K A ~ K G) のもの、1 つは λ クラスター (L A) のもの) の組を使用して、軽鎖 V 領域 m R N A を増幅した。成功した増幅から得られた P C R 産生物を精製し、「T A」クローニングベクター (p G E M - T E a s y , P r o m e g a) へとクローニングし、E . c o l i へと形質転換し、個々のコロニーを配列決定した。抗体 V H 及び V L 領域のヌクレ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。

【0223】

結果

サブクローニングのためのハイブリドーマの選択

3 巡の融合の各々から生成されたハイブリドーマ (10 回の融合に由来する合計 299 個のハイブリドーマ) を、まず f l T a u 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 p T a u 及びオリゴマー化 T a u への結合について追加でアッセイした。この目的は、T a u 及び翻訳後修飾された T a u (リン酸化またはオリゴマー T a u 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 p a n T a u 特性を選択した。抗体結合領域及び特異的 T a u エピトープを決定するために、まず異なる T a u 断片、その後、最長のヒト T a u アイソフォームの全 4 4 1 個のアミノ酸 (a a) 配列に及ぶ、1 5 アミノ酸長の重複 T a u 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 T a u、及びヒトに存在する 6 つ全ての異なるヒト T a u アイソフォームへの結合を最大化する目的で、T a u の所定の領域に結合する抗体の群を意図的に回避した。

【0 2 2 4】

3 連の融合は、1 3 3 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 p a n T a u 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、p a n T a u 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。f l T a u 及び p T a u 結合を比較するために、9 0 個のハイブリドーマをアッセイし、2 4 個のハイブリドーマの結果を図 1 A ~ F に示す。最初のスクリーニングは、アルツハイマー病 (A D) 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 T a u の領域に結合する抗体の選択を回避するために、T a u 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 E L I S A によって決定されるものと同様の結合特性で、f l T a u 及び p T a u の両方に結合した。

【0 2 2 5】

いくつかの実施形態において、p a n T a u 抗体が、一方または他方に対する強い優先度なく、T a u 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 E L I S A を設定して、抗体が f l T a u 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を決定した。捕捉モードで実行した E L I S A は、予備オリゴマー化 T a u のオリゴマー立体構造、及びモノ T a u のモノマー状態を、標的が E L I S A プレート上に固定化される直接 E L I S A として実行した場合よりも、良好に保存する。

【0 2 2 6】

試験される 9 0 個全ての抗体に対する 2 つの形態の T a u の結合を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 T a u への好ましい結合を有することが知られる抗体、または T a u 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。1 8 個のハイブリドーマの結果を、図 2 A ~ E に示す。

【0 2 2 7】

高密度の潜在的な p T a u 残基 (S e r、T h r、及び T y r) 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 p a n T a u 特性を有する抗体の選択にとって重要である。ヒト T a u の 6 つ全てのアイソフォームへの結合もまた、p a n T a u 抗体の選択基準として使用した。最初に選択された抗体の p a n T a u エピトープを、各々がヒト T a u の完全長に及ぶ 1 5 個のアミノ酸 (a a) (6 a a 残基の重複及び 9 a a のオフセットを有する) を有する、4 9 個のペプチドのライブラリを使用して、改善された精度で検証し、決定した。残基数は、ヒト T a u の最長のアイソフォーム (4 4 1 a a) に基づく。1 / 1 0 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 E L I S A によって選択した 1 1 2 個のハイブリドーマからの抗体のスクリーニングは、2 0 個の異なる T a u エピトープへの結合を示した (表 4)。

表 4 : 抗体の T a u エピトープ

10

20

30

40

50

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	1 1 8 - 1 3 2

10

20

30

40

50

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

【0228】

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 4 6 個の抗体を測定し、 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。32 個の抗体の結果を表 5 に示し、抗体は f l T a u への親和性に基づいて順位付けした。f l T a u への親和性について測定された抗体のうち、22 個の抗体が 20 nM よりも良好な親和性を有し、そのうち 14 個の抗体が 5 nM 未満の K_D を有し、抗体 37 D 3 - H 9 が 1 nM の K_D (親和性) を有した。

表 5 : f l T a u への親和性

10

20

30

40

50

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

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

【0229】

6つ全てのヒトT a uのアイソフォームに対する、選択された抗体の結合を検証するために、S D S - P A G Eに6つ全てのアイソフォームを含有する組み換えT a uラダーを泳動させ、3つの選択されたT a u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p a n T a u抗体が、6つ全てのT a u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ADドナーと対照ドナーとの間の帯域パターンにおいて観察される差異は、AD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。

【0230】

ヒトアルツハイマー病 (AD) 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追加で泳動させて、ヒト脳内におけるT a uへの結合を検証した。2人のAD対象及び2人の非AD同年齢対照対象に由来する、可溶性T a uについてプロセッシング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)。

【0231】

27個のハイブリドーマ (Antitope, United Kingdom) について、抗体可変鎖配列を決定した。特定の重鎖及び軽鎖可変ドメインならびに超可変領域 (HVR) のタンパク質配列を、配列表に示す。

【0232】

実施例3：特性評価抗T a u抗体

遺伝子合成、及び結果として生じるDNAの、マウスIgG2a（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
 CHO細胞及び293T細胞内で発現させ、親和性樹脂MabSelectSure（G
 E Healthcare Life Sciences）で精製した。マウスIgG捕捉
 キット及びSeries S CM5チップを使用するBiacore T200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、Tau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。10mMのHEPES（pH7.4）、150mMのNaCl、0.05%のTween20（泳動緩衝液、HBSP）中に希釈したmIgG2a形
 式の抗体を、10μl／分の流量を使用して、1μg／mlの濃度で30もしくは45秒
 間（抗体26C1、94B2-C1、52F6-F11.v1、52F6-F11.v2
 、11E10-B8、55E7-F11、125B11-H3、123E9-A1、30
 G1-B2、66F5-A1、89F4-A1、93A8-D2、及び126F11-G
 11）、または0.1μg／mlの濃度で70もしくは150秒間（抗体19H6-F7
 、3A4-H4、54C1-H11、及び37D3-H9）捕捉した。30μl／分の流
 量と、抗体26C1及び94B2では16、31、63、125、125、250、及び
 500nM、抗体52F6-F11.v1及び52F6-F11.v2では16、31、
 63、125、125、250、500、及び1000nM、抗体11E10-B8、5
 5E7-F11、及び125B11-H3では6、19、56、56、167、及び50
 0nM、抗体123E9-A1、30G1-B2、66F5-A1、89F4-A1、9
 3A8-D2、及び126F11-G11では5、16、49、148、148、444
 、1333、及び4000nM、19H6-F7では0.4、1.6、6.3、2.5、
 100、及び400nM、ならびに3A4-H4、54C1-H11、及び37D3-H
 9では0.2、0.8、4、4、20、及び100nMの濃度とを使用して、HBSP中
 のTau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180～4
 80秒間及び300～600秒間監視した。高い親和性（表6）及びCDR中のNXS/
 Tグリコシル化モチーフの不在のため、抗体37D3-H9を更なる分析のために選択し
 た。

表6：ヒトTau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。

10

20

30

40

50

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}

【0233】

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 5 CM5チップに共有結合的にカップリングし、約128RUのレベルの固定化をもたらした。各々300秒間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の直接的な結合を監視した。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。

【0234】

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、Vκ2、及びVκ1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番号付けシステム)のマウス残基を含んだ。Vκ2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。Vκ1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 S CM5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180秒間及び600秒間監視した。結果に、1:1の結合モデルを適用した(表7)。

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

10

20

30

40

50

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

【0235】

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）。

40

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

50

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

【0236】

YTE (M252Y/S254T/T256E) 変異を、特定のIgG4抗体に組み込んだ。M252Y、S254T、及びT256E (YTE) などのFc受容体新生児 (FcRn) 結合ドメイン変異が、FcRn結合を増加させ、したがって、抗体の半減期を増加させることが記載されている。米国公開特許出願第2003/0190311号及びDall'Acqua et al., J. Biol. Chem. 281:23514-23524 (2006) を参照されたい。

20

【0237】

抗体125B11-H3を、VH3及びVk1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、78位 (Kabatt番号付けシステム) のマウス残基を含んだ。Vk1移植片は、フレームワーク43位及び87位のマウス残基を含んだ。113F5-F7の軽鎖もまた、フレームワーク43位及び87位の追加のマウス残基を有して、Vk1フレームワーク上にヒト化した。ヒト化変異形重鎖 (125B11) ならびに軽鎖 (125B11及び113F5-F7) を、複数の組み合わせで同時トランスフェクトし、上記の96ウェル形式で精製した。その後、BiacoreヒトIgG捕捉キット、Series S CM5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。40 µl/分の流量で、HBSP中の0、100、及び500 nMのヒトTauモノマーの会合及び解離を、それぞれ180秒間及び300秒間監視した。結果に、1:1の結合モデルを適用した (表9)。

30

表9：表面プラズモン共鳴による、125B11-H3及び113F5-F7ヒト化変異形のスクリーニング

40

50

K _D のスクリーニング (nM)		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	—	—

* T a uモノマーへの最小結合。

N T、試験せず。

【0 2 3 8】

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 番号付けシステム)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ように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

10

20

30

40

50

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}

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

10

20

30

40

50

K _D のスクリーニング (nM)		9 4 B 2 軽鎖ヒト化変異形：							
		L C 9	L C 10	L C 11	L C 12	L C 13	L C 14	L C 15	L C 16
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	§

* 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。

【0239】

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 mM の酢酸緩衝液 (pH 5.5) またはリン酸緩衝液 (pH 7.4) へと緩衝液交換し、1 mg / ml の濃度に希釈した。1 ml の試料に 40 °C で 2 週間応力をかけ、2 番目を対照として -70 °C で保管した。その後、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 (LC) - 質量分析法 (MS) 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、LC 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、MS において取得した。抽出イオンクロマトグラム (XIC) を、± 10 ppm 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。その後、対照 (t = 0) 試料と応力をかけた (t = 2 週間) 試料と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。

【0240】

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、 $40^{\circ} C$ で2週間インキュベートした。LC-MS/MSを使用して、 $N^{28} G^{29}$ モチーフの脱アミド化を測定した。 $t = 2$ 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。GE Biacore ヒト $I g G$ 捕捉キット及び Series S CM5 チップを使用する表面プラズモン共鳴 (Biacore) 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 HEPES ($p H 7.4$)、 $150 m M$ の NaCl、 0.05% の Tween 20 (泳動緩衝液、HBSP) 中、 $2 \mu g / m l$ まで希釈し、 $10 \mu l / 分$ 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。 $30 \mu l / 分$ の流量、300秒間の会合相、及び1800秒間の解離相を使用して、HBSP中、0、3.1、6.3、12.5、25、25、50、及び100 nM 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、 $10 \mu l / 分$ の3M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。「RI」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高いレベルで固定化されたものの、(パラメータ R_{max} 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_{max} 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約半分の総 $T a u$ 結合能力を示すようであった (正規化 R_{max} 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 $t = 2$ 週間の試料との間の 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: 表面プラズモン共鳴による、モノマー $T a u$ に対する、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 (RU)	R_{max} (RU)	正規化 R_{max} (= $R_{max} /$ リガンドレベル)	正規化 R_{max} の変化
対照 ($t = 0$)	102.9	47.7	0.46	該当なし
応力をかけたものの ($t = 2$ 週間)	146.8	30.2	0.21	$\frac{1}{5} 6\%$

【0241】

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_{max} 」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 (Bischoff R. & Kolbe H. V. J. (1994). J. Chromat. 5, 662, p261-278)、ヒトTauモノマーの親和性に対する、N²⁸をD²⁸ (変異形 hu37D3-H9. v5 N28D) で置換する影響を分析した。Biacore T200機器、GE BiacoreヒトIgG捕捉キット、及びCM5 Series Sチップを使用して、親和性を25℃で評価した。hIgGを、10mMのHEPES (pH7.4)、150mMのNaCl、0.05%のTween20 (泳動緩衝液、HBSP) 中、2µg/mlまで希釈し、10µl/分の流量で22秒間捕捉した。30µl/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、HBSP中、0、6.3、12.5、25、25、50、100、200、及び400nMの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。サイクル間に、10µl/分での3M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。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、hu37D3-H9. v5及びhu37D3-H9. v5. 3 (本明細書においてhu37D3-H9. v5 N28Dとも呼ばれる) 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、「RI」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13に示す。

【0242】

計算されたhu37D3-H9. v5 N28D変異形のK_Dは、同じ条件下で分析したhu37D3-H9. v5の 1.5×10^{-9} M (平均、n=4の実験内決定) と比較して、 160×10^{-9} Mであった。したがって、N²⁸のD²⁸への転換は、親和性の100倍超の低減を引き起こした。hu37D3-H9. v5 N28D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、N²⁸変異形とD²⁸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_{max}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hu37D3-H9. v5及びhu37D3-H9. v5 N28DのTau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Tau結合プロファイルと比較した。hu37D3-H9. v5単独と比較して、hu37D3-H9. v5とhu37D3-H9. v5 N28Dとの1:1の混合物は、正規化R_{max}の45%の低減をもたらした (表13)。本発明者らは、熱応力時の正規化R_{max}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して結論付けた。したがって、本発明者らは、正規化R_{max}の変化を使用して、hu37D3-H9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。

表13: hu37D3-H9. v5の熱応力時、及びhu37D3-H9. v5と期待される脱アミド化産生物hu37D3-H9. v5 N28Dとの混合時に観察される正規化R_{max}の変化

試料	K_D (nM)	R_{max} (RU)	基準と比較した、正規化 R_{max} 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 及び 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 週間	1 . 5	3 3 . 4	5 4 %	応力をかけた 試料

* 正規化 $R_{max} = R_{max} (RU) / \text{リガンドレベル} (RU)$ 。基準抗体の正規化 $R_{max} = 0.33$ (4 つの実験内決定の平均、標準偏差 < 0.01)。

【0243】

抗体の最適化及び選択

90 個の 37D3-H9 変異形を Biacore 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、G29A 変異を含有する二重変異、それらを水素結合残基へと機能的に置換し得る Asn-28 及び Tyr-32 の二重変異、ならびに元の 37D3-H9 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、33、及び 93 の全ての想定される並べ替えを含んだ。加えて、Asn-28 残基の親和性または安定性に影響を与えない、残基 1 が Asp または Glu である文脈において変異を試験した。

【0244】

96 ウェル形式で、Exp i 293 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 MCA96 ヘッドを有する Tecan freedom EVO200 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 Mab Select SuRe 樹脂 (Glygen Corp & GE Healthcare) 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 IgG を捕捉した。1 × PBS (pH 7.4) で洗浄した後、IgG を 160 μL の 50 mM リン酸 (pH 3) 中

に溶出させ、 $12\mu\text{L}$ の $20\times\text{PBS}$ ($\text{pH}11$) で中和した。MabSelect Sure先端カラムを 0.1M の NaOH 中で取り除き、 $1\times\text{PBS}$ ($\text{pH}7.4$) で再生させて、最大15回連続使用した。Hamilton Star液体ハンドリングロボットを使用して、96ウェル形式の精製された抗体を $0.1\text{mg}/\text{mL}$ に正規化した。「応力前」試料を約 4°C で維持し、「応力後」試料をPCR機械内、 40°C 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」抗体調製物で、変異形の機能的安定性を比較した。GE BiacoreヒトIgG捕捉キット及びBiacore T200機器を使用して生成された、ヒト抗体捕捉CM5 Series Sチップを使用して、抗体を評価した。 15 秒間の注入時間及び $10\mu\text{L}/\text{分}$ の流量を使用して、 $2\mu\text{g}/\text{mL}$ まで希釈した抗体を固定化した。 $40\mu\text{L}/\text{分}$ の流量使用時、 25°C 、 0nM 、 26.5nM 、及び 265nM でのTauモノマーへの結合を、 180 秒間の会合相の間、その後、 300 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、 10mM のHEPES ($\text{pH}7.4$)、 150mM の NaCl 、 0.05% のTween20 (HBSP) 中に泳動させた。BIAevaluation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8A~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、IgG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Tau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_{max} の値に反映されるという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_{max} 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_{max} は、「リガンドレベル」(hIgG捕捉ステップ中に捕捉されたRUを表す評価結果、単位=RU)によって導き出される実験的 R_{max} (単位=RU)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_{max} (応力後)を正規化 R_{max} (応力前)で割ったものとして計算される。

【0245】

選択された抗体を、CHO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。その後、抗体に $1\text{mg}/\text{mL}$ で2週間応力をかけ、DTT還元によるRCMトリプシンペプチドマッピング、IAAキャッピング、及び $\text{pH}8.2$ 消化を使用して、LC-MS/MSによって脱アミド化分析した。結果(表14)は、変異形hu37D3-H9.v28.A4が、 $\text{N}^{28}\text{G}^{29}\text{N}^{30}$ モチーフ上、脱アミド化に対する感受性の低減を有したことを示した。残基はAsn-28残基のすぐ近くに位置しておらず(図9)、F33L変異がいかにAsn-28を安定化し得るのかが明らかではないため、hu37D3-H9.v28.A4の脱アミド化の低減は予想外であった。

表14：脱アミド化の応力試験におけるhu37D3-H9.v28.A4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	酢酸緩衝液中 4 0℃、pH 5 . 5	1 6 . 5 %
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 5	h I g G 1	酢酸緩衝液中 4 0℃、pH 5 . 5	1 1 %
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4	h I g G 1	酢酸緩衝液中 4 0℃、pH 5 . 5	N ²⁸ : 2 . 8 % N ³⁰ : 0 . 2 %
		PBS 中 3 7℃、 pH 7 . 4	N ²⁸ : 5 . 3 % N ³⁰ : 判定せず
	h I g G 4 . S 2 2 8 P . Y T E	酢酸緩衝液中 4 0℃、pH 5 . 5	N ²⁸ : 0 % N ³⁰ : 0 %
		PBS 中 3 7℃、 pH 7 . 4	N ²⁸ : 1 0 . 4 % N ³⁰ : 2 . 0 %

【0246】

実施例6：ヒト化抗Tau抗体選択及び特性評価

抗体選択及び特性評価：ヒトTauタンパク質への結合

Biacore T200機器、GE BiacoreヒトIgG捕捉キット、及びCM5 Series Sチップを使用して、選択された抗体の親和性を25℃で評価した。hIgGを、10mMのHEPES (pH 7.4)、150mMのNaCl、0.05%のTween 20 (泳動緩衝液、HBSP) 中、0.25 µg/mlまで希釈し、10 µl/分の流量で150秒間捕捉した。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、HBSP中、0、0.4、1.2、3.7、11、11、33、及び100 nMの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。サイクル間に、10 µl/分での3MのMgClの2回連続の30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15)。

表15：選択されたヒト化抗Tau抗体変異形の動態データ

10

20

30

40

50

抗体	アイソタイプ	K_D (nM)	k_{on} ($1/Ms$)	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	$6 . 7 \times 10^{-5}$	$1 . 3 \times 10^{-3}$

【0247】

抗体特性評価：h I g G 4 . S 2 2 8 P . Y T E 形式のヒト 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 25℃ で評価した。h I g G を、10mM の H E P E S (pH 7 . 4)、150mM の N a C l、0 . 05% の T w e e n 2 0 (泳動緩衝液、H B S P) 中、0 . 5 μ g / ml まで希釈し、10 μ l / 分の流量で 180 秒間捕捉した。30 μ l / 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、H B S P 中、0、0 . 4、1 . 2、3 . 7、11、11、33、及び 100 nM 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、10mM のグリシン (pH 2 . 1) の 2 回連続の 60 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 16 に示す。

表 16 : 表面プラズモン共鳴による、モノマーヒト 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} ($1/Ms$)	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}

【0248】

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 25℃ で評価した。h I g G を、10mM の H E P E S (pH 7 . 4)、150mM の N a C l、0 . 05% の T w e e n 2 0 (

泳動緩衝液、HBSP) 中、 $2\mu\text{g}/\text{mL}$ まで希釈し、 $10\mu\text{L}/\text{分}$ の流量で15秒間捕捉した。1.2~100nM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。 $30\mu\text{L}/\text{分}$ 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、 $10\mu\text{L}/\text{分}$ の流量で、3M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: ヒト化抗Tau抗体のモノマーカニクイザルTauに対する親和性

抗体	リガンドレ ベル (RU)	Rmax (RU)	K_D (nM)	k_{on} ($1/\text{Ms}$)	k_{off} ($1/\text{s}$)
hu37D3. v28.A4	113.9	62.6	0.7	1.7×10^5	1×10^{-3}
hu37D3. v28.F1	126.9	61.2	1.3	1.2×10^5	2×10^{-3}
hu37D3. v28.A12	162.6	85.2	1.0	1.7×10^5	2×10^{-3}
hu37D3. v29.2	168.6	86.0	1.4	1.7×10^5	2×10^{-3}
hu37D3- H9.v5	125.1	55.5	0.6	1.5×10^5	1×10^{-3}
hu37D3- H9.v1	130.2	51.7	0.8	2.0×10^5	1×10^{-3}

【0249】

ヒト化抗体hu37D3.v28.A4及びhu37D3.v28.F1もまた、リン酸化Tau(pTau)に結合する。

【0250】

実施例7: 抗Tau抗体の薬物動態

インビボでの抗Tau 37D3-H9 mIgG2a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、 $10\text{mg}/\text{kg}$ の用量で単回静脈内(IV)または腹腔内(IP)ボラス注射を投与した。用量後最大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。

【0251】

マウス血漿中の投薬された抗体の濃度を、マウス抗muIgG2a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muIgG2a-ビオチン複合体、及びその後、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、 $1.56 \sim 200\text{ng}/\text{mL}$ の標準的曲線範囲、及び $0.16\mu\text{g}/\text{mL}$ 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。

【0252】

図10は、抗Tau 37D3-H9 mIgG2aの薬物動態分析の結果を示す。抗Tau 37D3-H9 mIgG2a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 $6.31\text{mL}/\text{日}/\text{kg}$

gであった。

【0253】

インビボでの抗T a u 94B2-C1 mI g G 2 a及び抗t a u 125B11-H3 mI g G 2 aの薬物動態を評価するために、意識のあるC57BL/6マウスに、10mg/kgの用量で抗体の単回腹腔内ボラス注射を投与した。用量後最大28日目までの様々な時点で、血漿試料を収集して、抗T a u抗体濃度を決定した。

【0254】

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、1:100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、及びその後、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、0.78~100ng/mLの標準的曲線範囲、及び0.078μg/mL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、1:10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、0.078~10ng/mLの標準的曲線範囲、及び0.0008μg/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(L T R)として報告した。

【0255】

それらの実験の結果を図16及び17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 94B2 mI 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16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4.06mL/日/kg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7.53mL/日/kgであった。これらの結果は、抗体が、それがその標的を認識する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 125B11-H3 mI 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た。図17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4.96mL/日/kg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4.90mL/日/kgである。

【0256】

表18は、マウスにおける抗T a u抗体37D3-H9、94B2-C1、及び125B11-H3の薬物動態パラメータを示す。

表18：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 (μg/mL)	A U C i n (μg/mL*日)	C Lまたは C L / F (mL/日/kg)
37D3-H9	静脈内 腹腔内	一般的 一般的	185 107	1590 1680	6.31 6.76
94B2-C1	腹腔内 腹腔内	一般的 特異的	151 141	2460 1330	4.06 4.91
125B11-H3	腹腔内 腹腔内	一般的 特異的	127 151	2020 2040	4.96 4.90

【0257】

インビボでのh u 37D3. v 28. A4 h I g G 4. S 228P抗体及びh u 37

D3.v28.A4 hIgG4-S228P.YTE 抗体の薬物動態を評価するために、カニクイザル (*Macaca fascicularis*) (意識のあるサル) に、1 mg/kg の用量で単回静脈内ボラス注射を投与した。用量後最大49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。

【0258】

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IgG抗体コートを使用して一般的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、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IgGを添加することによって終了した。アッセイは、0.156~20 ng/mLの標準的曲線範囲、及び0.02 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。

【0259】

図11は、hu37D3.v28.A4 hIgG4.S228P及びhu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P.YTEの薬物動態分析の結果を示す。図11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19は、カニクイザルにおけるhu37D3.v28.A4 hIgG4.S228P及びhu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P.YTEの薬物動態パラメータを示す。

表19：カニクイザルにおけるhu37D3.v28.A4 hIgG4.S228P及びhu37D3.v28.A4 hIgG4-S228P.YTEの薬物動態パラメータ

抗体	アッセイ	Cmax (µg/mL)	AUCinf (日* µg/mL)	CL (mL/日/kg)	Vss (mL/kg)
抗gDhlgG4	一般的	34.6	386	2.66	55.5
hu37D3.v28.A4 hIgG4.S228P	一般的 特異的	35.7 ± 2.59 35.4 ± 1.37	559 ± 209 419 ± 89	1.97 ± 0.743 2.47 ± 0.581	71.9 ± 16.0 60.8 ± 3.49
hu37D3.v28.A4 hIgG4.S228P.YTE	一般的 特異的	34.5 ± 5.23 33.5 ± 2.72	578 ± 43.5 520 ± 39.0	1.74 ± 0.125 1.93 ± 0.139	60.5 ± 1.87 56.5 ± 4.90

【0260】

実施例8：抗Tau抗体の更なるエピトープ特性評価

ビオチン標識されたTauモノマー及びビオチン標識されたペプチド (MAPT_10-24) に対する37D3-H9の結合の比較後、追加のビオチン標識されたペプチドへの37D3-H9の結合もまた、評価した。Nunc maxisorpの96ウェルマイクロプレート、4°Cで12時間超、50mMの炭酸ナトリウム緩衝液 (pH9.6) 中2 µg/mLに希釈したNeutravidin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Superblock（商標）（PBS）遮断緩衝液（Thermo Fisher Scientific）で2時間遮断し、その後、PBS、0.05%のポリソルベート20で徹底的に洗浄した。その後、1 μ g/mlのビオチン標識されたTauペプチド（表20）またはAviタグでビオチン標識されたTauモノマーにウェルを1時間曝露し、既にあるように洗浄した。標準的固相Fmoc化学（例えば、Fmoc solid phase peptide synthesis: A practical approach; Chan, W. C., White, P. D., Eds.; Oxford University Press: New York, 2000を参照されたい）を使用してペプチドを合成した。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 mIgG2a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、Spectra Max 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 VMEDHAGTYGLG DRK	593
MAPT (2-34)	AEP RQEF E VMEDHAGTYGLG DRK DQG GY TMHQD	594
MAPT (10-44)	VMEDHAGTYGLGDRK DQG GY TMHQD QEGD TDAGLK	595

【0261】

その実験の結果を図12に示す。図12Aは、示されるペプチドに対する示される抗体の各々の結合を示す。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 mIgG2a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 mIgG2a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。

【0262】

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と同様の結合を断片9-23に対して示すことが見出され、断片7-21、8-22、及び11-

25に対する中程度の結合もまた示された。

【0263】

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Chamber Slide (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。

10

【0264】

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Chamber Slide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、一晩維持してから、組み換えtau及び抗体で処理した。

20

【0265】

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Slide Chamber (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。

【0266】

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

【0267】

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

【0268】

免疫細胞化学、撮像法、及び定量化

細胞をPBS中4%のparaホルムアルデヒドで15分間固定し、PBS中0.1%のTriton X-100で10分間透過処理した。10%のロバ血清を遮断に使用し、細胞を、4℃、PBS中で一次抗体とともに一晩インキュベートし、その後、ロバにおいて発達される適切な種(Invitrogen)に対するAlexa-フルオロフォアで標

50

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。

【0269】

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 20x/0.8M27対物レンズを使用して、0.98 µm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使用して、ノイズを低減した。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 µm) 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。

【0270】

α-Plan Apochromat 100x/1.46M27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。

【0271】

結果

この実験の結果を図13に示す。図13Aに示されるように、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。

【0272】

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

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tau 37D3-H9 WT IgG2a、3、10、または30mg/kgの抗tau 37D3-H9 DANG IgG2aのいずれかを、腹腔内 (i.p.) に投与した。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制する。全ての抗体投与溶液は、10mMのヒスチジン (pH 5.8)、6%のスクロース、0.02%のTween 20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。加えて、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。

【0273】

組織を採取するために、2.5%のトリブロモエタノール (25gの体重当たり0.5 ml) 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%

10

20

30

40

50

のパラホルムアルデヒド中に4℃で一晩固定し、その後、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、その後、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。

【0274】

MultiBrain (登録商標) ブロック (NeuroScience Associates, Knoxville, TN) 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、25 μm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MultiBrain (登録商標) ブロックの浮遊切片を既に記載されるように染色 (Le Pichon et al., 2013, PLoS One, 8 (4): e62342) したが、Tris緩衝食塩水の代わりにPBS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pTau212/214 (自家生成、0.01 μg/ml) 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IgG3、Bethyl A90-111B) を使用した。

【0275】

200×の拡大率で0.5 μm/ピクセルの解像度である、Leica SCN400 (Leica Microsystems, Buffalo Grove, IL) 全スライドスキャニングシステムを使用して、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 (ROI) を手作業で描き、これらのROI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。IHC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 (Le Pichon et al., 2013)。総正ピクセルをROI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 = $-\log$ (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。

【0276】

その実験の結果を図14に示す。抗tau 37D3-H9 WT IgG2aまたは抗tau 37D3-H9 DANG IgG2aの投与は、海馬内でpTau212/214の用量依存性の低減をもたらした。

【0277】

実施例11: ヒト化37D3-H9カップ1変異形

カップ1軽鎖を有するhu37D3-H9.v1に基づくヒト化抗体変異形を作製し、N²⁸安定性について試験した。hu37D3-H9.v1で試験した3つの変異形の軽鎖可変領域の整列を、図18に示す。3つの変異形の軽鎖可変領域は互いに異なり、hu37D3.v39は変異F33Lを含有し、hu37D3.v40は変異G29Tを含有し、hu37D3.v41は変異N30Qを含有する。

【0278】

抗体試料に以下のように熱応力をかけた。試料を、20 mMの酢酸ヒスチジン、240 mMのスクロース (pH 5.5) へと緩衝液交換し、1 mg/mlの濃度に希釈した。1 ml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。その後、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 (LC) -質量分析法 (MS) 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、LC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、MSにおいて取得した。抽出イオンクロマトグラム (XIC) を、±10 ppm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

10

20

30

40

50

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。その後、対照（ $t = 0$ ）試料と応力をかけた（ $t = 2$ 週間）試料と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。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

【 0 2 7 9 】

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 ° C 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。

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

	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 × 1 0 ⁵	1 ± 0 . 1 × 1 0 ⁻³
h u 3 7 D 3 . v 1 h I g G 4	2 . 3 ± 0 . 3	6 ± 0 . 2 × 1 0 ⁵	1 ± 0 . 1 × 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 × 1 0 ⁵	1 ± 0 . 0 2 × 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 × 1 0 ⁵	3 ± 0 . 0 2 × 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 × 1 0 ⁵	5 ± 0 . 3 × 1 0 ⁻³

【0280】

実施例12：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

インビボでのh u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 . S 2 2 8 P抗体及び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（Macaca fascicularis）に、第1相において50mg/kgの用量で単回静脈内ボラス注射を投与した。同様に50mg/kgの用量で、抗g D h I g G 4を対照として使用した。用量後最大35日目までの様々な時点で、血漿及びCSF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63～64日間回復させた。第2相において、第1相の15匹の動物+追加の3匹の動物を2つの群に分け、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、ともに50mg/kgで投与した。用量後2日目及び10日目に、1群当たり4または5匹の動物の脳を採取した。

【0281】

カニクイザル血漿、CSF、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、1：100の希釈度で開始して血漿試料を添加、1：20の希釈度で開始してCSF試料を添加、または1：10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、1Mのリン酸を使用して中和した。450/620nmで試料を読み取った。アッセイは、0.156～20ng/mLの標準的曲線範囲、ならびに血漿では0.02μg/mL、CSFでは0.003μg/mL、及びホモジネートでは0.002μg/mL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（LTR）として報告した。

【0282】

薬物動態分析の結果を、図19A（血漿）及び19B（CSF）、ならびに表23及び24に示す。抗治療抗体陽性（ATA+）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Fc領域へのY T E変異の導入が、約2倍だけ、抗体の末梢及びCSFクリアランス率を減速させたことを示す。

表23：単回静脈内ボラス用量後の平均（±標準偏差）血漿クリアランス及びC_{max}推定

抗体	血漿クリアランス (mL/日/kg)	C _{max} (μg/mL)
抗g D h I g G 4	1.67 ± 0.415	1950 ± 174
h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 . S 2 2 8 P	2.09 ± 0.229	1970 ± 144
h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E	1.12 ± 0.233	1850 ± 156

表24：単回静脈内ボラス用量後の平均（±標準偏差）CSF C_{max}推定

10

20

30

40

50

抗体	C_{max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
抗 g D h I g G 4	1.39 ± 0.751
h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 . S 2 2 8 P	0.910 ± 0.552
h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E	2.51 ± 1.93

10

【0283】

注射後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、その後、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。その後、ホモジナイズした脳試料を4℃で1時間回転させてから、14,000rpm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した。その実験の結果を図21A～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 よりも高い傾向にあった。

20

【0284】

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、K₂E 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 内の総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 と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159-224 (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、1.01pg/mLである。アッセイは、15.0mg/mL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 を許容する。

30

【0285】

薬力学的分析の結果を図20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20) 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。

【0286】

40

実施例13：カニクイザル脳内のh u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E の薬物動態及び薬力学

脳内の抗体薬物動態を評価するために、1群当たり12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、50mg/kg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射を投与した。同様に50mg/kgの用量で、抗 g D h I g G 4 を対照として使用した。用量後最大42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。加えて、最大42日目までの様々な時点で、2匹のサルを殺し、抗体の脳及びC S F 濃度を決定した。

【0287】

50

抗体濃度は、実施例 12 に実質的に記載されるように決定した。

【0288】

図 22A～B は、対数（A）及び直線（B）スケールでプロットした、用量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 25 は、脳濃度パラメータを示す。

表 25：単回静脈内ボラス用量後の、平均（±標準偏差）脳 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	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。

【0289】

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 23A～C 及び表 26～28 は、その分析の結果を示す。

表 26：単回静脈内ボラス用量後の、平均海馬 PK パラメータ推定

20

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

表 27：単回静脈内ボラス用量後の、平均小脳 PK パラメータ推定

30

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

表 28：単回静脈内ボラス用量後の、平均前頭皮質 PK パラメータ推定

40

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

【0290】

その実験の結果は、単回静脈内注射後の、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 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 を投薬した動物と比較し

50

て、抗体 $h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 \quad h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E$ を投薬した動物において、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、 $Y T E$ 抗体の投薬後、脳内でのより高いトラフ（終了時）濃度の維持を示唆する。

【0291】

経時的な $C S F$ 及び血漿中での抗体の濃度もまた、決定した。図 2 3 D（ $C S F$ ）及び 2 3 E（血漿）ならびに以下の表 2 9 及び 3 0 は、その分析の結果を示す。

表 2 9：単回静脈内ボラス用量後の、平均 $C S F$ $P K$ パラメータ推定

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

10

表 3 0：単回静脈内ボラス用量後の、平均血漿 $P K$ パラメータ推定

群	$C m a x$ ($\mu g / m l$)	$T m a x$ x 日数	$A U C a l l$ ($日 * \mu g / m l$)	終了時 (43日目) $\mu g / m L$
抗 $g D \quad h I g G 4$	0 . 1 7 5 $\pm$ 0 . 0 2	2	4 . 2 6 $\pm$ 0 . 3 5	3 6 . 3 $\pm$ 1 4 . 1
$h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 \quad h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E$	0 . 1 2 . $\pm$ 0 . 0 3	3	3 . 8 8 $\pm$ 0 . 8 9	8 9 . 4 $\pm$ 4 2 . 3

20

【0292】

再び、血漿及び脳薬物動態と同様に、抗 $g D$ を投薬した動物と比較して、抗体 $h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 \quad h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E$ を投薬した動物において、終了時点で、 $C S F$ 及び血漿中、約 2 倍の抗体濃度の増加が存在した。図 2 3 を参照されたい。

30

【0293】

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 $5 0 m g / k g$ 用量後の、抗体 $h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 \quad h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E$ 及び対照抗体の血漿薬力学を評価した。実施例 1 2 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 $T a u$ を定量化した。

【0294】

薬力学的分析の結果を図 2 4 A～B に示す。図 2 4 A は、ベースラインに対して正規化された平均総血漿 $T a u$ 濃度を示す。図 2 4 B 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 $T a u$ 濃度を示す。実施例 1 2 において観察された結果と同様に、抗体 $h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 \quad h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E$ の投与は、有意な血漿 $T a u$ 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望むものではないが、これらのデータは、 $h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 \quad h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E$ が脳内で $T a u$ に結合し、結果として $T a u$ 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、 $h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 \quad h I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E$ による脳内の標的結合と一貫する。

40

【0295】

実施例 1 4：抗体 $h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4$ の親和性成熟

スキニング変異誘発ライブラリのディープ配列決定によって、 $3 7 D 3 . v 2 8 . A$

50

4の親和性成熟を行った。各抗体鎖について1つずつ、2つのライブラリを設計し、任意のアミノ酸またはアンバー終止コドンコードするNNK(IUPACコード)コドンで重鎖または軽鎖可変領域内の選択された位置をランダム化した。この設計は、1つのクローン当たり抗体可変領域内に1つのアミノ酸変化のみを許容する。位置は、CDRに直接接触しているか、またはCDRの近くにあるCDR及びフレームワーク位置から選択された。軽鎖Kabat番号付け1~5、24~27、29~36、38、43、44、46~58、60、63~71、87、及び89~97、ならびに重鎖Kabat番号付け1、2、4、24~39、43、45~81、82a、82b、83、85、86、91、及び93~103をNNKコドンでランダム化した。28位をランダム化しなかった軽鎖クローンは、野生型Asnの代わりに28位にSerを有した。2つの異なるDNA断片を使用して、軽鎖の28位をランダム化した。一方のクローンはコドンVNKを有し、他方のクローンはNYKコドンに Tyr、Cys、Trp、及び終止コドンを除く任意のアミノ酸を許容した。DNA合成(GeneWiz)によってライブラリを作製し、軽鎖について60個及び重鎖について75個の独立した線状DNA断片を産生し、各断片内の1つの位置は、NNKコドンまたはVNK/NYK混合物でランダム化した。各鎖の線状DNA断片をプールし、一価Fab断片ファージ提示ベクターへとクローニングした(Lee CV et al., J. Immunol. Methods 284:119-132(2004))を参照されたい)。軽鎖ライブラリクローンは野生型重鎖可変領域を有した一方で、重鎖ライブラリクローンはN28S変異を有する軽鎖可変領域を有した。連結産生物をEscherichia coli XL-1へと電気穿孔し、M13 KO7ヘルパーファージ(New England Biolabs)で重感染させ、記載されるように成長させた(Koenig P et al., J. Biol. Chem. 290:21773-21786(2015))を参照されたい)。

【0296】

ELISAプレートに吸着したTauモノマータンパク質(1巡目)、またはヒトTauの残基2~24(ビオチン-PEG-AEPRQEFVMDHAGTYGLGDRK、配列番号624)を包含するN末端がビオチン標識されたペプチドの溶液(2及び3巡目)を使用して、3巡の連続選別を実行した。第1巡目に、ファージ(1OD₂₆₈/ml)を、周囲温度でTauでコーティングされたELISAプレートとともに2時間インキュベートした。第2及び第3巡目に、ファージ(5OD₂₆₈/ml)を、周囲温度で100nMのビオチン標識されたTauペプチドとともに2時間インキュベートし、その後、5倍に希釈し、ニュートラアビジン(Pierce)でコーティングされたELISAプレート上に10分間捕捉した。ファージ捕捉及び洗浄後、捕捉されたファージを含有するウェルを結合緩衝液(PBS、0.5%のウシ血清アルブミン)とともに更に20分間インキュベートすることによって、第3巡目に厳密性を増加させた。その後、洗浄ステップを反復した。0.1Mの塩酸とともにインキュベートすることによって、ファージをELISAプレートから溶出させ、Escherichia coliの感染、その後、M13 KO7ヘルパーファージ(New England Biolabs)での重感染によって増殖させた。次世代配列決定によって分析を容易にするために、3巡目に直前に記載される選択と並行して「偽」選択を実行した。陰性対照または基準試料を提供することが意図される「偽」選択は、直前に記載される3巡目と同じであるが、ビオチン標識されたペプチドの添加を省略した方法を使用して実行した。

【0297】

個々のコロニーのサンガー配列決定によって、初期結果を得た。

【0298】

加えて、ファージ増幅に使用したEscherichia coli XL-1集団からプラスミドDNAを抽出した。Phusion DNAポリメラーゼ(New England Biolabs)を使用する18サイクルPCR増幅、その後、増幅産物のアガロースゲル精製によって、挿入物を増幅した。既に記載されるように、Illumina配列決定によって、増幅産物を配列決定した(Koenig P., et al. (2015

) . J . B i o l . C h e m . 2 9 0 , 2 1 7 7 3 - 2 1 7 8 6) 。 P C R プライマー配列を使用して、かつ親配列よりも長いもしくは短い配列、または可変領域内に2つ以上のコード変異を含有する配列を除去することによって、配列を濾過した。1つの集団における所与の位置での所与の変異の頻度を、第2の集団における全く同じ変異の頻度で除することによって、濃縮比率を計算した。以下の略称を使用して、集団を命名した。

R 0 - 未選別のライブラリ

R 2 - 1 0 0 n M のビオチン標識されたペプチドを使用する2巡目の選択に由来するファージ

R 3 - 1 0 0 n M のビオチン標識されたペプチドを使用する3巡目の選択に由来するファージ

R 3 M - 3 巡目の「偽」選択に由来するファージ

【0299】

個々または組み合わせのいずれかで、選択された変異を h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 可変ドメイン上に移し、合成し、I g G 哺乳動物細胞発現ベクターへとクローニングした。場合によっては、選択された変異を、h u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 とは異なるようにヒト化されている可変ドメイン上に移した。上記のファージ提示手順によって特定される変異を含有する別のヒト化抗体の例としては、h u 3 7 D 3 - H 9 . v 7 6、h u 3 7 D 3 - H 9 . v 8 3、及び h u 3 7 D 3 - H 9 . v 9 3 が挙げられる。

【0300】

一過性トランスフェクションによって重鎖及び軽鎖プラスミドを E x p i 2 9 3 細胞内で発現させ、樹脂 M a b S e l e c t S u R e (G E L i f e S c i e n c e s) を有する親和性クロマトグラフィーを使用して上清から I g G を精製した。表面プラズモン共鳴を使用して、精製された I g G をヒト T a u モノマーに対する結合について分析した。簡潔には、B i a c o r e T 2 0 0 機器を使用して、S e r i e s S C M 5 S e n s o r C h i p 及びヒト I g G 捕捉キット (G E L i f e S c i e n c e s) を使用して生成されたヒト I g G 捕捉チップ上に抗体を捕捉した。捕捉された抗体を溶液中のヒト T a u モノマーに曝露し、会合相及び解離相を監視した。B i a c o r e E v a l u a t i o n ソフトウェアを使用して1:1の結合モデルを動態データにフィットさせることによって、親和性を計算した。

【0301】

h u 3 7 D 3 - H 9 . v 7 6、h u 3 7 D 3 - H 9 . v 8 3、及び h u 3 7 D 3 - H 9 . v 9 3 と、親 h u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4 との軽鎖及び重鎖可変領域の比較を、図 2 5 A ~ B に示す。黒色の陰影は、親和性成熟抗体と親抗体との間で異なるアミノ酸を示す。

【0302】

親和性成熟 h u 3 7 D 3 - H 9 . v 7 6、h u 3 7 D 3 - H 9 . v 8 3、及び h u 3 7 D 3 - H 9 . v 9 3 抗体を、それらとヒト及びカニクイザル組み換え T a u モノマーとの一価相互作用について評価した。

【0303】

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 S e r i e s S C M 5 S e n s o r C h i p を使用して、37℃でヒト及びカニクイザル T a u への親和性を測定した。抗体を、泳動緩衝液 H B S - E 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、1 m M の E D T A、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15秒間捕捉した。3 0 μ l / 分の流量、3 0 0 秒間の接触時間、及び 9 0 0 秒間の解離時間を使用して、各々に 0、0 . 1、0 . 4、1 . 2、3 . 7、1 1 . 1、及び 3 3 . 3 n M で注射したヒト及びカニクイザル T a u モノマーの結合のデータを収集した。サイクル間に、3 M の塩化マグネシウムの注入で、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。

【0304】

10

20

30

40

50

図26Aは、h u 3 7 D 3 - H 9 . v 7 6 抗体のヒト T a u モノマーへの親和性データを提示し、各曲線は、異なる抗体濃度を表す。図26Bは、カニクイザル (c y n o) T a u モノマーについてのこれらのデータを提示する。親和性精製 h u 3 7 D 3 - H 9 . v 7 6、h u 3 7 D 3 - H 9 . v 8 3、及び h u 3 7 D 3 - H 9 . v 9 3 抗体は各々、表31に示されるように、ヒト及びカニクイザル T a u モノマーの両方について 37℃ で 0 . 1 n M の K_D を有した。並行実験において、親 h u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4 抗体は、5 ~ 8 n M の K_D を有した（データ示さず）。

表31：h u 3 7 D 3 親和性成熟抗体の親和性測定

	ヒト T a u モノマー			カニクイザル T a u モノマー		
	K_D (n M)	k_a (1 / M s)	k_d (1 / s)	K_D (n M)	k_a (1 / M s)	k_d (1 / s)
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 7 6	0 . 1	$6 . 9 4 \times 10^6$	$8 . 9 2 \times 10^{-4}$	0 . 1	$9 . 2 7 \times 10^6$	$1 . 1 4 \times 10^{-3}$
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 8 3	0 . 1	$6 . 1 9 \times 10^6$	$8 . 1 8 \times 10^{-4}$	0 . 1	$9 . 5 5 \times 10^6$	$1 . 1 4 \times 10^{-3}$
h u 3 7 D 3 - H 9 . v 9 3	0 . 1	$6 . 8 9 \times 10^6$	$1 . 0 2 \times 10^{-3}$	0 . 1	$1 . 2 9 \times 10^7$	$1 . 7 8 \times 10^{-3}$

【0305】

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、それらの全体が参照により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)	A E P R Q E F E V M E D H A G T Y G L G D R K
4	カニクイザル T a u エピトープ (2 - 2 4)	A E P R Q E F D V M E D H A G T Y G L G D R K
1 0	3 7 D 3 - H 9 重鎖可変領域 (V H)	EVQLVESGGD LAKPGGSLKL SCTASGLIFR SYGMSWVRQT PDKRLEWVAT INSGGTYTYY PDSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMSSLKSED TAMYYCANSY SGAMDYWGQG TSVTVSS
1 1	3 7 D 3 - H 9 軽鎖可変領域 (V L)	DDLLTQTPLS LPVSLGDPAS ISCRSSQSIV HSNNGNTYFEW YLQKPGQSPK LLIYKVSNRFS SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQGSLVP WTFGGGTKLE IK
1 2	3 7 D 3 - H 9 H V R - H 1	S Y G M S
1 3	3 7 D 3 - H 9 H V R - H 2	T I N S G G T Y T Y Y P D S V K G
1 4	3 7 D 3 - H 9 H V R - H 3	S Y S G A M D Y
1 5	3 7 D 3 - H 9 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G N T Y F E
1 6	3 7 D 3 - H 9 H V R - L 2	K V S N R F S
1 7	3 7 D 3 - H 9 H V R - L 3	F Q G S L V P W T
2 0	3 7 D 3 - H 9 b 重鎖可変領域 (V H)	EVQLVESGGD LAKPGGSLKL SCTASGLIFR SYGMSWVRQT PDKRLEWVAT INSGGTYTYY PDSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMSSLKSED TAMYYCANSY SGAMDYWGQG TSVTVSS
2 1	3 7 D 3 - H 9 b 軽鎖可変領域 (V L)	EDLLTQTPLS LPVSLGDPAS ISCRSSQSIV HSNNGNTYFEW YLQKPGQSPK LLIYKVSNRFS SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQGSLVP WTFGGGTKLE IK
2 2	3 7 D 3 - H 9 b H V R - H 1	S Y G M S
2 3	3 7 D 3 - H 9 b H V R - H 2	T I N S G G T Y T Y Y P D S V K G
2 4	3 7 D 3 - H 9 b H V R - H 3	S Y S G A M D Y

10

20

30

40

50

2 5	3 7 D 3 - H 9 b H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G N T Y F E
2 6	3 7 D 3 - H 9 b H V R - L 2	K V S N R F S
2 7	3 7 D 3 - H 9 b H V R - L 3	F Q G S L V P W T
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 TAMYCAVSY DGAMDYWGQG TSVTVSS
3 1	1 1 E 1 0 - B 8 軽鎖可変領域 (V L)	DVLTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSIV HSNNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYKVS NRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGL YYCFQGSHVP WTFGGGTKLE IK
3 2	1 1 E 1 0 - B 8 H V R - H 1	S Y G M S
3 3	1 1 E 1 0 - B 8 H V R - H 2	T I S G G G S Y T Y Y P D S V K G
3 4	1 1 E 1 0 - B 8 H V R - H 3	S Y D G A M D Y
3 5	1 1 E 1 0 - B 8 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G N T Y L E
3 6	1 1 E 1 0 - B 8 H V R - L 2	K V S N R F S
3 7	1 1 E 1 0 - B 8 H V R - L 3	F Q G S H V P W T
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 TAMYCASSY 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 HSNNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYTVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQGSHVP WTFGGGTKLE IK

10

20

30

40

50

4 2	5 4 C 1 - H 1 1 及 6 1 E 7 - C 4 H V R - H 1	S Y G M S
4 3	5 4 C 1 - H 1 1 及 6 1 E 7 - C 4 H V R - H 2	T I S S G G N Y T Y Y P D S V K G
4 4	5 4 C 1 - H 1 1 及 6 1 E 7 - C 4 H V R - H 3	S Y S G A M D Y
4 5	5 4 C 1 - H 1 1 及 6 1 E 7 - C 4 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G N T Y L E
4 6	5 4 C 1 - H 1 1 及 6 1 E 7 - C 4 H V R - L 2	T V S N R F S
4 7	5 4 C 1 - H 1 1 及 6 1 E 7 - C 4 H V R - L 3	F Q G S H V P W T
5 0	3 A 4 - H 4 重 鎖可變領域 (V H)	EVQLVESGGD LVKPGGSLKL SCAASGFTFS SYGMSWVRQT PDKRLEWVAT ISSGGTYTTY PDSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMSSLKSED TAMYFCATSY DGAMDYWGQG TSVTVSS
5 1	3 A 4 - H 4 輕 鎖可變領域 (V L)	DVLTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQNIV HSNGNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYKVS NRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLG VYYCFQGTLPV WTFGGGTKLE IK
5 2	3 A 4 - H 4 H V R - H 1	S Y G M S
5 3	3 A 4 - H 4 H V R - H 2	T I S S G G T Y T Y Y P D S V K G
5 4	3 A 4 - H 4 H V R - H 3	S Y D G A M D Y
5 5	3 A 4 - H 4 H V R - L 1	R S S Q N I V H S N G N T Y L E
5 6	3 A 4 - H 4 H V R - L 2	K V S N R F S
5 7	3 A 4 - H 4 H V R - L 3	F Q G T L V P W T

10

20

30

40

50

6 0	1 9 H 6 - F 7 重鎖可変領域 (V H)	EVQLVESGGD LVKPGGSLKL SCAASGFTFS SYGMSWVRQT PDKRLEWVAT ISSGGTYTY Y PDSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMSLLKSED TAMYCAPSY DGAMDYWGQG TSVTVSS
6 1	1 9 H 6 - F 7 軽鎖可変領域 (V L)	DVLTMTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSIV HSNNGNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYKVS NRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQGSLVP WTFGGGKLE IK
6 2	1 9 H 6 - F 7 H V R - H 1	S Y G M S
6 3	1 9 H 6 - F 7 H V R - H 2	T I S S G G T Y T Y Y P D S V K G
6 4	1 9 H 6 - F 7 H V R - H 3	S Y D G A M D Y
6 5	1 9 H 6 - F 7 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G N T Y L E
6 6	1 9 H 6 - F 7 H V R - L 2	K V S N R F S
6 7	1 9 H 6 - F 7 H V R - L 3	F Q G S L V P W T
7 0	9 4 B 2 - C 1 重鎖可変領域 (V H)	EVQLQQSGPE LVKPGASMKI SCKASGYSLT GYTMNWVKQS 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 ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW LLQRPQGSPK RLIYLVSKLD SGVPDRFTGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCWQGT HFP WTFGGGKLE IK
7 2	9 4 B 2 - C 1 H V R - H 1	G Y T M N
7 3	9 4 B 2 - C 1 H V R - H 2	L I S P Y N G V T S Y N Q K F K G
7 4	9 4 B 2 - C 1 H V R - H 3	Q G A Y
7 5	9 4 B 2 - C 1 H V R - L 1	K S S Q S L L D S D G K T Y L N
7 6	9 4 B 2 - C 1 H V R - L 2	L V S K L D S
7 7	9 4 B 2 - C 1 H V R - L 3	W Q G T H F P W T
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 VYLQMN LRA EDTGIYYCTG GTTYWGQGT 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

10

20

30

40

50

8 2	1 2 5 B 1 1 – H 3 H V R – H 1	N Y W M N
8 3	1 2 5 B 1 1 – H 3 H V R – H 2	Q I R L K S D N Y A T H Y A E S V K G
8 4	1 2 5 B 1 1 – H 3 H V R – H 3	G T T Y
8 5	1 2 5 B 1 1 – H 3 H V R – L 1	K A S Q N V G T A V A
8 6	1 2 5 B 1 1 – H 3 H V R – L 2	S A S I R Y T
8 7	1 2 5 B 1 1 – H 3 H V R – L 3	Q Q F R T Y P Y T
9 0	1 1 3 F 5 – F 7 重鎖可変領域 (V H)	EVKLEESGGG LVQPGGSMRL SCVASEFTFS NYWMNWIRQS PEKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYAESVKGRE TISRNASNFS VYLQMNLR A EDTGIYYCTG GTSYWGQGT LTVSS
9 1	1 1 3 F 5 – F 7 軽鎖可変領域 (V L)	DIVMTQSQKI MSTSVGDRVS ITCKASQNVG TAVAWYQQR GHSPKLLIYS ASRRFSGVPD RFTGSGSGTD FTLTIINVQS EDLADYFCQQ FSTYPYTFGV GTKLEIK
9 2	1 1 3 F 5 – F 7 H V R – H 1	N Y W M N
9 3	1 1 3 F 5 – F 7 H V R – H 2	Q I R L K S D N Y A T H Y A E S V K G
9 4	1 1 3 F 5 – F 7 H V R – H 3	G T S Y
9 5	1 1 3 F 5 – F 7 H V R – L 1	K A S Q N V G T A V A
9 6	1 1 3 F 5 – F 7 H V R – L 2	S A S R R F S
9 7	1 1 3 F 5 – F 7 H V R – L 3	Q Q F S T Y P Y T

10

20

30

40

50

1 0 0	2 6 C 1 - B 1 1 重鎖可変領域 (V H)	EVHLQQSGAE LVRSGASVKL SCTASGFNIK DYYMYWVKQR PEQGLEWIGW IDPENGDEY FPKFQGKATM TADTSSKTAY LQLSSLTSED TAVYYCNAWR ARATNSALDY WGQGTSVTVS S
1 0 1	2 6 C 1 - B 1 1 軽鎖可変領域 (V L)	DVVMQTPTLT LSVTIGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW LLRRPGQSPK RLIYLVSKLD SGVPDRFTGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCWQGTTHFP WTFGGGTKLE IK
1 0 2	2 6 C 1 - B 1 1 H V R - H 1	D Y Y M Y
1 0 3	2 6 C 1 - B 1 1 H V R - H 2	WIDPENGDE YFPKFQG
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	L V S K L D S
1 0 7	2 6 C 1 - B 1 1 H V R - L 3	W Q G T H F P W T
1 1 0	2 6 C 1 - C 8 重鎖可変領域 (V H)	EVHLQQSGAE LVRSGASVKL SCTASGFNIK DYYMYWVKQR PEQGLEWIGW IDPENGDEY FPKFQGKATM TADTSSKTAY LQLSSLTSED TAVYYCNAWR ARATNSALDY WGQGTSVTVS S
1 1 1	2 6 C 1 - C 8 軽鎖可変領域 (V L)	DVVMQTPTLT LSVTIGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW LLRRPGQSPK RLIYLVSKLD SGVPDRFTGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCWQGTTHFP WTFGGGTKLE IK
1 1 2	2 6 C 1 - C 8 H V R - H 1	D Y Y M Y
1 1 3	2 6 C 1 - C 8 H V R - H 2	WIDPENGDE YFPKFQG
1 1 4	2 6 C 1 - C 8 H V R - H 3	WRARATNSAL DY
1 1 5	2 6 C 1 - C 8 H V R - L 1	KSSQSLLDSD GKTYLN
1 1 6	2 6 C 1 - C 8 H V R - L 2	L V S K L D S
1 1 7	2 6 C 1 - C 8 H V R - L 3	W Q G T H F P W T

10

20

30

40

50

1 2 0	3 0 G 1 - B 2 重鎖可変領域 (V H)	QVQLQQSGAE LVRPGASVTL SCKASGYTFT DYEMYWVKQT PVHGLEWIGA IDPETGDTAY NQKFKGKATL TADKSSNTAY MELRSLTSED SAVYYCIRQY GNWFPYWGQG TLVTVSA
1 2 1	3 0 G 1 - B 2 軽鎖可変領域 (V L)	DVMTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSLV HANGNTYLHW FLQKPGLSPK LLIYKVSNR F SGVPDRFSGG GSGTDFTLKI TRLEAEDLGV YFCSQSTHVP FTFGSGTKLE IK
1 2 2	3 0 G 1 - B 2 H V R - H 1	D Y E M Y
1 2 3	3 0 G 1 - B 2 H V R - H 2	A I D P E T G D T A Y N Q K F K G
1 2 4	3 0 G 1 - B 2 H V R - H 3	Q Y G N W F P Y
1 2 5	3 0 G 1 - B 2 H V R - L 1	R S S Q S L V H A N G N T Y L H
1 2 6	3 0 G 1 - B 2 H V R - L 2	K V S N R F S
1 2 7	3 0 G 1 - B 2 H V R - L 3	S Q S T H V P F T
1 3 0	6 6 F 5 - A 1 重鎖可変領域 (V H)	QVQLQQSGAE LVRPGASVTL SCKASGYTFI DYEMNWVKQT PVHGLEWIGA IDPENGGTAY NQKFKGKAIV TADKSSSTAY MELRSLTSED SAVYYCSGPH FDYWGQGTTL TVSS
1 3 1	6 6 F 5 - A 1 軽鎖可変領域 (V L)	DIVMTQSPSS LAMSVGQKVT MSCKSSQSLL NSSTQKNYLA WYQQKPGQSP KLLVYFASTR ESGVPDRFIG GSGTDFTLT ISSVQAEDLA DYFCQQHYST PYTFGGGTKL EIK
1 3 2	6 6 F 5 - A 1 H V R - H 1	D Y E M N
1 3 3	6 6 F 5 - A 1 H V R - H 2	AIDPENGGTAY YNQKFKG
1 3 4	6 6 F 5 - A 1 H V R - H 3	P H F D Y
1 3 5	6 6 F 5 - A 1 H V R - L 1	KSSQSLLNSS TQKNYLA
1 3 6	6 6 F 5 - A 1 H V R - L 2	F A S T R E S
1 3 7	6 6 F 5 - A 1 H V R - L 3	Q Q H Y S T P Y T
1 4 0	1 2 3 E 9 - A 1 重鎖可変領域 (V H)	EVQLQQSGPE LVKPGASVKM SCKASGYTFT DYYMKWVKQS HGKSLEWIGD IDPNNGGTSY NQKFKGKATL TVDKSSSTAY MQLNSLTSED SAVYYCARSA GFGDSFSFWG LGTLVTVSA
1 4 1	1 2 3 E 9 - A 1 軽鎖可変領域 (V L)	DVLTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSIV HSNGNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYKVSNR F SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGF YYCFQGSHPV PTFGGGTKLE IK

10

20

30

40

1 4 2	1 2 3 E 9 - A 1 H V R - H 1	D Y Y M K
1 4 3	1 2 3 E 9 - A 1 H V R - H 2	D I D P N N G G T S Y N Q K F K G
1 4 4	1 2 3 E 9 - A 1 H V R - H 3	S A G F G D S F S F
1 4 5	1 2 3 E 9 - A 1 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G N T Y L E
1 4 6	1 2 3 E 9 - A 1 H V R - L 2	K V S N R F S
1 4 7	1 2 3 E 9 - A 1 H V R - L 3	F Q G S H V P P T
1 5 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 GYGDSFAYWG QGTLVTVSA
1 5 1	1 5 C 6 - A 7 軽鎖可変領域 (V L)	DVLMTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQNIV HSNNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYKVSNNRF SGVPDKFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YFCFQGSHVP PTFGGGTKLE IK
1 5 2	1 5 C 6 - A 7 H V R - H 1	D Y Y M K
1 5 3	1 5 C 6 - A 7 H V R - H 2	D L D P Y T G G A N Y N Q K F K G
1 5 4	1 5 C 6 - A 7 H V R - H 3	S R G Y G D S F A Y
1 5 5	1 5 C 6 - A 7 H V R - L 1	R S S Q N I V H S N G N T Y L E
1 5 6	1 5 C 6 - A 7 H V R - L 2	K V S N R F S
1 5 7	1 5 C 6 - A 7 H V R - L 3	F Q G S H V P P T
1 6 0	1 9 F 8 - B 1 重鎖可変領域 (V H)	EVQLQQSGPE LVKPGASVMM SCKASGYTFT DYMKWVKQS HGKSLEWIGD LNPNNGGTLY NQKFKGQATL TVDKSSSTAY MQFNLSLTSED SAVYYCARSA GYGDSFAYWG QGTLVTVSA
1 6 1	1 9 F 8 - B 1 軽鎖可変領域 (V L)	DVLMTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQNIV HSNNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYKVSNNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGI YFCFQGSHVP PTFGGGTKLE IK

10

20

30

40

50

1 6 2	1 9 F 8 - B 1 H V R - H 1	D Y Y M K
1 6 3	1 9 F 8 - B 1 H V R - H 2	DLNPNGGTL YNQKFKG
1 6 4	1 9 F 8 - B 1 H V R - H 3	S A G Y G D S F A Y
1 6 5	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	K V S N R F S
1 6 7	1 9 F 8 - B 1 H V R - L 3	F Q G S H V P P T
1 7 0	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 7 1	2 4 A 1 1 - D 5 軽鎖可変領域 (V L)	DVLTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQNIV HSNNGNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYKVSNNF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGI YFCFQGSHVP PTFGGGTKLE IK
1 7 2	2 4 A 1 1 - D 5 H V R - H 1	D Y Y M K
1 7 3	2 4 A 1 1 - D 5 H V R - H 2	DLNPKNGGII YNQKFKG
1 7 4	2 4 A 1 1 - D 5 H V R - H 3	S G G Y G D S F A Y
1 7 5	2 4 A 1 1 - D 5 H V R - L 1	RSSQNIVHSN GNTYLE
1 7 6	2 4 A 1 1 - D 5 H V R - L 2	K V S N R F S
1 7 7	2 4 A 1 1 - D 5 H V R - L 3	F Q G S H V P P T
1 8 0	1 2 6 F 1 1 - G 1 1 重鎖可変 領域 (V H)	EVQLQQSGAE LVRPGASVKL SCTASGFNIK DDYMHWVKQR PEQGLEWIGW IDPENGDEY ASKFQGGKATI TTDTSSTAY LQLSSLTSED TAVYYCLDFA YGYWGQGTTL TVSS
1 8 1	1 2 6 F 1 1 - G 1 1 軽鎖可変 領域 (V L)	DVLTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSIV HSNNGNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYKVSNNF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQGSHVP PAFGGGTKLE IK

10

20

30

40

50

1 8 2	1 2 6 F 1 1 - G 1 1 H V R - H 1	D D Y M H
1 8 3	1 2 6 F 1 1 - G 1 1 H V R - H 2	WIDPENGDT E YASKFQG
1 8 4	1 2 6 F 1 1 - G 1 1 H V R - H 3	F A Y G Y
1 8 5	1 2 6 F 1 1 - G 1 1 H V R - L 1	RSSQSIVHSN GNTYLE
1 8 6	1 2 6 F 1 1 - G 1 1 H V R - L 2	K V S N R F S
1 8 7	1 2 6 F 1 1 - G 1 1 H V R - L 3	F Q G S H V P P A
1 9 0	8 9 F 4 - A 1 重鎖可変領域 (V H)	EVQLVESGGG LVQPKGSLKL SCAASGFTFN TYAMNWVRQA PGKGLEWVAR IRSKSNYYAA YFADSVKDRF TISRDDSQTM LYLQMNNLKS EDTAMYCVS GGNYPFAYW GQGLTVTSA
1 9 1	8 9 F 4 - A 1 軽鎖可変領域 (V L)	NIMMTQSPSS LAVSAGEKVT MSCKSSQSVF YSSEQRNYLA WYQQKPGQSP KLLISWASTR ESGVPDRFTG SGSGTDFTLT ISSVQGEDLA VYYCHQYLSS FTFGSGTKLE IK
1 9 2	8 9 F 4 - A 1 H V R - H 1	T Y A M N
1 9 3	8 9 F 4 - A 1 H V R - H 2	RIRSKSNYYA AYFADSVKD
1 9 4	8 9 F 4 - A 1 H V R - H 3	G G N Y V P F A Y
1 9 5	8 9 F 4 - A 1 H V R - L 1	KSSQSVFYSS EQRNYLA
1 9 6	8 9 F 4 - A 1 H V R - L 2	W A S T R E S
1 9 7	8 9 F 4 - A 1 H V R - L 3	H Q Y L S S F T
2 0 0	9 3 A 8 - D 2 重鎖可変領域 (V H)	EVQLQQSGPV LVKPGASVKM SCKASGYTFT DYYVNWVKQS HGKGLEWIGL INPNNGRTSY NQNENDKATL TVDKSSSTAF MDLNSLTSED SAVYYCTREG GTGYWGQGT LSVSS
2 0 1	9 3 A 8 - D 2 軽鎖可変領域 (V L)	DVVMQTPLT LSVTIGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW LLQRPQGSPR RLIYLVSKLD SGVPDRFTGS GSGTDFTLKI SRVAEDLGV YYCWQGT HFP RTFGGSGTKLE IK

10

20

30

40

50

2 0 2	9 3 A 8 - D 2 H V R - H 1	D Y Y V N
2 0 3	9 3 A 8 - D 2 H V R - H 2	L I N P N N G R T S Y N Q N F N D
2 0 4	9 3 A 8 - D 2 H V R - H 3	E G G T G Y
2 0 5	9 3 A 8 - D 2 H V R - L 1	K S S Q S L L D S D G K T Y L N
2 0 6	9 3 A 8 - D 2 H V R - L 2	L V S K L D S
2 0 7	9 3 A 8 - D 2 H V R - L 3	W Q G T H F P R T
2 1 0	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 GQGTLLTVSA
2 1 1	1 4 F 5 - D 9 軽鎖可変領域 (V L)	DVVMQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSLV HSGNTYLHW YLQKPGQSPK LLIYKFVNR FSGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YFCSQSTLVP LTFGAGTKLE LK
2 1 2	1 4 F 5 - D 9 H V R - H 1	D F Y M E
2 1 3	1 4 F 5 - D 9 H V R - H 2	ASKNKANDYT TEYNASVKD
2 1 4	1 4 F 5 - D 9 H V R - H 3	D A L G T V F A Y
2 1 5	1 4 F 5 - D 9 H V R - L 1	RSSQSLVHSN GNTYLH
2 1 6	1 4 F 5 - D 9 H V R - L 2	K V F N R F S
2 1 7	1 4 F 5 - D 9 H V R - L 3	S Q S T L V P L T
2 2 0	7 3 H 6 - B 8 重鎖可変領域 (V H)	QVQLKESGPG LVAPSQSLSI TCTISGFSLT SYGVHWVRQP PGKGLEWLVV IWSDGSTTYN SALKSRLSIS KDNSKSQVFL KMNSLQTD DDT AMYYCARQGG FITTAYYAMD YWGQGSVTV SS
2 2 1	7 3 H 6 - B 8 軽鎖可変領域 (V L)	DIVMSQSPSS LAVSAGEKVT MSCKSSQSLV NSRTRKNYLA WYQQKPGQSP KLLIYWASTR ESGVPDRFTG GSGTDFTLT ISSVQAEDLA VYYCKQSYNL YTFGGGKLE IK
2 2 2	7 3 H 6 - B 8 H V R - H 1	S Y G V H
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

10

20

30

40

50

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	W A S T R E S
2 2 7	7 3 H 6 - B 8 H V R - L 3	K Q S Y N L Y T
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 LQINNLLKSED TASYFCGTAY YRYDGALDYW GQGTSTVTVSS
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 PVEEDTATY YCQHSWELPW TFGGGTKLEI K
2 3 2	2 2 G 7 - C 9 H V R - H 1	D C S I H
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	Y A S N L E S
2 3 7	2 2 G 7 - C 9 H V R - L 3	Q H S W E L P W T
2 4 0	7 A 1 1 - C 1 2 重鎖可変領域 (V H)	QIQLVQSGPD LKKPGETVKI SCKASGYTFT NYGMNWVKQA PGKGLKWMGW INTNTGEPTY AEEFKGRFAF SLETSASTAY LQIDNLKNE D TATYFCARGT VSFPYWGQGT LVTVSA
2 4 1	7 A 1 1 - C 1 2 軽鎖可変領域 (V L)	DVMSQTPLS LPVSLGDHAS ISCRSSQNLV HSDGNTYLHW YLQKPGQSPK LLIYKVS NRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLG V YFCSQSTHVI FTFGSGTKLE IK
2 4 2	7 A 1 1 - C 1 2 H V R - H 1	N Y G M N
2 4 3	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	G T V S F P Y
2 4 5	7 A 1 1 - C 1 2 H V R - L 1	RSSQNLVHSD GNTYLH

10

20

30

40

50

2 4 6	7 A 1 1 - C 1 2 H V R - L 2	K V S N R F S
2 4 7	7 A 1 1 - C 1 2 H V R - L 3	S Q S T H V I F T
2 5 0	1 2 A 1 0 - E 8 重鎖可変領域 (V H)	QIQLVQSGPE LKKPGETVKI SCKASGYTFT NYGMNWVKQA PGKGLKWMGW INMYTGEPTY GDDFKGRFVF SLETSVSTVY LQINNLLKKED TATFFCARGG RPDYWGQGT S VTVSS
2 5 1	1 2 A 1 0 - E 8 軽鎖可変領域 (V L)	DVLTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSIV HSNNGNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYKVENRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI NRVEAEDLGV YYCLQGSHPV YTFGGGTKLE IK
2 5 2	1 2 A 1 0 - E 8 H V R - H 1	N Y G M N
2 5 3	1 2 A 1 0 - E 8 H V R - H 2	WINMYTGEPT YGDDFKG
2 5 4	1 2 A 1 0 - E 8 H V R - H 3	G G R P D Y
2 5 5	1 2 A 1 0 - E 8 H V R - L 1	RSSQSIVHSN GNTYLE
2 5 6	1 2 A 1 0 - E 8 H V R - L 2	K V F N R F S
2 5 7	1 2 A 1 0 - E 8 H V R - L 3	L Q G S H V P Y T
2 6 0	5 5 E 7 - F 1 1 重鎖可変領域 (V H)	EVKLEESGGG LVQPGGSMKL SCVASGFTFS NYWMNWVRQS PEKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYAESVKGRF TISRDDSKSS VYLQMNLLRA EDTGIYYCAG YFYGGYFDVW GTGTTVTVSS
2 6 1	5 5 E 7 - F 1 1 軽鎖可変領域 (V L)	ELVLTQSPTT MAASPGKKIT ITCSASSSIS SNYLHWYQQK PGFSPKLLIY RTSNLAGVP ARFSGSGSGT SYSLTIGTME AEDVATYYCQ QGSSLPFTFG SGTKLEIK
2 6 2	5 5 E 7 - F 1 1 H V R - H 1	N Y W M N
2 6 3	5 5 E 7 - F 1 1 H V R - H 2	QIRLKSDNYA THYAESVKG

10

20

30

40

50

2 6 4	5 5 E 7 - F 1 1 H V R - H 3	Y F Y G G Y F D V
2 6 5	5 5 E 7 - F 1 1 H V R - L 1	SASSSISSNY LH
2 6 6	5 5 E 7 - F 1 1 H V R - L 2	R T S N L A S
2 6 7	5 5 E 7 - F 1 1 H V R - L 3	Q Q G S S L P F T
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	H Y W M H
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	A G N R V F D F
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	G T N N R A P
2 7 7	5 2 F 6 - F 1 1 H V R - L 3	A L W Y S N L W V
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 TLVTVSS
2 8 1	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 軽鎖 可変領域 (V L)	EDQLTQSPSS LSASVGDRVIT ITCRSSQSIV HSNNTYFEW YQQKPGKSPK LLIYKVSNRF SGVPSRFSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCFQGSLVP WTEGQGTKE IK

10

20

30

40

50

2 8 2	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 H V R - H 1	S Y G M S
2 8 3	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 H V R - H 2	T I N S G G T Y T Y Y P D S V K G
2 8 4	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 H V R - H 3	S Y S G A M D Y
2 8 5	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G N T Y F E
2 8 6	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 H V R - L 2	K V S N R F S
2 8 7	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 H V R - L 3	F Q G S L V P W T
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 SLSSVVTVP SSSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTPPVLD S DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSV MHE ALHNHYTQKS LSLSPGK
2 8 9	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 I g G 1 輕鎖	EDQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSIV HSNNGTYFEW YQQKPGKSPK LLIYKVS NRF SGVPSRFSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCFQGSLVP WTFGQGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPR EAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDYSTSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC
2 9 0	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 重鎖 可變領域 (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 輕鎖 可變領域 (V L)	EDVLTQTPLS LPVTPGQPAS ISCRSSQSIV HSNNGTYFEW YLQKPGQSPQ LLIYKVS NRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDGVV YYCFQGSLVP WTFGQGTKVE IK
2 9 2	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 H V R - H 1	S Y G M S
2 9 3	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 H V R - H 2	T I N S G G T Y T Y Y P D S V K G

10

20

30

40

50

2 9 4	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 H V R - H 3	S Y S G A M D Y
2 9 5	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G N T Y F E
2 9 6	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 H V R - L 2	K V S N R F S
2 9 7	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 H V R - L 3	F Q G S L V P W T
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 PGQGLEWIGL ISPYNGVTSY NQKFKGRATL TVDKSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARQG AYWGQGTIVT VSS
3 0 1	H u 9 4 B 2 . v 1 0 5 軽鎖可 変領域 (V L)	DIQMTQTPLS LPVTPGQPAS ISCKSSQSLD DSDGKTYLNW LLQKPGQSPQ RLIYLVSKLD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDGVV YVCWQGTHFP WTFGQGTKE IK
3 0 2	H u 9 4 B 2 . v 1 0 5 H V R - H 1	G Y T M N
3 0 3	H u 9 4 B 2 . v 1 0 5 H V R - H 2	L I S P Y N G V T S Y N Q K F K G
3 0 4	H u 9 4 B 2 . v 1 0 5 H V R - H 3	Q G A Y
3 0 5	H u 9 4 B 2 . v 1 0 5 H V R - L 1	K S S Q S L L D S D G K T Y L N
3 0 6	H u 9 4 B 2 . v 1 0 5 H V R - L 2	L V S K L D S
3 0 7	H u 9 4 B 2 . v 1 0 5 H V R - L 3	W Q G T H F P W T
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 GTTYWGQGTI VTVSS
3 1 1	h u 1 2 5 B 1 1 . v 1 7 軽鎖 可変領域 (V L)	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQNVG TAVAWYQQK GKSPKLLIYS ASIRYTGVP SRFSGSGSGTD FTLTISSLQ EDFATYFCQQ FRTYPTFGQ GTKVEIK

10

20

30

40

50

3 1 2	h u 1 2 5 B 1 1 . v 1 7 H V R - H 1	N Y W M N
3 1 3	h u 1 2 5 B 1 1 . v 1 7 H V R - H 2	Q I R L K S D N Y A T H Y A E S V K G
3 1 4	h u 1 2 5 B 1 1 . v 1 7 H V R - H 3	G T T Y
3 1 5	h u 1 2 5 B 1 1 . v 1 7 H V R - L 1	K A S Q N V G T A V A
3 1 6	h u 1 2 5 B 1 1 . v 1 7 H V R - L 2	S A S I R Y T
3 1 7	h u 1 2 5 B 1 1 . v 1 7 H V R - L 3	Q Q F R T Y P Y T
3 2 0	h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 6 重鎖 可変領域 (V H)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASRFIES NYWMNWVRQA PGKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYAESVKGRF TISRDN SKNT LYLOMNSLRA 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 TAVAWYQQK PKAPKLLIYS ASIRYTGVP S RFSGSGSGTD FTLTISSLQ P EDFATYFCQQ FRTYPYTFGQ GTKVEIK
3 2 2	h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 6 H V R - H 1	N Y W M N
3 2 3	h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 6 H V R - H 2	Q I R L K S D N Y A T H Y A E S V K G
3 2 4	h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 6 H V R - H 3	G T T Y
3 2 5	h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 6 H V R - L 1	K A S Q N V G T A V A
3 2 6	h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 6 H V R - L 2	S A S I R Y T
3 2 7	h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 6 H V R - L 3	Q Q F R T Y P Y T

10

20

30

40

50

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 - H 1	N Y W M N
3 3 3	h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 8 H V R - H 2	Q I R L K S D N Y A T H Y A E S V K G
3 3 4	h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 8 H V R - H 3	G T T Y
3 3 5	h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 8 H V R - L 1	K A S Q N V G T A V A
3 3 6	h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 8 H V R - L 2	S A S I R Y T
3 3 7	h u 1 2 5 B 1 1 . v 2 8 H V R - L 3	Q Q F R T Y P Y T
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 INSGGTYTYY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGOG TLVTVSS
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 HSNNGTYLEW YLQKPGQSPQ LLIYKVS NRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCFQGSLVP WTFGQGTKVE IK
3 4 2	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4 H V R - H 1	S Y G M S
3 4 3	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4 H V R - H 2	T I N S G G T Y T Y Y P D S V K G

10

20

30

40

50

3 4 4	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4 H V R - H 3	S Y S G A M D Y
3 4 5	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G N T Y L E
3 4 6	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4 H V R - L 2	K V S N R F S
3 4 7	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 2 8 . A 4 H V R - L 3	F Q G S L V P W T
3 4 8	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 LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTYTTY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSSAST 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 SLGK
6 0 2	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 LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTYTTY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSSAST 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 SLG
3 4 9	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 LPVTPGQFAS ISCRSSQSIV HSNGNTYLEW YLQKPGQSPQ LLIYKVSNR FSGVDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCFQGSLVP WTFGQGTKVE IKRTVAAPSV FIFFPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNREGC
4 4 2	h u 1 2 5 B 1 1 - H 3 . L C 1	DIQMTQSPSS LSASVGRVT ITCKASQNVG TAVAWYQQKP GKSPKLLIYS ASIRYTGVPF RFGSGSGSTD FTLTISSLQP EDFATYFCQQ FRTYPYTFGQ GTKVEIK

10

20

30

40

50

4 4 3	h u 1 2 5 B 1 1 - H 3 . L C 2	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQNVG TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS ASIRYTGVPs RFSGSGSGTD FTLTISLQp EDFATYFCQO FRTYPYTFGO GTKVEIK
4 4 4	h u 1 2 5 B 1 1 - H 3 . L C 3	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQNVG TAVAWYQQKP GKSPKLLIYS ASIRYTGVPs RFSGSGSGTD FTLTISLQp EDFATYYCOO FRTYPYTFGO GTKVEIK
4 4 5	h u 1 2 5 B 1 1 - H 3 . L C 4	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQNVG TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS ASIRYTGVPs RFSGSGSGTD FTLTISLQp EDFATYYCQO FRTYPYTFGO GTKVEIK
4 4 6	h u 1 2 5 B 1 1 - H 3 . H C 1	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASRFIFS NYWMNWVRQA PGKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYAESVKGRF TISRDDSKNT VYLQMNSLRA EDTAVYYCTG GTTYWGQGTl VTVSS
4 4 7	h u 1 2 5 B 1 1 - H 3 . H C 2	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASRFIFS NYWMNWVRQA PGKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYAESVKGRF TISRDNskNT VYLQMNSLRA EDTAVYYCTG GTTYWGQGTl 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 GTTYWGQGTl VTVSS
4 4 9	h u 1 2 5 B 1 1 - H 3 . H C 4	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASRFIFS NYWMNWVRQA PGKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYAESVKGRF TISRDNskNT LYLQMNSLRA EDTAVYYCTG GTTYWGQGTl 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 GTTYWGQGTl 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 GTTYWGQGTl VTVSS
4 5 2	H u 9 4 B 2 . H C 1	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSLT GYTMNWVRQA PGQGLEWIGL ISPYNGVTSY NQKFkGRATL TVDKSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARQG AYWGQGTlVT VSS
4 5 3	H u 9 4 B 2 . H C 2	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSLT GYTMNWVRQA PGQGLEWIGL ISPYNGVTSY NQKFkGRVTL TVDKSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARQG AYWGQGTlVT VSS
4 5 4	H u 9 4 B 2 . H C 3	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSLT GYTMNWVRQA PGQGLEWIGL ISPYNGVTSY NQKFkGRATI TVDKSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARQG AYWGQGTlVT VSS
4 5 5	H u 9 4 B 2 . H C 4	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSLT GYTMNWVRQA PGQGLEWIGL ISPYNGVTSY NQKFkGRATL TRDKSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARQG AYWGQGTlVT VSS
4 5 6	H u 9 4 B 2 . H C 5	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSLT GYTMNWVRQA PGQGLEWIGL ISPYNGVTSY NQKFkGRATL TVDTSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARQG AYWGQGTlVT VSS

10

20

30

40

50

4 5 7	H u 9 4 B 2 . H C 6	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSLT GYTMNWVRQA PGQGLEWIGL ISPYNGVTSY NQKFKGRVTI TVDKSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARQG AYWGQGTTLVT VSS
4 5 8	H u 9 4 B 2 . H C 7	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSLT GYTMNWVRQA PGQGLEWIGL ISPYNGVTSY NQKFKGRVTI TRDKSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARQG AYWGQGTTLVT VSS
4 5 9	H u 9 4 B 2 . H C 8	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSLT GYTMNWVRQA PGQGLEWIGL ISPYNGVTSY NQKFKGRVTI TVDTSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARQG AYWGQGTTLVT VSS
4 6 0	H u 9 4 B 2 . L C 9	DVVTMTQTPLS LPVTPGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW LLQKPGQSPQ RLIYLVSKLD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCWQGTTHFP WTFGQGTKVE IK
4 6 1	H u 9 4 B 2 . L C 1 0	DVVTMTQTPLS LPVTPGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW LLQKPGQSPQ RLIYLVSKLD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCWQGTTHFP WTFGQGTKVE IK
4 6 2	H u 9 4 B 2 . L C 1 1	DVVTMTQTPLS LPVTPGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW YLQKPGQSPQ RLIYLVSKLD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCWQGTTHFP WTFGQGTKVE IK
4 6 3	H u 9 4 B 2 . L C 1 2	DVVTMTQTPLS LPVTPGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW YLQKPGQSPQ RLIYLVSKLD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCWQGTTHFP WTFGQGTKVE IK
4 6 4	H u 9 4 B 2 . L C 1 3	DIVMTQTPLS LPVTPGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW LLQKPGQSPQ RLIYLVSKLD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCWQGTTHFP WTFGQGTKVE IK
4 6 5	H u 9 4 B 2 . L C 1 4	DIVMTQTPLS LPVTPGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW LLQKPGQSPQ RLIYLVSKLD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCWQGTTHFP WTFGQGTKVE IK
4 6 6	H u 9 4 B 2 . L C 1 5	DIVMTQTPLS LPVTPGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW YLQKPGQSPQ RLIYLVSKLD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCWQGTTHFP WTFGQGTKVE IK
4 6 7	H u 9 4 B 2 . L C 1 6	DIVMTQTPLS LPVTPGQPAS ISCKSSQSLL DSDGKTYLNW YLQKPGQSPQ RLIYLVSKLD 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	R S S Q S I V H S N A N T Y F E
4 6 9	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 . 2 H V R - L 1	R S S Q S I V H S S G N T Y F E
4 7 0	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 . 3 H V R - L 1	R S S Q S I V H S D G N T Y F E
4 7 1	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 . 4 H V R - L 1	R S S Q S I V H S Q G N T Y F E

10

20

30

40

50

4 7 2	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 . 5 H V R - L 1	R S S Q S I V H S E G N T Y F E
4 7 3	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 . 6 H V R - L 1	R S S Q S I V H S A G N T Y F E
4 7 4	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 . 7 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G D T Y F E
4 7 5	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 . 8 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G Q T Y F E
4 7 6	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 . 9 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G E T Y F E
4 7 7	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 . 1 0 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G A T Y F E
4 7 8	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 5 . 1 1 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G S T Y F E
4 7 9	H u 3 7 D 3 . v 2 8 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G N T Y F E
4 8 0	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 2 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G N T Y F E
4 8 1	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 4 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G N T Y L E
4 8 2	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 6 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G N T Y L E
4 8 3	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 8 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G N T Y F E
4 8 4	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 1 0 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G N T Y F E
4 8 5	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 1 2 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G N T Y L E

10

20

30

40

50

4 8 6	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 1 4 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G N T Y L E
4 8 7	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 1 6 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G N T Y F E
4 8 8	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 1 8 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G N T Y F E
4 8 9	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 2 0 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G N T Y L E
4 9 0	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 2 2 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G N T Y L E
4 9 1	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 2 4 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G N T Y F E
4 9 2	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 2 6 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G N T Y F E
4 9 3	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 2 8 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G N T Y L E
4 9 4	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . A 3 0 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G N T Y L E
4 9 5	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . B 1 H V R - L 1	R S S Q S I V H S I G N T F F E
4 9 6	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . B 2 H V R - L 1	R S S Q S I V H S M G N T F F E
4 9 7	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . B 3 H V R - L 1	R S S Q S I V H S Q G N T W F E
4 9 8	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . B 4 H V R - L 1	R S S Q S I V H S Q G N T H F E
4 9 9	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . B 6 H V R - L 1	R S S Q S I V H S D G N T R F E

10

20

30

40

50

5 0 0	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . B 7 H V R - L 1	R S S Q S I V H S D G N T K F E
5 0 1	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . B 8 H V R - L 1	R S S Q S I V H S E G N T R F E
5 0 2	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . C 1 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N N N T Y F E
5 0 3	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . C 2 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N D N T Y F E
5 0 4	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . D 1 H V R - L 1	R S S Q S I V H A N G N T Y F E
5 0 5	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . E 1 H V R - L 1	R S S Q S I V N S N G N T Y F E
5 0 6	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . E 2 H V R - L 1	R S S Q S I V Q S N G N T Y F E
5 0 7	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . E 3 H V R - L 1	R S S Q S I V D S D G N T Y F E
5 0 8	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . F 1 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N T N T Y F E
5 0 9	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . F 2 H V R - L 1	R S S Q S I V H T N G N T Y F E
5 1 0	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . F 3 H V R - L 1	R S S Q S I V H T N A N T Y F E
5 1 1	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . 5 1 H V R - L 1	R S S Q S I V H S H G N T Y F E
5 1 2	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . 5 2 H V R - L 1	R S S Q S I V H S K G N T Y F E
5 1 3	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . 5 3 H V R - L 1	R S S Q S I V H S R G N T Y F E

10

20

30

40

50

5 1 4	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . 5 4 H V R - L 1	R S S Q S I V H S L G N T Y F E
5 1 5	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . 5 5 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N Q N T Y F E
5 1 6	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . 5 6 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N Y N T Y F E
5 1 7	H u 3 7 D 3 . v 2 8 . 5 7 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N F N T Y F E
5 1 8	H u 3 7 D 3 . v 2 9 . 1 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G D T Y F E
5 1 9	H u 3 7 D 3 . v 2 9 . 2 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G Q T Y F E
5 2 0	H u 3 7 D 3 . v 2 9 . 3 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G E T Y F E
5 2 1	H u 3 7 D 3 . v 2 9 . 4 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G A T Y F E
5 2 2	H u 3 7 D 3 . v 2 9 . 5 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G H T Y F E
5 2 3	H u 3 7 D 3 . v 2 9 . 6 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G K T Y F E
5 2 4	H u 3 7 D 3 . v 2 9 . 7 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G L T Y F E
5 2 5	H u 3 7 D 3 . v 2 9 . 8 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N A D T Y F E
5 2 6	H u 3 7 D 3 . v 2 9 . 9 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N A Q T Y F E
5 2 7	H u 3 7 D 3 . v 2 9 . 1 0 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N A E T Y F E

10

20

30

40

50

5 2 8	H u 3 7 D 3 . v 2 9 . 1 1 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N A A T Y F E
5 2 9	H u 3 7 D 3 . v 2 9 . 1 2 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N A H T Y F E
5 3 0	H u 3 7 D 3 . v 2 9 . 1 3 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N A K T Y F E
5 3 1	H u 3 7 D 3 . v 2 9 . 1 4 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N A L T Y F E
5 3 2	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 0 . 1 H V R - L 1	R S S Q S I V H S G G N T Y F E
5 3 3	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 0 . 2 H V R - L 1	R S S Q S I V H S T G N T Y F E
5 3 4	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 0 . 3 H V R - L 1	R S S Q S I V H S V G N T Y F E
5 3 5	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 0 . 4 H V R - L 1	R S S Q S I V H S L G N T Y F E
5 3 6	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 0 . 5 H V R - L 1	R S S Q S I V H S I G N T Y F E
5 3 7	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 0 . 6 H V R - L 1	R S S Q S I V H S P G N T Y F E
5 3 8	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 0 . 7 H V R - L 1	R S S Q S I V H S F G N T Y F E
5 3 9	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 0 . 8 H V R - L 1	R S S Q S I V H S Y G N T Y F E
5 4 0	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 0 . 9 H V R - L 1	R S S Q S I V H S H G N T Y F E

10

20

30

40

50

5 4 1	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 0 . 1 0 H V R - L 1	R S S Q S I V H S K G N T Y F E
5 4 2	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 0 . 1 1 H V R - L 1	R S S Q S I V H S R G N T Y F E
5 4 3	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 1 . 1 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N A G T Y F E
5 4 4	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 1 . 2 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N A V T Y F E
5 4 5	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 1 . 3 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N A I T Y F E
5 4 6	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 1 . 4 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N A P T Y F E
5 4 7	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 1 . 5 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N A F T Y F E
5 4 8	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 1 . 6 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N A Y T Y F E
5 4 9	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 1 . 7 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N A R T Y F E
5 5 0	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 1 . 8 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N A N V Y F E
5 5 1	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 1 . 9 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N A N I Y F E
5 5 2	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 1 . 1 0 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N A N P Y F E

10

20

30

40

50

5 5 3	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 1 . 1 1 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N A N F Y F E
5 5 4	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 1 . 1 2 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N A N Y Y F E
5 5 5	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 1 . 1 3 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N A N N Y F E
5 5 6	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 3 1 . 1 4 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N A N R Y F E
5 5 7	ヒ ト T a u 7 ~ 2 4 ペ プ チ ド	E F E V M E D H A G T Y G L G D R K
5 5 8	ヒ ト T a u 7 ~ 2 0 ペ プ チ ド	E F E V M E D H A G T Y G L
5 6 0	H u 3 7 D 3 . v 3 9 重鎖可変 領域 (V H)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTYYTY 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 HSNNTYLEW YQQKPGKSPK LLIYKVS NRF SGVPSRFSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCFQGSLVP WTEGQGTKVE IK
5 6 2	H u 3 7 D 3 . v 3 9 H V R - H 1	S Y G M S
5 6 3	H u 3 7 D 3 . v 3 9 H V R - H 2	T I N S G G T Y T Y Y P D S V K G
5 6 4	H u 3 7 D 3 . v 3 9 H V R - H 3	S Y S G A M D Y
5 6 5	H u 3 7 D 3 . v 3 9 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G N T Y L E
5 6 6	H u 3 7 D 3 . v 3 9 H V R - L 2	K V S N R F S

10

20

30

40

50

5 6 7	H u 3 7 D 3 . v 3 9 H V R - L 3	F Q G S L V P W T
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 INSGGTYTTY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVTVPS SSLGKITYTC NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPPCPAPE FLGGPSVFLF PPKPKDTLYI TREPEVTCVV VDVSEEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS 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 輕鎖	EDQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSIV HSNNTYILEW YQQKPGKSPK LLIYKVSNR FSGVPSRFGSG GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCFQGS LVP WTFGQGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDYSTSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNREGC
5 7 0	H u 3 7 D 3 . v 4 0 重鎖可變 領域 (V H)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTYTTY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSS
5 7 1	H u 3 7 D 3 . v 4 0 輕鎖可變 領域 (V L)	EDQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSIV HSNTNTYFEW YQQKPGKSPK LLIYKVSNR FSGVPSRFGSG GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCFQGS LVP WTFGQGTKVE IK
5 7 2	H u 3 7 D 3 . v 4 0 H V R - H 1	S Y G M S
5 7 3	H u 3 7 D 3 . v 4 0 H V R - H 2	T I N S G G T Y T Y Y P D S V K G
5 7 4	H u 3 7 D 3 . v 4 0 H V R - H 3	S Y S G A M D Y
5 7 5	H u 3 7 D 3 . v 4 0 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N T N T Y F E
5 7 6	H u 3 7 D 3 . v 4 0 H V R - L 2	K V S N R F S
5 7 7	H u 3 7 D 3 . v 4 0 H V R - L 3	F Q G S L V P W T

10

20

30

40

50

5 7 8	H u 3 7 D 3 . v 4 0 I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E 重鎖	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTYTTY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVTVFPS SSLGTRKTYTC NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPPCPAPE FLGGPSVFLF PPKPKDTLYI TREPEVTCVV VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLGK
5 7 9	H u 3 7 D 3 . v 4 0 I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E 輕鎖	EDQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSIV HSNTNTYFEW YQQKPGKSPK LLIYKVSNR F SGVPSRFSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCFQGS LVP WTFGQGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASV VCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC
5 8 0	H u 3 7 D 3 . v 4 1 重鎖可變 領域 (V H)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTYTTY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSS
5 8 1	H u 3 7 D 3 . v 4 1 輕鎖可變 領域 (V L)	EDQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSIV HSNGQTYFEW YQQKPGKSPK LLIYKVSNR F SGVPSRFSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCFQGS LVP WTFGQGTKVE IK
5 8 2	H u 3 7 D 3 . v 4 1 H V R - H 1	S Y G M S
5 8 3	H u 3 7 D 3 . v 4 1 H V R - H 2	T I N S G G T Y T Y Y P D S V K G
5 8 4	H u 3 7 D 3 . v 4 1 H V R - H 3	S Y S G A M D Y
5 8 5	H u 3 7 D 3 . v 4 1 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G Q T Y F E
5 8 6	H u 3 7 D 3 . v 4 1 H V R - L 2	K V S N R F S
5 8 7	H u 3 7 D 3 . v 4 1 H V R - L 3	F Q G S L V P W T

10

20

30

40

50

5 8 8	H u 3 7 D 3 . v 4 1 I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E 重鎖	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTYTTY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPSS SSLGTKTYTC NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPPCPAPE FLGGPSVFLF PPKPKDTLYI TREPEVTCVV VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV SVLTVLHQDW LNKKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSGDS FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLGK
5 8 9	H u 3 7 D 3 . v 4 1 I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E 輕鎖	EDQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSIV HSNQTYFEW YQKPGKSPK LLIYKVSNR FSGVPSRFSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCFQGS LVP WTFGQGTKE IKRTVAAPSV FIFFPSDEQL KSGTASV VCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDYSL SSSLTSLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC
5 9 0	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 I g G 4 - S 2 2 8 P 重鎖	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTYTTY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPSS SSLGTKTYTC NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPPCPAPE FLGGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV SVLTVLHQDW LNKKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSGDS FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLGK
5 9 1	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 1 I g G 4 輕鎖	EDQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSIV HSNQTYFEW YQKPGKSPK LLIYKVSNR FSGVPSRFSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCFQGS LVP WTFGQGTKE IKRTVAAPSV FIFFPSDEQL KSGTASV VCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDYSL SSSLTSLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC
5 9 2	M A P T (1 0 - 2 4)	V M E D H A G T Y G L G D R K
5 9 3	M A P T (2 - 2 4)	A E P R Q E F E V M E D H A G T Y G L G D R K
5 9 4	M A P T (2 - 3 4)	A E P R Q E F E V M E D H A G T Y G L G D R K D Q G G Y T M H Q D
5 9 5	M A P T (1 0 - 4 4)	V M E D H A G T Y G L G D R K D Q G G Y T M H Q D Q E G D T D A G L K
5 9 6	M A P T (2 - 2 4) Y 1 8 A	A E P R Q E F E V M E D H A G T A G L G D R K
5 9 7	M A P T (2 - 2 4) L 2 0 A	A E P R Q E F E V M E D H A G T Y G A G D R K
5 9 8	h u 1 1 3 F 5 - F 7 . L C 1	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQNVG TAVAWYQQKP GKSPKLLIYS ASRRFSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQF 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 FTLTISSLQF EDFATYFCQQ FSTYPYTFGQ GTKVEIK

10

20

30

40

50

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	H u 3 7 D 3 — H 9 . v 7 6 重 鎖可変領域 (V H)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTRTY YPDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSS
6 0 4	H u 3 7 D 3 — H 9 . v 7 6 軽 鎖可変領域 (V L)	DDLITQTPLS LPVTPGQPAS ISCRSSQSIV HSNQNTYLEW YLQKPGQSPQ LLIYKVSNR FSGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCFQGTLPV WTFGQGTKVE IK
6 0 5	H u 3 7 D 3 — H 9 . v 7 6 H V R — H 1 H u 3 7 D 3 — H 9 . v 8 3 H V R — H 1 H u 3 7 D 3 — H 9 . v 9 3 H V R — H 1	S Y G M S
6 0 6	H u 3 7 D 3 — H 9 . v 7 6 H V R — H 2 H u 3 7 D 3 — H 9 . v 8 3 H V R — H 2 H u 3 7 D 3 — H 9 . v 9 3 H V R — H 2	T I N S G G T R T Y Y P D S V K G
6 0 7	H u 3 7 D 3 — H 9 . v 7 6 H V R — H 3 H u 3 7 D 3 — H 9 . v 8 3 H V R — H 3 H u 3 7 D 3 — H 9 . v 9 3 H V R — H 3	S Y S G A M D Y

10

20

30

40

50

6 0 8	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 7 6 H V R - L 1 H u 3 7 D 3 - H 9 . v 8 3 H V R - L 1 H u 3 7 D 3 - H 9 . v 9 3 H V R - L 1	R S S Q S I V H S N G N T Y L E
6 0 9	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 7 6 H V R - L 2 H u 3 7 D 3 - H 9 . v 8 3 H V R - L 2 H u 3 7 D 3 - H 9 . v 9 3 H V R - L 2	K V S N R F S
6 1 0	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 7 6 H V R - L 3 H u 3 7 D 3 - H 9 . v 8 3 H V R - L 3 H u 3 7 D 3 - H 9 . v 9 3 H V R - L 3	F Q G T L V P W T
6 1 1	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 7 6 I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E 重鎖	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTRTY Y PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVP SSGTKTYTC NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPPCPAPE FLGGPSVFLF PPKPKDTLYI TREPEVTCVV VDVQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSGDS FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLGK
6 1 2	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 7 6 I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E d e s - K 重鎖	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTRTY Y PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVP SSGTKTYTC NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPPCPAPE FLGGPSVFLF PPKPKDTLYI TREPEVTCVV VDVQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSGDS FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLG

10

20

30

40

50

6 1 3	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 7 6 I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E 輕鎖	DDLLTQTPLS LPVTPGQPAS ISCRSSQSIV HSNNGNTYLEW YLQKPGQSPQ LLIYKVSNR F SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVG V YYCFQGTLPV WTFGQGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC
6 1 4	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 8 3 重 鎖可変領域 (V H)	EVQLLES GGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTRTY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYICANSY SGAMDYWGQG TLVTVSS
6 1 5	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 8 3 輕 鎖可変領域 (V L)	DDLLTQSPLS LPVTLGQPAS ISCRSSQSIV HSNNGNTYLEW YQQRPGQSPR LLIYKVSNR F SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVG V YYCFQGTLPV WTFGQGTKVE IK
6 1 6	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 8 3 I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E 重鎖	EVQLLES GGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTRTY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYICANSY SGAMDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVTVPS SSGTKTYTC NVDHKPSNTK VDKRVEKYG PPCPPCPAPE FLGGPSVFLF PPKPKDTLYI TREPEVTCV VDVSDQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGP REPQVYTLPP SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TTPVLDSDGS FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLGK
6 1 7	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 8 3 I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E d e s - K 重鎖	EVQLLES GGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTRTY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYICANSY SGAMDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVTVPS SSGTKTYTC NVDHKPSNTK VDKRVEKYG PPCPPCPAPE FLGGPSVFLF PPKPKDTLYI TREPEVTCV VDVSDQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGP REPQVYTLPP SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TTPVLDSDGS FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLG
6 1 8	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 8 3 I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E 輕鎖	DDLLTQSPLS LPVTLGQPAS ISCRSSQSIV HSNNGNTYLEW YQQRPGQSPR LLIYKVSNR F SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVG V YYCFQGTLPV WTFGQGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC
6 1 9	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 9 3 重 鎖可変領域 (V H)	EVQLVES GGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTRTY PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYICANSY SGAMDYWGQG TLVTVSS
6 2 0	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 9 3 輕 鎖可変領域 (V L)	EDLLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSIV HSNNGNTYLEW YQKPKGKSPK LLIYKVSNR F SGVPSRFSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCFQGTLPV WTFGQGTKVE IK

10

20

30

40

50

6 2 1	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 9 3 I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E 重鎖	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTRTYT PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPS SSLGTKTYTC NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPPCPAPE FLGGPSVFLF PPKPKDTLYI TREPEVTCVV VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLGK
6 2 2	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 9 3 I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E d e s - K 重鎖	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGLIFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT INSGGTRTYT PDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANSY SGAMDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPS SSLGTKTYTC NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPPCPAPE FLGGPSVFLF PPKPKDTLYI TREPEVTCVV VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLG
6 2 3	H u 3 7 D 3 - H 9 . v 9 3 I g G 4 - S 2 2 8 P . Y T E 軽鎖	EDLLTQSPSS LSASVGDRVIT ITCRSSQSIV HSNQNTYLEW YQQKPGKSPK LLIYKVSNRFT SGVPSRFGSG GSGTDFTLTIT SSLQPEDFAT YYCFQGTLVPTWTFGQGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYFPREAK VQWVKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDYSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSPVTKSFNRGEC
6 2 4	ヒト T a u の 残 基 2 ~ 2 4	A E P R Q E F E V M E D H A G T Y G L G D R K

10

20

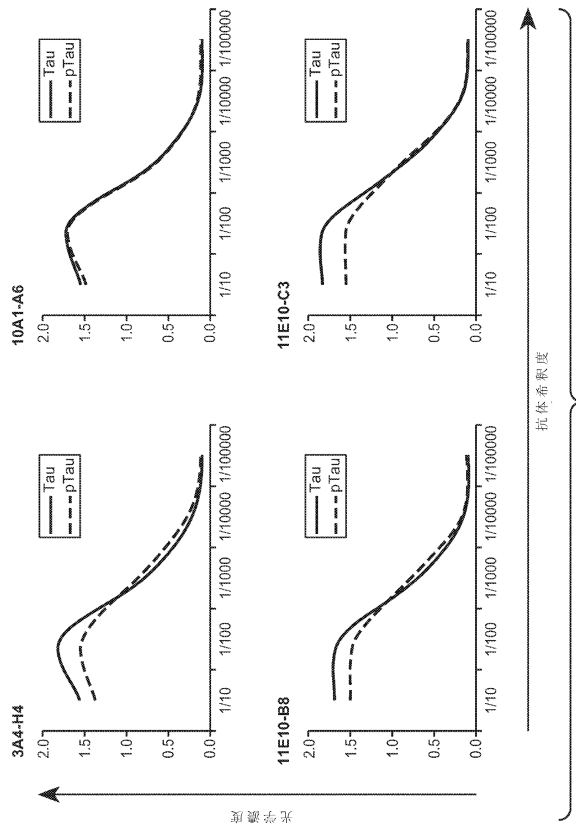
30

40

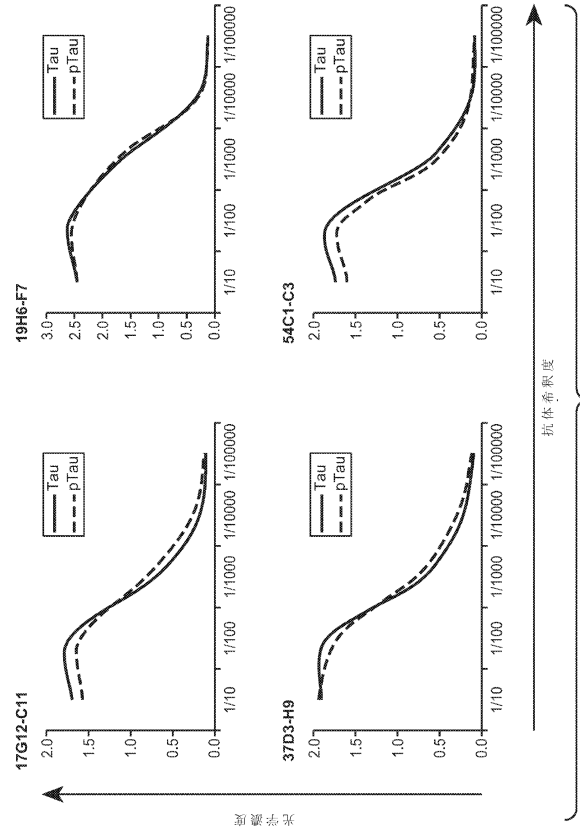
50

【図面】

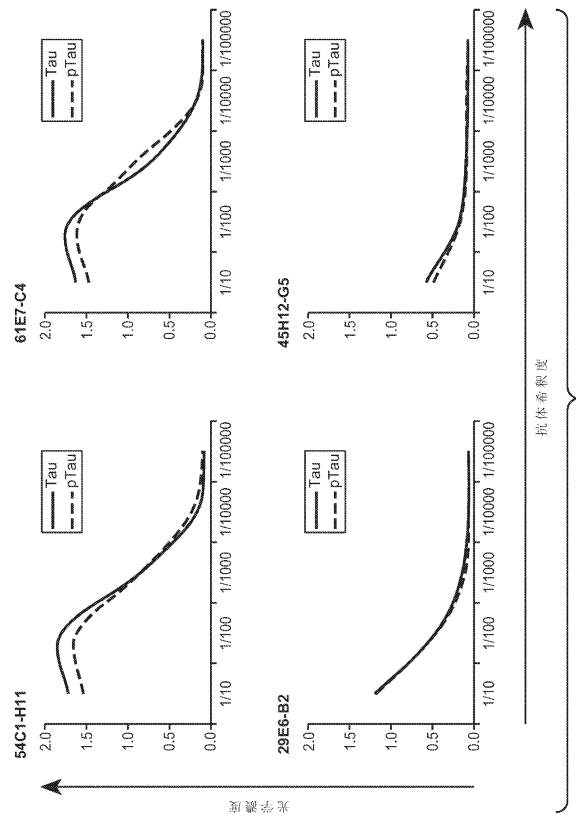
【図 1 A】



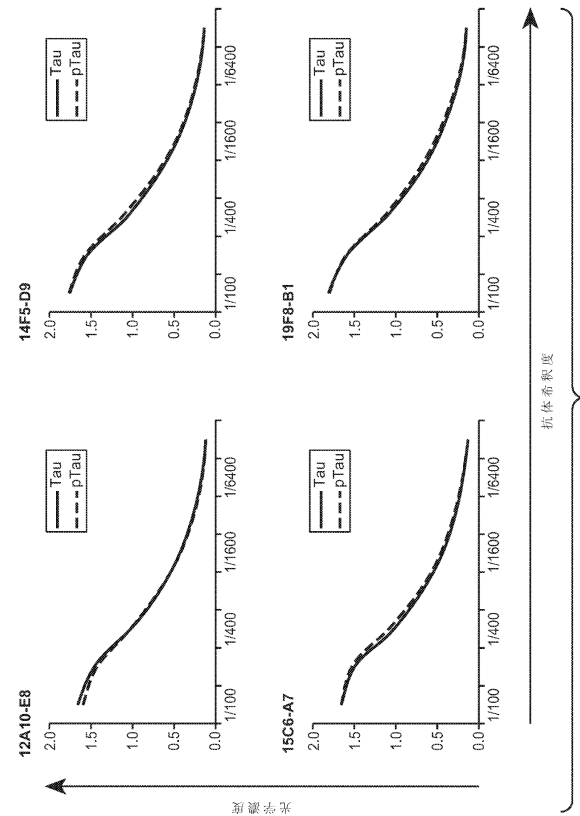
【図 1 B】



【図 1 C】



【図 1 D】



10

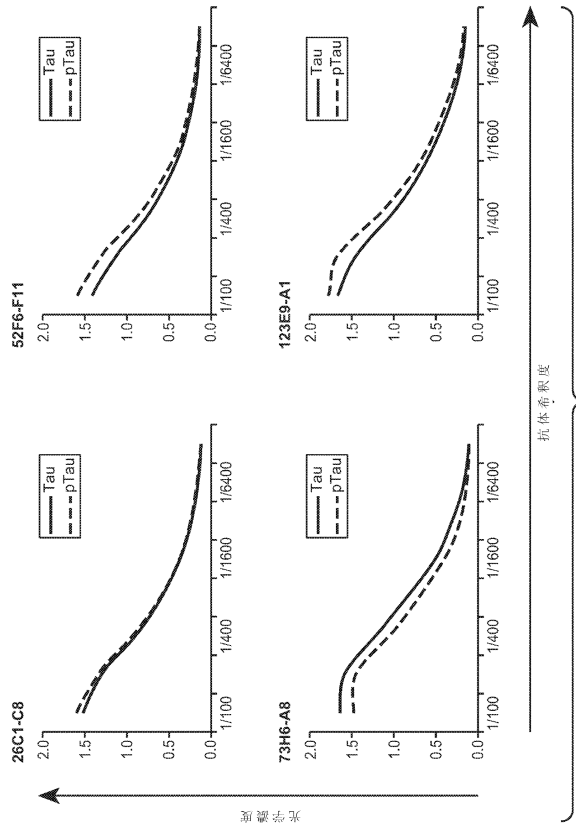
20

30

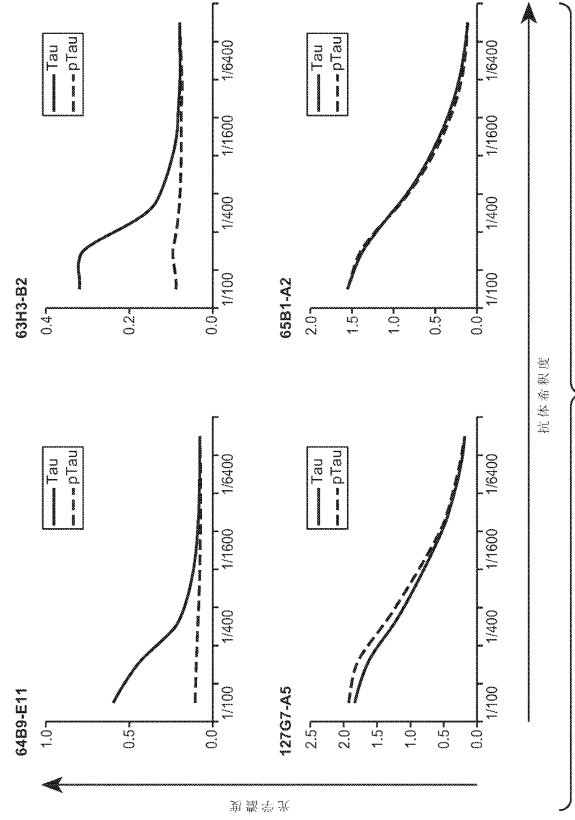
40

50

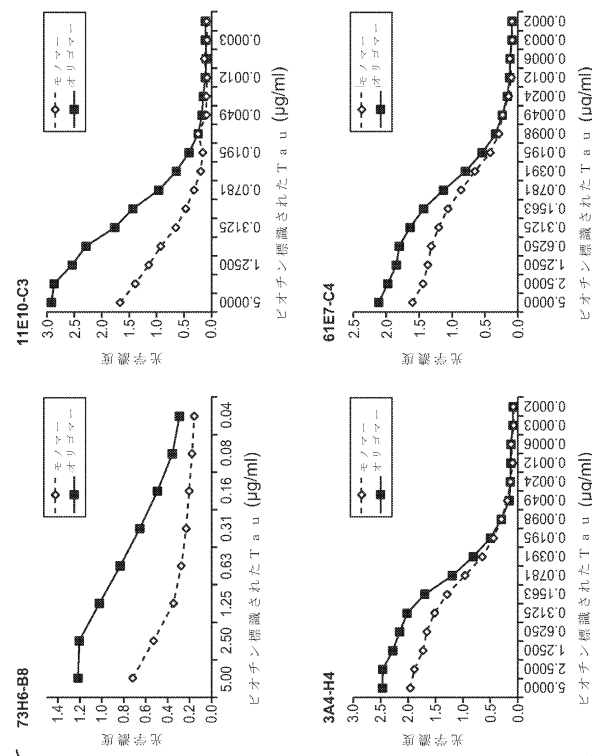
【図 1 E】



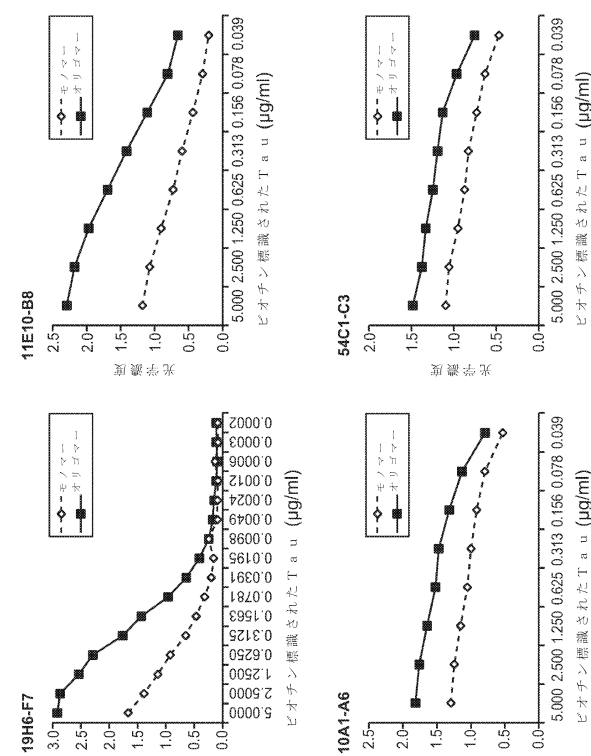
【図 1 F】



【図 2 A】



【図 2 B】



10

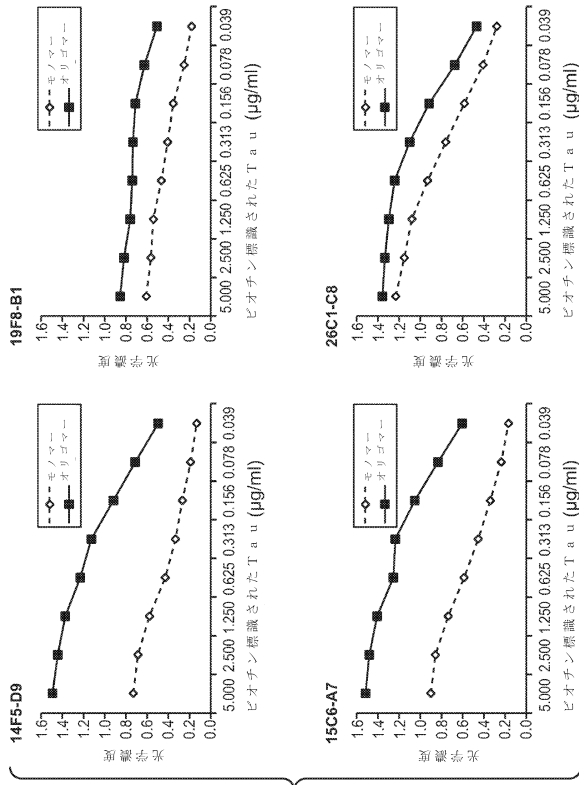
20

30

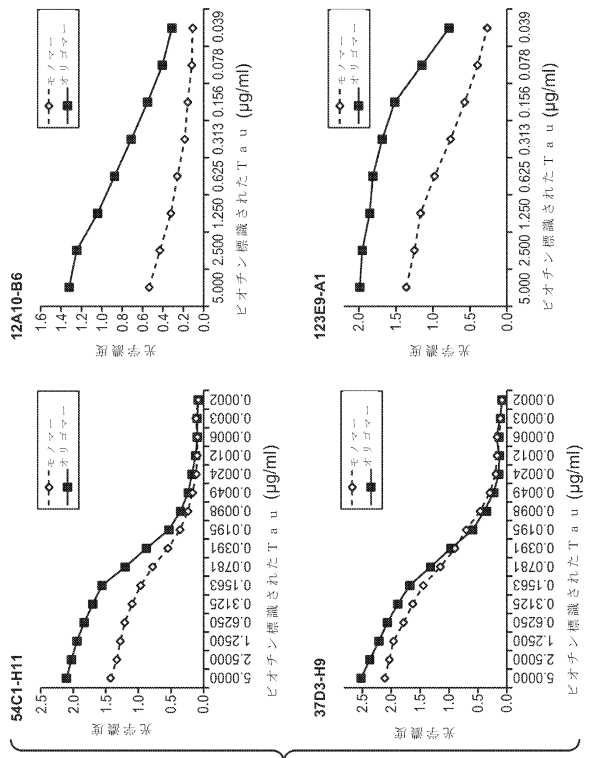
40

50

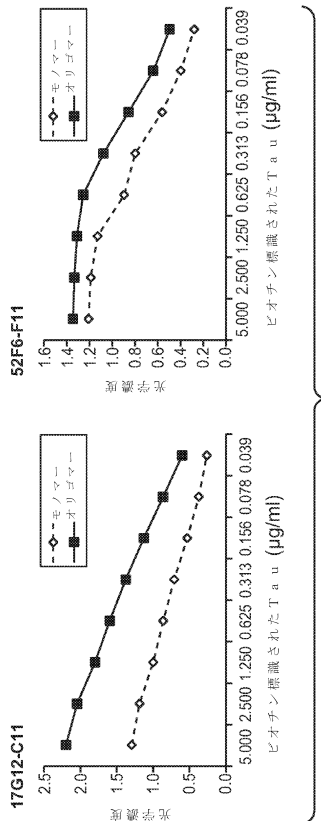
【図 2 C】



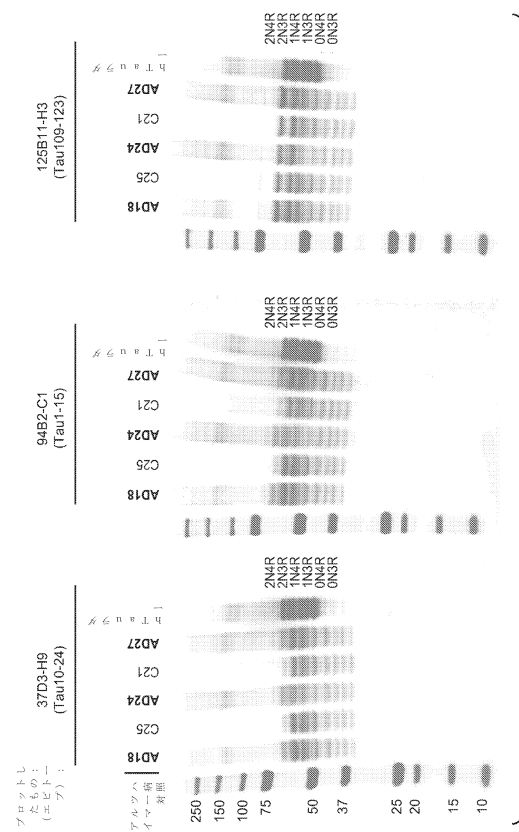
【図 2 D】



【図 2 E】



【図 3】



10

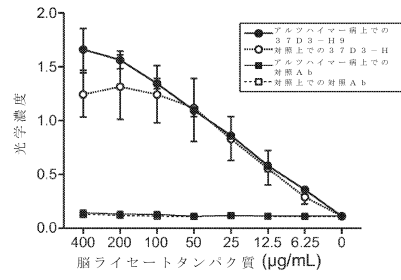
20

30

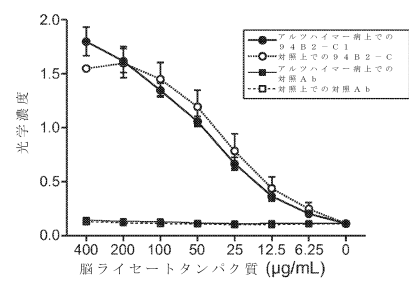
40

50

【図 4 A】

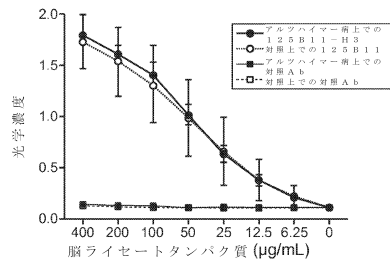


【図 4 B】

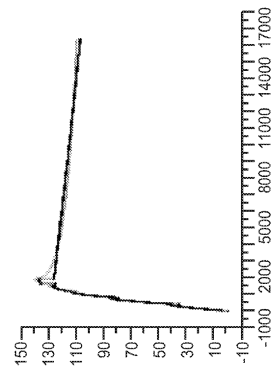


10

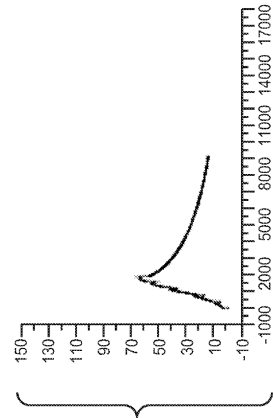
【図 4 C】



【図 5】



20

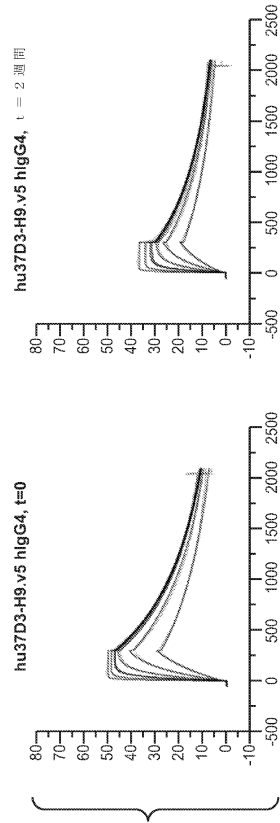


30

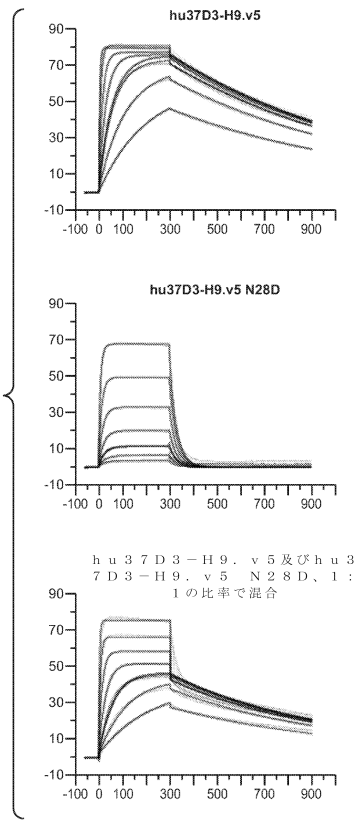
40

50

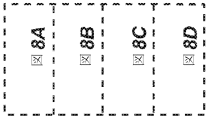
【図 6】



【図 7】



【図 8】



【図 8 A】

抗体	KD (nM)	安定性指数 Ch i 2 < 1 0 % R m a x 及び正規化 R m a x (応力面) > 0 . 1	選択された位置での V L 残基 (K a b a t 番号付)												配列番号
			1	2	4	27D	27E	28	29	30	31	32	33	93	
hu37D3-H9.v5	0.9	106%	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L	350
hu37D3-H9.v5.1	4.0	73%	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L	351
hu37D3-H9.v5.2	10.9	72%	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L	352
hu37D3-H9.v5.3	73.2	97%	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L	353
hu37D3-H9.v5.4	36.1	70%	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L	354
hu37D3-H9.v5.5	64.5	78%	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L	355
hu37D3-H9.v5.6	36.6	75%	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L	356
hu37D3-H9.v5.7	13.0	67%	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L	357
hu37D3-H9.v5.8	2.2	90%	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L	358
hu37D3-H9.v5.9	5.3	95%	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L	359
hu37D3-H9.v5.10	4.7	78%	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L	360
hu37D3-H9.v5.11	97.7	71%	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L	361
hu37D3.v28	0.9	78%	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L	362
hu37D3.v28.A2	32.6	72%	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L	363
hu37D3.v28.A4	1.2	96%	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L	364
hu37D3.v28.A6	38.3	82%	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L	365
hu37D3.v28.A8	1.8	57%	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L	366

10

20

30

40

50

【図 8 B】

[illegible]

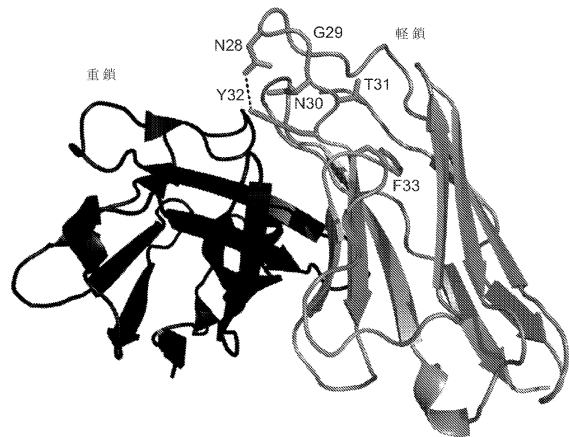
【図 8 C】

抗体	KD (nM)	安定性指数 $\chi^2_{1.2} < 1.0 \times \text{R.m.s.}$ 及び正規化R.m.s. (心動期) < 0.1	選択された位置での V L 残基 (K a b a T 番号 30 31)										配列番号		
			1	2	4	27D	27E	28	29	30	31	32		33	33
心力をかけない負荷 (平均, n = 9)	1.0	106%	E	D	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L	
hu37D3.v28.E1	20.1	46%	D	D	L	L	N	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v28.E2	22.5	28%	D	D	L	L	Q	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v28.E3	1.1	364%	D	D	L	L	S	D	S	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v28.F1	2.1	81%	D	D	L	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v28.F2	1.9	51%	D	D	L	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v28.F3	9.5	70%	D	D	L	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v28.F4	35.6	74%	E	D	L	L	H	S	N	A	N	T	Y	F	L
hu37D3.v28.G1	17.6	80%	E	D	L	L	H	S	K	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v28.G2	22.9	76%	E	D	L	L	H	S	K	R	G	N	T	Y	F
hu37D3.v28.G3	24.8	82%	E	D	L	L	H	S	L	L	G	N	T	Y	F
hu37D3.v28.H1	2.6	82%	E	D	L	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v28.H2	5.4	76%	E	D	L	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v28.H3	4.4	88%	E	D	L	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v28.H4	13.5	70%	E	D	L	L	H	S	N	F	N	T	Y	F	L
hu37D3.v28.I1	2.6	88%	E	D	L	L	H	S	N	G	N	T	Y	F	L
hu37D3.v28.J1	5.6	93%	E	D	L	L	H	S	N	G	Q	E	T	Y	F
hu37D3.v28.J2	4.9	76%	E	D	L	L	H	S	N	G	E	T	Y	F	L
hu37D3.v29.1	1.4	64%	E	D	L	L	H	S	N	G	H	T	Y	F	L
hu37D3.v29.5	1.4	62%	E	D	L	L	H	S	N	G	H	T	Y	F	L
hu37D3.v29.6	4.6	90%	E	D	L	L	H	S	N	G	L	T	Y	F	L
hu37D3.v29.7	4.6	97%	E	D	L	L	H	S	N	A	D	T	Y	F	L
hu37D3.v29.8	40.9	77%	E	D	L	L	H	S	N	A	D	T	Y	F	L
hu37D3.v29.9	7.3	86%	E	D	L	L	H	S	N	A	Q	T	Y	F	L
hu37D3.v29.10	17.4	100%	E	D	L	L	H	S	N	A	E	T	Y	F	L

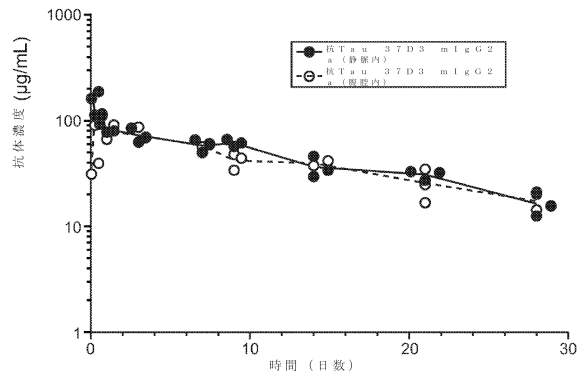
【図 8 D】

配列番号	27.9	67%	はい	E	D	H	S	N	A	T	Y	F	L	413
hu37D3-v29.11	27.9	67%	はい	E	D	H	S	N	A	T	Y	F	L	413
hu37D3-v29.12	7.0	50%	はい	E	D	L	H	S	N	A	T	Y	F	L
hu37D3-v29.13	6.7	99%	はい	E	D	L	H	S	N	A	K	T	Y	F
hu37D3-v29.14	22.0	92%	はい	E	D	L	H	S	N	A	L	T	Y	F
hu37D3-H9.v30.1	23.5	87%	はい	D	D	L	H	S	N	A	L	T	Y	F
hu37D3-H9.v30.2	4.2	96%	はい	D	D	L	H	S	N	A	L	T	Y	F
hu37D3-H9.v30.3	38.1	83%	はい	D	D	L	H	S	N	A	L	T	Y	F
hu37D3-H9.v30.4	22.0	87%	はい	D	D	L	H	S	N	A	L	T	Y	F
hu37D3-H9.v30.5	29.1	80%	はい	D	D	L	H	S	N	A	L	T	Y	F
hu37D3-H9.v30.6	19.1	93%	-	D	D	L	H	S	N	A	L	T	Y	F
hu37D3-H9.v30.7	34.9	93%	-	D	D	L	H	S	N	A	L	T	Y	F
hu37D3-H9.v30.8	31.4	105%	-	D	D	L	H	S	N	A	L	T	Y	F
hu37D3-H9.v30.9	36.4	63%	-	D	D	L	H	S	N	A	L	T	Y	F
hu37D3-H9.v30.10	16.1	84%	はい	D	D	L	H	S	N	A	L	T	Y	F
hu37D3-H9.v30.11	20.9	86%	はい	D	D	L	H	S	N	A	L	T	Y	F
hu37D3-H9.v31.1	41.2	72%	-	D	D	L	H	S	N	A	L	T	Y	F
hu37D3-H9.v31.2	10.6	90%	はい	D	D	L	H	S	N	A	L	T	Y	F
hu37D3-H9.v31.3	9.8	93%	はい	D	D	L	H	S	N	A	L	T	Y	F
hu37D3-H9.v31.4	0.8	533%	-	D	D	L	H	S	N	A	L	T	Y	F
hu37D3-H9.v31.5	15.2	85%	はい	D	D	L	H	S	N	A	L	T	Y	F
hu37D3-H9.v31.6	15.5	90%	はい	D	D	L	H	S	N	A	L	T	Y	F
hu37D3-H9.v31.7	6.9	83%	はい	D	D	L	H	S	N	A	L	T	Y	F
hu37D3-H9.v31.8	10.9	78%	はい	D	D	L	H	S	N	A	L	T	Y	F
hu37D3-H9.v31.9	7.5	81%	はい	D	D	L	H	S	N	A	L	T	Y	F
hu37D3-H9.v31.10	5.5	261%	-	D	D	L	H	S	N	A	L	T	Y	F
hu37D3-H9.v31.11	22.7	126%	-	D	D	L	H	S	N	A	L	T	Y	F
hu37D3-H9.v31.12	41.6	99%	-	D	D	L	H	S	N	A	L	T	Y	F
hu37D3-H9.v31.13	48.1	83%	-	D	D	L	H	S	N	A	L	T	Y	F
hu37D3-H9.v31.14	35.5	86%	-	D	D	L	H	S	N	A	L	T	Y	F

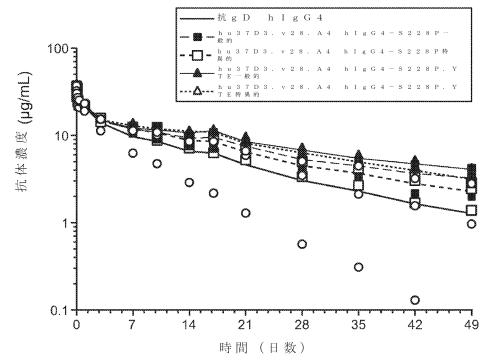
【図 9】



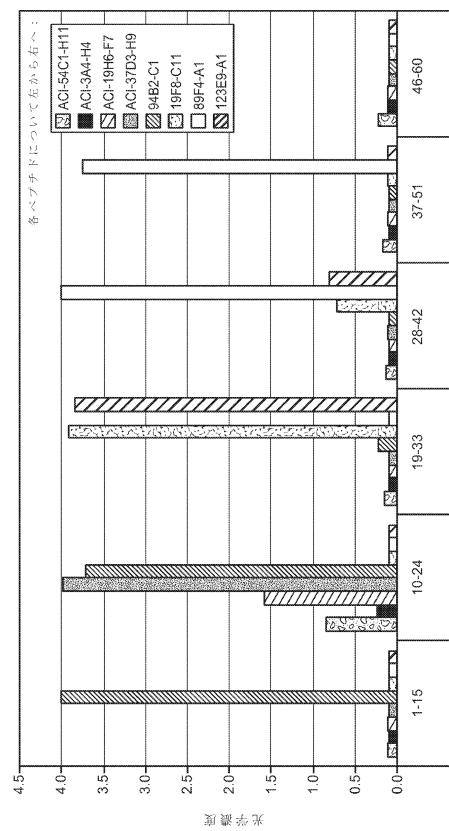
【図 10】



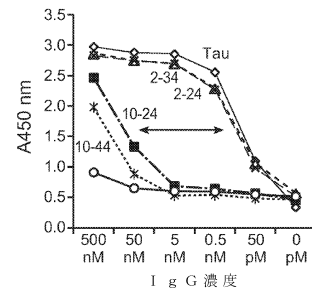
【図 11】



【図 12 A】



【図 12 B】



10

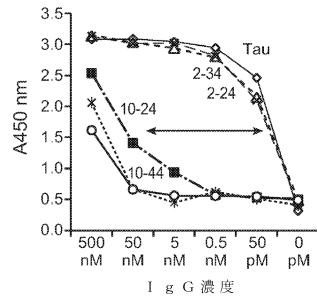
20

30

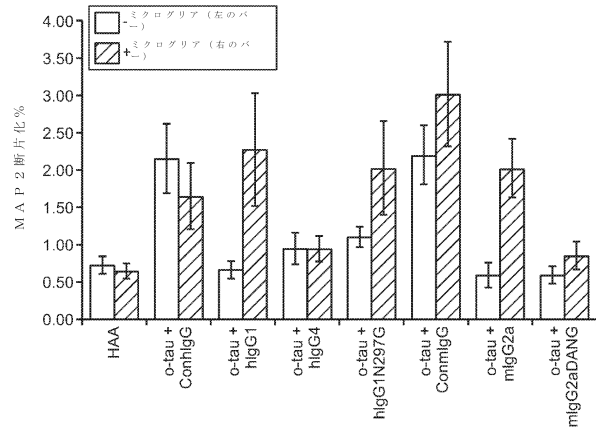
40

50

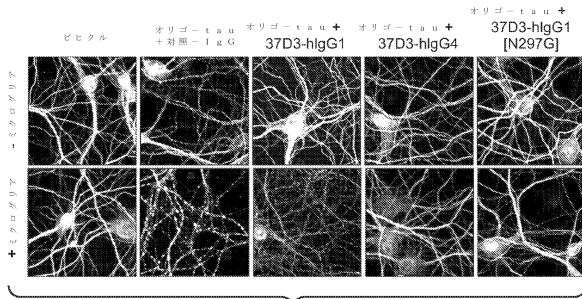
【図 1 2 C】



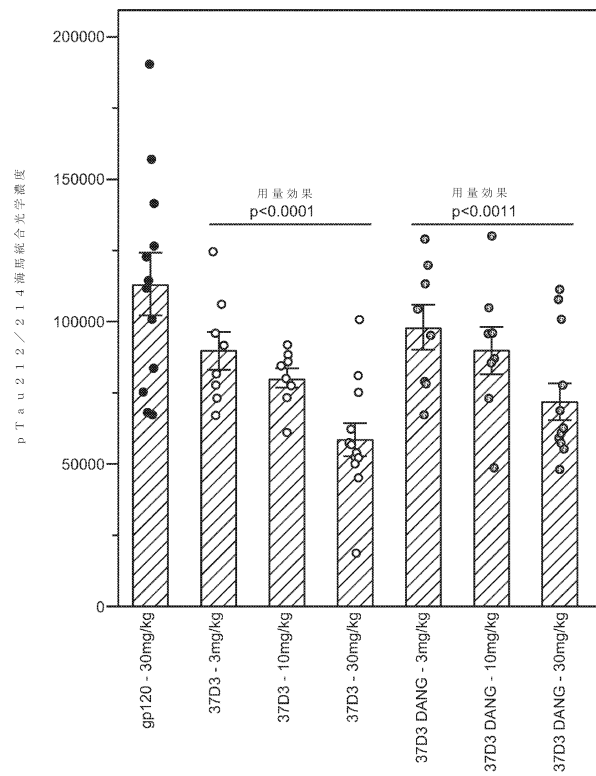
【図 1 3 A】



【図 1 3 B】



【図 1 4】



10

20

30

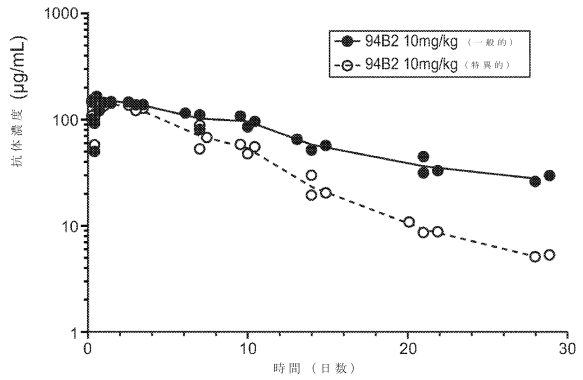
40

50

【図 15】

[illegible]

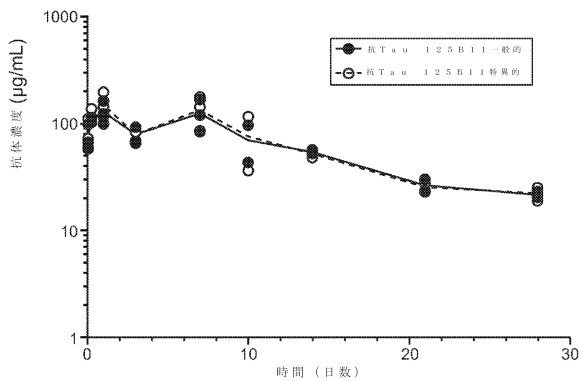
【図 16】



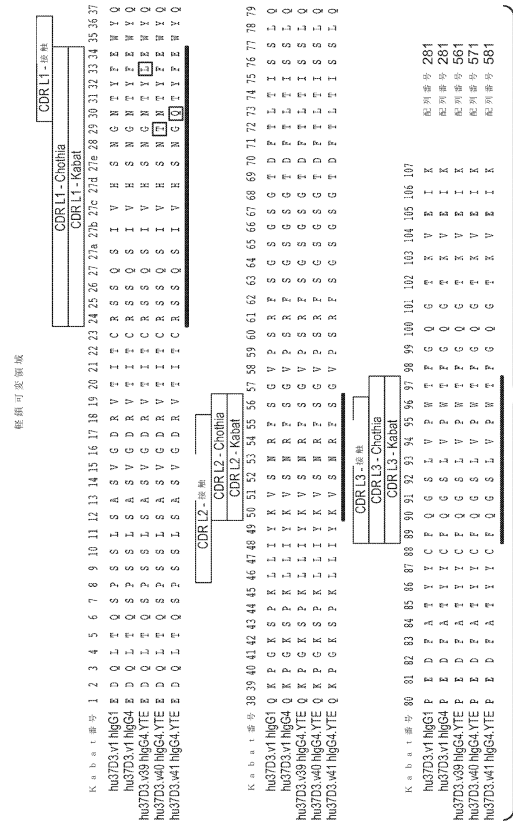
10

20

【図 17】



【図 18】

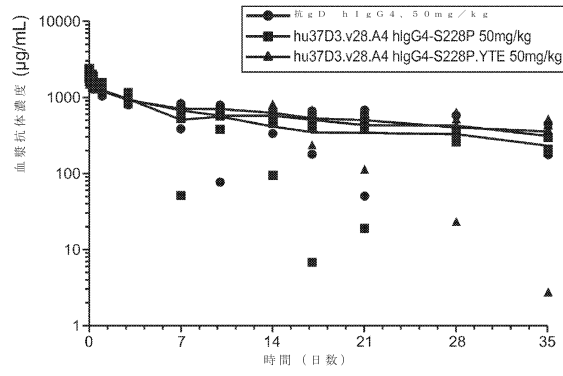


30

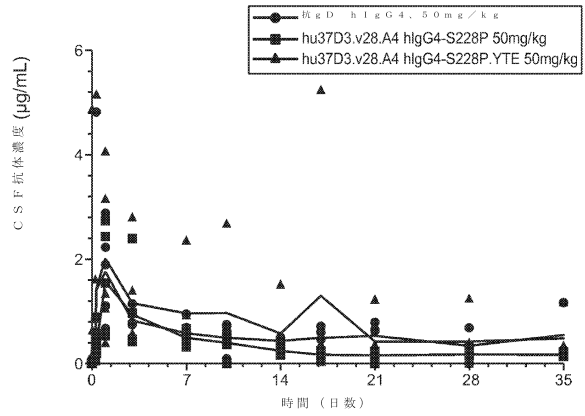
40

50

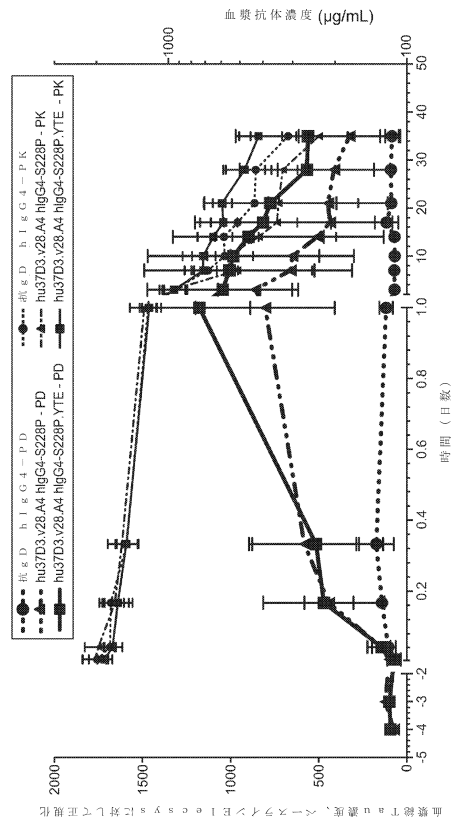
【図 19 A】



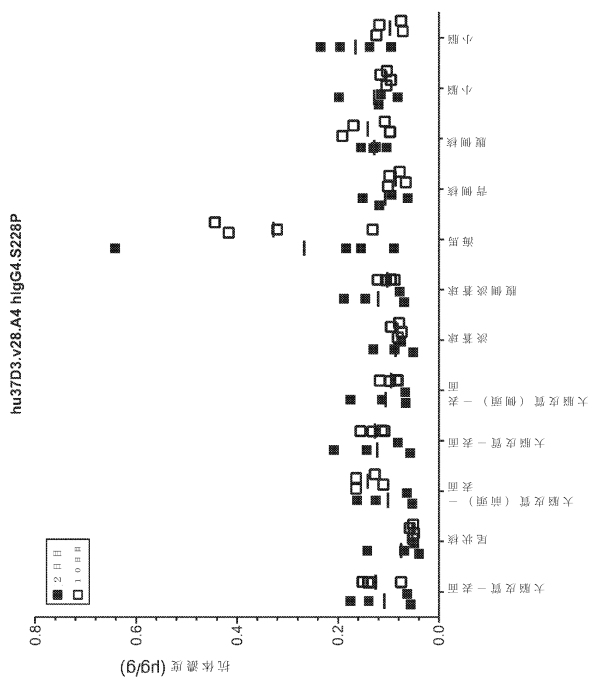
【図 19 B】



【図 20】



【図 21 A】



10

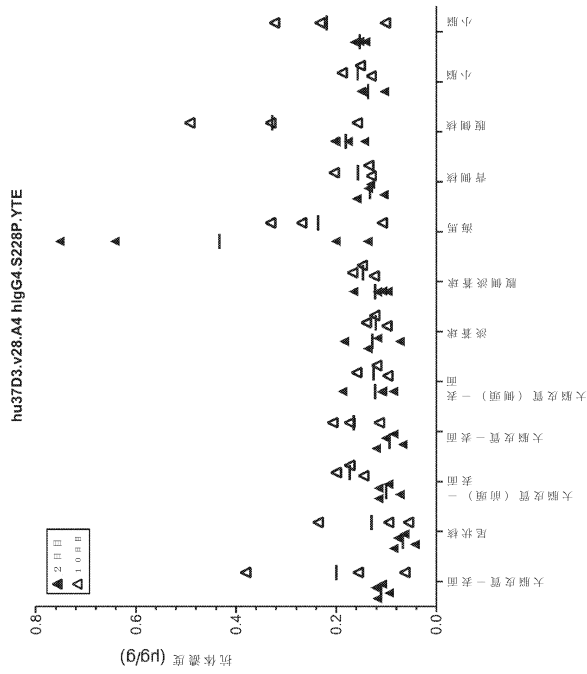
20

30

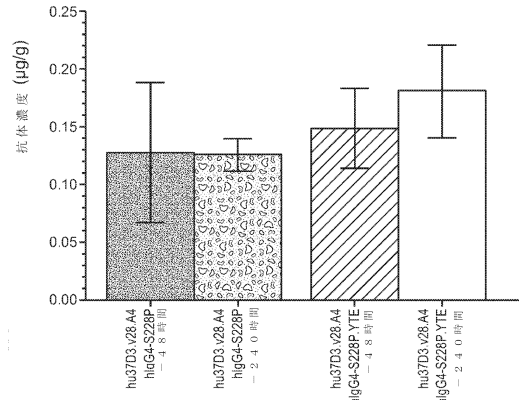
40

50

【図 2 1 B】



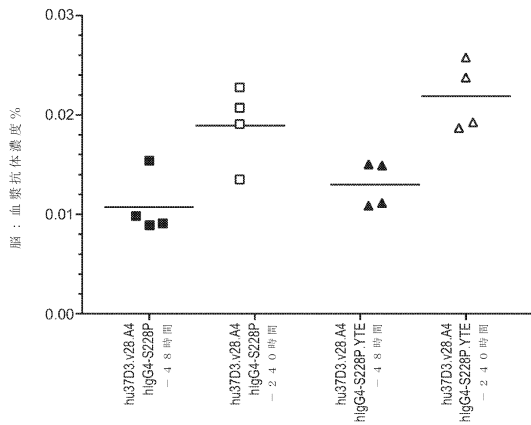
【図 2 1 C】



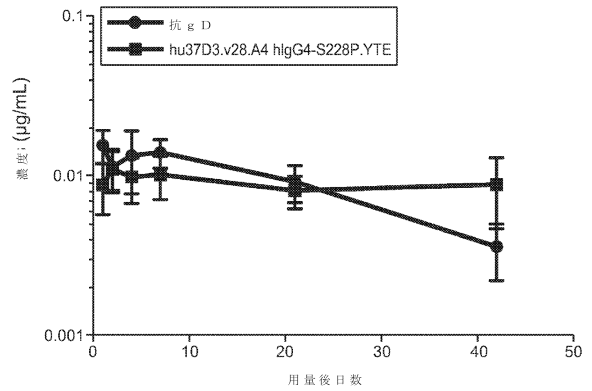
10

20

【図 2 1 D】



【図 2 2 A】

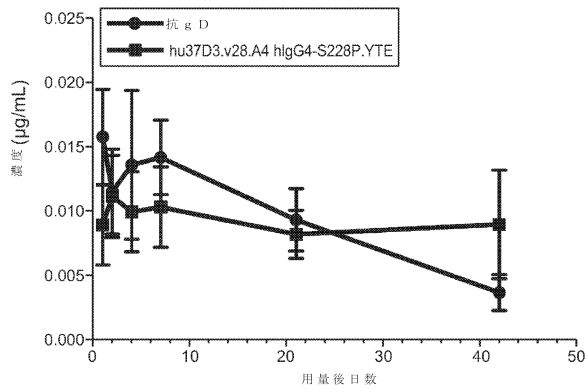


30

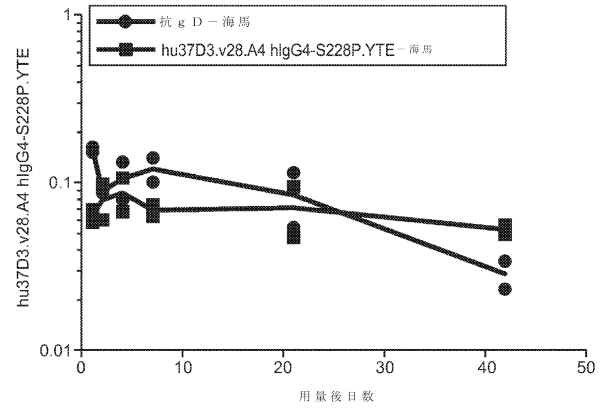
40

50

【図 2 2 B】

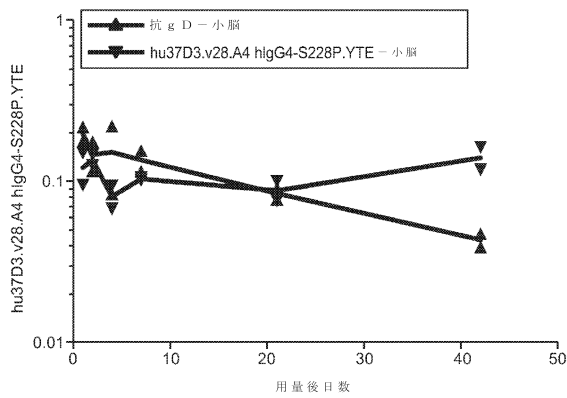


【図 2 3 A】

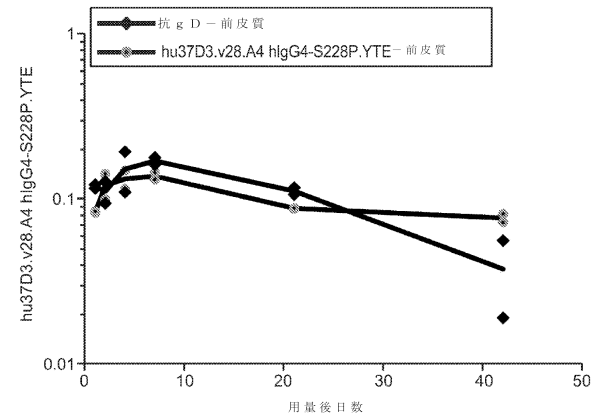


10

【図 2 3 B】



【図 2 3 C】



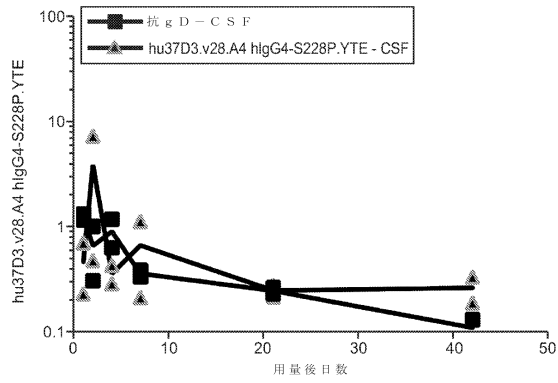
20

30

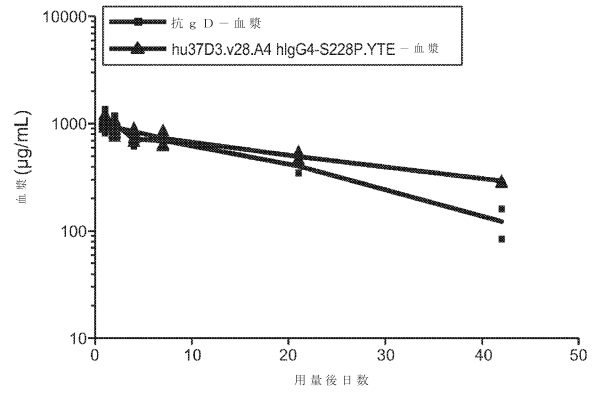
40

50

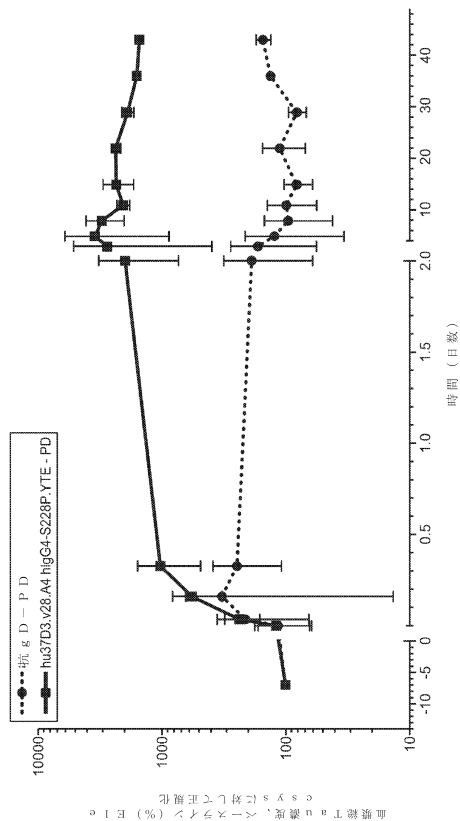
【図 2 3 D】



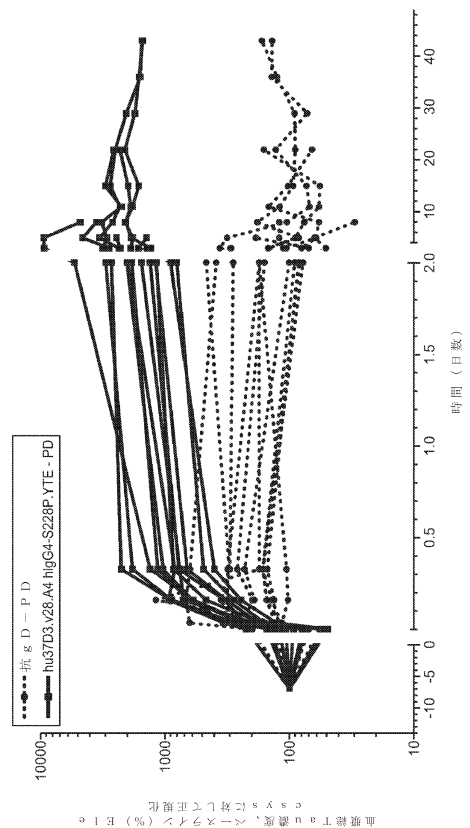
【図 2 3 E】



【図 2 4 A】



【図 2 4 B】



10

20

30

40

50

【図 2 5 A】

軽鎖可変領域																				
CDR L1 - Kabat																				
CDR L1 - Chothia																				
Kabat 番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
hu37D3.v28A4.hlgG4.YTE	D	D	V	E	T	Q	T	P	L	S	L	P	V	T	P	Q	P	A	S	I
hu37D3.v76.hlgG1	D	D	L	L	T	Q	T	P	L	S	L	P	V	T	P	Q	P	A	S	I
hu37D3.v83.hlgG1	D	D	L	L	T	Q	T	P	L	S	L	P	V	T	P	Q	P	A	S	I
hu37D3.v83.hlgG4.YTE	D	D	L	L	T	Q	T	P	L	S	L	P	V	T	P	Q	P	A	S	I
hu37D3.v83.hlgG1	D	D	L	L	T	Q	T	P	L	S	L	P	V	T	P	Q	P	A	S	I
hu37D3.v83.hlgG4.YTE	D	D	L	L	T	Q	T	P	L	S	L	P	V	T	P	Q	P	A	S	I
CDR L2 - Kabat																				
Kabat 番号	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	
hu37D3.v28A4.hlgG4.YTE	Q	X	P	G	G	S	P	Q	L	L	I	L	V	K	V	S	M	R	P	S
hu37D3.v76.hlgG1	Q	X	P	G	G	S	P	Q	L	L	I	L	V	K	V	S	M	R	P	S
hu37D3.v83.hlgG1	Q	X	P	G	G	S	P	Q	L	L	I	L	V	K	V	S	M	R	P	S
hu37D3.v83.hlgG4.YTE	Q	X	P	G	G	S	P	Q	L	L	I	L	V	K	V	S	M	R	P	S
hu37D3.v83.hlgG1	Q	X	P	G	G	S	P	Q	L	L	I	L	V	K	V	S	M	R	P	S
hu37D3.v83.hlgG4.YTE	Q	X	P	G	G	S	P	Q	L	L	I	L	V	K	V	S	M	R	P	S
CDR L3 - Kabat																				
Kabat 番号	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	
hu37D3.v28A4.hlgG4.YTE	A	E	D	V	G	V	Y	C	F	Q	G	S	L	V	P	M	E	G	T	K
hu37D3.v76.hlgG1	A	E	D	V	G	V	Y	C	F	Q	G	S	L	V	P	M	E	G	T	K
hu37D3.v83.hlgG1	A	E	D	V	G	V	Y	C	F	Q	G	S	L	V	P	M	E	G	T	K
hu37D3.v83.hlgG4.YTE	A	E	D	V	G	V	Y	C	F	Q	G	S	L	V	P	M	E	G	T	K
hu37D3.v83.hlgG1	A	E	D	V	G	V	Y	C	F	Q	G	S	L	V	P	M	E	G	T	K
hu37D3.v83.hlgG4.YTE	A	E	D	V	G	V	Y	C	F	Q	G	S	L	V	P	M	E	G	T	K
CDR L3 - Chothia																				
Kabat 番号	90	91	92	93	94	95	96	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	
hu37D3.v28A4.hlgG4.YTE	A	E	D	V	G	V	Y	C	F	Q	G	S	L	V	P	M	E	G	T	K
hu37D3.v76.hlgG1	A	E	D	V	G	V	Y	C	F	Q	G	S	L	V	P	M	E	G	T	K
hu37D3.v83.hlgG1	A	E	D	V	G	V	Y	C	F	Q	G	S	L	V	P	M	E	G	T	K
hu37D3.v83.hlgG4.YTE	A	E	D	V	G	V	Y	C	F	Q	G	S	L	V	P	M	E	G	T	K
hu37D3.v83.hlgG1	A	E	D	V	G	V	Y	C	F	Q	G	S	L	V	P	M	E	G	T	K
hu37D3.v83.hlgG4.YTE	A	E	D	V	G	V	Y	C	F	Q	G	S	L	V	P	M	E	G	T	K
CDR H1 - Kabat																				
Kabat 番号	341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355	356	357	358	359	
hu37D3.v28A4.hlgG4.YTE	F	I	K	E	L	S	A	V	E	G	S	G	S	G	S	G	S	G	S	G
hu37D3.v76.hlgG1	F	I	K	E	L	S	A	V	E	G	S	G	S	G	S	G	S	G	S	G
hu37D3.v83.hlgG1	F	I	K	E	L	S	A	V	E	G	S	G	S	G	S	G	S	G	S	G
hu37D3.v83.hlgG4.YTE	F	I	K	E	L	S	A	V	E	G	S	G	S	G	S	G	S	G	S	G
hu37D3.v83.hlgG1	F	I	K	E	L	S	A	V	E	G	S	G	S	G	S	G	S	G	S	G
hu37D3.v83.hlgG4.YTE	F	I	K	E	L	S	A	V	E	G	S	G	S	G	S	G	S	G	S	G
CDR H1 - Chothia																				
Kabat 番号	341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355	356	357	358	359	
hu37D3.v28A4.hlgG4.YTE	F	I	K	E	L	S	A	V	E	G	S	G	S	G	S	G	S	G	S	G
hu37D3.v76.hlgG1	F	I	K	E	L	S	A	V	E	G	S	G	S	G	S	G	S	G	S	G
hu37D3.v83.hlgG1	F	I	K	E	L	S	A	V	E	G	S	G	S	G	S	G	S	G	S	G
hu37D3.v83.hlgG4.YTE	F	I	K	E	L	S	A	V	E	G	S	G	S	G	S	G	S	G	S	G
hu37D3.v83.hlgG1	F	I	K	E	L	S	A	V	E	G	S	G	S	G	S	G	S	G	S	G
hu37D3.v83.hlgG4.YTE	F	I	K	E	L	S	A	V	E	G	S	G	S	G	S	G	S	G	S	G
CDR H2 - Kabat																				
Kabat 番号	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	
hu37D3.v28A4.hlgG4.YTE	K	G	L	V	V	A	T	I	N	S	G	G	T	Y	V	P	D	S	V	K
hu37D3.v76.hlgG1	K	G	L	V	V	A	T	I	N	S	G	G	T	Y	V	P	D	S	V	K
hu37D3.v83.hlgG1	K	G	L	V	V	A	T	I	N	S	G	G	T	Y	V	P	D	S	V	K
hu37D3.v83.hlgG4.YTE	K	G	L	V	V	A	T	I	N	S	G	G	T	Y	V	P	D	S	V	K
hu37D3.v83.hlgG1	K	G	L	V	V	A	T	I	N	S	G	G	T	Y	V	P	D	S	V	K
hu37D3.v83.hlgG4.YTE	K	G	L	V	V	A	T	I	N	S	G	G	T	Y	V	P	D	S	V	K
CDR H2 - Chothia																				
Kabat 番号	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	
hu37D3.v28A4.hlgG4.YTE	K	G	L	V	V	A	T	I	N	S	G	G	T	Y	V	P	D	S	V	K
hu37D3.v76.hlgG1	K	G	L	V	V	A	T	I	N	S	G	G	T	Y	V	P	D	S	V	K
hu37D3.v83.hlgG1	K	G	L	V	V	A	T	I	N	S	G	G	T	Y	V	P	D	S	V	K
hu37D3.v83.hlgG4.YTE	K	G	L	V	V	A	T	I	N	S	G	G	T	Y	V	P	D	S	V	K
hu37D3.v83.hlgG1	K	G	L	V	V	A	T	I	N	S	G	G	T	Y	V	P	D	S	V	K
hu37D3.v83.hlgG4.YTE	K	G	L	V	V	A	T	I	N	S	G	G	T	Y	V	P	D	S	V	K
CDR H3 - Kabat																				
Kabat 番号	82b	82c	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	
hu37D3.v28A4.hlgG4.YTE	S	L	R	A	E	D	T	A	V	I	C	A	M	S	I	S	G	A	N	D
hu37D3.v76.hlgG1	S	L	R	A	E	D	T	A	V	I	C	A	M	S	I	S	G	A	N	D
hu37D3.v83.hlgG1	S	L	R	A	E	D	T	A	V	I	C	A	M	S	I	S	G	A	N	D
hu37D3.v83.hlgG4.YTE	S	L	R	A	E	D	T	A	V	I	C	A	M	S	I	S	G	A	N	D
hu37D3.v83.hlgG1	S	L	R	A	E	D	T	A	V	I	C	A	M	S	I	S	G	A	N	D
hu37D3.v83.hlgG4.YTE	S	L	R	A	E	D	T	A	V	I	C	A	M	S	I	S	G	A	N	D
hu37D3.v83.hlgG1	S	L	R	A	E	D	T	A	V	I	C	A	M	S	I	S	G	A	N	D
hu37D3.v83.hlgG4.YTE	S	L	R	A	E	D	T	A	V	I	C	A	M	S	I	S	G	A	N	D
CDR H3 - Chothia																				
Kabat 番号	82b	82c	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	
hu37D3.v28A4.hlgG4.YTE	S	L	R	A	E	D	T	A	V	I	C	A	M	S	I	S	G	A	N	D
hu37D3.v76.hlgG1	S	L	R	A	E	D	T	A	V	I	C	A	M	S	I	S	G	A	N	D
hu37D3.v83.hlgG1	S	L	R	A	E	D	T	A	V	I	C	A	M	S	I	S	G	A	N	D
hu37D3.v83.hlgG4.YTE	S	L	R	A	E	D	T	A	V	I	C	A	M	S	I	S	G	A	N	D
hu37D3.v83.hlgG1	S	L	R	A	E	D	T	A	V	I	C	A	M	S	I	S	G	A	N	D
hu37D3.v83.hlgG4.YTE	S	L	R	A	E	D	T	A	V	I	C	A	M	S	I	S	G	A	N	D
hu37D3.v83.hlgG1	S	L	R	A	E	D	T	A	V	I	C	A	M	S	I	S	G	A	N	D
hu37D3.v83.hlgG4.YTE	S	L	R	A	E	D	T	A	V	I	C	A	M	S	I	S	G	A	N	D

【図 2 5 B】

重鎖可変領域																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
CDR H1 - Kabat																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
CDR H1 - Chothia																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Kabat 番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																		
h3d703.428A.hg4 YTE	E	V	Q	L	E	S	G	G	G	L	V	Q	P	G	G	S	L	R	L	S	C	A	S	G	L	L	E	S	V	G	H	S	V	R	Q	A	P	G																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																						

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/21	
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	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 K	47/68 (2017.01)	A 6 1 K	47/68	
A 6 1 P	25/28 (2006.01)	A 6 1 P	25/28	
A 6 1 P	25/16 (2006.01)	A 6 1 P	25/16	
A 6 1 P	25/00 (2006.01)	A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	21/04 (2006.01)	A 6 1 P	21/04	
A 6 1 P	21/02 (2006.01)	A 6 1 P	21/02	
A 6 1 P	29/00 (2006.01)	A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	25/02 (2006.01)	A 6 1 P	25/02	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
G 0 1 N	33/53 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1
		G 0 1 N	33/53	D

エフエル イノベーション パーク

(72)発明者

ホツツェル, イシドロ

アメリカ合衆国 カリフォルニア, サウス サンフランシスコ, ディーエヌイー ウェイ 1

(72)発明者

ディカーラ, ダニエル

アメリカ合衆国 カリフォルニア 94080, サウス サンフランシスコ, ディーエヌイー ウェイ 1

審査官

西 賢二

(56)参考文献

特表2016-525502 (JP, A)

特表2015-532592 (JP, A)

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C 1 2 N 15/00-15/90

C 0 7 K 1/00-19/00

CAplus/REGISTRY (STN)