

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-521763

(P2023-521763A)

(43)公表日 令和5年5月25日(2023.5.25)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13	Z N A 4 B 0 6 4
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	C 1 2 N 15/63	Z 4 B 0 6 5
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	4 C 0 8 5
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	4 H 0 4 5
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全67頁) 最終頁に続く		

(21)出願番号	特願2022-561415(P2022-561415)	(71)出願人	509087759
(86)(22)出願日	令和3年4月7日(2021.4.7)		ヤンセン バイオテック、インコーポレ
(85)翻訳文提出日	令和4年11月9日(2022.11.9)		ーテツド
(86)国際出願番号	PCT/IB2021/052890		アメリカ合衆国ペンシルベニア州190
(87)国際公開番号	WO2021/205359		44ホーシャム・リツジビユードライブ
(87)国際公開日	令和3年10月14日(2021.10.14)		800/850
(31)優先権主張番号	63/007,118	(74)代理人	100092783
(32)優先日	令和2年4月8日(2020.4.8)		弁理士 小林 浩
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100095360
			弁理士 片山 英二
(31)優先権主張番号	63/026,387	(74)代理人	100093676
(32)優先日	令和2年5月18日(2020.5.18)		弁理士 小林 純子
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100120134
			弁理士 大森 規雄
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA	(74)代理人	100153693
	最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗P H Fータウ抗体及びその使用

(57)【要約】

モノクローナル抗P H Fータウ抗体及びその抗原結合断片が記載される。また、抗体をコードする核酸、抗体を含む組成物、抗体を生成する方法、及びタウ異常症などの状態を治療又は予防するための抗体を使用する方法も記載される。

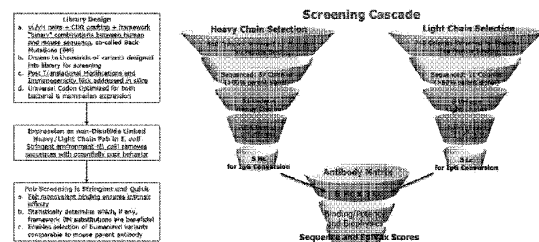


FIG. 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

配列番号 71、45、51、57、63、69、39、41、43、47、49、53、55、59、61、65、若しくは 67 から選択されるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、又は配列番号 72、46、52、58、64、70、40、42、44、48、50、54、56、62、66、若しくは 68 から選択されるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片であって、前記モノクローナル抗体又はその抗原結合断片が、対らせん状細線維（PHF）ータウ、好ましくは、ヒト PHFータウに特異的に結合する、前記単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片。

10

【請求項 2】

前記モノクローナル抗体又はその抗原結合断片が、

- a. 配列番号 71 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 72 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- b. 配列番号 45 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 46 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- c. 配列番号 51 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 52 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- d. 配列番号 57 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 58 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- e. 配列番号 63 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 64 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- f. 配列番号 69 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 70 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- g. 配列番号 39 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 40 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- h. 配列番号 41 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 42 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- i. 配列番号 43 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 44 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- j. 配列番号 47 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 48 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- k. 配列番号 49 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 50 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- l. 配列番号 53 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 54 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- m. 配列番号 55 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 56 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- n. 配列番号 59 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 60 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- o. 配列番号 61 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 62 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- p. 配列番号 65 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 66 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、又は
- q. 配列番号 67 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 68 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む、

20

30

40

請求項 1 に記載の単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 3】

前記モノクローナル抗体又はその抗原結合断片が、

- a. 配列番号 37 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 38 のポリペプチド

50

配列を有する軽鎖、

b. 配列番号 11 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 12 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

c. 配列番号 17 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 18 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

d. 配列番号 23 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 24 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

e. 配列番号 29 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 30 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

f. 配列番号 35 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 36 のポリペプチド配列を有する軽鎖、 10

g. 配列番号 5 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 6 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

h. 配列番号 7 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 8 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

i. 配列番号 9 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 10 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

j. 配列番号 13 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 14 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

k. 配列番号 15 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 16 のポリペプチド配列を有する軽鎖、 20

l. 配列番号 19 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 20 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

m. 配列番号 21 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 22 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

n. 配列番号 25 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 26 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

o. 配列番号 27 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 28 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

p. 配列番号 31 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 32 のポリペプチド配列を有する軽鎖、又は 30

q. 配列番号 33 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 34 のポリペプチド配列を有する軽鎖を含む、

請求項 1 に記載の単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 4】

請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片をコードする、単離核酸。

【請求項 5】

請求項 4 に記載の単離核酸を含む、ベクター。

【請求項 6】

請求項 5 に記載の核酸を含む、宿主細胞。

【請求項 7】

請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片と、医薬的に許容される担体とを含む、医薬組成物。

【請求項 8】

病理学的タウ凝集又はタウ異常症の拡散の低減を必要とする対象における、前記病理学的タウ凝集又は前記タウ異常症の拡散を低減する方法であって、請求項 7 に記載の医薬組成物を前記対象に投与することを含む、前記方法。

【請求項 9】

タウ異常症の治療を必要とする対象における、前記タウ異常症を治療する方法であって 50

、請求項 7 に記載の医薬組成物を前記対象に投与することを含む、前記方法。

【請求項 10】

前記タウ異常症が、家族性アルツハイマー病、散発的アルツハイマー病、染色体 17 に関連したパーキンソン症候群による前頭側頭型認知症（FTDP-17）、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核変性症、ピック病、進行性皮質下神経膠症、線維変化優位型認知症、石灰化によるびまん性神経原線維変化、嗜銀顆粒性認知症、筋萎縮性側索硬化症・パーキンソン症候群認知症合併症、ダウン症、ゲルストマン・ストロイスラー・シャインカー病、ハラーフォルデン・シュパッツ病、封入体筋炎、クロイツフェルト・ヤコブ病、多系統萎縮症、C 型ニーマン・ピック病、プリオンタンパク質大脳アミロイド血管障害、亜急性硬化性全脳炎、筋強直性ジストロフィー、神経原線維変化による非グアamaniアン運動ニューロン疾患、脳炎後パーキンソン症候群、慢性外傷性脳症、及び拳闘家認知症（ボクサー病）からなる群から選択される、請求項 9 に記載の方法。

10

【請求項 11】

請求項 1～3 のいずれか一項に記載のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片を生成する方法であって、前記モノクローナル抗体又はその抗原結合断片をコードする核酸を含む細胞を、前記モノクローナル抗体又はその抗原結合断片を生成する条件下で培養することと、前記細胞又は細胞培養液から前記抗体又はその抗原結合断片を回収することを含む、前記方法。

【請求項 12】

対象由来の生体試料における PHF-タウの存在を検出する方法であって、前記生体試料を請求項 1～3 のいずれか一項に記載のモノクローナル抗体又は抗原結合断片と接触させることと、前記対象由来の前記試料における PHF-タウへの前記モノクローナル抗体又はその抗原結合断片の結合を検出することを含む、前記方法。

20

【請求項 13】

前記生体試料が、血液、血清、血漿、間質液、又は大脳脊髄液試料である、請求項 12 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）

30

本出願は、2020 年 4 月 8 日に提出された米国出願第 63/007,118 号及び 2020 年 5 月 18 日に提出された米国出願第 63/026,387 号の優先権の利益を主張する。

【0002】

（発明の分野）

本発明は、抗 PHF-タウ抗体、抗体をコードする核酸及び発現ベクター、ベクターを含有する組換え細胞、並びに抗体を含む組成物に関する。抗体を作製する方法、タウ異常症を含む状態を治療するために抗体を使用する方法、及びタウ異常症などの疾患を診断するために抗体を使用する方法もまた提供される。

【0003】

（電子的に提出された配列表の参照）

40

本出願は、ファイル名「JBI6174WOPCT1__SL」及び作成日 2021 年 4 月 2 日の、169,953 バイトのサイズを有する ASCII 形式の配列表として EFS-Web を介して電子的に提出された配列表を含む。EFS-Web を介して提出された配列表は、本明細書の一部であり、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0004】

アルツハイマー病（Alzheimer's Disease、AD）は、徐々に激しい精神機能低下を導き、最終的には死に至らしめる、記憶、認知、論理的思考、判断力、及び情動安定性の進行性喪失を臨床的特徴とする、退行性脳障害である。AD は、高齢者の進行性精神機能

50

不全（認知症）の非常に一般的な原因であり、米国では4番目に多い医学的死亡原因を表すと考えられている。ADは、世界中の民族集団で観察され、現在及び未来の、主たる公衆の健康上の問題を提示する。

【0005】

ADを患う個体の脳は、老人性（又はアミロイド）斑、アミロイド血管症（血管におけるアミロイド沈着）及び神経原線維変化と呼ばれる特徴的な病変を呈する。これら病変の大多数、特にアミロイド斑及び対らせん状細線維の神経原線維変化は、一般にADを患う患者の記憶及び認知機能に重要なヒトの脳のいくつかの領域で見られる。

【0006】

現在のAD治療の状況には、認知症を患う患者における認知症状を治療するために認可された治療法のみが含まれる。ADの進行を緩和又は遅延させる、認可された治療法は存在しない。潜在的な疾患改変剤としては、軽度のADを患う患者用の、Eli Lilly ヒト化抗A β モノクローナルソラネズマブ、及び軽度～中度のADを患う患者用の、Merck 小分子BACE阻害剤であるベルベセスタットが挙げられる。これらの治療法、及び次の10年で発売され得る、大部分の他の潜在的な疾患改変剤は、A β （ADの2つの「特徴的な」病理学的兆候のうちの1つである、アミロイドプラークの主成分）を標的とする。

【0007】

ADの第2の特徴的な病理学的兆候である神経原線維変化は主に、過剰リン酸化タウタンパク質の凝集体で構成される。タウの主な生理学的機能は、微小管の重合及び安定化である。タウの微小管への結合は、タウの微小管結合領域における正電荷と、微小管格子における負電荷との間のイオン性相互作用により発生する（Butner and Kirschner, J Cell Biol. 115 (3): 717-30, 1991）。タウタンパク質は、85個の可能なリン酸化反応部位を含有し、これらの部位の多くにおけるリン酸化反応が、タウの一次機能を妨げる。軸索の微小管格子に結合したタウは、擬リン酸化状態にあるが、AD内で凝集したタウは過剰リン酸化状態にあり、タウの生理学的に活性なプールとは異なる独自のエピトープをもたらす。

【0008】

タウ異常症の伝達及び拡散仮説が報告されており、これは、ヒトの脳におけるタウ異常症の進行のBraak段階及び前臨床的タウモデルにおけるタウ凝集体を注射した後のタウ異常症の拡散に基づいている（Frost et al., J Biol Chem. 284: 12845-52, 2009、Clavaguera et al., Nat Cell Biol. 11: 909-13, 2009）。

【0009】

タウの凝集を予防又は一掃する治療薬を開発することには長年関心が持たれており、抗凝集化合物及びキナーゼ阻害剤を含む候補薬物が、臨床試験に導入されている（Brunden et al., Nat Rev Drug Discov. 8: 783-93, 2009）。トランスジェニックマウスモデルにおける能動的及び受動的タウ免疫付与の両方の有益な治療効果を示す、複数の研究が公開されている（Chai et al., J Biol Chem. 286: 34457-67, 2011、Boutajangout et al., J Neurochem. 118: 658-67, 2011、Boutajangout et al., J Neurosci. 30: 16559-66, 2010、Asuni et al., J Neurosci. 27: 9115-29, 2007）。活性は、ホスホ指向性抗体及び非ホスホ指向性抗体の両方で報告されている（Schroeder et al., J Neuroimmune Pharmacol. 11 (1): 9-25, 2016）。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

進展にもかかわらず、タウ凝集及びタウ異常症の進行を予防して、AD及び他の神経変

10

20

30

40

50

性病などのタウ異常症を治療するのに効果的な治療薬が依然として必要とされている。

【課題を解決するための手段】

【0011】

本発明は、対らせん状細線維 (paired helical filament、PHF) - タウに対して高い結合親和性を有し、リン酸化タウに対して選択的である抗PHF-タウ抗体又はその抗原結合断片を提供することによりこの必要性を満たす。本発明の抗体は、マウスPHF-タウ特異的抗体のヒトフレームワークへの適応 (human framework adaptation、HFA) によって生成された。リン酸化タウに対する抗体の選択性により、通常のタウ機能を妨げずに病原性タウに対する効能が可能となると考えられる。本発明はまた、抗体をコードする核酸、抗体を含む組成物、並びに抗体を生成する方法及び抗体を使用する方法も提供する。本発明の抗PHF-タウ抗体、又はその抗原結合断片は、HEK細胞可溶化物に由来する、又は変異体タウトランスジェニックマウスの脊髄溶解物に由来するタウシードを使用する細胞アッセイにより測定されるように、タウシードを阻害する。更に、本発明の抗PHF-タウ抗体の可変領域及びマウスIg定常領域 (例えばマウスIgG2a定常領域) を有するキメラ抗体は、インビボでの変異体タウトランスジェニックマウスにおいてシーディング活性をブロックした。

10

【0012】

AD脳におけるタウ異常症の進行は、異なる空間的拡大パターンに従う。前臨床モデルにおいては、細胞外ホスホータウシードがニューロンでのタウ異常症を誘発し得ることが示されている (Clavaguera et al., PNAS 110 (23): 9535-40, 2013)。それゆえ、タウ異常症はある脳の領域から次の領域に、プリオンのように拡大し得ると考えられている。この拡大プロセスには、近くのニューロンにより取り込まれることができ、更なるタウ異常症を引き起こし得るタウシードの外在化が伴う。理論に束縛されるものではないが、本発明の抗PHF-タウ抗体又はその抗原結合断片は、脳内でホスホータウシードと相互作用することにより、タウ凝集又はタウ異常症の拡大を予防すると考えられている。

20

【0013】

一般的な一態様において、本発明は、PHF-タウに結合する単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。特定の実施形態では、抗体はヒト化モノクローナル抗体である。

30

【0014】

特定の態様によれば、本発明は、配列番号71、45、51、57、63、69、39、41、43、47、49、53、55、59、61、65、若しくは67から選択されるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、又は配列番号72、46、52、58、64、70、40、42、44、48、50、54、56、62、66、若しくは68から選択されるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関し、モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、対らせん状細線維 (PHF) - タウ、好ましくは、ヒトPHF-タウに特異的に結合する。

【0015】

別の特定の態様によれば、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、

40

- a. 配列番号71のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号72のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- b. 配列番号45のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号46のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- c. 配列番号51のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号52のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- d. 配列番号57のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号58のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- e. 配列番号63のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号64のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

50

- f. 配列番号 69 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 70 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- g. 配列番号 39 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 40 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- h. 配列番号 41 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 42 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- i. 配列番号 43 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 44 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- j. 配列番号 47 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 48 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- k. 配列番号 49 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 50 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- l. 配列番号 53 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 54 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- m. 配列番号 55 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 56 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- n. 配列番号 59 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 60 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- o. 配列番号 61 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 62 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- p. 配列番号 65 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 66 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、又は
- q. 配列番号 67 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 68 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

10

20

【0016】

別の特定の態様によれば、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、

- a. 配列番号 37 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 38 のポリペプチド配列を有する軽鎖、
- b. 配列番号 11 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 12 のポリペプチド配列を有する軽鎖、
- c. 配列番号 17 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 18 のポリペプチド配列を有する軽鎖、
- d. 配列番号 23 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 24 のポリペプチド配列を有する軽鎖、
- e. 配列番号 29 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 30 のポリペプチド配列を有する軽鎖、
- f. 配列番号 35 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 36 のポリペプチド配列を有する軽鎖、
- g. 配列番号 5 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 6 のポリペプチド配列を有する軽鎖、
- h. 配列番号 7 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 8 のポリペプチド配列を有する軽鎖、
- i. 配列番号 9 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 10 のポリペプチド配列を有する軽鎖、
- j. 配列番号 13 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 14 のポリペプチド配列を有する軽鎖、
- k. 配列番号 15 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 16 のポリペプチド配列を有する軽鎖、
- l. 配列番号 19 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 20 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

30

40

50

m. 配列番号 21 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 22 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

n. 配列番号 25 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 26 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

o. 配列番号 27 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 28 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

p. 配列番号 31 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 32 のポリペプチド配列を有する軽鎖、又は

q. 配列番号 33 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 34 のポリペプチド配列を有する軽鎖を含む。

10

【0017】

別の一般的な態様では、本発明は、本発明のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片をコードする、単離核酸に関する。

【0018】

別の一般的な態様では、本発明は、本発明のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片をコードする単離核酸を含む、ベクターに関する。

【0019】

別の一般的な態様では、本発明は、本発明のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片をコードする単離核酸を含む、宿主細胞に関する。

【0020】

別の一般的な態様では、本発明は、本発明のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片と、医薬的に許容される担体とを含む、医薬組成物に関する。

20

【0021】

別の一般的な態様では、本発明は、病理学的タウ凝集又はタウ異常症の拡散の低減を必要とする対象における、病理学的タウ凝集又はタウ異常症の拡散を低減する方法であって、本発明の医薬組成物を対象に投与することを含む、方法に関する。

【0022】

別の一般的な態様では、本発明は、タウ異常症の治療を必要とする対象における、タウ異常症を治療する方法であって、本発明の医薬組成物を対象に投与することを含む、方法に関する。タウ異常症としては、家族性アルツハイマー病、散発的アルツハイマー病、染色体 17 に関連したパーキンソン症候群による前頭側頭型認知症 (frontotemporal dementia with parkinsonism linked to chromosome 17、FTDP-17)、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核変性症、ピック病、進行性皮質下神経膠症、神経原線維変化優位型認知症、石灰化によるびまん性神経原線維変化、嗜銀顆粒性認知症、筋萎縮性側索硬化症・パーキンソン症候群認知症合併症、ダウン症、ゲルストマン・ストロイスラー・シャインカー病、ハラーフォルデン・シュパッツ病、封入体筋炎、クロイツフェルト・ヤコブ病、多系統萎縮症、C 型ニーマン・ピック病、プリオンタンパク質大脳アミロイド血管障害、亜急性硬化性全脳炎、筋強直性ジストロフィー、神経原線維変化による非グアモニアン運動ニューロン疾患、脳炎後パーキンソン症候群、慢性外傷性脳症、及び拳闘家認知症 (ボクサー病) からなる群から選択される 1 つ又は 2 つ以上が挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0023】

別の一般的な態様では、本発明は、本発明のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片を生成する方法であって、モノクローナル抗体又はその抗原結合断片をコードする核酸を含む細胞を、モノクローナル抗体又はその抗原結合断片を生成する条件下で培養することと、細胞又は細胞培養液からモノクローナル抗体又はその抗原結合断片を回収することとを含む、方法に関する。

【0024】

別の一般的な態様では、本発明は、本発明のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片を含む、医薬組成物を製造する方法であって、モノクローナル抗体又はその抗原結合断片

40

50

を医薬的に許容される担体と組み合わせて、医薬組成物を得ることを含む、方法に関する。

【0025】

別の一般的な態様では、本発明は、本発明のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片を用いて、対象におけるリン酸化PHF-タウの存在を検出する方法、又は、対象においてPHF-タウの存在を検出することにより、対象のタウ異常症を診断する方法に関する。

【0026】

本発明の他の態様、特徴、及び利点は、発明の詳細な説明、並びにその好ましい実施形態及び添付の特許請求の範囲を含む以下の開示より明らかとなる。

【図面の簡単な説明】

【0027】

上述の「発明の概要」及び以降の「発明を実施するための形態」は、添付の図面と併せて読むことでより良好に理解されるであろう。本発明は、図面に示される正確な実施形態に限定されない点が理解される必要がある。

【図1】ヒト化プロセスの概略図を示す。

【図2A】トランスフェクトされたE coli細胞の上清から誘導された再ヒト化PT3 FabのNP T-6ホスホペプチドへの結合を評価する表面プラズモン共鳴プロファイルを示す。

【図2B】トランスフェクトされたE coli細胞の上清から誘導された再ヒト化PT3 FabのNP T-6ホスホペプチドへの結合を評価する表面プラズモン共鳴プロファイルを示す。

【図2C】トランスフェクトされたE coli細胞の上清から誘導された再ヒト化PT3 FabのNP T-6ホスホペプチドへの結合を評価する表面プラズモン共鳴プロファイルを示す。

【図2D】トランスフェクトされたE coli細胞の上清から誘導された再ヒト化PT3 FabのNP T-6ホスホペプチドへの結合を評価する表面プラズモン共鳴プロファイルを示す。

【図2E】トランスフェクトされたE coli細胞の上清から誘導された再ヒト化PT3 FabのNP T-6ホスホペプチドへの結合を評価する表面プラズモン共鳴プロファイルを示す。

【図2F】トランスフェクトされたE coli細胞の上清から誘導された再ヒト化PT3 FabのNP T-6ホスホペプチドへの結合を評価する表面プラズモン共鳴プロファイルを示す。

【図2G】トランスフェクトされたE coli細胞の上清から誘導された再ヒト化PT3 FabのNP T-6ホスホペプチドへの結合を評価する表面プラズモン共鳴プロファイルを示す。

【図2H】トランスフェクトされたE coli細胞の上清から誘導された再ヒト化PT3 FabのNP T-6ホスホペプチドへの結合を評価する表面プラズモン共鳴プロファイルを示す。

【図2I】トランスフェクトされたE coli細胞の上清から誘導された再ヒト化PT3 FabのNP T-6ホスホペプチドへの結合を評価する表面プラズモン共鳴プロファイルを示す。

【図2J】トランスフェクトされたE coli細胞の上清から誘導された再ヒト化PT3 FabのNP T-6ホスホペプチドへの結合を評価する表面プラズモン共鳴プロファイルを示す。

【図2K】トランスフェクトされたE coli細胞の上清から誘導された再ヒト化PT3 FabのNP T-6ホスホペプチドへの結合を評価する表面プラズモン共鳴プロファイルを示す。

【図2L】トランスフェクトされたE coli細胞の上清から誘導された再ヒト化PT

10

20

30

40

50

【図 2 A B】トランスフェクトされた E c o l i 細胞の上清から誘導された再ヒト化 P T 3 F a b の N P T - 6 ホスホペプチドへの結合を評価する表面プラズモン共鳴プロファイルを示す。

40

【図 2 A C】トランスフェクトされた E c o l i 細胞の上清から誘導された再ヒト化 P T 3 F a b の N P T - 6 ホスホペプチドへの結合を評価する表面プラズモン共鳴プロファイルを示す。

【図 2 A D】トランスフェクトされた E c o l i 細胞の上清から誘導された再ヒト化 P T 3 F a b の N P T - 6 ホスホペプチドへの結合を評価する表面プラズモン共鳴プロファイルを示す。

【図 2 A E】トランスフェクトされた E c o l i 細胞の上清から誘導された再ヒト化 P T 3 F a b の N P T - 6 ホスホペプチドへの結合を評価する表面プラズモン共鳴プロファイルを示す。

【図 2 A F】トランスフェクトされた E c o l i 細胞の上清から誘導された再ヒト化 P T 3 F a b の N P T - 6 ホスホペプチドへの結合を評価する表面プラズモン共鳴プロファイルを示す。

【図 2 A G】トランスフェクトされた E c o l i 細胞の上清から誘導された再ヒト化 P T 3 F a b の N P T - 6 ホスホペプチドへの結合を評価する表面プラズモン共鳴プロファイルを示す。

【図 2 A H】トランスフェクトされた E c o l i 細胞の上清から誘導された再ヒト化 P T 3 F a b の N P T - 6 ホスホペプチドへの結合を評価する表面プラズモン共鳴プロファイルを示す。

【図 2 A I】トランスフェクトされた E c o l i 細胞の上清から誘導された再ヒト化 P T 3 F a b の N P T - 6 ホスホペプチドへの結合を評価する表面プラズモン共鳴プロファイルを示す。

【図 3】直接 E L I S A 実験における p T 2 1 7 + ペプチドへの m A b の結合を示すグラフを示す。比較のために、P T 3 親及び P T 1 B 2 9 6（すなわち、以前のヒト化により得られたバリエーション（米国特許公開第 2 0 1 8 / 0 2 6 5 5 7 5 号））の結合プロファイルを追加した。

【図 4 A】N P T 6 - ペプチドへの選択された再ヒト化バリエーション、P T 3、及び P T 1 B 2 9 6 の m A b 及び F a b 断片の代表的な S P R 結合データを示す。

【図 4 B】N P T 6 - ペプチドへの選択された再ヒト化バリエーション、P T 3、及び P T 1 B 2 9 6 の m A b 及び F a b 断片の代表的な S P R 結合データを示す。

【図 4 C】N P T 6 - ペプチドへの選択された再ヒト化バリエーション、P T 3、及び P T 1 B 2 9 6 の m A b 及び F a b 断片の代表的な S P R 結合データを示す。

【図 4 D】N P T 6 - ペプチドへの選択された再ヒト化バリエーション、P T 3、及び P T 1 B 2 9 6 の m A b 及び F a b 断片の代表的な S P R 結合データを示す。

【図 4 E】N P T 6 - ペプチドへの選択された再ヒト化バリエーション、P T 3、及び P T 1 B 2 9 6 の m A b 及び F a b 断片の代表的な S P R 結合データを示す。

【図 4 F】N P T 6 - ペプチドへの選択された再ヒト化バリエーション、P T 3、及び P T 1 B 2 9 6 の m A b 及び F a b 断片の代表的な S P R 結合データを示す。

【図 4 G】N P T 6 - ペプチドへの選択された再ヒト化バリエーション、P T 3、及び P T 1 B 2 9 6 の m A b 及び F a b 断片の代表的な S P R 結合データを示す。

【図 4 H】N P T 6 - ペプチドへの選択された再ヒト化バリエーション、P T 3、及び P T 1 B 2 9 6 の m A b 及び F a b 断片の代表的な S P R 結合データを示す。

【図 4 I】N P T 6 - ペプチドへの選択された再ヒト化バリエーション、P T 3、及び P T 1 B 2 9 6 の m A b 及び F a b 断片の代表的な S P R 結合データを示す。

【図 5 A】P H F への選択された再ヒト化バリエーション、P T 3、及び P T 1 B 2 9 6 の F a b 断片の代表的な S P R 結合データを示す。

【図 5 B】P H F への選択された再ヒト化バリエーション、P T 3、及び P T 1 B 2 9 6 の F a b 断片の代表的な S P R 結合データを示す。

【図 5 C】P H F への選択された再ヒト化バリエーション、P T 3、及び P T 1 B 2 9 6 の F a b 断片の代表的な S P R 結合データを示す。

【図 5 D】P H F への選択された再ヒト化バリエーション、P T 3、及び P T 1 B 2 9 6 の F

10

20

30

40

50

a b断片の代表的なSPR結合データを示す。

【図5E】PHFへの選択された再ヒト化バリエーション、PT3、及びPT1B296のFab断片の代表的なSPR結合データを示す。

【図5F】PHFへの選択された再ヒト化バリエーション、PT3、及びPT1B296のFab断片の代表的なSPR結合データを示す。

【図6A】マウスWT（レーン1）、マウスKO（レーン2）、ラット（レーン3）、イヌ（レーン4）、ミニブタ（レーン5）、マーモセット（レーン6）、カニクイザル（レーン7）、並びにヒト（非AD脳からの熱安定抽出物（レーン8）及びAD脳から誘導されたPHF（Braak VI段階）（レーン9））からの脳ホモジネートに対するウェスタンブロット分析によって決定された、選択された再ヒト化バリエーション、PT3、及びPT1B296からの種交差反応性データを示す。HRPO標識PT9を用いた検出（Vandermeeren et al., J. Alzheimers Dis. 65 (1) : 265-81 (2018)）を実施して、異なる抽出物中の全タウシグナルを推定した。図6A：PT3 hIgg1。

10

【図6B】マウスWT（レーン1）、マウスKO（レーン2）、ラット（レーン3）、イヌ（レーン4）、ミニブタ（レーン5）、マーモセット（レーン6）、カニクイザル（レーン7）、並びにヒト（非AD脳からの熱安定抽出物（レーン8）及びAD脳から誘導されたPHF（Braak VI段階）（レーン9））からの脳ホモジネートに対するウェスタンブロット分析によって決定された、選択された再ヒト化バリエーション、PT3、及びPT1B296からの種交差反応性データを示す。HRPO標識PT9を用いた検出（Vandermeeren et al., J. Alzheimers Dis. 65 (1) : 265-81 (2018)）を実施して、異なる抽出物中の全タウシグナルを推定した。図6B：PT1B296。

20

【図6C】マウスWT（レーン1）、マウスKO（レーン2）、ラット（レーン3）、イヌ（レーン4）、ミニブタ（レーン5）、マーモセット（レーン6）、カニクイザル（レーン7）、並びにヒト（非AD脳からの熱安定抽出物（レーン8）及びAD脳から誘導されたPHF（Braak VI段階）（レーン9））からの脳ホモジネートに対するウェスタンブロット分析によって決定された、選択された再ヒト化バリエーション、PT3、及びPT1B296からの種交差反応性データを示す。HRPO標識PT9を用いた検出（Vandermeeren et al., J. Alzheimers Dis. 65 (1) : 265-81 (2018)）を実施して、異なる抽出物中の全タウシグナルを推定した。図6C：PT1B844。

30

【図6D】マウスWT（レーン1）、マウスKO（レーン2）、ラット（レーン3）、イヌ（レーン4）、ミニブタ（レーン5）、マーモセット（レーン6）、カニクイザル（レーン7）、並びにヒト（非AD脳からの熱安定抽出物（レーン8）及びAD脳から誘導されたPHF（Braak VI段階）（レーン9））からの脳ホモジネートに対するウェスタンブロット分析によって決定された、選択された再ヒト化バリエーション、PT3、及びPT1B296からの種交差反応性データを示す。HRPO標識PT9を用いた検出（Vandermeeren et al., J. Alzheimers Dis. 65 (1) : 265-81 (2018)）を実施して、異なる抽出物中の全タウシグナルを推定した。図6D：PT1B847。

40

【図6E】マウスWT（レーン1）、マウスKO（レーン2）、ラット（レーン3）、イヌ（レーン4）、ミニブタ（レーン5）、マーモセット（レーン6）、カニクイザル（レーン7）、並びにヒト（非AD脳からの熱安定抽出物（レーン8）及びAD脳から誘導されたPHF（Braak VI段階）（レーン9））からの脳ホモジネートに対するウェスタンブロット分析によって決定された、選択された再ヒト化バリエーション、PT3、及びPT1B296からの種交差反応性データを示す。HRPO標識PT9を用いた検出（Vandermeeren et al., J. Alzheimers Dis. 65 (1) : 265-81 (2018)）を実施して、異なる抽出物中の全タウシグナルを推定した。図6E：PT1B856。

50

【図 6 F】マウス WT (レーン 1)、マウス KO (レーン 2)、ラット (レーン 3)、イヌ (レーン 4)、ミニブタ (レーン 5)、マーモセット (レーン 6)、カニクイザル (レーン 7)、並びにヒト (非 AD 脳からの熱安定抽出物 (レーン 8) 及び AD 脳から誘導された PHF (Braak VI 段階) (レーン 9)) からの脳ホモジネートに対するウェスタンブロット分析によって決定された、選択された再ヒト化バリエーション、PT3、及び PT1B296 からの種交差反応性データを示す。HRPO 標識 PT9 を用いた検出 (Vandermeeren et al., J. Alzheimers Dis. 65 (1) : 265-81 (2018)) を実施して、異なる抽出物中の全タウシグナルを推定した。図 6 F : PT1B850。

【図 6 G】マウス WT (レーン 1)、マウス KO (レーン 2)、ラット (レーン 3)、イヌ (レーン 4)、ミニブタ (レーン 5)、マーモセット (レーン 6)、カニクイザル (レーン 7)、並びにヒト (非 AD 脳からの熱安定抽出物 (レーン 8) 及び AD 脳から誘導された PHF (Braak VI 段階) (レーン 9)) からの脳ホモジネートに対するウェスタンブロット分析によって決定された、選択された再ヒト化バリエーション、PT3、及び PT1B296 からの種交差反応性データを示す。HRPO 標識 PT9 を用いた検出 (Vandermeeren et al., J. Alzheimers Dis. 65 (1) : 265-81 (2018)) を実施して、異なる抽出物中の全タウシグナルを推定した。図 6 G : PT1B333。

【図 6 H】マウス WT (レーン 1)、マウス KO (レーン 2)、ラット (レーン 3)、イヌ (レーン 4)、ミニブタ (レーン 5)、マーモセット (レーン 6)、カニクイザル (レーン 7)、並びにヒト (非 AD 脳からの熱安定抽出物 (レーン 8) 及び AD 脳から誘導された PHF (Braak VI 段階) (レーン 9)) からの脳ホモジネートに対するウェスタンブロット分析によって決定された、選択された再ヒト化バリエーション、PT3、及び PT1B296 からの種交差反応性データを示す。HRPO 標識 PT9 を用いた検出 (Vandermeeren et al., J. Alzheimers Dis. 65 (1) : 265-81 (2018)) を実施して、異なる抽出物中の全タウシグナルを推定した。図 6 H : PT9-HRPO。

【図 7 A】AD 及び非 AD 脳凍結切片に対する選択された再ヒト化バリエーション、PT3、及び PT1B296 からの mAb の結合データを示す。

【図 7 B】AD 及び非 AD 脳凍結切片に対する選択された再ヒト化バリエーション、PT3、及び PT1B296 からの mAb の結合データを示す。

【図 7 C】AD 及び非 AD 脳凍結切片に対する選択された再ヒト化バリエーション、PT3、及び PT1B296 からの mAb の結合データを示す。

【図 8 A】図 8 A に記載されるように FRET アッセイを使用して、細胞モデルにおける選択された再ヒト化バリエーション、PT3、及び PT1B296 の有効性を示す。

【図 8 B】図 8 B のグラフは、AD 脳由来タウシードに添加された抗体濃度を増加させる機能の残存シーディング % を示す。

【図 9 A】ePHF 注射モデルにおける PT1B844、PT1B296、及び PT3 の有効性を示す (例えば、同時投与後の米国特許公開第 2018/0265575 号を参照されたい)。

【図 9 B】ePHF 注射モデルにおける PT1B844、PT1B296、及び PT3 の有効性を示す (例えば、同時投与後の米国特許公開第 2018/0265575 号を参照されたい)。

【図 9 C】ePHF 注射モデルにおける PT1B844、PT1B296、及び PT3 の有効性を示す (例えば、同時投与後の米国特許公開第 2018/0265575 号を参照されたい)。

【図 9 D】ePHF 注射モデルにおける PT1B844、PT1B296、及び PT3 の有効性を示す (例えば、同時投与後の米国特許公開第 2018/0265575 号を参照されたい)。

【図 10 A】pT217+エピトープ係合のエクスピボモデルにおける再ヒト化バリエーション

10

20

30

40

50

ト、PT1B296、及びPT3の有効性を示す（例えば、米国特許公開第2019/0271710号を参照されたい）。

【図10B】 pT217+エピトープ係合のエキスピボモデルにおける再ヒト化バリエーション、PT1B296、及びPT3の有効性を示す（例えば、米国特許公開第2019/0271710号を参照されたい）。

【図11】 カニクイザルにおける単回投与後のPT1B844/PT1B916の血漿及びCSF PKを示す。

【発明を実施するための形態】

【0028】

背景技術において、また、本明細書全体を通じて各種刊行物、論文及び特許を引用又は記載し、これら参照文献の各々はその全容が参照により本明細書に組み込まれる。本明細書に含まれる文書、操作、材料、デバイス、物品などの考察は、本発明のコンテキストを与えるためのものである。かかる考察は、これらの事物のいずれか又は全てが、開示又は特許請求されるいずれかの発明に対する先行技術の一部を構成することを容認するものではない。

10

【0029】

定義

別の定義がなされない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、本発明が属する技術分野の当業者に全般的に理解されるものと同じ意味を有する。そうでない場合、本明細書で使用される特定の用語は、本明細書に記載される意味を有するものである。本明細書に引用する全ての特許、公開された特許出願及び刊行物は、参照によってあたかもその全体が本明細書に記載されているように組み込まれる。

20

【0030】

本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用する時、単数形「a」、「an」及び「the」は、特に文脈上明らかでない限り、複数の指示対象物を含むことに留意する必要がある。

【0031】

特に明記しない限り、本明細書に記載される濃度又は濃度範囲などのあらゆる数値は、全ての場合において、「約」という用語によって修飾されているものとして理解されるべきである。したがって、数値は、典型的には、記載される値の±10%を含む。例えば、1mg/mLの濃度は0.9mg/mL～1.1mg/mLを含む。同様に、1%～10%（w/v）の濃度範囲は0.9%（w/v）～11%（w/v）を含む。本明細書で使用する時、数値範囲の使用は、文脈上そうでない旨が明確に示されない限り、その範囲内の整数及び値の分数を含む、全ての可能な部分範囲、その範囲内の全ての個々の数値を明示的に含む。

30

【0032】

本明細書で使用する時、「単離（された）」という用語は、生物学的構成成分（例えば、核酸、ペプチド、又はタンパク質）が、これらの構成成分が天然に生じる生物の他の生物学的構成成分（すなわち、他の染色体及び染色体外DNA及びRNA、並びにタンパク質）から実質的に分離されたか、これらの他の成分とは別に生成されたか、又はこれらの他の成分から精製されたものであることを意味する。このため、「単離（された）」核酸、ペプチド、及びタンパク質は、標準的な精製法により精製された核酸及びタンパク質を含む。「単離された」核酸、ペプチド、及びタンパク質は、組成物の一部であることができ、このような組成物が核酸、ペプチド、又はタンパク質の本来の環境の一部ではない場合であっても単離されている。また、この用語は、宿主細胞中での組換え発現により調製された核酸、ペプチド、及びタンパク質、並びに化学合成された核酸も包含する。

40

【0033】

本明細書で使用する時、「抗体」又は「免疫グロブリン」という用語は広い意味で用いられ、ポリクローナル抗体を含む免疫グロブリン又は抗体分子、マウス、ヒト、ヒト適合、ヒト化、及びキメラモノクローナル抗体及び抗体断片を含むモノクローナル抗体を含

50

む。

【0034】

全般的には、抗体とは、特定の抗原に対する結合特異性を示すタンパク質又はペプチド鎖である。抗体の構造は、公知である。免疫グロブリンは、重鎖定常ドメインのアミノ酸配列に応じて5つの主なクラス、すなわち、IgA、IgD、IgE、IgG、及びIgMに割り当てられ得る。IgA及びIgGは、アイソタイプのIgA1、IgA2、IgG1、IgG2、IgG3及びIgG4として更に細分類される。したがって、本発明の抗体は、5つの主要なクラス又は対応する下位クラスのいずれかのものであることができる。本発明の抗体は、IgG1、IgG2、IgG3、又はIgG4であることが好ましい。本発明の抗体としては、半減期の延び、ADCC又はCDCの増減、及びサイレンシングされたFcエフェクター機能が挙げられるがこれらに限定されない、野生型Fc領域と比較して変化した特性を有するように、Fc領域に多様性を有するものが挙げられる。いずれの脊椎動物種の抗体軽鎖も、それらの定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて2つの明確に異なるタイプ、すなわちκ及びλのうちの一方に割り当てることができる。したがって、本発明の抗体は、κ又はλ軽鎖定常ドメインを含有することができる。特定の実施形態によれば、本発明の抗体は、マウス抗体又はヒト抗体の重鎖及び／又は軽鎖定常領域を含む。

10

【0035】

重鎖及び軽鎖定常領域に加えて、抗体は、軽鎖及び重鎖可変領域を含有する。免疫グロブリン軽鎖又は重鎖可変領域は、「抗原結合部位」が割り込んだ「フレームワーク」領域からなる。抗原結合部位は、以下のとおり様々な用語及び付番スキームを用いて定義される：

20

(i) Kabat：「相補性決定領域」又は「CDR (Complementarity Determining Region)」は、配列可変性に基づく(Wu and Kabat, J Exp Med. 132:211-50, 1970)。一般に、抗原結合部位は、各可変領域に3つのCDR (例えば、重鎖可変領域 (heavy chain variable region、VH) にHCDR1、HCDR2、及びHCDR3、並びに軽鎖可変領域 (light chain variable region、VL) にLCDR1、LCDR2、及びLCDR3) を有する。

(ii) Chothia：「超可変領域」、「HVR (hypervariable region)」又は「HV」という用語は、Chothia及びLeskにより定義されているように、構造中で超可変性である抗体可変ドメインの領域を指す(Chothia and Lesk, J Mol Biol. 196:901-17, 1987)。一般に、抗原結合部位は、各VH (H1、H2、H3) 及びVL (L1、L2、L3) に3つの超可変領域を有する。CDR及びHVの付番体系及び注釈は、最近、Abhinandan及びMartinにより改訂された(Abhinandan and Martin, Mol. Immunol. 45:3832-9 (2008))、

30

(iii) IMGT：抗原結合部位を形成する領域の別の定義は、免疫グロブリン及びT細胞受容体からのVドメインの比較に基づき、Lefranc (Lefranc et al., Dev Comp Immunol. 27:55-77, 2003) により提案されている。International Immunogenetics (IMGT) データベースが、標準化したこれらの領域の付番及び定義を提供している。CDR、HV、及びIMGTの描写間の対応については、Lefranc et al., 2003、同上に記載されている。

40

(iv) AbM：Kabat及びChothiaの付番スキームの妥協点は、Martin (Martin ACR (2010) Antibody Engineering, eds Kontermann R, Dubel S (Springer-Verlag, Berlin), Vol 2, pp 33-51) に記載されている、AbM付番の取り決めである。

(v) 抗原結合部位はまた、「特異性決定残基使用量」(Specificity Determining Residue Usage、SDRU) に基づいて描写することができ(Almagro, Mol

50

Recognit. 17:132-43, 2004)、S D Rは、抗原接触に直接関与する免疫グロブリンのアミノ酸残基を指す。

【0036】

「フレームワーク」又は「フレームワーク配列」は、抗原結合部位の配列であると定義されるものの以外の、抗体の可変領域内の残りの配列である。抗原結合部位の正確な定義は、上述したような様々な描写により決定され得るため、正確なフレームワーク配列は、抗原結合部位の定義に依存する。フレームワーク領域 (framework region、F R) は、より高度に保存された可変ドメインの部分である。天然の重鎖及び軽鎖の可変ドメインは各々、3つの超可変ループにより接続された、 β シート構成を一般的に用いる4つのF R (それぞれF R 1、F R 2、F R 3、及びF R 4)を含む。各鎖の超可変ループはF Rにより互いに緊密に折りたたまれ、他の鎖の超可変ループとともに、抗体の抗原結合部位の形成に寄与する。抗体の構造分析により、相補性決定領域により形成される結合部位の配列と形状との関係が明らかとなった (Chothia et al., J. Mol. Biol. 227:799-817, 1992、Tramontano et al., J. Mol. Biol. 215:175-182, 1990)。これらの高い配列変動性にもかかわらず、6つのループのうち5つだけが、「標準構造」と言われる、小さなレパートリーの主鎖構造を採用する。これらの構造はまず、ループの長さにより決定され、次に、折りたたみ、水素結合、又は異常な主鎖構造を推定する能力により構造が決定される、ループ及びフレームワーク領域の特定の位置における鍵となる残基の存在により決定される。

【0037】

本明細書で使用する時、「抗原結合断片」という用語は、例えば、ダイアボディ、F a b、F a b'、F (a b')₂、F v断片、ジスルフィド安定化F v断片 (d s F v)、(d s F v)₂、二重特異性d s F v (d s F v-d s F v')、ジスルフィド安定化ダイアボディ (d s ダイアボディ)、単鎖抗体分子 (s c F v)、単ドメイン抗体 (s d a b)、s c F v二量体 (二価ダイアボディ)、1つ又は2つ以上のC D Rを含む抗体の一部分から形成される多重特異性抗体、ラクダ化単ドメイン抗体、ナノボディ、ドメイン抗体、二価ドメイン抗体、又は抗原に結合するが完全な抗体構造を含まない任意の他の抗体断片などの抗体断片を指す。抗原結合断片は、親抗体又は親抗体断片が結合する同じ抗原に結合することができる。特定の実施形態によれば、抗原結合断片は、軽鎖可変領域、軽鎖定常領域、及び重鎖の定常領域のF dセグメントを含む。他の特定の実施形態によれば、抗原結合断片は、F a b及びF (a b')を含む。

【0038】

本明細書で使用する時、「ヒト化抗体」という用語は、抗体の抗原結合特性は保持されるが、人体における抗原の抗原性が低下するように、修飾されてヒト抗体への配列相同性を増加させた非ヒト抗体を指す。

【0039】

本明細書で使用する時、「エピトープ」という用語とは、免疫グロブリン、抗体又はその抗原結合断片が特異的に結合する、抗原上の部位を指す。エピトープは、タンパク質の三次折りたたみにより並置された連続アミノ酸から、又は非連続アミノ酸からの両方で形成することができる。連続アミノ酸から形成したエピトープは、典型的には、変性溶媒にさらして保持されるが、三次折りたたみにより形成したエピトープは、典型的には、変性溶媒による処理で喪失される。エピトープは、典型的には、独自の空間構造の中に、少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、又は15個のアミノ酸を含む。エピトープの空間構造を決定する方法としては、例えば、x線結晶構造解析、及び二次元核磁気共鳴が挙げられる。例えば、Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, G. E. Morris, Ed. (1996)を参照されたい。

【0040】

本明細書で使用する時、「タウ」又は「タウタンパク質」という用語とは、複数のア

イソフォームを有する、多くある中枢神経系及び末梢神経系のタンパク質を指す。ヒト中枢神経系 (central nervous system、CNS) では、代替スプライシングにより、352～441アミノ酸長のサイズ範囲の6つの主要なタウアイソフォームが存在する (Hanger et al., Trends Mol Med. 15:112-9, 2009)。アイソフォームは、0～2個のN末端挿入、及び3又は4個の一系列に配列した微小管結合反復を制御して含めることにより互いに異なり、0N3R (配列番号73)、1N3R (配列番号74)、2N3R (配列番号75)、0N4R (配列番号76)、1N4R (配列番号77)、及び2N4R (配列番号78) と称される。本明細書で使用する時、「対照タウ」という用語とは、リン酸化及び他の翻訳後修飾されていない、配列番号78のタウアイソフォームを指す。本明細書で使用する時、「タウ」という用語は、完全長野生型タウの変異 (例えば、点変異、断片、挿入、欠失、及びスプライスバリエーション) を含むタンパク質を含む。「タウ」という用語はまた、タウアミノ酸配列の翻訳後修飾を包含する。翻訳後修飾としては、リン酸化が挙げられるが、これに限定されない。

10

20

30

40

50

【0041】

タウは、微小管に結合しており、タウのリン酸化によって調節され得るプロセスである、細胞を通じたカーゴの輸送を制御する。AD及び関連する疾患においては、タウの異常リン酸化が広く生じ、これは、タウの対らせん状細線維 (PHF) と呼ばれる原線維への凝集の前に生じ、及び／又はその凝集を誘発すると考えられる。PHFの主要構成成分は、過剰リン酸化タウである。本明細書で使用する時、「対らせん状細線維-タウ」又は「PHF-タウ」という用語とは、対らせん状細線維中のタウの凝集体を指す。PHF構造における2つの主要な領域は、電子顕微鏡、ファジーコート、及びコア細線維により明らかであり、ファジーコートは、タンパク質分解に敏感であり、細線維の外側に位置し、細線維のプロテアーゼ耐性コアは、PHFの主鎖を形成する (Wischik et al. Proc Natl Acad Sci USA. 85:4884-8, 1988)。

【0042】

本明細書で使用する時、「PHF-タウに結合する単離ヒト化抗体」又は「単離ヒト化抗PHF-タウ抗体」とは、異なる抗原特異性を有する他の抗体を実質的に含まない、ヒト化抗PHF-タウ抗体を指すことを意図する (例えば、単離ヒト化抗PHF-タウ抗体は、PHF-タウ以外の抗原に特異的に結合する抗体を実質的に含まない)。しかしながら、単離ヒト化抗PHF-タウ抗体は、例えば他の種 (PHF-タウ種ホモログなど) の他の関連抗原に対して交差反応性を有する。

【0043】

本明細書で使用する時、「特異的に結合する」又は「特異的結合」という用語は、本発明の抗PHF-タウ抗体が、約 1×10^{-6} M以上、例えば、約 1×10^{-7} M以下、約 1×10^{-8} M以下、約 1×10^{-9} M以下、約 1×10^{-10} M以下、約 1×10^{-11} M以下、約 1×10^{-12} M以下、又は約 1×10^{-13} M以下の解離定数 (K_D) で所定の標的に結合する能力を指す。 K_D は、 K_a に対する K_d の比率 (すなわち、 K_d/K_a) から得られ、モル濃度 (M) として表される。抗体の K_D 値は、本開示を考慮して当該技術分野における方法を用いて決定することができる。例えば、抗PHF-タウ抗体の K_D 値は、表面プラズモン共鳴を用いることにより、バイオセンサシステム、例えば、Biacore (登録商標) システム、Proteon機器 (BioRad)、KinExA機器 (Sapidyne)、ELISA、又は当業者に知られている競合結合アッセイを用いることなどにより、決定することができる。典型的には、抗PHF-タウ抗体は、例えば、Proteon機器 (BioRad) を使用した表面プラズモン共鳴によって測定した場合に、非特異的標的に対する K_D よりも少なくとも10倍低い K_D で所定の標的 (すなわち、PHF-タウ) に結合する。しかしながら、PHF-タウに特異的に結合する抗PHF-タウ抗体は、他の関連標的、例えば、他の種 (ホモログ) からの所定の同じ標的に対する交差反応性を有することができる。

【0044】

本明細書で使用する時、「ポリヌクレオチド」という用語は、同義的に、「核酸分子

」、「ヌクレオチド」、又は「核酸」とも称され、非修飾RNA若しくはDNA又は修飾RNA若しくはDNAであってよい、任意のポリリボヌクレオチド又はポリデオキシリボヌクレオチドを指す。「ポリヌクレオチド」としては、これらに限定されるものではないが、一本鎖及び二本鎖DNA、一本鎖及び二本鎖の領域の混合物であるDNA、一本鎖及び二本鎖RNA、並びに一本鎖及び二本鎖の領域の混合物であるRNA、一本鎖又はより典型的には二本鎖又は一本鎖及び二本鎖の領域の混合物であってよいDNA及びRNAを含むハイブリッド分子が挙げられる。加えて、「ポリヌクレオチド」は、RNA若しくはDNA又はRNA及びDNAの両方を含む三本鎖領域を指す。ポリヌクレオチドという用語には、1つ又は2つ以上の修飾塩基を含有するDNA又はRNA、及び安定性又は他の理由のために修飾された骨格を有するDNA又はRNAも含まれる。「修飾」塩基は、例えば、トリチル化塩基及びイノシンなどの異常塩基を含む。様々な修飾をDNA及びRNAに行うことができる。したがって、「ポリヌクレオチド」は、典型的に天然に認められるポリヌクレオチドの化学的、酵素的又は代謝的に修飾された形態、並びにウイルス及び細胞のDNA及びRNAの特徴を有する化学的形態を包含する。「ポリヌクレオチド」はまた、比較的短い核酸鎖（多くの場合、オリゴヌクレオチドと称される）も包含する。

10

【0045】

本明細書で使用する時、「ベクター」という用語は、別の核酸セグメントを機能的に挿入することによってそのセグメントの複製又は発現を行うことができるレプリコンのことである。

【0046】

本明細書で使用する時、「宿主細胞」なる用語は、本発明の核酸分子を含む細胞を指す。「宿主細胞」は、例えば、初代細胞、培養中の細胞、又は細胞株由来の細胞のいずれのタイプの細胞であってもよい。一実施形態では、「宿主細胞」は、本発明の核酸分子をトランスフェクトした細胞である。別の実施形態では、「宿主細胞」は、かかるトランスフェクトされた細胞の子孫又は潜在的な子孫である。ある細胞の子孫は、例えば、後続の世代で生じ得る変異若しくは環境の影響、又は宿主細胞ゲノムへの核酸分子の組み込みによって、親細胞との同一性を有していない場合がある。

20

【0047】

本明細書で使用する時、「発現」という用語は、遺伝子産物の生合成を指す。かかる用語には、遺伝子のRNAへの転写が含まれる。また、かかる用語には、RNAの1つ又は2つ以上のポリペプチドへの翻訳も含まれ、全ての天然に生じる、転写後及び翻訳後修飾も更に含まれる。PHF-タウに結合する、発現したヒト化抗体又はその抗原結合断片は、宿主細胞の細胞質内に存在することができるか、細胞培養液の増殖培地などの細胞外環境に入ることができるか、又は細胞膜に固着することができる。

30

【0048】

本明細書で使用する時、「担体」という用語は、任意の賦形剤、希釈剤、充填剤、塩、緩衝液、安定剤、可溶化剤、油、脂質、脂質含有小胞、ミクロスフェア、リポソーム封入体、又は医薬製剤で使用するための当該技術分野において周知の他の材料を指す。担体、賦形剤又は希釈剤の特性は、特定の用途の投与経路によって決まる点は理解されよう。本明細書で使用する時、「医薬的に許容される担体」という用語は、本発明による組成物の効果にも本発明による組成物の生物活性にも干渉しない無毒性材料を指す。特定の実施形態によれば、本開示を考慮して、抗体の医薬組成物での使用に好適ないずれの医薬的に許容される担体も、本発明において使用することができる。

40

【0049】

本明細書で使用する時、「対象」という用語は、動物、好ましくは哺乳動物を指す。特定の実施形態によれば、対象は、非霊長類（例えば、ラクダ、ロバ、シマウマ、ウシ、ブタ、ウマ、ヤギ、ヒツジ、ネコ、イヌ、ラット、ウサギ、モルモット又はマウス）、又は霊長類（例えば、サル、チンパンジー、又はヒト）を含む哺乳動物である。特定の実施形態では、対象は、ヒトである。

【0050】

50

本明細書で使用する時、「治療有効量」という用語は、対象に所望の生物学的又は薬理的応答を惹起する活性成分又は構成成分の量を指す。治療有効量は、記載される目的に対して経験的かつ通常の方法で決定することができる。例えば、任意選択的にインビトロアッセイを用いて、最適な用量範囲の特定に役立てることができる。具体的な有効用量の選択は、治療又は予防される疾病、伴う症状、患者の体重、患者の免疫状態、及び当業者に既知の他の因子を含むいくつかの因子の考慮に基づいて、当業者によって（例えば、臨床試験により）決定することができる。また、製剤に用いられる正確な用量は、投与経路及び疾患の重症度に応じて決まり、医師の判断及び各患者の状況に従って決定されるべきである。有効用量は、インビトロ又は動物モデル試験系から導かれる用量応答曲線から推定することができる。

10

【0051】

本明細書で使用する時、「治療する (treat)」、「治療する (treating)」、及び「治療 (treatment)」という用語は全て、タウ異常症に関連する少なくとも1つの測定可能な身体的パラメータの改善又は回復を指し、これは対象において必ずしも認識されるとは限らないが、対象において認識可能な場合もある。「治療する (treat)」、「治療する (treating)」、及び「治療」という用語はまた、疾患、障害、又は状態を退縮させる、その進行を防止する、又は少なくともその進行を遅らせることを指す場合もある。特定の実施形態では、「治療する (treat)」、「治療する (treating)」、及び「治療 (treatment)」は、タウ異常症に関連する1つ又は2つ以上の症状の緩和、進展若しくは発症の予防、又はその期間の短縮を指す。特定の実施形態では、「治療する」、「治療する」、及び「治療」は、疾患、障害、又は状態の再発の予防を指す。特定の実施形態では、「治療する」、「治療する」、及び「治療」は、疾患、障害、又は状態を有する対象の生存率の向上を指す。特定の実施形態では、「治療する」、「治療する」、及び「治療」は、対象における疾患、障害、又は状態の消失を指す。

20

【0052】

本明細書で使用する時、「タウ異常症」は、脳内のタウの病理学的凝集を伴う任意の神経変性疾患を包含する。家族性及び散发性ADに加えて、他の例示的なタウ異常症は、染色体17に関連したパーキンソン症候群を伴う前頭側頭型認知症 (FTDP-17)、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核変性症、ピック病、進行性皮質下神経膠症、神経原線維変化優位型認知症、石灰化を伴うびまん性神経原線維変化病、嗜銀顆粒性認知症、筋萎縮性側索硬化症・パーキンソン症候群認知症複合、ダウン症候群、ゲルストマン・ストロイスラー・シャインカー病、ハラーフォルデン・シュパッツ病、封入体筋炎、クロイツフェルト・ヤコブ病、多系統萎縮症、C型ニーマン・ピック病、プリオンタンパク質大脳アミロイド血管障害、亜急性硬化性全脳炎、筋強直性ジストロフィー、神経原線維変化による非グアマニアン運動ニューロン疾患、脳炎後パーキンソン症候群、及び、拳闘家認知症 (ボクサー病) などの慢性外傷性脳症である (Morris et al., Neuron, 70: 410-26, 2011)。

30

【0053】

本明細書で使用する時、対象への2種類又はそれ以上の治療薬の投与との関連において用いられる「併用」という用語とは、2種類以上の治療薬の使用を指す。「併用」という用語の使用は、治療薬を対象に投与する順序について限定しない。例えば、第1治療薬（例えば、本明細書に記載される組成物）を、対象への第2治療薬の投与の前（例えば、5分、15分、30分、45分、1時間、2時間、4時間、6時間、12時間、16時間、24時間、48時間、72時間、96時間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、8週間、又は12週間前）、同時、又はその後（例えば、5分、15分、30分、45分、1時間、2時間、4時間、6時間、12時間、16時間、24時間、48時間、72時間、96時間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、8週間、又は12週間後）に投与することができる。

40

【0054】

抗PHF-タウ抗体

50

一般的な一態様において、本発明は、P H F - タウに結合する単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。このような抗 P H F - タウ抗体は、P H F - タウにてリン酸化エピトープを結合させる特性、又は P H F - タウにて非リン酸化エピトープを結合させる特性を有することができる。抗 P H F - タウ抗体は治療薬として有用である場合があり、また、例えば組織又は細胞中での、生体試料における P H F - タウを検出するための調査又は診断試薬としても有用である場合がある。

【0055】

特定の態様によれば、本発明は、タウタンパク質のプロリンリッチなドメインにおけるエピトープにおいてリン酸化タウタンパク質に結合する単離ヒト化抗体又はその抗原結合断片に関する。より具体的な態様において、本発明は、リン酸化 T 2 1 2 及び／又は T 2 1 7 残基を含むエピトープにおいてリン酸化タウタンパク質に結合する単離ヒト化抗体又はその抗原結合断片に関する。

【0056】

ヒト化抗体は、実質的にヒト抗体からの可変領域フレームワーク残基（「アクセプター抗体」と呼ばれる）、及び、実質的に非ヒト抗体（すなわち、マウス抗体）からの相補性決定領域（ドナー免疫グロブリンと称される）を有する。Queen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86:10029-10033, 1989、国際特許公開第90/07861号、米国特許第5693762号、同第5693761号、同第5585089号、同第5530101号、及び同第5225539号を参照されたい。存在する場合、定常領域もまた実質的に、又は全体的にヒト免疫グロブリンに由来する。ヒト可変ドメインは通常、フレームワーク配列が、CDRが由来するマウス可変領域ドメインと高度な配列同一性を示す、ヒト抗体から選択される。重鎖及び軽鎖可変領域フレームワーク残基は、同一の又は異なるヒト抗体配列に由来することができる。ヒト抗体配列は、自然に生じるヒト抗体の配列であることができる、又は、いくつかのヒト抗体のコンセンサス配列であることができる。例えば、国際特許公開第92/22653号を参照されたい。CDR構造及び／又は抗原への結合に対する可能性のある影響に基づいて、ヒト可変領域フレームワーク残基からの特定のアミノ酸が、置換のために選択される。このような可能性のある影響の調査は、モデリング、特定の位置におけるアミノ酸特性の検査、又は、特定のアミノ酸の置換若しくは変異誘発の影響についての実験的観察によるものである。

【0057】

例えば、アミノ酸の、マウス可変領域フレームワーク残基と選択されたヒト可変領域フレームワーク残基とが異なる場合、アミノ酸が、（1）抗原に直接非共有結合する、（2）CDR領域に隣接する、（3）別様においてはCDR領域と相互作用する（例えば、約6オングストロームのCDR領域の中に存在する）、又は（4）V L - V H界面に関与することが合理的に予想されるのであれば、ヒトフレームワークアミノ酸は通常、マウス抗体の等価なフレームワークアミノ酸により置換されるべきである。

【0058】

置換の他の候補は、その位置におけるヒト免疫グロブリンにとっては通常のものではない、アクセプターヒトフレームワークアミノ酸である。これらのアミノ酸は、マウスドナー抗体の等価な位置のアミノ酸、又は、より典型的なヒト免疫グロブリンの等価な位置のアミノ酸で置換することができる。置換の他の候補は、その位置におけるヒト免疫グロブリンにとっては通常のものではない、アクセプターヒトフレームワークアミノ酸である。ヒト化免疫グロブリンの可変領域フレームワークは通常、ヒト可変領域フレームワーク配列、又はそのようなコンセンサス配列に対して少なくとも85%の配列同一性を示す。

【0059】

抗体ヒト化は、特異性決定残基の表面再構成（specificity determining residues resurfacing、SDRR）（米国特許第2010/0261620号）、表面再構成（Padlan et al., Mol. Immunol. 28:489-98, 1991）、スーパーヒト化（国際特許公開第04/006955号）、及びヒトストリング含有

10

20

30

40

50

量の最適化（米国特許第 7 6 5 7 3 8 0 号）などの周知の方法を使用して達成することができる。グラフト化又はヒト化に有用なヒトフレームワーク配列は、当業者であれば関連するデータベースから選択することができる。選択したフレームワークを、Queen et al., 1989, 同上に開示されているような技術により更に修飾して、結合親和性を保存又は向上させることができる。特定の実施形態によれば、マウス親抗体の抗 PHF-タウ抗体をヒト化するための方法としては、以下の実施例に記載されているものが挙げられる。

【0060】

本発明の抗体は、多様な技術により、例えば、ハイブリドーマ法により生成することができる（Kohler and Milstein Nature, 256:495-7, 1975）。ドナー抗体（典型的にはマウス）に由来する軽鎖及び重鎖可変領域とともに、アクセプター抗体（典型的にはヒトなどの別の哺乳類種）に由来する軽鎖及び重鎖定常領域を含有するキメラモノクローナル抗体を、米国特許第 4 8 1 6 5 6 7 号に記載されている方法により調製することができる。非ヒトドナー免疫グロブリン（典型的にはマウス）に由来する CDR を有し、分子の残りの、免疫グロブリンに由来する部分は 1 種類又はそれ以上のヒト免疫グロブリンに由来する、CDR グラフトモノクローナル抗体を、例えば米国特許第 5 2 2 5 5 3 9 号に開示されている、当業者に知られている技術により調製することができる。非ヒト配列を欠く完全ヒトモノクローナル抗体は、Lonberg et al., Nature, 368:856-9, 1994; Fishwild et al., Nat Biotechnol, 14:845-51, 1996、及び Mendez et al., Nat Genet, 15:146-56, 1997 において参照された技術により、ヒト免疫グロブリントランスジェニックマウスから調製することができる。ヒトモノクローナル抗体はまた、ファージディスプレイライブラリーから調製及び最適化され得る（例えば、Knappik et al., J Mol Biol, 296:57-86, 2000、Krebs et al., J Immunol Methods, 254:67-84, 2001、Shi et al., J Mol Biol, 397:385-96, 2010 を参照されたい）。

【0061】

本明細書では、配列番号 71、45、51、57、63、69、39、41、43、47、49、53、55、59、61、65、若しくは 67 から選択されるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、又は配列番号 72、46、52、58、64、70、40、42、44、48、50、54、56、62、66、若しくは 68 から選択されるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片が提供され、モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、対らせん状細線維（PHF）-タウ、好ましくは、ヒト PHF-タウに特異的に結合する。

【0062】

特定の態様によれば、本発明は、

- a. 配列番号 71 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 72 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- b. 配列番号 45 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 46 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- c. 配列番号 51 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 52 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- d. 配列番号 57 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 58 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- e. 配列番号 63 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 64 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- f. 配列番号 69 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 70 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- g. 配列番号 39 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 40 のポリ

ペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

h. 配列番号 41 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 42 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

i. 配列番号 43 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 44 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

j. 配列番号 47 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 48 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

k. 配列番号 49 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 50 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

l. 配列番号 53 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 54 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

m. 配列番号 55 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 56 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

n. 配列番号 59 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 60 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

o. 配列番号 61 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 62 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

p. 配列番号 65 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 66 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、又は

q. 配列番号 67 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 68 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。

【0063】

別の特定の態様によれば、本発明は、

a. 配列番号 37 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 38 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

b. 配列番号 11 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 12 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

c. 配列番号 17 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 18 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

d. 配列番号 23 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 24 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

e. 配列番号 29 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 30 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

f. 配列番号 35 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 36 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

g. 配列番号 5 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 6 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

h. 配列番号 7 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 8 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

i. 配列番号 9 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 10 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

j. 配列番号 13 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 14 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

k. 配列番号 15 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 16 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

l. 配列番号 19 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 20 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

m. 配列番号 21 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 22 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

10

20

30

40

50

n. 配列番号 25 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 26 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

o. 配列番号 27 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 28 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

p. 配列番号 31 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 32 のポリペプチド配列を有する軽鎖、又は

q. 配列番号 33 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 34 のポリペプチド配列を有する軽鎖を含む、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。

【0064】

別の特定の態様によれば、本発明は、単離ヒト化抗体又はその抗原結合断片に関し、抗体又は抗原結合断片は、ヒト PHF-タウに、 $5 \times 10^{-9} \text{ M}$ 以下の解離定数 (K_D)、好ましくは $1 \times 10^{-9} \text{ M}$ 以下又は $1 \times 10^{-10} \text{ M}$ 以下の K_D で結合し、 K_D は、表面プラズモン共鳴分析により、例えば Biacore 又は ProteOn システムを使用することにより測定される。

【0065】

PHF-タウに結合するヒト化抗体及びその抗原結合断片の機能活性は、当該技術分野において既知の方法により、そして本明細書に記載のとおり特性決定することができる。PHF-タウに結合する抗体及びその抗原結合断片を特性評価するための方法としては、Biacore、ELISA、及び FACS 分析を含む親和性及び特異性アッセイ；免疫組織化学分析；タウシーディングを阻害する際の抗体の有効性を決定するためのインビトロ細胞アッセイ及びインビボ注射アッセイ；抗体の抗体依存性細胞媒介性細胞傷害 (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity、ADCC) 及び補体依存性細胞傷害 (complement dependent cytotoxicity、CDC) 活性の存在を検出するための細胞傷害性アッセイ等が挙げられるが、これらに限定されない。特定の実施形態によれば、PHF-タウに結合する抗体及びその抗原結合断片を特性評価するための方法としては、以下の実施例に記載されるものが挙げられる。対照タウではなく PHF-タウに結合するヒト化抗体の、例示的なマウス親抗体は抗体 PT3 であり、これは配列番号 1 の重鎖可変領域、及び配列番号 2 の軽鎖可変領域を有する（例えば、参照によりその全体が組み込まれる、米国特許第 9,371,376 号を参照されたい）。

【0066】

いくつかの公知の方法を用いて本発明の抗体の結合エピトープを決定することができる。例えば、両方の個別の構成成分の構造が既知である場合、インシリコでタンパク質-タンパク質ドッキングを行って、適合する相互作用部位を特定することができる。抗原抗体複合体を用いて水素-重水素 (Hydrogen-deuterium、H/D) 交換を行うことによって、抗体が結合する抗原の領域をマッピングすることができる。抗原のセグメント及び点変異誘導を用いることにより、抗体の結合に重要なアミノ酸の位置を特定することができる。抗体-抗原複合体の共結晶構造を使用して、エピトープ及びパラトープに寄与する残基を特定することができる。特定の実施形態によれば、本発明の抗体の結合エピトープを決定するための方法としては、以下の実施例に記載されるものが挙げられる。

【0067】

本発明の抗体は、二重特異的又は多重特異的であってよい。例示的な二重特異的抗体は、PHF-タウの 2 つの異なるエピトープに結合することができるか、又は PHF-タウ及びアミロイドベータ ($A\beta$) に結合することができる。別の例示的な二重特異性抗体は、PHF-タウ及び内因性血液脳関門トランスサイトシス受容体、例えば、インスリン受容体、トランスフェリン受容体 (transferring receptor)、インスリン様増殖因子-1 受容体、及びリポタンパク質受容体に結合することができる。例示的な抗体は、IgG1 タイプである。

【0068】

本発明の抗体の免疫エフェクターの特性は、当業者には既知の技術により、Fc 修飾によって強化又はサイレンシングすることが可能である。例えば、C1q 結合、補体依存性

10

20

30

40

50

細胞傷害（C D C）、抗体依存性細胞介在性細胞傷害（A D C C）、貧食、細胞表面受容体（例えば、B細胞受容体（B C R））の下方制御などのF cエフェクター機能は、これらの活性を担うF cの残基を修飾することによって提供及び／又は制御され得る。また、薬物動態的な特性は、抗体の半減期を延長するF cドメインの残基を変異させることによって向上させることができる（S t r o h l , C u r r O p i n B i o t e c h n o l . 2 0 : 6 8 5 - 9 1 , 2 0 0 9）。

【0069】

更に、本発明の抗体は、グリコシル化、異性化、脱グリコシル化、又はポリエチレングリコール部分の付加及び脂質化等の自然界では生じない共有結合修飾等のプロセスによって、翻訳後修飾してもよい。かかる修飾は、インビボ又はインビトロで行われ得る。例えば、本発明の抗体はポリエチレングリコールとコンジュゲート（P E G 化）することによって薬物動態的なプロファイルを向上させることができる。コンジュゲーションは、当業者に既知の方法によって行うことができる。治療用抗体の、P E G とのコンジュゲーションは、機能を低下させずに薬力学を向上させることが示されている（K n i g h t e t a l . , P l a t e l e t s . 1 5 : 4 0 9 - 1 8 , 2 0 0 4、L e o n g e t a l . , C y t o k i n e . 1 6 : 1 0 6 - 1 9 , 2 0 0 1、Y a n g e t a l . , P r o t e i n E n g . 1 6 : 7 6 1 - 7 0 , 2 0 0 3）。

【0070】

別の一般的な態様において、本発明は、本発明のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片をコードする単離ポリヌクレオチドに関する。タンパク質のアミノ酸配列を変えることなく、タンパク質のコード配列を変える（例えば置換する、欠失する、挿入するなど）ことができることが、当業者には理解されよう。したがって、本発明のヒト化抗体又はその抗原結合断片をコードする核酸配列は、タンパク質のアミノ酸配列を変えることなく変更することができることが当業者には理解されよう。例示的な単離ポリヌクレオチドは、実施例（例えば、配列番号5～38）に記載される免疫グロブリン重鎖及び軽鎖を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、並びに重鎖可変領域（V H）及び軽鎖可変領域（V L）（例えば、配列番号39～72）を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドである。遺伝コードの縮重又は所与の発現系におけるコドンの選好性を考慮すると、本発明の抗体をコードする他のポリヌクレオチドも本発明の範囲内に含まれる。本発明の単離核酸は、公知の組換え又は合成技術を用いて作製することができる。モノクローナル抗体をコードしているD N A は、当該技術分野において公知の方法を用いて容易に単離され、配列決定される。ハイブリドーマが生成される場合、そのような細胞はそれらのD N A の供給源として機能することができる。あるいは、コード配列と翻訳生成物が結合したディスプレイ技術、例えばファージ又はリボソームディスプレイライブラリーを使用することができる。

【0071】

別の一般的な態様において、本発明は、本発明のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片をコードする単離ポリヌクレオチドを含むベクターに関する。本開示を考慮して、当業者に知られている任意のベクター、例えばプラスミド、コスミド、ファージベクター、又はウイルスベクターなどを使用することができる。いくつかの実施形態では、ベクターは、例えばプラスミドなどの組換え発現ベクターである。ベクターは、例えば、プロモータ、リボソーム結合エレメント、ターミネータ、エンハンサ、選択マーカー、及び複製起点という、発現ベクターの従来の機能を確立するための任意のエレメントを含むことができる。プロモータは、常時発現型、誘導型、又は再形成可能なプロモータであり得る。細胞に核酸を送達することができる多数の発現ベクターが当該技術分野において知られており、細胞内で抗体又はその抗原結合断片を生成するために、本明細書で使用するすることができる。従来のクローニング技術、又は人工遺伝子合成法を使用して、本発明の実施形態に従った組換え発現ベクターを生成することができる。

【0072】

別の一般的な態様において、本発明は、本発明のモノクローナル抗体又はその抗原結合

断片をコードする単離ポリヌクレオチドを含む宿主細胞に関する。本開示を考慮すると、当業者に知られている任意の宿主細胞を、本発明の抗体又はその抗原結合断片の組換え発現に使用することができる。そのような宿主細胞は、真核細胞、細菌細胞、植物細胞又は古細菌細胞であってよい。例示的な真核細胞は、哺乳動物、昆虫、鳥類、又は他の動物由来のものであってもよい。哺乳動物真核細胞としては、SP2/0（米国培養コレクション（American Type Culture Collection、ATCC）、Manassas、Va、CRL-1581）、NS0（欧州細胞培養コレクション（European Collection of Cell Cultures、ECACC）、Salisbury、Wiltshire、UK、ECACC No. 85110503）、FO（ATCC CRL-1646）及びAg653（ATCC CRL-1580）ネズミ細胞株などといった、ハイブリドーマ又は骨髓腫の細胞株などの不死化細胞株が挙げられる。例示的なヒト骨髓腫細胞株は、U266（ATTC CRL-TIB-196）である。他の有用な細胞株としては、CHO-K1SV（Lonza Biologics）、CHO-K1（ATCC CRL-61、Invitrogen）、又はDG44などのチャイニーズハムスターの卵巣（Chinese Hamster Ovary、CHO）細胞に由来するものが挙げられる。

10

【0073】

別の一般的な態様において、本発明は、本発明のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片を生成する方法であって、本発明のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片を生成する条件下で、モノクローナル抗体又はその抗原結合断片をコードするポリヌクレオチドを含む細胞を培養することと、細胞又は細胞培養液から（例えば上清から）、抗体又はその抗原結合断片を回収することを含む、方法に関する。発現した抗体又はその抗原結合断片を細胞から回収して、当該技術分野において通常的な技術に従い精製することができる。

20

【0074】

医薬組成物及び治療方法

本発明の抗PHF-タウ抗体、又は本発明のその断片は、脳内でのタウの病理学的凝集を伴う神経変性病、又はタウ異常症を有する患者、例えばADを患う患者における症状の治療、低減、又は予防に使用することができる。

【0075】

したがって、別の一般的な態様において、本発明は、本発明の単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片、及び医薬的に許容される担体を含む、医薬組成物に関する。

30

【0076】

別の一般的な態様において、本発明は、タウ異常症などの病気、疾患又は状態の症状の治療又は低減を必要とする対象における、タウ異常症などの病気、疾患又は状態の症状の治療又は低減方法であって、対象に本発明の医薬組成物を投与することを含む、方法に関する。

【0077】

別の一般的な態様では、本発明は、病理学的タウ凝集又はタウ異常症の拡散の低減を必要とする対象における、病理学的タウ凝集又はタウ異常症の拡散を低減する方法であって、本発明の医薬組成物を対象に投与することを含む、方法に関する。

40

【0078】

本発明の実施形態によれば、医薬組成物は、治療有効量のモノクローナル抗PHF-タウ抗体又はその抗原結合断片を含む。ヒト化抗PHF-タウ抗体又はその抗原結合断片に関して本明細書で使用する時、治療有効量は、疾患、障害、若しくは状態の治療をもたらすか、疾患、障害、若しくは状態の進行を防止若しくは遅延させるか、又は免疫疾患、障害、若しくは状態に関連する症状を低減若しくは完全に緩和する、モノクローナル抗PHF-タウ抗体又はその抗原結合断片の量を意味する。

【0079】

特定の実施形態によれば、治療有効量は、以下の効果のうちの1つ、2つ、3つ、4つ、又はそれ以上を達成するのに十分な治療の量を指す：（i）治療される疾患、障害若し

50

くは状態又はそれに関連する症状の重症度を軽減又は改善すること、(ii)治療される疾患、障害若しくは状態、又はそれに関連する症状の期間を短縮すること、(iii)治療される疾患、障害若しくは状態、又はそれに関連する症状の進行を予防すること、(iv)治療される疾患、障害若しくは状態、又はそれに関連する症状の退縮を生じさせること、(v)治療される疾患、障害又は状態、又はそれに関連する症状の進行又は発症を予防すること、(vi)治療される疾患、障害又は状態、又はそれに関連する症状の再発を予防すること、(vii)治療される疾患、障害、若しくは状態、又はそれに関連する症状を有する対象の入院を減少させること、(viii)治療される疾患、障害若しくは状態、又はそれに関連する症状を有する対象の入院期間を短縮させること、(ix)治療される疾患、障害又は状態、又はそれに関連する症状を有する対象の生存率を高めること、(xi)治療される対象の疾患、障害若しくは状態、又はそれに関連する症状を阻害又は軽減すること、及び／又は(xii)別の治療の予防又は治療効果を強化又は改善すること。

10

【0080】

特定の実施形態によれば、治療される病気、疾患又は状態はタウ異常症である。より具体的な実施形態によれば、治療される病気、疾患又は状態としては、家族性アルツハイマー病、散発的アルツハイマー病、染色体17に関連したパーキンソン症候群による前頭側頭型認知症(FTDP-17)、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核変性症、ピック病、進行性皮質下神経膠症、神経原線維変化優位型認知症、石灰化によるびまん性神経原線維変化、嗜銀顆粒性認知症、筋萎縮性側索硬化症・パーキンソン症候群認知症合併症、ダウ

20

【0081】

タウ異常症に関連する行動的表現型としては、認知障害、初期人格変化及び脱抑制、感情鈍麻、無為症、無言症、失行症、反復症、常同運動／拳動、口愛過度、混乱、連続タスクを計画又は組織化する能力の欠如、利己的行動／無神経、反社会的特徴、共感の欠如、言葉のつかえ、錯誤的誤りは頻繁にあるが比較的理解力は保たれている失文症的な話し方、理解障害及び換語欠陥、緩徐進行性歩行不安定性、後方突進、すくみ、頻繁な転倒、非レボドパ反応性軸剛性、核上性注視麻痺、方形波痙攣、緩徐な垂直断続性運動、仮性球麻痺、四肢失行症、筋緊張異常、皮質性感覚消失、及び振戦が挙げられる。

30

【0082】

治療を受けやすい患者としては、AD又は他のタウ異常症のリスクがある無症候性の個体、及び現在症状を示している患者が挙げられるが、これらに限定されない。治療の影響を受けやすい患者としては、ADの家族歴又はゲノムにおける遺伝的リスク因子の存在など、ADの公知の遺伝的リスクを有する個体が挙げられる。例示的なリスク因子は、特に、位置717、並びに位置670及び671におけるアミロイド前駆体タンパク質(amyloid precursor protein、APP)の変異(それぞれ、Hardy及びSwedish変異)である。他のリスク因子は、プレセニン遺伝子PS1及びPS2、並びにApoE4における変異、高コレステロール血症又はアテローム性動脈硬化症の家族歴である。現在ADに罹患している個体は、上記リスク因子の存在によって特徴的な認知症から認識することができる。更に、ADを有する個体を特定するために、多数の診断試験が利用可能である。これらとしては、脳脊髄液のタウ濃度及びAβ42濃度の測定が挙げられる。タウ濃度の上昇及びAβ42濃度の低下は、ADの存在を表す。また、ADに罹患している個体は、AD及び関連障害の協会の基準によって診断することもできる。

40

【0083】

本発明の抗PHF-タウ抗体は、AD又は他のタウ異常症等、タウの病理学的凝集を伴

50

う神経変性疾患を治療又は予防するための治療剤及び予防剤の両方に好適である。無症候性患者では、治療は何歳から開始してもよい（例えば、約10、15、20、25、30歳）。しかしながら、通常、患者が約40、50、60、又は70歳に達するまで治療を始める必要はない。治療は、典型的には、ある期間にわたる複数回投与を伴う。治療は、経時的に治療剤に対する抗体、又は活性化T細胞若しくはB細胞の応答を評価することによってモニタリングしてもよい。応答（反応）が低下した場合、追加用量を指示してよい。

【0084】

予防用途では、医薬組成物又は薬剤は、疾患の生化学的、組織学的、及び／又は挙動的な症状、その合併症、並びに疾患の発現中に提示される中間病理学的表現型を含む、疾患のリスクをなくす又は低減する、重症度を低下させる、又は疾患の発症を遅らせるのに十分な量で、ADに罹患しやすいか又はそうでなければADのリスクを有する患者に投与される。治療用途では、組成物又は薬剤は、疾患の症状（生化学的、組織学的、及び／又は挙動的）のいずれかを低減、阻止、又は遅延させるのに十分な量で、かかる疾患が疑われるか又は既に罹患している患者に投与される。治療薬の投与により、特徴的なアルツハイマー病状を未だ発現していない患者における軽度の認知障害を低減又はなくすことができる。

【0085】

治療有効量又は用量は、治療される疾患、障害又は状態、投与手段、標的部位、対象の生理学的状態（例えば、年齢、体重、健康状態を含む）、対象がヒトであるか動物であるか、投与される他の薬剤、及び、治療が予防的なものであるか治療的なものであるか、などの様々な因子によって異なり得る。治療用量は、安全性及び有効性を最適化するために最適に漸増される。

【0086】

本発明の抗体は、医薬的に許容される担体内の活性成分として、治療有効量の抗体を含有する医薬組成物として調製することができる。担体は、液体、例えば水、及び落花生油、大豆油、鉱油、ゴマ油等の、石油、動物、植物、又は合成起源のものを含む油であってよい。例えば、0.4%生理食塩水及び0.3%グリシンを用いることができる。これらの溶液は滅菌され、概して粒子状物質を含まない。これらは、従来から公知の滅菌技術（例えば、濾過）によって滅菌することができる。組成物は、生理学的条件に近づけるために必要とされる医薬的に許容できる補助物質、例えばpH調整剤及び緩衝剤、安定化剤、増粘剤、潤滑剤、及び着色剤等を含有することができる。こうした医薬製剤中の本発明の薬剤の濃度は、約0.5重量%未満、通常は少なくとも約1重量%～最大で15又は20重量%までと大きく異なってよく、選択される特定の投与様式に従って、主として必要とされる用量、流体体積、粘度等に基づいて選択される。

【0087】

本発明の抗体を治療的に使用するための投与様式は、薬剤を宿主に送達する任意の好適な経路であってもよい。例えば、本明細書に記載する組成物は、非経口的投与、例えば皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻孔内、若しくは頭蓋内投与に好適であるように製剤化することができ、又は、脳若しくは脊椎の脳脊髄液内に投与することができる。

【0088】

治療は、単回投与スケジュール、又は複数回投与スケジュールで行ってもよく、複数回投与計画では、一次治療過程が1～10回の別個の投与と、続いて、応答を維持しかつ／又は強化するのに必要な後続の時間間隔で他の投与とを行い、例えば第2の投与を、1～4ヶ月で行い、また必要であれば、次の投与を数ヶ月後に行う。好適な治療スケジュールの例としては、(i) 0、1ヶ月及び6ヶ月、(ii) 0、7日及び1ヶ月、(iii) 0及び1ヶ月、(iv) 0及び6ヶ月、又は疾患の症状を軽減するか若しくは疾患の重症度を低下させることが期待される、所望の応答を惹起するのに十分な他のスケジュールが挙げられる。

【0089】

本発明の抗体は、保存のために凍結乾燥させ、使用前に好適な担体に溶解させることができる。この技術は、抗体及び他のタンパク質調製物に効果的であることが示されており、当該技術分野において公知の凍結乾燥及び溶解技術を用いることができる。

【0090】

特定の実施形態によれば、タウ異常症の治療で使用される組成物を、関係する神経変性病の治療に効果的な他の作用物質と組み合わせて使用することができる。ADの場合、本発明の抗体は、アミロイドベータ（amyloid-beta、 $A\beta$ ）の沈着を低減又は予防する作用物質と組み合わせて投与することができる。PHF-タウ及び $A\beta$ の病理は相乗的である可能性がある。したがって、PHF-タウ、並びに $A\beta$ 及び $A\beta$ 関連病理の両方のクリアランスを同時に標的とする併用療法は、各々を個々に標的とするよりも効果的であり得る。パーキンソン病及び関連する神経変性疾患の場合、 α -シヌクレインタンパク質の凝集形態をクリアランスするための免疫修飾も新たに開発された治療法である。タウ及び α -シヌクレインタンパク質のクリアランスを同時に標的とする併用療法は、いずれかのタンパク質を個々に標的とするよりも効果的であり得る。

10

【0091】

別の全般的な態様では、本発明は、本発明のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片を含む、医薬組成物を製造する方法であって、モノクローナル抗体又はその抗原結合断片を医薬的に許容される担体と組み合わせて、医薬組成物を得ることを含む、方法に関する。

20

【0092】

診断方法及びキット

本発明のモノクローナル抗PHF-タウ抗体を、対象におけるAD又は他のタウ異常症の診断方法において使用することができる。

【0093】

したがって、別の一般的な態様において、本発明は、対象にPHF-タウが存在することを検出する方法、及び、本発明のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片を使用して対象にPHF-タウが存在することを検出することにより、タウ異常症を診断する方法に関する。

【0094】

生体試料を診断抗体試薬と接触させ、対象の試料において、診断抗体試薬のリン酸化タウへの結合を検出することにより、対象の生体試料（例えば血清、血漿、間質液、又は大脳脊髄液試料）においてリン酸化タウを検出することができる。検出を実行するためのアッセイとしては、ELISA、免疫組織化学、ウエスタンブロット、又はインビボイメージングなどの周知の方法が挙げられる。

30

【0095】

診断抗体又は同様の試薬は、患者の体内に静脈内注射により投与することができ、又は作用物質を宿主に送達する任意の好適な経路により脳内に直接投与することができる。抗体の用量は、治療方法と同じ範囲内であるべきである。典型的には、抗体は標識されるが、いくつかの方法において、リン酸化タウに対して親和性を有する一次抗体は未標識であり、二次標識剤が、一次抗体に結合させるために用いられる。標識の選択は、検出手段に依存する。例えば、蛍光標識は、光学検出に好適である。常磁性標識の使用は、外科的介入のないトモグラフィ検出に好適である。また、放射標識は、PET又はSPECTを用いて検出され得る。

40

【0096】

診断は、対象由来の試料又は対象における、標識PHF-タウ、タウ凝集体、及び／又は神経原線維変化の数、大きさ、及び／又は強度を、対応するベースライン値と比較することによって行われる。ベースライン値は、健常な個体の集団における平均レベルを表し得る。また、ベースライン値は、同じ対象において決定された以前の値を表す。

【0097】

また、上記の診断方法は、治療前、治療中、又は治療後の対象におけるリン酸化タウの

50

存在を検出することによって治療に対する対象の応答をモニタリングするために用いることもできる。ベースラインに対する値の減少は、治療に対する陽性応答を示す。また、値は、病理学的タウが脳からクリアランスされたとき、生物学的流体において一時的に増加する場合がある。

【0098】

本発明は、更に、上記診断及びモニタリング方法を実施するためのキットに関する。典型的には、このようなキットには、本発明の抗体などの診断試薬と、任意選択的に検出可能な標識とが入っている。診断抗体自体は、直接検出可能であるか又は二次反応（例えば、ストレプトアビジンとの反応）を介して検出可能である、検出可能な標識（例えば、蛍光標識、ビオチン等）を含有してもよい。あるいは、検出可能な標識を含有する第2の試薬を使用してもよく、この場合、第2の試薬は、一次抗体に対する結合特異性を有する。生物学的試料におけるPHF-タウを測定するのに好適な診断キットでは、キットの抗体は、マイクロタイターディッシュのウェル等の固相に予め結合して供給され得る。

10

【0099】

本出願全体で引用した全ての引用参考文献（論文参考文献、交付済み特許、公開された特許出願、及び同時係属の特許出願を含む）の内容は、参照により本明細書に明白に組み込まれる。

【0100】

実施形態

本発明は以下の非限定的な実施形態も提供する。

20

【0101】

実施形態1は、配列番号71、45、51、57、63、69、39、41、43、47、49、53、55、59、61、65、若しくは67から選択されるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、又は配列番号72、46、52、58、64、70、40、42、44、48、50、54、56、62、66、若しくは68から選択されるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片であって、モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、対らせん状細線維（PHF）-タウ、好ましくは、ヒトPHF-タウに特異的に結合する、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片である。

【0102】

30

実施形態2は、モノクローナル抗体又はその抗原結合断片が、

- a. 配列番号71のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号72のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- b. 配列番号45のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号46のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- c. 配列番号51のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号52のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- d. 配列番号57のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号58のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- e. 配列番号63のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号64のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- f. 配列番号69のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号70のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- g. 配列番号39のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号40のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- h. 配列番号41のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号42のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- i. 配列番号43のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号44のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
- j. 配列番号47のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号48のポリ

40

50

ペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

k. 配列番号 49 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 50 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

l. 配列番号 53 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 54 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

m. 配列番号 55 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 56 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

n. 配列番号 59 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 60 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

o. 配列番号 61 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 62 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

p. 配列番号 65 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 66 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、又は

q. 配列番号 67 のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号 68 のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む、実施形態 1 に記載の単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片である。

【0103】

実施形態 3 は、モノクローナル抗体又はその抗原結合断片が、

a. 配列番号 37 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 38 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

b. 配列番号 11 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 12 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

c. 配列番号 17 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 18 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

d. 配列番号 23 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 24 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

e. 配列番号 29 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 30 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

f. 配列番号 35 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 36 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

g. 配列番号 5 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 6 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

h. 配列番号 7 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 8 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

i. 配列番号 9 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 10 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

j. 配列番号 13 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 14 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

k. 配列番号 15 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 16 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

l. 配列番号 19 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 20 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

m. 配列番号 21 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 22 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

n. 配列番号 25 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 26 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

o. 配列番号 27 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 28 のポリペプチド配列を有する軽鎖、

p. 配列番号 31 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 32 のポリペプチド配列を有する軽鎖、又は

q. 配列番号 33 のポリペプチド配列を有する重鎖、及び配列番号 34 のポリペプチド配列を有する軽鎖を含む、実施形態 1 又は 2 に記載の単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片である。

【0104】

実施形態 4 は、実施形態 1～3 のいずれか 1 つに記載のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片をコードする、単離核酸である。

【0105】

実施形態 5 は、実施形態 4 に記載の単離核酸を含む、ベクターである。

【0106】

実施形態 6 は、実施形態 5 に記載の核酸を含む、宿主細胞である。

10

【0107】

実施形態 7 は、実施形態 1～3 のいずれか 1 つに記載の単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片と、医薬的に許容される担体とを含む、医薬組成物である。

【0108】

実施形態 8 は、病理学的タウ凝集又はタウ異常症の拡大の低減を必要とする対象における、病理学的タウ凝集又はタウ異常症の拡大を低減する方法であって、実施形態 7 に記載の医薬組成物を対象に投与することを含む、方法である。

【0109】

実施形態 9 は、タウ異常症の治療を必要とする対象における、タウ異常症を治療する方法であって、実施形態 7 に記載の医薬組成物を対象に投与することを含む、方法である。

20

【0110】

実施形態 10 は、タウ異常症の治療を必要とする対象における、タウ異常症の治療のための追加の作用物質を対象に投与することを更に含む、実施形態 9 に記載の方法である。

【0111】

実施形態 11 は、タウ異常症の治療を必要とする対象における、タウ異常症を治療する方法であって、実施形態 7 に記載の医薬組成物を対象に投与することを含み、タウ異常症は、家族性アルツハイマー病、散発的アルツハイマー病、染色体 17 に関連したパーキンソン症候群による前頭側頭型認知症（FTDP-17）、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核変性症、ピック病、進行性皮質下神経膠症、神経原線維変化優位型認知症、石灰化によるびまん性神経原線維変化、嗜銀顆粒性認知症、筋萎縮性側索硬化症・パーキンソン症候群認知症合併症、ダウン症、ゲルストマン・ストロイスラー・シャインカー病、ハラーフォルデン・シュバッツ病、封入体筋炎、クロイツフェルト・ヤコブ病、多系統萎縮症、C 型ニーマン・ピック病、プリオンタンパク質大脳アミロイド血管障害、亜急性硬化性全脳炎、筋強直性ジストロフィー、神経原線維変化による非グアamaniアン運動ニューロン疾患、脳炎後パーキンソン症候群、慢性外傷性脳症、及び拳闘家認知症（ボクサー病）からなる群から選択される、方法である。

30

【0112】

実施形態 12 は、タウ異常症の治療を必要とする対象における、タウ異常症の治療のための追加の作用物質を対象に投与することを更に含む、実施形態 11 に記載の方法である。

40

【0113】

実施形態 13 は、実施形態 1～3 のいずれか 1 つに記載のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片を生成する方法であって、モノクローナル抗体又はその抗原結合断片をコードする核酸を含む細胞を、モノクローナル抗体又はその抗原結合断片を生成する条件下で培養することと、細胞又は培養物から抗体又はその抗原結合断片を回収することとを含む、方法である。

【0114】

実施形態 14 は、実施形態 1～3 のいずれか 1 つに記載のモノクローナル抗体又は抗原結合断片を含む、医薬組成物を製造する方法であって、モノクローナル抗体又はその抗原結合断片を医薬的に許容される担体と組み合わせて、医薬組成物を得ることを含む、方法

50

である。

【0115】

実施形態15は、タウ異常症の治療を必要とする対象における、タウ異常症の治療に使用するための、実施形態1～3のいずれか1つに記載の単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片である。

【0116】

実施形態16は、タウ異常症の治療を必要とする対象における、家族性アルツハイマー病、散発的アルツハイマー病、染色体17に関連したパーキンソン症候群による前頭側頭型認知症（FTDP-17）、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核変性症、ピック病、進行性皮質下神経膠症、神経原線維変化優位型認知症、石灰化によるびまん性神経原線維変化、嗜銀顆粒性認知症、筋萎縮性側索硬化症・パーキンソン症候群認知症合併症、ダウン症、ゲルストマン・ストロイスラー・シャインカー病、ハラーフォルデン・シュパッツ病、封入体筋炎、クロイツフェルト・ヤコブ病、多系統萎縮症、C型ニーマン・ピック病、プリオンタンパク質大脳アミロイド血管障害、亜急性硬化性全脳炎、筋強直性ジストロフィー、神経原線維変化による非グアマニアン運動ニューロン疾患、脳炎後パーキンソン症候群、慢性外傷性脳症、又は拳闘家認知症（ボクサー病）などの、タウ異常症の治療に使用するための、実施形態1～3のいずれか1つに記載の単離モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又は実施形態7に記載の医薬組成物である。

10

【0117】

実施形態17は、タウ異常症の治療を必要とする対象における、タウ異常症の治療における医薬品を製造するための、実施形態1～3のいずれか1つに記載の単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片の使用である。

20

【0118】

実施形態18は、タウ異常症の治療を必要とする対象における、家族性アルツハイマー病、散発的アルツハイマー病、染色体17に関連したパーキンソン症候群による前頭側頭型認知症（FTDP-17）、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核変性症、ピック病、進行性皮質下神経膠症、神経原線維変化優位型認知症、石灰化によるびまん性神経原線維変化、嗜銀顆粒性認知症、筋萎縮性側索硬化症・パーキンソン症候群認知症合併症、ダウン症、ゲルストマン・ストロイスラー・シャインカー病、ハラーフォルデン・シュパッツ病、封入体筋炎、クロイツフェルト・ヤコブ病、多系統萎縮症、C型ニーマン・ピック病、プリオンタンパク質大脳アミロイド血管障害、亜急性硬化性全脳炎、筋強直性ジストロフィー、神経原線維変化による非グアマニアン運動ニューロン疾患、脳炎後パーキンソン症候群、慢性外傷性脳症、又は拳闘家認知症（ボクサー病）などの、タウ異常症の治療のための薬剤を製造するための、実施形態1～3のいずれか1つに記載の単離モノクローナル抗体又は抗原結合断片の使用である。

30

【0119】

実施形態19は、対象由来の生体試料におけるPHF-タウの存在を検出する方法であって、生体試料を実施形態1～3のいずれか1つに記載のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片と接触させることと、対象由来の試料におけるPHF-タウへのモノクローナル抗体又はその抗原結合断片の結合を検出することを含む、方法である。

40

【0120】

実施形態20は、生体試料が、血液、血清、血漿、間質液、又は大脳脊髄液試料である、実施形態19に記載の方法である。

【0121】

実施形態21は、対象由来の生体試料におけるPHF-タウの存在を検出することによって、対象におけるタウ異常症を診断する方法であって、生体試料を、実施形態1～3のいずれか1つに記載の単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片と接触させることと、対象由来の試料におけるPHF-タウへの抗体又は抗原結合断片の結合を検出することを含む、方法である。

【実施例】

50

【0122】

以下の本発明の実施例は、本発明の本質を更に説明するためのものである。以下の実施例は本発明を限定するものではなく、本発明の範囲は添付の請求項によって定められる点を理解されたい。

【0123】

実施例1ーヒト化プロセスの概略及び結合特性の評価

抗タウ抗体PT3のヒト化

親抗体PT3をヒト化した（例えば、国際特許公開第2013／3096380号、米国特許第10,000,559（B2）号を参照されたい）。ヒト化重鎖及び軽鎖の最良の組み合わせを見出すために、最も整列したヒト生殖細胞系重鎖及びヒト生殖細胞系軽鎖フレームワークを抗体ヒト化のために選択した。親Jセグメント配列をヒトJセグメント配列と比較することによってVLのヒトJセグメントを選択して、配列同一性を最大化した。VHのヒトJセグメントは、G105V変異を含んでいた。

【0124】

E.coliにより生成されたFab上のSPRによるヒト化バリエーションの選択。

方法：E.coliから生成されたヒト化Fab上清のSPRベースのオフレート分析実験を、MASS-2機器を使用して実施した。簡潔には、高容量アミン（high capacity amine、HCA）センサチップを、EDC／NHS混合物を使用して活性化し、表面を、アミンカップリング化学を使用してニュートラアビジン（>4000RU）でコーティングし、表面をエタノールアミンを使用して不活性化した。これに続いて、ビオチン化ホスホータウペプチド（NPT-6）を、異なるレベル（40～100RU）でニュートラアビジンを通して捕捉した。捕捉したホスホータウペプチドへのFabの結合を測定するために、粗Fab上清を、ペプチド表面上にニート溶液として注入し、会合／解離プロファイルをモニタリングした。解離後、表面を、Fab相互作用の次のラウンドのためにリン酸で再生した。ホスホータウペプチドへのFabの結合のためのセンサグラムを、オフレート分析方法を使用して分析して、オフレート値に基づいて順位を決定した。いくつかのFab上清は、親マウス抗体と比較して同様の又はより良好なオフレートを保持し、これらをIgG変換のために選択した。Fabパネルの結合センサグラムを図2A～図2A Iに示し、オフレートを表1に提供する。

【0125】

10

20

30

40

50

【表 1】

表 1 : N P T - 6 ペプチドに結合する E . c o l i F a b 上清の M A S S - 2 S P R オフプレートの結果

Fab上清	Kd[1/s]**
PT3精製Fab(PT1B187.002)	2.73E-05
マウスキメラFAB	<2.85E-05
L1-P1-D3	<2.85E-05
L4-P1-A4	<2.85E-05
L3-P2-A11	<2.85E-05
L2-P2-A3	<2.85E-05
L2-P1-B3	<2.85E-05
L4-P1-B9	<2.85E-05
H1-P4-E8	<2.85E-05
H1-E10	3.11E-05
H2-P1-B8	3.37E-05
H1-P2-G11	3.41E-05
H2-B3	3.49E-05
H2-P1-F5	3.50E-05
H1-P4-E11	4.05E-05
H2-P3-C10	1.50E-04
H2-P2-A2	1.65E-04
グラフトFAB	1.76E-04
H1-P2-G6	1.83E-04
H2-P1-D6	1.89E-04
H2-P3-E1	2.08E-04
H1-P1-G8	2.36E-04
H2-P1-A8	2.40E-04
H2-P4-D7	2.60E-04
H2-P3-C4	2.82E-04
H1-D4	3.02E-04
H1-P3-A4	3.27E-04
H2-P2-F4	3.28E-04
H2-P4-A5	3.90E-04
H1-P3-B9	1.59E-03
H1-P3-C3	2.83E-03

【0126】

復帰変異ライブラリーを分子生物学を通して作成し、ライブラリークローンを、完全マウス親分子と比較したシグナルを用いて、E L I S A を介して b t ペプチドへの結合について試験した。マウス親の 80 % を超える結合を示すシグナルが、配列決定のために選択された。配列を分析した。21 個のヒト適合重鎖及び 5 個のヒト適合軽鎖を選択した。選択されたクローンの完全 E L I S A 結合曲線及び S P R オフプレート分析を含む更なるスクリーニングを実施した（図 2 A ~ 図 2 A I）。5 個の重鎖及び 3 個の軽鎖を、これらの結果に基づいて選択した。重鎖及び軽鎖の完全なマトリックスもまた、E L I S A において F a b として試験し、以前の結果及び結論を確認した。これらの最終的な 5 個の重鎖及び 3 個の軽鎖を合わせて、15 個のマトリックスクローン（表 2 及び 3）を作製し、モノクローナル I g G 1 分子として発現させ、様々な発達アッセイ（T m / T a g g、C I C、S E C、A C - S I N S、親和性及びインシリコ E p i V a x スコア）とともに、抗原結合のための精製 m A b として更に試験した。このデータに基づいて、抗体 P T 1 B 8 4 4 は、親マウス抗体に対して同等又は改善された b t - ペプチド結合及び生物物理学的特性を実証し、更なる開発のために選択された。I g G 1 Y T E バージョン P T 1 B 9 1 6 も作成した（表 2 及び 3）。

【0127】

P T 1 B 8 4 4 及び P T 1 B 9 1 6 の両方は、G 1 0 5 V の潜在的に望ましくない（非ヒト）J セグメント点変異を含んでいた。この潜在的な問題に対処するために、m A b を

作成して、位置をヒトに変換した。新しいクローンを、更なる特性評価のために、I g G 1 及び I g G 1 Y T E の両方として発現させた。

【 0 1 2 8 】

【表 2 - 1】

表 2：ヒト化モノクローナル抗体の重鎖（Heavy chain、H C）及び軽鎖（light chain、L C）配列

mAb成分	配列	配列番号
PT3 HC	EVKLVESGGDLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSYAMSWVRQNPEKRLE WVASISKGGNTYYPNVSVKGRFTISRDNARNILYLQMSSLRSEDALYY CARGWGDYGWFAFWGQVTLVTVSA	1
PT3 LC	DIKMTQSPSSMYASLGERVTITCKASQDINRYLNWFQQKPGKSPKTLI YRANRLLDGVPFRFSGSGSGQDYSLTISSLDYEDMGIIYYCLQYDEFPL TFGDGKLELK	2
グラフトHC	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLE WVSSISKGGNTYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRRAEDTAVY YCARGWGDYGWFAFWGQVTLVTVSS	3
グラフトLC	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDINRYLNWFQQKPGKAPKSLI YRANRLLDGVPFRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQYDEFPL TFGGGTGLEIK	4
PT1B841 HC	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLE WVSSISKGGNTYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRRAEDTAVY YCARGWGDYGWFAFWGQVTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	5
PT1B841 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDINRYLNWFQQKPGKAPKSLI YRANRLLDGVPFRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQYDEFPL TFGGGTGLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	6
PT1B842 HC	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLE WVASISKGGNTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRRAEDTAVY YCARGWGDYGWFAFWGQVTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	7
PT1B842 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDINRYLNWFQQKPGKAPKSLI YRANRLSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDMATYYCQYDEFPL LTFGGGTGLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	8
PT1B843 HC	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLE WVASISKGGNTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRRAEDTAVY YCARGWGDYGWFAFWGQVTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	9
PT1B843 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDINRYLNWFQQKPGKSPKTLI YRANRLSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQYDEFPL TFGGGTGLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	10

【 0 1 2 9 】

10

20

30

40

50

【表 2 - 2】

(表 2 の続き)

mAb成分	配列	配列番号
PT1B844 HC	EVQLVESGGGLVVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLE WVASISKGGNTYYPDVSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGWGDYGWFAIWGQVTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHLEALHNHYTQKSLSLSPGK	11
PT1B844 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQQKPGKAPKTLI YRANRLLDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYDEFPL TFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	12
PT1B845 HC	EVQLVESGGGLVVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKRLE WVASISKGGNTYYPNSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGWGDYGWFAIWGQVTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVDVDSHEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHLEALHNHYTQKSLSLSPGK	13
PT1B845 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQQKPGKAPKSLI YRANRLLSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDMATYYCQQYDEFPL LTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	14
PT1B846 HC	EVQLVESGGGLVVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKRLE WVASISKGGNTYYPNSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGWGDYGWFAIWGQVTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHLEALHNHYTQKSLSLSPGK	15
PT1B846 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQQKPGKSPKTLI YRANRLLSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYDEFPL TFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	16
PT1B847 HC	EVQLVESGGGLVVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKRLE WVASISKGGNTYYPNSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGWGDYGWFAIWGQVTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHLEALHNHYTQKSLSLSPGK	17

10

20

30

40

【 0 1 3 0 】

【表 2 - 3】

(表 2 の続き)

mAb成分	配列	配列番号
PT1B847 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQQKPGKAPKTLI YRANRLLDGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYDEFPL TFGGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	18
PT1B848 HC	EVQLVESGGGLVVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKRLE WVASISKGGNTYYPDVSKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGWGDYGFAYWGQVTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	19
PT1B848 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQQKPGKAPKSLI YRANRLLSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDMATYYCQQYDEFP LTFGGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	20
PT1B849 HC	EVQLVESGGGLVVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKRLE WVASISKGGNTYYPDVSKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGWGDYGFAYWGQVTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	21
PT1B849 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQQKPGKSPKTLI YRANRLLSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYDEFPL TFGGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	22
PT1B850 HC	EVQLVESGGGLVVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKRLE WVASISKGGNTYYPDVSKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGWGDYGFAYWGQVTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	23
PT1B850 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQQKPGKAPKTLI YRANRLLDGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYDEFPL TFGGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	24
PT1B851 HC	EVQLVESGGGLVVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLE WVASISKGGNTYYPNVSKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGWGDYGFAYWGQVTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	25

【0131】

10

20

30

40

50

【表 2 - 4】

(表 2 の続き)

mAb成分	配列	配列番号
PT1B851 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQQKPGKAPKSLI YRANRLLSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDMATYYCQQYDEFP LTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	26
PT1B852 HC	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLE WVASISKGGNTYYPNSVKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGWGDYGFAYWGQVTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	27
PT1B852 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQQKPGKSPKTLI YRANRLLSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYDEFPL TFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	28
PT1B853 HC	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLE WVASISKGGNTYYPNSVKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGWGDYGWFA YWGQVTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	29
PT1B853 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQQKPGKAPKTLI YRANRLLDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYDEFPL TFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	30
PT1B854 HC	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQNPNGKGLE WVASISKGGNTYYPDSVKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGWGDYGFAYWGQVTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	31
PT1B854 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQQKPGKAPKSLI YRANRLLSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDMATYYCQQYDEFP LTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	32

【 0 1 3 2 】

10

20

30

40

【表 2 - 5】

(表 2 の続き)

mAb成分	配列	配列番号
PT1B855 HC	EVQLVESGGGLVVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQNPQGKLE WVASISKGGNTYYPD SVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGWGDYGWFA YWGQVTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	33
PT1B855 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQQKPGKSPKTLI YRANRLLSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYDEFPL TFGQGTKLEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	34
PT1B856 HC	EVQLVESGGGLVVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQNPQGKLE WVASISKGGNTYYPD SVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGWGDYGWFA YWGQVTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	35
PT1B856 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQQKPGKAPKTLI YRANRLLDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYDEFPL TFGQGTKLEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	36
PT1B916 HC	EVQLVESGGGLVVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKLE WVASISKGGNTYYPD SVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGWGDYGWFA YWGQVTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	37
PT1B916 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQQKPGKAPKTLI YRANRLLDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYDEFPL TFGQGTKLEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	38

10

20

30

40

【 0 1 3 3 】

【表 3 - 1】

表 3 : ヒト化モノクローナル抗体の重鎖及び軽鎖可変領域 (それぞれ V H 及び V L)

mAb成分	配列	配列番号
PT1B841 VH	<u>EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIS</u> <u>KGGNTYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGWGDY</u> <u>GWFA YWGQVTLTVSS</u>	39
PT1B841 VL	<u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQKPGKAPKSLIYRANRL</u> <u>LDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLOYDEFPLTFGQGTKLEIK</u>	40
PT1B842 VH	<u>EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVASIS</u> <u>KGGNTYYPD SVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGWGDY</u> <u>GWFA YWGQVTLTVSS</u>	41
PT1B842 VL	<u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQKPGKAPKSLIYRANRL</u> <u>LSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDMATYYCQOYDEFPLTFGQGTKLEIK</u>	42
PT1B843 VH	<u>EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVASIS</u> <u>KGGNTYYPD SVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGWGDY</u> <u>GWFA YWGQVTLTVSS</u>	43
PT1B843 VL	<u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQKPGKSPKTLIYRANRL</u> <u>LSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQOYDEFPLTFGQGTKLEIK</u>	44
PT1B844 VH	<u>EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVASISK</u> <u>GGNTYYPD SVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGWGDY</u> <u>GWFA YWGQVTLTVSS</u>	45
PT1B844 VL	<u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQKPGKAPKTLIYRANRL</u> <u>LDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQOYDEFPLTFGQGTKLEIK</u>	46
PT1B845 VH	<u>EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKRLEWVASISK</u> <u>GNTYYPN SVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGWGDY</u> <u>GWFA YWGQVTLTVSS</u>	47
PT1B845 VL	<u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQKPGKAPKSLIYRANRL</u> <u>LSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDMATYYCQOYDEFPLTFGQGTKLEIK</u>	48
PT1B846 VH	<u>EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKRLEWVASISK</u> <u>GNTYYPN SVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGWGDY</u> <u>GWFA YWGQVTLTVSS</u>	49
PT1B846 VL	<u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQKPGKSPKTLIYRANRL</u> <u>LSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQOYDEFPLTFGQGTKLEIK</u>	50
PT1B847 VH	<u>EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKRLEWVASISK</u> <u>GNTYYPN SVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGWGDY</u> <u>GWFA YWGQVTLTVSS</u>	51
PT1B847 VL	<u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQKPGKAPKTLIYRANRL</u> <u>LDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQOYDEFPLTFGQGTKLEIK</u>	52
PT1B848 VH	<u>EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKRLEWVASISK</u> <u>GNTYYPD SVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGWGDY</u> <u>GWFA YWGQVTLTVSS</u>	53
PT1B848 VL	<u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQKPGKAPKSLIYRANRL</u> <u>LSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDMATYYCQOYDEFPLTFGQGTKLEIK</u>	54
PT1B849 VH	<u>EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKRLEWVASISK</u> <u>GNTYYPD SVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGWGDY</u> <u>GWFA YWGQVTLTVSS</u>	55

【 0 1 3 4 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 2】

(表 3 の続き)

mAb成分	配列	配列番号
PT1B849 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQQKPGKSPKTLIYRANRLLS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYDEFPLTFGQGTKLEIK	56
PT1B850 VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKRLWVASISKG GNTYYPD SVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGWGDYGWFA YWGQVTLVTVSS	57
PT1B850 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQQKPGKAPKTLIYRANRLLD GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYDEFPLTFGQGTKLEIK	58
PT1B851 VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVASISKG GNTYYPNSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGWGDYGWFA YWGQVTLVTVSS	59
PT1B851 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQQKPGKAPKSLIYRANRLLS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDMATYYCQQYDEFPLTFGQGTKLEIK	60
PT1B852 VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVASISKG GNTYYPNSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGWGDYGWFA WGQVTLVTVSS	61
PT1B852 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQQKPGKSPKTLIYRANRLLS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYDEFPLTFGQGTKLEIK	62
PT1B853 VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVASISKG GNTYYPNSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGWGDYGWFA YWGQVTLVTVSS	63
PT1B853 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQQKPGKAPKTLIYRANRL DGVP SRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYDEFPLTFGQGTKLEIK	64
PT1B854 VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQNP G KGLEWVASISKG GNTYYPD SVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGWGDYGWFA YWGQVTLVTVSS	65
PT1B854 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQQKPGKAPKSLIYRANRL SGVP SRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDMATYYCQQYDEFPLTFGQGTKLEIK	66
PT1B855 VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQNP G KGLEWVASISKG GNTYYPD SVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGWGDYGWFA YWGQVTLVTVSS	67
PT1B855 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQQKPGKSPKTLIYRANRLLS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYDEFPLTFGQGTKLEIK	68
PT1B856 VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQNP G KGLEWVASISKG GNTYYPD SVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGWGDYGWFA YWGQVTLVTVSS	69
PT1B856 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQQKPGKAPKTLIYRANRLLD GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYDEFPLTFGQGTKLEIK	70
PT1B916 VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVASISKG GNTYYPD SVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGWGDYGWFA YWGQVTLVTVSS	71
PT1B916 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINRYLNWFQQKPGKAPKTLIYRANRL DGVP SRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYDEFPLTFGQGTKLEIK	72

C D R 配列には下線を付した。

【 0 1 3 5 】

E L I S A

合成 p T 2 1 7 + タウ較正ペプチド (P R Q E F E V M E D H A G T Y G L G D R (d P E G 4) G K T K I A T P R G A A P P G Q K G (d P E G 4) G S R S R (p T) P S L P (p T) P P T R E P K K V - アミド) (それぞれ配列番号 8 1 ~ 8 3、完全長配列が配列番号 7 9 として開示される) への結合は、E L I S A によって分析された。ホスホペプチド (1 0 n g / m L) をプレートに直接コーティングし、0 . 1 % カゼインでブロッキングした後、異なる濃度の、ヒト I g G 1 として発現された示された抗体 (P T 3、P T 1 B 2 9 6、及びヒト化抗体 P T 1 B 8 4 4、P T 1 B 8 4 7、P T 1 B 8 5 0、及び P T 1 B 8 5 6) とインキュベートした。免疫複合体の検出は、H R P O 標識ヤギ

F (a b ') 2 抗ヒト I g G を添加することによって実施した。洗浄後、製造業者の指示に従って one-step TMB 基質 (Thermo Scientific、Waltham, MA) を使用して、検出を実施した。図 3 の結合データは、PT3 と比較した、PT1B296 抗体の最大シグナルの劇的な低減を示した。これは、PT3 と比較して非常に類似した結合を示したヒト化抗体 PT1B844、PT1B847、PT1B850、及び PT1B856 では観察されなかった。

【0136】

異なる蛍光体ペプチド上の表面プラズモン共鳴 (SPR) / SPR による結合評価

抗タウ抗体の選択されたパネルを、異なる位置でリン酸化されたタウペプチドへの結合について試験した。SPR 実験は、Biacore T200 機器上で実施した。簡潔には、CM5 センサチップ表面を、EDC / NHS 溶液の 1 : 1 混合物を使用して活性化した。これに続いて、抗ヒト及び抗マウス Fc 特異的 I g G 溶液 (> 9000 RU) の混合物を共有結合的に固定化し、エタノールアミンでセンサチップ表面の不活性化を行った。試験抗体及び親 mAb を抗 Fc 表面 (250 ~ 550 RU) を通して捕捉し、続いて段階希釈したリン酸化タウペプチド (3 倍で 30 nM ~ 0.37 nM) を注入した。会合及び解離を、それぞれ 3 分間及び 30 時間モニタリングした。異なるリン酸化ペプチドへの試験 mAb の結合のためのセンサグラムを、1 : 1 ラングミュアモデルを使用して分析し、結果をオンレート (k_{on})、オフレート (k_{off})、及び結合親和性 (K_D) として報告する。NPT-6 ペプチドに結合する試験抗体パネルの結合センサグラムを図 4A ~ 図 4I に示し、対応する動態及び親和性を表 4 に示す。リン酸化タウペプチドの完全なパネルとの試験抗体の結合親和性を表 5 に列挙し、リン酸化タウペプチドを表 6 に示す。試験 mAb 及び親 mAb は、212 位及び 217 位 (NPT-6) でリン酸化されたペプチドに対して最も高い親和性 (サブ nM 範囲) を示し、212 及び 217 (NPT-5) と併せて追加のリン酸化部位との結合をわずかに低減した。残基 (212 又は 217) のいずれかにおけるリン酸化の非存在は、結合の著しい喪失 (> μ M; NPT-2、NPT-8、PT25-7、PT25-8)、並びにリン酸化 212 及び 217 残基を含まないペプチドについての結合の完全な喪失 (PT25-6、NPT-C) をもたらした。

【0137】

【表 4】

表 4 : 高親和性 NPT-6 ペプチドに結合するヒト化 mAb の Biacore SPR 結果

試料	説明	平均 k_a (1/Ms)	95% CI k_a (1/Ms)	平均 k_d (1/s)	95% CI k_d (1/s)	平均 K_D (pM)	95% CI K_D (pM)
PT1B17.005	PT3 mG2a 親マウス mAb	5.14E+06	(3.95~6.32)E+06	4.23E-04	(2.43~6.03)E-04	81.9	(65.0~98.9)
PT1B296.004	HFA mAb (臨床 mAb)	1.33E+06	(1.10~1.56)E+06	3.33E-04	(2.28~4.39)E-04	253.7	(129.9~377.5)
PT1B234.003	PT3 対照	3.29E+06	(1.72~4.86)E+06	1.90E-04	(1.36~2.45)E-04	72.9	(25.8~119.9)
PT1B843.001	PT3 ヒト化	2.07E+06	(1.53~2.61)E+06	3.68E-04	(2.60~4.76)E-04	180.4	(86.9~273.9)
PT1B844.001	PT3 ヒト化	1.99E+06	(1.40~2.57)E+06	1.55E-04	(0.558~2.54)E-04	77.2	(48.5~105.9)
PT1B846.001	PT3 ヒト化	1.33E+06	(1.20~1.47)E+06	3.19E-04	(1.05~5.32)E-04	238.0	(92.4~383.6)
PT1B847.001	PT3 ヒト化	1.60E+06	(1.35~1.85)E+06	1.15E-04	(0.189~2.11)E-04	73.3	(1.1~145.5)
PT1B850.001	PT3 ヒト化	1.75E+06	(1.48~2.01)E+06	1.27E-04	(0.432~2.10)E-04	73.2	(17.5~128.9)
PT1B853.001	PT3 ヒト化	1.32E+06	(0.979~1.65)E+06	2.23E-04	(0.827~3.63)E-04	173.3	(26.7~319.9)
PT1B856.001	PT3 ヒト化	1.64E+06	(1.47~1.81)E+06	1.85E-04	(0.829~2.87)E-04	113.6	(43.0~184.2)

【0138】

【表 5】

表 5 : リン酸化タウペプチドに結合するヒト化 mAb の Biacore SPR 結果

試料	ホスホペプチド K_D (pM)							
	NPT-6	NPT-2	NPT-5	NPT-8	PT25-7	PT25-8	PT25-6	NPT-C
PT1B234.003	92	16,933	236	12,100	8,793	7,860	低結合 / 結合なし	低結合 / 結合なし
PT1B844.001	89	15,011	140	8,356	11,411	6,911	低結合 / 結合なし	低結合 / 結合なし
PT1B847.001	73	21,567	277	18,167	13,233	11,233	低結合 / 結合なし	低結合 / 結合なし
PT1B850.001	73	20,900	315	15,367	16,000	10,047	低結合 / 結合なし	低結合 / 結合なし
PT1B856.001	114	19,900	250	12,867	10,297	8,497	低結合 / 結合なし	低結合 / 結合なし
PT1B296.004	354	58,333	429	48,500	39,067	53,633	低結合 / 結合なし	低結合 / 結合なし
PT1B333.005	337	33,967	414	21,300	29,067	26,933	低結合 / 結合なし	低結合 / 結合なし

【0139】

10

20

30

40

50

【表 6】

表 6：ペプチド配列

ペプチド	204						210		212		214			217			220					225
NPT-6	G	T	P	G	S	R	S	R	T*	P	S	L	P	T*	P	P	T	R	E	P	K	K
NPT-2	G	T	P	G	S	R	S	R	T	P	S	L	P	T	P	P	T	R	E	P	K	K
NPT-5	G	T	P	G	S	R	S	R	T*	P	S*	L	P	T*	P	P	T	R	E	P	K	K
NPT-8	G	T	P	G	S	R	S	R	T*	P	S*	L	P	T	P	P	T	R	E	P	K	K
PT25-7	G	T	P	G	S	R	S	R	T	P	S	L	P	T*	P	P	T	R	E	P	K	K
PT25-8	G	T	P	G	S	R	S	R	T	P	S*	L	P	T*	P	P	T	R	E	P	K	K
PT25-6	G	T	P	G	S	R	S	R	T	P	S*	L	P	T	P	P	T	R	E	P	K	K
NPT-C	G	T	P	G	S	R	S	R	T	P	S	L	P	T	P	P	T	R	E	P	K	K

* リン酸化残基

【0140】

PHF上のSPR (Fab+mAb)

選択された試験mAbパネルの精製Fabを、患者由来のPHF-タウ材料への結合について試験して、それらの固有の一価親和性を決定した。HT7マウスmAbを捕捉試薬として使用する、PHF-タウを捕捉カップリングによって調製したバイオセンサ表面を使用するProteinによって、PHF-タウとの抗タウモノクローナル抗体の相互作用を分析した。簡潔には、GLCセンサチップを、スルホ-NHS/EDC溶液の1:1混合物を使用して活性化した。HT7 mAbを、アミンカップリング化学(>3000 RU)を使用してセンサチップの表面に共有結合的に固定化し、表面をエタノールアミンで不活性化した。これに続いて、HT7表面にわたる2倍遠心分離PHF-タウの捕捉カップリング(>200 RU)及びエタノールアミンの注入を行い、任意の残りの反応性エステルをブロックした。抗タウFabを泳動緩衝液(0.05% Tween及び3 mM EDTAを含むHBS)中で希釈し、溶液(5倍希釈で0.02~3 nM)中で注入した。会合及び解離プロファイルを、それぞれ4分間及び60分間モニタリングした。10 mMのGly (pH 2.0)を用いてセンサ表面を再生した。Fab-PHF-タウ相互作用のセンサグラムを、1:1ラングミュア結合モデルを使用して分析し、結果をオンレート(k_{on})、オフレート(k_{off})、及び結合親和性(K_D)として報告する。全てのFabは、低pM範囲における親和性でPHF-タウに非常にしっかりと結合する。ヒト化Fabは、親Fab、PT1B187 (図5A~図5F及び表7)と同様の親和性を保持する。

【0141】

【表 7】

表 7：PHF-タウに結合するヒト化FabのProtein SPR結果

Fab	対応するmAb	$k_{on} \pm 95\% \text{ C. I.}$ ($\times 10^6 \text{ 1/Ms}$)	$k_{off} \pm 95\% \text{ C. I.}$ ($\times 10^{-5} \text{ 1/s}$)	$K_D \pm 95\% \text{ C. I.}$ (pM)
PT1B187(PT3)	PT3	5.1 ± 0.3	3.3 ± 0.6	6.6 ± 1.7
PT1B324(B296)	JNJ' 657	3.0 ± 0.3	8.8 ± 0.2	29.7 ± 3.0
PT1B877(B844)	PT1B844	3.3 ± 0.4	3.2 ± 0.4	9.7 ± 2.1
PT1B880(B847)	PT1B847	3.8 ± 0.4	3.1 ± 0.5	8.4 ± 2.0
PT1B883(B850)	PT1B850	3.9 ± 0.2	3.3 ± 0.5	8.5 ± 1.8
PT1B889(B856)	PT1B856	3.6 ± 0.4	3.3 ± 0.6	9.4 ± 2.5

【0142】

HDX-MSパラトープマッピングのための材料及び方法

HDX-MSのオンエクスチェンジ実験。オンエクスチェンジ反応を、30 μM のNPT-6を含むか若しくは含まない4 μL の25 μM タウFab (PT1B187又はPT1B887)と、36 μL のH₂O又は重水素化緩衝液(20 mM MES (pH 6.4)、95% D₂O中の150 mM NaCl、若しくは20 mM Tris (pH 8.4)、95% D₂O中の150 mM NaCl)とを混合することによって開始した。反応混合物を、3.2℃又は23℃で15、50、150、500、1,500、5,000、又は15,000秒間インキュベートした。オンエクスチェンジした溶液を、40 μL の冷却した8 M尿素、1 M TCEP、pH 3.0を添加することによってクエンチ

し、直ちに分析した。

【0143】

HDX-MSデータ取得のための全般的な手順。自動HDXシステム（LEAP Technologies、Morrisville, NC）を用いて、HDX-MS試料調製を行った。カラム及びポンプは、プロテアーゼ、プロテアーゼXIII型（Aspergillus saitoi由来のプロテアーゼ、XIII型）／ペプシンカラム（w/w、1:1、2.1×30mm）（NovaBioAssay Inc.、Woburn, MA）、トラップ、ACQUITY UPLC BEH C18 VanGuard Pre-column（2.1×5mm）（Waters、Milford, MA）、分析用、Accucore C18（2.1×100mm）（Thermo Fisher Scientific、Waltham, MA）、及びLCポンプ、VH-P10-A（Thermo Fisher Scientific）であった。ローディングポンプ（プロテアーゼカラムからトラップカラムへ）は、99%の水、1%のアセトニトリル、0.1%のギ酸で600μL／分に設定した。勾配ポンプ（トラップカラムから分析カラムへ）は、100μL／分において20分間で0.1%ギ酸水溶液中8%～28%のアセトニトリルに設定した。

10

【0144】

MSデータ取得。275℃のキャピラリー温度、分解能150,000、及び質量範囲（m/z）300～2,000で、LTQ（商標）Orbitrap Fusion Lumos質量分析計（Thermo Fisher Scientific）を使用して質量分析を実行した。

20

【0145】

HDX-MSデータ抽出。BioPharma Finder 3.0（Thermo Fisher Scientific）を、HDX実験の前に非重水素化試料のペプチド同定に使用した。HDExaminerバージョン2.1（Sierra Analytics、Modesto, CA）を使用して、HDX実験についてのMS生データファイルから質量中心値を抽出した。

【0146】

結果

PT1B187（対応するmAbはPT3である）の重鎖のセグメント30～32、32～33（CDR1）、100～101、102、103～105、107（CDR3）は、NPT-6に結合すると非常に強く摂動し、それらがパラトープの重要な部分であることを示している。軽鎖のセグメント93～96（CDR3）も著しく摂動し、パラトープに関与していた。軽鎖のセグメント50～53（CDR2）は、結合に関与する可能性が高かった。セグメント50～53の平均変化は小さいが、このセグメントは、より長い時点がモニタリングされた場合、このセグメントが著しい摂動を示すことになる重水素蓄積曲線から明らかであった。重鎖のCDR2及び軽鎖のCDR1は、パラトープの一部であることはなかった。重鎖のいくつかの部分、セグメント20～23、44～45、69、72～73、75～77、及び78は、おそらくアロステリック効果による、NPT-6への結合時に重水素化レベルの著しい変化を示した。

30

40

【0147】

PT1B877の重鎖（対応するmAbはPT1B844である）のセグメント30～31、32（CDR1）、53～54（CDR2）、97～98、99、100～101、102、103～104、及び105（CDR3）は、NPT-6に結合すると非常に強く摂動し、重鎖における3つのCDR全てが、パラトープの重要な部分であったことを示している。軽鎖のCDR2は、結合に関与し得る。セグメント50～55の平均変化は、10%の閾値未満であったが、より長い時点をモニタリングした場合に、このセグメントが著しい摂動を示すであろうことが、重水素蓄積曲線から明らかであった。軽鎖のCDR1（残基27～32）は、パラトープの一部であることはなかった。軽鎖のCDR3は、HDX-MSによってモニタリングされなかった。重鎖、セグメント22、44～45

50

、69、70～71、及び74～78のいくつかの部分は、おそらくアロステリック効果による、NPT-6に結合すると重水素化レベルの著しい変化を示した。

【0148】

実施例2-凝集タウ及び非凝集タウとの反応性の評価。

ウェスタンブロッティングとの種交差反応性

抗体の更なるプロファイリングは、異なる種（マウス、ラット、イヌ、ミニブタ、マーモセット、カニクイザル、及びヒト）からの脳試料におけるタウへの結合を評価することによって実施した。ヒトタウの場合、可溶性タウ（非ADヒト脳からの熱安定抽出物）と、凝集PHFタウ（ヒトAD脳からのサルコシル不溶性調製物（Braak VI））との間で区別を行った。非タウ関連タンパク質とのより低い親和性相互作用を検出することができるために、抗体を $1\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で試験した。比較的高い量の脳ホモジネート（ $20\mu\text{g}$ の総タンパク質）を、ゲル（4～12% Bis-Trisプレキャストゲル（BioRad、Hercules, CA）上に負荷し、MOPS緩衝液（3-モルホリノプロパン-1-スルホン酸）中で実行した。実行後、タンパク質を、Turboblotシステム（BioRad）を使用したドライブロッティングによって、ニトロセルロース膜に移した。移送後、Tris緩衝生理食塩水Tween（TBS-T）に溶解した5%非脂肪乾燥乳を使用して、少なくとも1時間、膜をブロッキングし、抗体PT3、PT1B296、並びにヒト化抗体PT1B844、PT1B847、PT1B850、及びPT1B856（全て $1\mu\text{g}/\text{mL}$ ）の存在下で一晩（4℃）、又はHRPO標識PT9で1時間インキュベートした（Vandermeeren et al., J. Alzheimers Dis. 65 (1): 265-281 (2018)）。洗浄後（TBS-T中で5分×3回）、一次抗体をHRPO標識ヤギ抗ヒトIgG（Jackson Immunoresearch; West Grove, PA）で1時間検出した。最終洗浄ステップ後（TBS-T中で5分×4回）、ECL West Dura（Thermo Scientific）を使用して検出を実施し、画像を走査した。これらのプロファイルの概要を図6A～図6Hに示し、全てのPT3バリエーションの、マウス、ラット、イヌ、ミニブタ、及びマーモセット脳からのタウとの反応性を明確に示した。

10

20

【0149】

ヒトHSEにおけるタウへの結合は、AD脳由来PHFに対する強い反応性と比較して非常にわずかであった。予想したとおり、いずれの抗体も、タウKOマウスからの脳抽出物と反応しなかった。更に、いずれの抗体も、220位のスレオニンがアラニンに変異したカニクイザルからのタウに達しなかった。全体として、データは、ヒト化プロセスが異なる種からのタウに対する反応性を変化させなかったことを確認した。

30

【0150】

IHCを使用した抗体プロファイリング

AD及び非AD脳の凍結切片に対して免疫組織化学分析を実施して、原位置での生理学的及び病態生理学的タウとの反応性を確認した。凍結保存したヒト脳組織をクリオスタット（ $20\mu\text{m}$ 厚）でスライスし、使用前に -80°C で保管した。切片を乾燥させ、続いてホルマリン固定、内因性ペルオキシダーゼの3%過酸化水素（DAKO、Glostrup, Denmark, S2023）でのブロッキング、及びPBS1x+0.3% Triton X-100での1時間の易透化を行った。一次抗体（ $0.4\mu\text{g}/\text{mL}$ ）を、バックグラウンド除去成分（DAKO, S3022）で抗体希釈液に希釈し、切片に1時間適用した。広範囲を洗浄した後、HRPがコンジュゲートした抗マウス二次抗体（Envision, DAKO, K4000）、続いて色原体DAB標識（DAKO, K4368）とともにスライドをインキュベートした。スライドをヘマトキシリンで対比染色し、無水化して有機封入剤（Vectamount, Vector labs, Burlingame, CA, USA, H-5000）で封入した。イメージングを、Hamamatsu NanoZoomer 2.0 rs（浜松ホトニクス（静岡））で実施した。PT3、PT1B296、及びヒト化抗体PT1B844は、AD脳からの凝集タウへの同様の（強い）結合を示し、非AD脳から誘導された同様の切片に対する反応性がわずかで

40

50

あるか反応性がなく（図 7 A～図 7 C）、これはウエスタンブロッティングデータと一致する（図 6 A～図 6 H）。

【0151】

実施例 3－細胞アッセイにおける機能試験

PT3、PT1B296、及びヒト化抗体 PT1B844、PT1B847、PT1B850、及び PT1B856 を、免疫枯渇アッセイにおけるタウシーディングの阻害について試験した。このアッセイは、凝集により非常に近接したときにシグナルを生成する、2つの発色団タグ K18 タウ断片を発現する HEK 細胞を利用する。細胞を、異なる供給源に由来する凝集し、リン酸化された完全サイズのタウのシードで処理した場合、蛍光活性化細胞選別（fluorescence-activated cell sorting、FACS）を使用して蛍光共鳴エネルギー移動（fluorescence resonance energy transfer、FRET）陽性細胞をカウントすることによって定量化された K18 凝集体を誘発した（Holmes et al., 2014, PNAS. 111 (41): E4376-85）。

10

【0152】

免疫枯渇細胞アッセイ

最大阻害パーセンテージの値が、シードのエピトープの密度、又は PT3、PT1B296、並びにヒト化抗体 PT1B844、PT1B847、PT1B850、及び PT1B856 のエピトープを含有するシードの数に関連するかを調査するために、免疫枯渇アッセイを実施した。免疫枯渇アッセイにおいて、タウシードを試験抗体により培養（インキュベーション）し、Gタンパク質のビーズを用いて溶液から除去した。枯渇した上清を、発色団-K18 含有 HEK 細胞内での残留シーディング能力について試験し、上述したように FACS によって分析した（Holmes et al., Proc Natl Acad Sci USA. 111 (41): E4376-85, 2014）。

20

【0153】

免疫枯渇のためのタウシードを含有するホモジネートは、凍結保存されたヒト AD 脳組織から生成された。ヒト AD 脳免疫枯渇アッセイにおいて、トランスフェクション試薬 Lipofectamine 2000 の存在下において、枯渇後に上清を試験し、許容されるアッセイウィンドウを得た。タウシーディングは、ヒト AD 脳由来の全ホモジネートにおいて、PT3、PT1B296、並びにヒト化抗体 PT1B844、PT1B847、PT1B850、及び PT1B856（図 8 A 及び図 8 B）で完全に低減され得る。全ホモジネート（モノマー（非シーディング）タウ及びシーディングタウ原線維の両方を含有する）の錯体構成の結果として、抗体親和性の違いは、このタイプのアッセイでは取り上げられない。

30

【0154】

タウ抗体治療の作用機序は依然として議論の主題であり、複数の機序が提示されている。ミクログリア細胞による細胞外シードの抗体媒介クリアランスは、最近、1つの優勢な作用機序として示唆されている（Funk et al., J Biol Chem. 290 (35): 21652-62, 2015、及び McEwan et al., 2017, PNAS 114: 574-9）。この文脈において、ヒト脳由来シーディング材料の免疫枯渇は、最も翻訳された細胞結果とみなすことができ、ヒト化抗体の最大有効性は、PT3 の有効性と同様であり、現在のヒト化分子 PT1B844、PT1B847、PT1B850、及び PT1B856 が有望な治療候補であることを示唆している。

40

【0155】

実施例 4－PHF 注射モデルにおけるインビボ有効性

トランスジェニック P301L マウス注射モデルが確立されており、合成 K18 原線維（Li and Lee, Biochemistry. 45 (51): 15692-701, 2006）又はヒト AD 脳に由来する PFH-タウシードなどのタウの凝集促進断片を、細胞自律的凝集が開始されていない年齢で、P301L トランスジェニックマウスモデルの皮質又は海馬領域に注射した。注射モデルは、タウ拡散の決定的な細胞外シーディング構成成分を再現することを目的としていた。注射される K18 又は PHF-タウシー

50

ドは、注射部位において、また接続した反対側の領域においてより軽度、タウ異常症を誘発した (Peeraer et al., Neurobiol Dis. 73:83-95, 2015)。このモデルにより、AD脳由来のPHF-タウシード又はK18原線維と同時注射したときに、本発明の抗タウ抗体などの抗体の抗シーディング能の試験が可能となった (Iba et al., 2015, J Neurosci. 33(3):1024-37, 2013; Iba et al., Acta Neuropathol. 130(3):349-62)。

【0156】

死後のAD脳のサルコシル不溶性画分の皮質注射により、タウ凝集の緩徐に進行する増加が誘発された。注射された半球では、注射の1ヶ月後に最初のシグナルが測定され、注射の更に3ヶ月後まで進行する。注射の5ヶ月後に、いくつかの動物では、P301L変異により引き起こされる線維変化の形成が開始された (Terwel et al., J Biol Chem. 280(5):3963-73, 2005)。AT8染色レベルは、1ヶ月~3ヶ月の間に増加したため (米国特許公開第2018/0265575号)、抗体有効性実験を、同時注射の2ヶ月後に分析した (Vandermeeren et al., J Alzheimers Dis. 65(1):265-81(2018))。更に、死後のAD脳のサルコシル不溶性画分の海馬注射により、注射された半球由来のサルコシル不溶性画分のMesoScale Discoveries (MSD、MesoScale Discovery、Rockville, MD) 分析によって測定される、タウ凝集の用量依存的増加が誘発された。

【0157】

動物治療及び頭蓋内注射

注射の検討のために、P301L変異を有する最長のヒトタウアイソフォーム (タウ4R/2N-P301L) (Terwel et al., 2005, 同上) を発現するトランスジェニックタウ-P301Lマウスを、月齢3ヶ月にて手術に使用した。現地の倫理委員会が認可した手順を遵守して、全ての実験を実施した。定位脳手術については、モノクローナル抗体の存在下又は非存在下において、死後AD組織 (富化した対らせん状細線維、ePHF (enriched paired helical filament)) 由来のサルコシル不溶性調製物を含む3µL (速度0.25µL/分) を、マウスの海馬 (AP-2.0、ML+2.0 (ブレグマから)、DV1.8mm (硬膜から)) に片側 (右半球) 注射した。マウスを切開するために 殺した (頭蓋内注射の2ヶ月後)。

【0158】

抽出手順

注射した半球のマウス組織の重量を測定し、6体積の均質化緩衝液 (10mM Tris HCl (pH7.6)、0.8M NaCl、10%w/vショ糖、1mM EGTA、PhosStopホスファターゼ阻害剤カクテル、完全なEDTAを含まないミニブローテアーゼ阻害剤) 中で均質化した。28,000×gで20分間、ホモジネートを遠心分離し、得られた上清 (全ホモジネート) からアリコートを取り出した後、1%のN-ラウロイルサルコシンを添加した。90分後 (900rpm、37℃)、溶液を再び、184,000×gで1時間遠心分離にかけた。上清はサルコシル可溶性画分として保持したが、サルコシル不溶性材料を含有するペレットは、均質化緩衝液中に懸濁させた。

【0159】

生化学的分析

コーティング抗体 (PT51) をPBS (1µg/mL) に希釈し、MSDプレート (30µL/ウェル) (L15XA、MesoScale Discoveries) に分注し、これを4℃で一晩インキュベートした。5×200µLのPBS/0.5%のTween-20で洗浄した後、プレートをPBS中の0.1%のカゼインでブロックし、5×200µLのPBS/0.5%のTween-20で再び洗浄した。試料 (サルコシル不溶性画分) 及び標準 (ともに、PBS中の0.1%のカゼインに希釈) を添加した後、

プレートに4℃で一晩インキュベートした。その後、プレートを5×200μLのPBS/0.5%のTween-20で洗浄し、PBS中の0.1%カゼイン中のSULFOTAG（商標）コンジュゲート検出抗体（PT51）を添加し、600rpmで振盪しながら室温で2時間インキュベートした。最後の洗浄（5×200μLのPBS/0.5%のTween-20）の後、150μLの2×緩衝液Tを添加し、プレートをMSDイメージャーで読み取った。未加工シグナルを、死後AD脳（ePHF）からのサルコシル不溶性調製物の16希釈物からなる標準曲線に対して正規化した。未加工シグナル及び標準曲線を、任意の単位（arbitrary unit、AU）ePHFとして表した。GraphPadプリズムソフトウェア及び自動分析のために「インハウス」で開発したアプリケーションを用いて、統計分析（Bonferroni事後検定を伴うANOVA）を実施した。

10

【0160】

結果

この同時注射モデルでは、内部抗タウ抗体及びPT3のいくつかを評価した（例えば、米国特許出願公開第2018/0265575号及びVandermeeren et al., J. Alzheimers Dis. 65 (1): 265-81 (2018)を参照されたい）。この研究では、全ての分子をキメラmG2aバリエーションとして試験した。ヒト化バリエーションから、PT1B844を、Vandermeeren et al., J. Alzheimers Dis. 65 (1): 265-81 (2018)に記載されるように、2pmoleの抗体が2pmoleのPHFと同時に注射される同時注射モデルにおいて、PT3、PT1B296と、及びIPN002と比較した。図9B～図9Dのデータは、この量が抗体によって最大の有効性を発揮することを示す。PT3、PT1B296、及びPT1B844の場合、IPN002による効果と比較して明らかにより率直であった。その濃度に加えて、PT1B296とPT1B844との比較には、より低い抗体濃度（0.06pmole）を使用した。

20

【0161】

実施例5-エクスピボエピトープ係合

病理学的タウシードは検出することが困難であるが、脳脊髄液（cerebrospinal fluid、CSF）において異なるタウ断片が検出された。超感圧SIMOA技術の使用は、PT3、PT1B296、及びヒト化抗体を利用するCSF中のエピトープの検出を可能にした（例えば、米国特許公開第2019/0271710号を参照されたい）。抗体治療により、遊離pT217+シグナルの低減がもたらされた（例えば、Galpern et al., Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association 15 (7): 252-3 (2019)を参照されたい）。ヒト化抗体は、PT3と比較して同様の親和性及びPT1B296と比較してより高い親和性を有するため、親和性の違いは、漸増抗体濃度がCSFに「スパイク」されたCSFスパイクアッセイにおいて異なる効力で反映され、その後、遊離pT217+レベルを、に記載されているようにSIMOAで測定した（例えば、米国特許公開第2019/0271710号を参照されたい）。

30

【0162】

SIMOAのM&M

アッセイ特異的試薬は、以下のとおりであった：Simoa Homebrewキット（Quanterix、カタログ番号101351；Quanterix；Billerica, MA）、ヘルパービーズ（Quanterix、カタログ番号101732）、pT3マウスモノクローナル抗体（mAb）、hT43 mAb、pT82 mAb、及びhT7 mAb。pT3は、p217+タウを認識する親抗体であり、そのヒト化バージョンは、本明細書ではヒト化pT3 mAbと称される。

40

【0163】

試料を、50mM Tris、50mM NaCl、5mM EDTA、2%ウシ血清アルブミン、0.1% Tween 20、0.05% ProClin 300、pH 7.8で希釈した。

50

【0164】

New England Peptide (Gardner, MA) によって作製された2つのカスタムペプチドを使用して、アッセイを校正した（校正ペプチド）。

【0165】

ペプチド pT3xhT43 は、PEG4 リンカーによって連結された hT43、PT51、及び pT3 エピトープを含有し、6893 g／モルの分子量を有する。ペプチド pT3xhT43 のアミノ酸配列は、PRQEFVME DHAGTYGLGDR (dPEG4) GKTKIATPRGAAPP GQKG (dPEG4) GSRSR (pT) PSLP (pT) PPTREP KKV-アミドである（それぞれ配列番号 81～83、完全長配列が配列番号 79 として開示される）。

10

【0166】

ペプチド pT3xpT82 は、PEG4 リンカーによって連結された pT82 及び pT3 エピトープを含有し、4551 g／モルの分子量を有する。ペプチド pT3xpT82 のアミノ酸配列は、Ac-SLEDEAAGHV TQARMVSK (dPEG4) GSRSR (pT) PSLP (pT) PPTREP KKV-アミドである（それぞれ配列番号 84 及び 83、完全長配列が配列番号 80 として開示される）。

【0167】

試薬の調製

Quanterix マニュアルに提供されているプロトコルに従って、捕捉ビーズを 0.3 mg／mL 捕捉 Ab でコーティングした。コーティングされた捕捉ビーズをビーズ希釈緩衝液で 200,000 ビーズ／mL に希釈し、ビーズの総濃度が 400,000 ビーズ／mL となるように 200,000 ビーズ／mL のヘルパービーズを添加した。Quanterix マニュアルに提供されているプロトコルに従って、検出抗体を 60 倍でビオチン化し、Homebrew 検出剤／試料希釈剤で 1.8 µg／mL に希釈した。

20

【0168】

校正ペプチドを 0.1% リン酸／水で 5 mg／mL に再構成し、20 µL にアリコート化し、凍結させた。使用準備が整ってから、校正ペプチドのアリコートを解凍し、1:1000（例えば、1.5 µL から 1498.5 µL に）希釈し、ペプチドの最終濃度が 5000 pg／mL となるように希釈液を 1:1000 希釈した。30 pg／mL で出発して、3 倍ジャンプの標準曲線を作製した。

30

【0169】

CSF 試料を試料希釈剤で少なくとも 1:4 希釈した。健常ボランティア (Healthy volunteer, HV) 試料を 1:5 又は 1:10 希釈し、AD 試料を少なくとも 1:20 希釈した。

【0170】

Simoa アッセイ

捕捉 Ab、試料、及び検出 Ab とともに 35 分間、並びに洗浄、続いてストレプトアビジン β-ガラクトシダーゼ (streptavidin β-galactosidase, SBG) とともに 5 分間を含む、2 工程プロトコルを含むカスタム Simoa アッセイを作成した。各反応は、25 µL のビーズ溶液、100 µL の試料又は校正物質、20 µL の検出溶液、100 µL の SBG を含んでいた。抗体に名前を割り当て、最大 5 つの捕捉抗体及び 5 つの検出抗体を一度にロードすることができた。機器によって Simoa キュベット内で反応を実施し、最後に 1 回洗浄し、β-ガラクトシダーゼ基質 (RGP) を有する測定ディスクにロードした後、機器によって測定を行った。

40

【0171】

結果

図 10A～図 10B のデータは、低レベルの pT217 を有するが、SIMOA によって測定された高 pT217+レベルを含むプールにおいても、CSF プールにおける pT217+シグナルの濃度依存的低減を示した。ペプチド親和性データと一致して、PT1B296 (EC₅₀ 値 248 ng／mL) と比較して、PT3 (EC₅₀ 値 14 ng／m

50

L) 及びヒト化バリエーション (PT1B844を含む (EC₅₀ 値 24 ng/mL)) についてより強力な阻害が観察された。

【0172】

実施例 6 - PT1B916、PT1B844のYTEバリエーションの改善された血漿 T1/2。

抗体の治療可能性の重要なパラメータは、その血漿半減期である。これは、Fc領域におけるM252Y/S254T/T256E変異を介したFcRn親和性を修飾することによって増加させることができ (Dall'Acqua et al., JBC 281 (33): 23514-24 (2006))、この戦略をPT1B844分子に適用して、同一の抗原結合領域を有するが、Fc領域にM252Y/S254T/T256E変異を有する分子であるPT1B916を生成した。その血漿半減期を実証するために、単回用量血漿PK試験をカニクイザルで実施した。PT1B844又はPT1B916 (10 mg/kg) のIV注射後、投与後42日目に最後の試料を用いて、図11に示される時点で血漿試料を収集した。

10

【0173】

ヒトIgG1 mAbのアロタイプ選択的検出。

図11のデータは、血漿中の抗体レベルの時間依存的低減を示した。PT1B916 (20.05日+/-) の減衰は、PT1B844 (6.95日+/-、PT1B916の血漿半減期の2.5倍の増加を示した) と比較してより遅く発生した。

20

【0174】

以上、本発明を詳細に、かつその具体的な実施形態を参照して説明したが、当業者には、発明の趣旨及び範囲から逸脱することなく、本発明に様々な変更及び改変を行い得ることは明らかであろう。

【0175】

参考文献

Abhinandan and Martin, Mol Immunol. 45:3832-9, 2008

Adams et al., Acta Crystallogr D Biol Crystallogr. 66 (Pt 2): 213-21, 2010

Allen et al., J Neurosci. 22 (21): 9340-51, 2002

30

Almagro, Mol Recognit. 17:132-43, 2004

Asuni et al., J Neurosci. 27:9115-29, 2007

Boutajangout et al., J Neurochem. 118:658-67, 2011

Boutajangout et al., J Neurosci. 30:16559-66, 2010

Brunden et al., Nat Rev Drug Discov. 8:783-93, 2009

Butner and Kirschner, J Cell Biol. 115 (3): 717-30, 1991

40

Chai et al., J Biol Chem. 286:34457-67, 2011

Chothia and Lesk, J Mol Biol. 196:901-17, 1987

Clavaguera et al., Nat Cell Biol. 11:909-13, 2009

Clavaguera et al., Proc Natl Acad Sci US A. 110 (23): 9535-40, 2013

Clavaguera et al., Proc Natl Acad Sci US A. 110 (23): 9535-40, 2013

50

- Collaborative Computational Project, Number 4, Acta Crystallogr D Biol Crystallogr. 50 (Pt 5) : 760-3, 1994
- Collin et al., Brain. 137 (Pt 10) : 2834-46, 2014
- de Calignon et al., Neuron. 73 (4) : 685-97, 2012
- Dall'Acqua et al., J Biol Chem. 281 (33) : 23514-23524, 2006
- Emsley and Cowtan, Acta Crystallogr D Biol Crystallogr. 60 (Pt 12 Pt 1) : 2126-32, 2004 10
- Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, G. E. Morris, Ed. (1996)
- Fishwild et al., Nat Biotechnol. 14 : 845-51, 1996
- Fransson et al., J Mol Biol. 398 (2) : 214-31, 2010
- Frost et al., J Biol Chem. 284 : 12845-52, 2009 20
- Funk et al., J Biol Chem. 290 (35) : 21652-62, 2015
- Galpern et al., Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association 2019; 15 (7) 252-253.
- Goedert et al., Biochemical J. 301 (Pt 3) : 871-877
- Hanger et al., Trends Mol Med. 15 : 112-9, 2009
- Hoffmann et al., Biochemistry. 36 (26) : 8114-24, 1997 30
- Holmes et al., Proc Natl Acad Sci USA. 111 (41) : E4376-85, 2014
- Iba et al., Acta Neuropathol. 130 (3) : 349-62, 2015
- Iba et al., J Neurosci. 33 (3) : 1024-37, 2013
- Julien et al., Methods Mol Biol. 849 : 473-91, 2012
- Kabsch, Acta Crystallogr D Biol Crystallogr. 66 (Pt 2) : 125-32, 2010 40
- Knappik et al., J Mol Biol. 296 : 57-86, 2000
- Knight et al., Platelets. 15 : 409-18, 2004
- Kohler and Milstein, Nature. 256 : 495-7, 1975
- Krebs et al., J Immunol Methods. 254 : 67-84, 2001
- Lee et al., Cell Rep. 16 (6) : 1690-700, 2016
- Lefranc et al., Dev Comp Immunol. 27 : 55-77, 2003
- Leong et al., Cytokine. 16 : 106-19, 2001 50

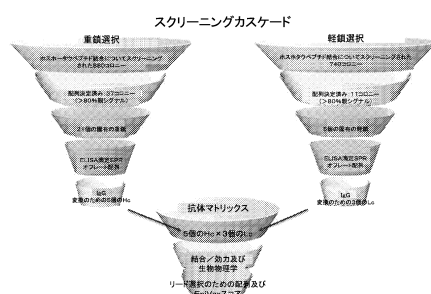
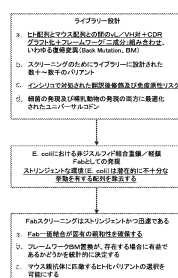
- Li and Lee, *Biochemistry*. 45 (51) : 15692-701, 2006
- Liu et al., *Brain Imaging Behav.* 6 (4) : 610-20, 2012
- Lonberg et al., *Nature*. 368:856-9, 1994
- Malia et al., *Proteins*. 84:427-434, 2016
- Martin and Thornton, *J Mol Biol.* 263 (5) : 800-15, 1996
- Matsuo et al., *Neuron*. 13 (4) : 989-1002, 1994
- McCoy et al., *J Appl Crystallogr.* 40 (Pt 4) : 658-674, 2007 10
- McEwan et al., 2017, *PNAS* 114 (3) : 574-9
- Mendez et al., *Nat Genet.* 15:146-56, 1997
- Mercken et al., *Acta Neuropathol.* 84 (3) : 265-72, 1992
- Mercken, Ph. D. Thesis: University of Antwerp, Wilrijk-Antwerp, 1991
- Mocanu et al., *J Neurosci.* 28 (3) : 737-48, 2008
- Morris et al., *Nat Neurosci.* 18 (8) : 1183-9, 2015 20
- Morris et al., *Neuron*, 70:410-26, 2011
- Murshudov et al., *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr.* 53 (Pt 3) : 240-55, 1997
- Oddo et al., *J Neurochem.* 102 (4) : 1053-63, 2007
- Otvos et al., *J Neurosci Res.* 39 (6) : 669-73, 1994
- Padlan et al., *Mol. Immunol.* 28:489-98, 1991
- Peeraer et al., *Neurobiol Dis.* 73:83-95, 2015 30
- Queen et al., *Proc Natl Acad Sci USA.* 86:10029-33, 1989
- Scattoni et al., *Behav Brain Res.* 208 (1) : 250-7, 2010
- Schroeder et al., *J Neuroimmune Pharmacol.* 11 (1) : 9-25, 2016
- Seubert et al., *J Biol Chem.* 270 (32) : 18917-22, 1995
- Shi et al., *J Mol Biol.* 397:385-96, 2010 40
- Strohl, *Curr Opin Biotechnol.* 20:685-91, 2009
- Terwel et al., *J Biol Chem.* 280 (5) : 3963-73, 2005
- Vandermeeren et al., *J Alzheimers Dis.* 2018; 65 (1) : 265-281
- Wischik et al., *Proc Natl Acad Sci USA.* 85:4884-8, 1988
- Wu and Kabat, *J Exp Med.* 132:211-50, 1970
- Yang et al., *Protein Eng.* 16:761-70, 2003 50

Yoshiyama et al., *Neuron*. 53 (3) : 337–51, 2007

Zhao et al., Protein Expr Purif. 67 (2) :18
2-9, 2009

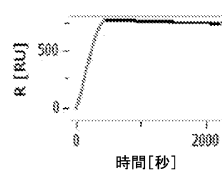
【図面】

【図 1】



【図 2 A】

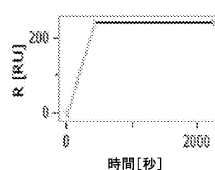
フィットグラフPT3 Fab(PT1B187. 002)



10

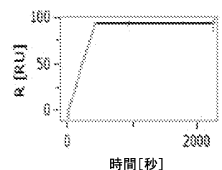
【図 2 B】

フィットグラフマウスカメラFAB



【図 2 C】

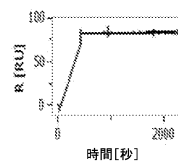
フィットグラフL1P1_D3



20

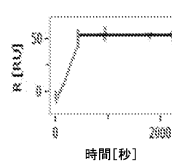
【図 2 D】

フィットグラフL4P1_A4



【図 2 E】

フィットグラフL3P2_A11

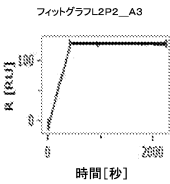


30

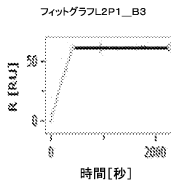
40

50

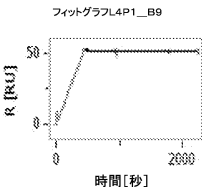
【図 2 F】



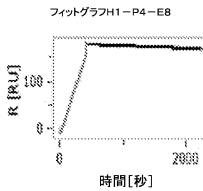
【図 2 G】



【図 2 H】

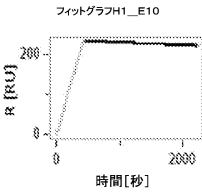


【図 2 I】

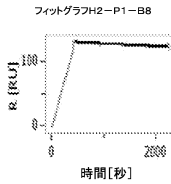


10

【図 2 J】

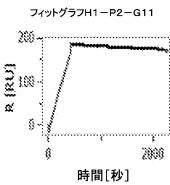


【図 2 K】

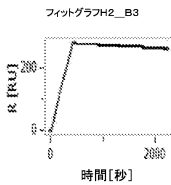


20

【図 2 L】



【図 2 M】

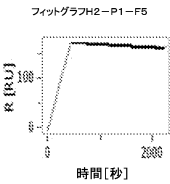


30

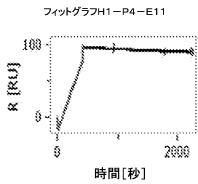
40

50

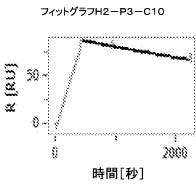
【図 2 N】



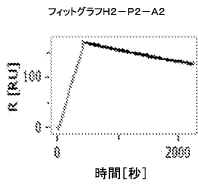
【図 2 O】



【図 2 P】

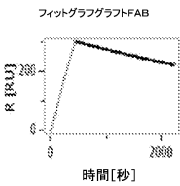


【図 2 Q】

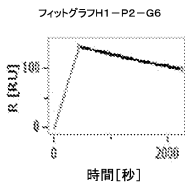


10

【図 2 R】

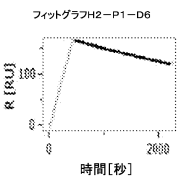


【図 2 S】

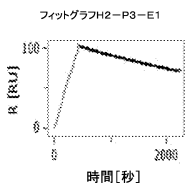


20

【図 2 T】



【図 2 U】

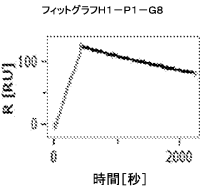


30

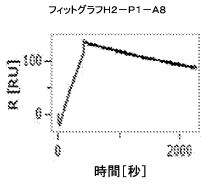
40

50

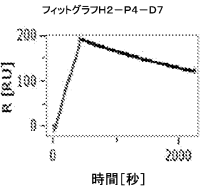
【図 2 V】



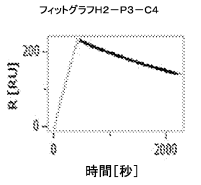
【図 2 W】



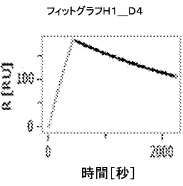
【図 2 X】



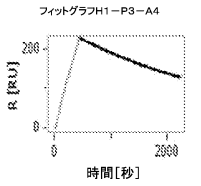
【図 2 Y】



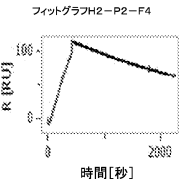
【図 2 Z】



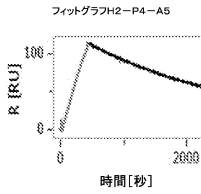
【図 2 A A】



【図 2 A B】



【図 2 A C】



10

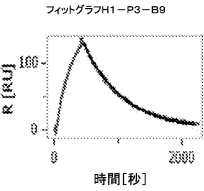
20

30

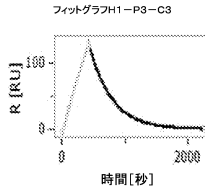
40

50

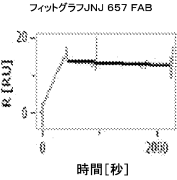
【図 2 A D】



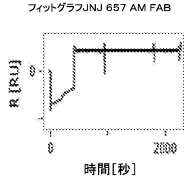
【図 2 A E】



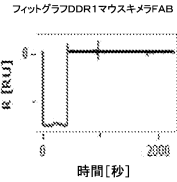
【図 2 A F】



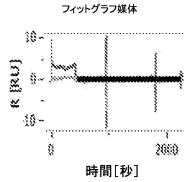
【図 2 A G】



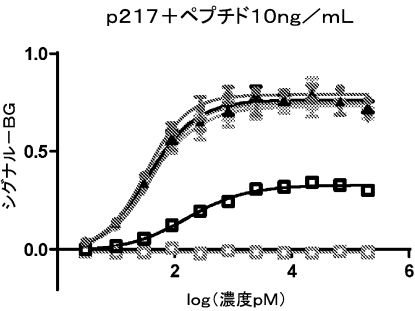
【図 2 A H】



【図 2 A I】

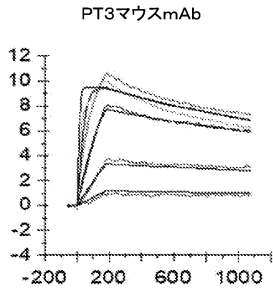


【図 3】



- PT1B234.003
- PT1B296.004
- PT1B844.001
- PT1B847.001
- PT1B850.001
- PT1B856.001
- 対照IgG

【図 4 A】



10

20

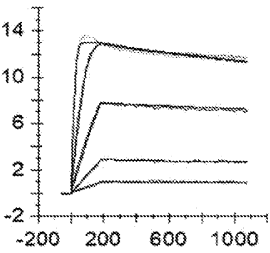
30

40

50

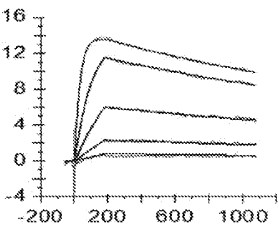
【図 4 B】

PT1B234.003



【図 4 C】

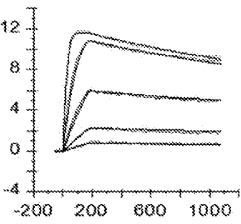
PT1B296



10

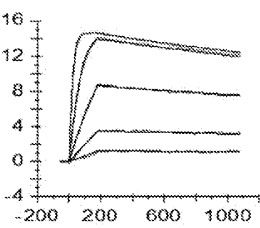
【図 4 D】

PT1B843.001



【図 4 E】

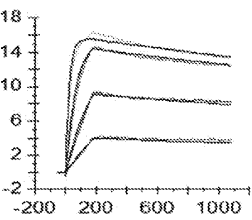
PT1B844.001



20

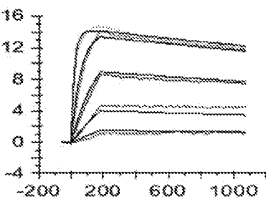
【図 4 F】

PT1B847.001



【図 4 G】

PT1B850.001

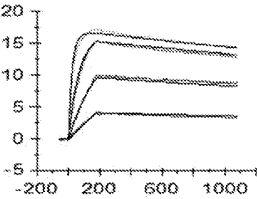


30

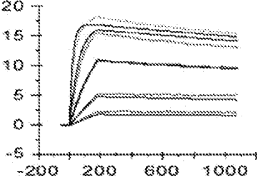
40

50

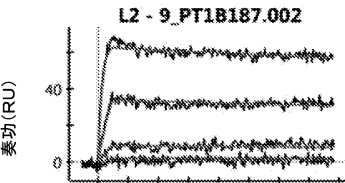
【図 4 H】
PT1B853.001



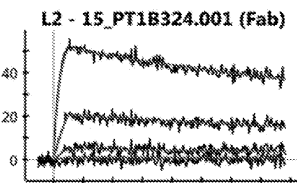
【図 4 I】
PT1B856.001



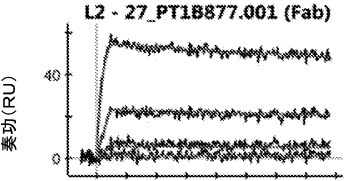
【図 5 A】
PT3のFab



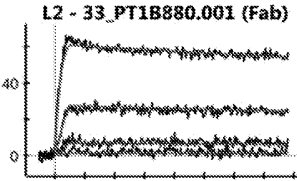
【図 5 B】
PT1B296のFab



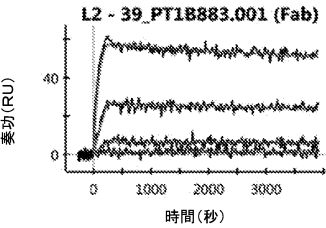
【図 5 C】
PT1B844のFab



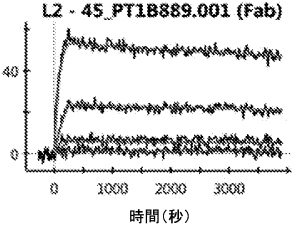
【図 5 D】
PT1B847のFab



【図 5 E】
PT1B850のFab



【図 5 F】
PT1B856のFab



10

20

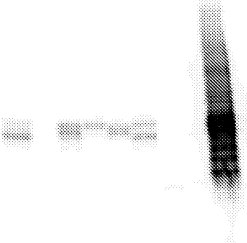
30

40

50

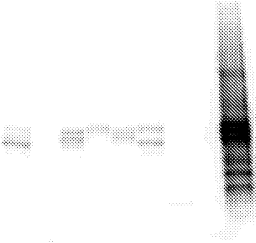
【図 6 A】

1 2 3 4 5 6 7 8 9



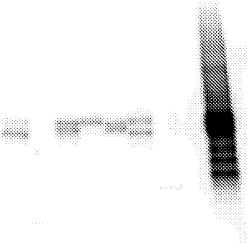
【図 6 B】

1 2 3 4 5 6 7 8 9



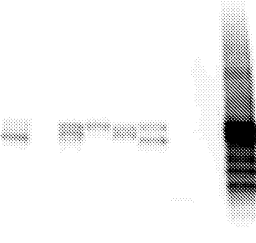
【図 6 C】

1 2 3 4 5 6 7 8 9



【図 6 D】

1 2 3 4 5 6 7 8 9



【図 6 E】

1 2 3 4 5 6 7 8 9



【図 6 F】

1 2 3 4 5 6 7 8 9



10

20

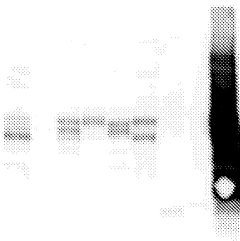
30

40

50

【図 6 G】

1 2 3 4 5 6 7 8 9



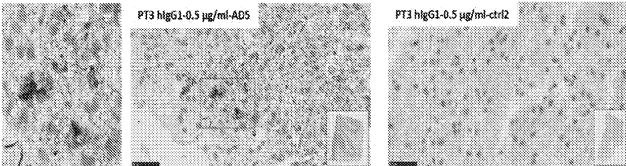
【図 6 H】

1 2 3 4 5 6 7 8 9

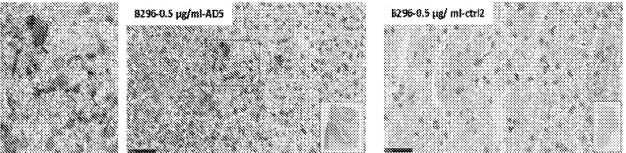


10

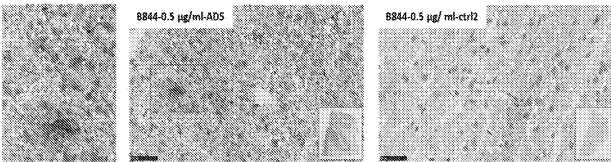
【図 7 A】



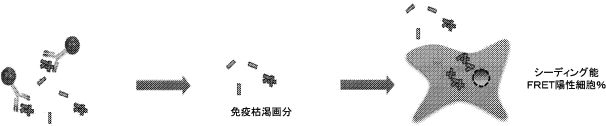
【図 7 B】



【図 7 C】

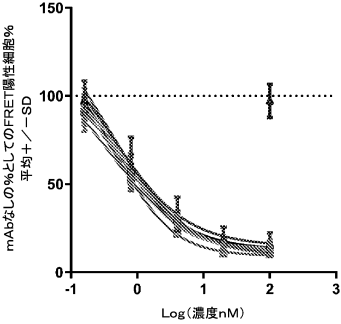


【図 8 A】



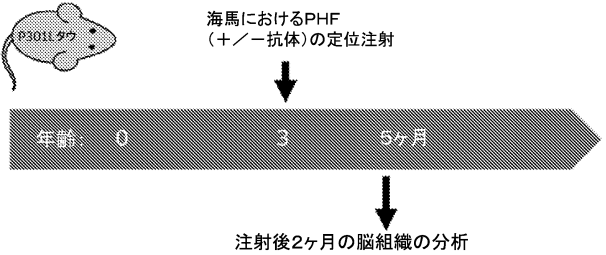
20

【図 8 B】



- ※ 基準PT3-PT1B234
- PT1B296
- ▲ PT1B844
- ▽ PT1B847
- ◇ PT1B850
- PT1B856
- PT3-mIgG2a PT1B17
- ▲ 対照IgG2a

【図 9 A】

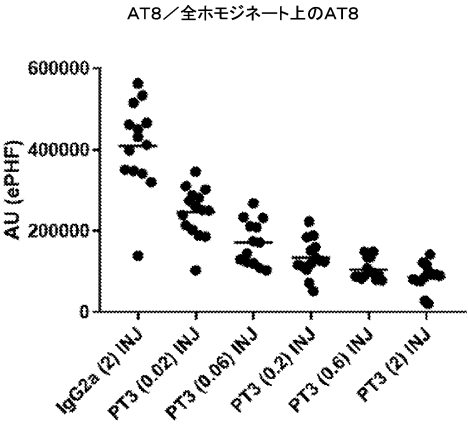


30

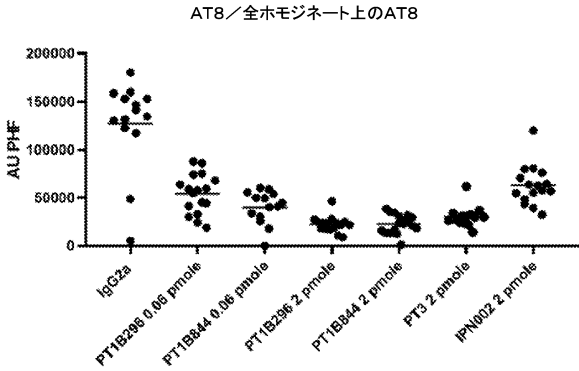
40

50

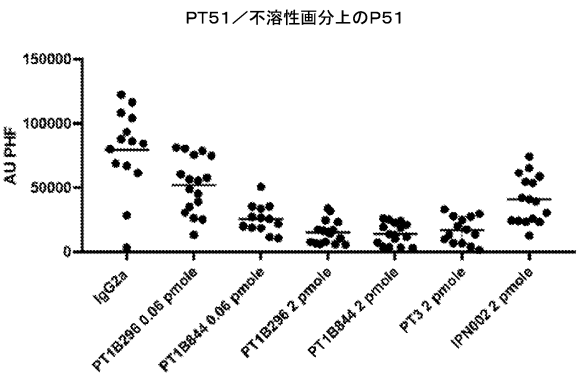
【図 9 B】



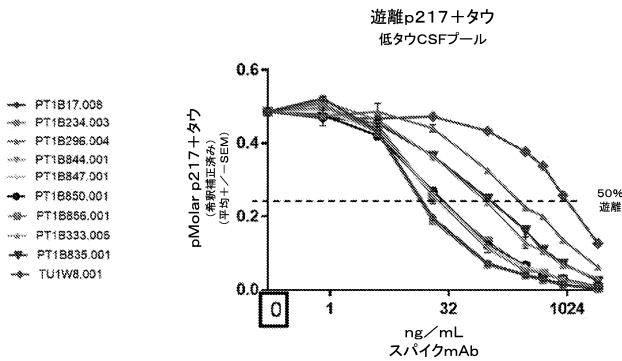
【図 9 C】



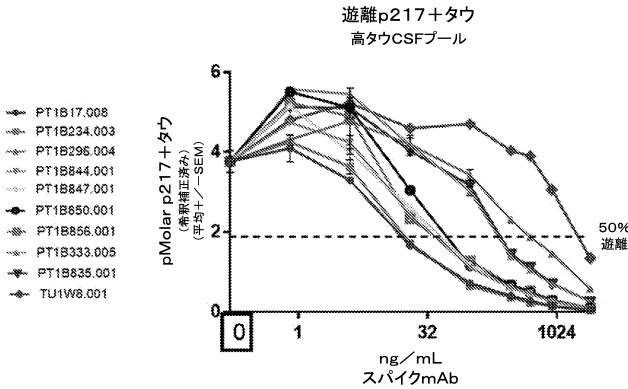
【図 9 D】



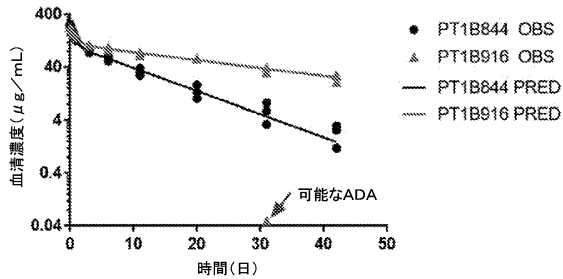
【図 10 A】



【図 10 B】



【図 11】



化合物	$\beta T_{1/2}$ (日)	
	WT	YTE
PT1B844	6.91	20.05

10

20

30

40

50

【配列表】

2023521763000001.app

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/IB 21/52890
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC - A61K 39/00, A61K 39/395, A61K 9/00 (2021.01) CPC - A61K 9/0019, A61P 25/28, A61K 2039/505, A61K 2039/54		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) See Search History document Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History document Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2018/0265575 A1 (JANSSEN BIOTECH, INC.) 20 September 2018 (20.09.2018) abstract; para [0010]; [0025]-[0028]; SEQ ID NOs: 26, 28, 31, 46, 79	1-7
A	US 2018/0194832 A1 (UCB BIOPHARMA SPRL) 12 July 2018 (12.07.2018) entire document; especially claims 21-33	1-7
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 28 July 2021		Date of mailing of the international search report AUG 17 2021
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Lee Young Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IB 21/52890

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

--continued on extra sheet--

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-7, limited to PT1B916 sequences SEQ ID NOs: 71, 72, 37, 38

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IB 21/52890

—continued from: Box No. III Observations where unity of invention is lacking—

Group I+, claims 1-7, directed to an anti-PFH-tau antibody, an isolated nucleic acid encoding the antibody, and compositions comprising the antibody of nucleic acid. The anti-PFH-tau antibody, nucleic acid and compositions will be searched to the extent that the anti-PFH-tau antibody encompasses PT1B916 sequences (VH SEQ ID NO: 71, VL SEQ ID NO: 72, HC SEQ ID NO: 37 and LC SEQ ID NO: 38). It is believed that claims 1-7 encompass this first named invention, and thus these claims will be searched without fee to the extent that the anti-PFH-tau antibody encompasses PT1B916 sequences SEQ ID NOs: 71, 72, 37, 38. Additional anti-PFH-tau antibody sequence(s) will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected anti-PFH-tau antibody sequence(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. An exemplary election would be anti-PFH-tau antibody sequences comprising PT1B844 sequences VH, VL, HC and LC SEQ ID NOs: 45, 46, 11 and 12, respectively (claims 1-7).

[relevant sequences defined in Applicant Specification Tables 2 and 3]

Group II, claims 8-10, directed to a method of treating a subject in need thereof.

Group III, claim 11, directed to a method of producing a monoclonal antibody or antigen-binding fragment thereof.

Group IV, claims 12-13, directed to a method of detecting the presence of PHF-tau in a biological sample from a subject.

The inventions listed as Groups I+, II, III and IV do not relate to a single special technical feature under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special technical features

Group I+ has the special technical feature of a composition comprising or consisting of an anti-PFH-tau antibody or an isolated nucleic acid encoding the antibody, that is not required by Groups II-IV.

Group II has the special technical feature of a method of treating a subject in need thereof comprising administering a composition, that is not required by Groups I+, III, IV.

Group III has the special technical feature of method of producing a monoclonal antibody comprising culturing a cell comprising a nucleic acid encoding the monoclonal antibody and recovering the antibody from the cell or cell culture, that is not required by Groups I+, II, IV.

Group IV has the special technical feature of a method of detecting the presence of PHF-tau in a biological sample from a subject, that is not required by Groups I+, II, III.

The inventions of Group I+ each include the special technical feature of a unique amino acid sequence(s). Each amino acid sequence(s) encodes a unique anti-PHF-tau peptide, and is considered a distinct technical feature.

Common technical features

The inventions of Groups I+, II, III, and IV share the common technical feature of a pharmaceutical composition comprising an isolated monoclonal antibody or antigen-binding fragment thereof that specifically binds paired helical filament (PHF)-tau.

No technical features are shared between the anti-PHF-tau amino acid sequences of Group I+ and accordingly, these groups lack unity a priori.

Additionally, even if the inventions listed as Group I+ were considered to share the technical features of including: an isolated monoclonal antibody or antigen-binding fragment thereof comprising a heavy chain variable region, and/or a light chain variable region, wherein the monoclonal antibody or antigen-binding fragment thereof specifically binds paired helical filament (PHF)-tau, preferably human PHF-tau, an isolated nucleic acid encoding the same, and vector or host cell comprising the nucleic acid, and a pharmaceutical composition comprising the antibody, these shared technical features are previously disclosed by the prior art, as further discussed below.

The feature shared by Groups I+, II, III and IV, and the feature shared by the inventions listed as Group I+ are disclosed by US 2018/0265575 A1 to Janssen Biotech, Inc., (hereinafter Janssen).

Janssen teaches an isolated monoclonal antibody or antigen-binding fragment thereof comprising a heavy chain variable region, and/or a light chain variable region, wherein the monoclonal antibody or antigen-binding fragment thereof specifically binds paired helical filament (PHF)-tau, preferably human PHF-tau (para [0010] "anti-PHF-tau antibodies or antigen-binding fragments thereof that have high binding affinity towards paired helical filament (PHF)-tau"; [0025] "a V.sub.H region having the polypeptide sequence of SEQ ID NO: 28 and LCDR1, LCDR2 and LCDR3 of a V.sub.L region...wherein the antibody or antigen-binding fragment thereof binds PHF-tau, preferably human PHF-tau").

Janssen further teaches an isolated nucleic acid encoding the anti-PHF-tau antibody (para [0030]), a vector comprising the nucleic acid (para [0031]), a host cell comprising the nucleic acid (para [0032]), and a pharmaceutical composition comprising the antibody (para [0033]).

As the technical features were known in the art at the time of the invention, they cannot be considered special technical features that would otherwise unify the groups.

Therefore, Groups I+, II, III and IV inventions lack unity under PCT Rule 13 because they do not share the same or corresponding special technical feature.

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)
 C 0 7 K 16/18 (2006.01)
 A 6 1 K 39/395 (2006.01)
 A 6 1 P 25/28 (2006.01)
 A 6 1 P 25/02 (2006.01)
 A 6 1 P 25/00 (2006.01)
 G 0 1 N 33/53 (2006.01)
 G 0 1 N 33/531 (2006.01)
 C 1 2 P 21/08 (2006.01)

C 1 2 N 5/10
 C 0 7 K 16/18
 A 6 1 K 39/395 N
 A 6 1 P 25/28
 A 6 1 P 25/02
 A 6 1 P 25/00
 G 0 1 N 33/53 D
 G 0 1 N 33/531 A
 C 1 2 P 21/08

,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,D
 K,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),O
 A(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,B
 B,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD
 ,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,
 LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,
 RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,Z
 W

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T W E E N

2. T R I T O N

弁理士 岩田 耕一

(72)発明者 ヴァン コーレン, クリストフ

ベルギー国 2 3 4 0 ベルセ, トルンハウッサーヴェヒ 3 0

(72)発明者 マーケン, マーク

ベルギー国 2 3 4 0 ベルセ, トルンハウッサーヴェヒ 3 0

(72)発明者 ナンジュンダ, ラペシュ

アメリカ合衆国 ペンシルベニア州 1 9 4 7 7, スプリング ハウス, マッキーン ロード 1 4 0 0

(72)発明者 シング, サンジャヤ

アメリカ合衆国 ペンシルベニア州 1 9 4 7 7, スプリング ハウス, マッキーン ロード 1 4 0 0

(72)発明者 ラ ポルテ, シェリー

アメリカ合衆国 ペンシルベニア州 1 9 4 7 7, スプリング ハウス, マッキーン ロード 1 4 0 0

(72)発明者 ルオ, ジンクアン

アメリカ合衆国 ペンシルベニア州 1 9 4 7 7, スプリング ハウス, マッキーン ロード 1 4 0 0

(72)発明者 ジャイブラサート, ファービー

アメリカ合衆国 ペンシルベニア州 1 9 4 7 7, スプリング ハウス, マッキーン ロード 1 4 0 0

(72)発明者 ヴェンカタラマニ, サティヤデヴィ

アメリカ合衆国 ペンシルベニア州 1 9 4 7 7, スプリング ハウス, マッキーン ロード 1 4 0 0

(72)発明者 ガネサン, ラージクマール

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 1 3 6 2, サウザンド オークス, リナタ コート 2 5 1 7

F ターム (参考) 4B064 AG27 CA19 CC24 DA01

4B065 AA01X AA57X AA72X AA87X AB01 BA02 CA25 CA44

4C085 AA14 BB11 CC01 CC21 CC23 DD23 DD62 EE01

4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 DA76 EA21 FA74