



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118235043 A

(43) 申请公布日 2024. 06. 21

(21) 申请号 202280074834.X

(22) 申请日 2022.09.08

(30) 优先权数据

63/242,437 2021.09.09 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.05.09

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2022/042963 2022.09.08

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/039107 EN 2023.03.16

(71) 申请人 阿尔茨帕斯公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 安德烈亚斯·赫罗明

克里什·文卡特

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262

专利代理师 徐爱文 武晶晶

(51) Int.Cl.

G01N 33/53 (2006.01)

C07K 16/30 (2006.01)

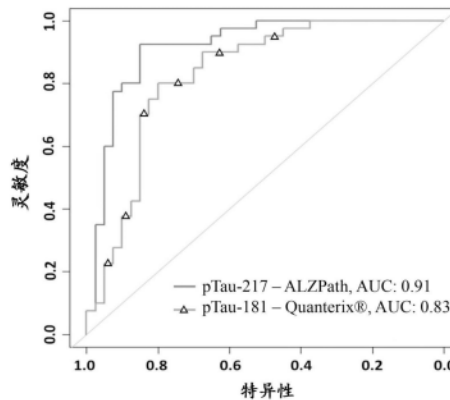
权利要求书4页 说明书81页 附图48页

(54) 发明名称

磷酸化-TAU抗体和使用方法

(57) 摘要

本文提供了与用于确定阿尔茨海默病的改善的测定相关的组合物和方法。本文还提供了包含用于包括免疫测定在内的测定的改善的抗体的组合物和方法。



	AD-痴呆	对照	得分 AUC (95% CI)	AD-痴呆相对于对照		
	中值(IQR)	中值		截正值	灵敏度%	特异性%
pTau-217 ALZPath	5.2 (3.5 - 6.8)	1.3 (0.8 - 1.9)	4.2 (0.85 - 0.98)	2.26	92.5	85
pTau-181 Quanterix®	2.5 (2.2 - 3.3)	1.4 (1.1 - 1.9)	1.8 (0.74 - 0.92)	2.14	80	80

1. 一种用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,所述方法包括:使用包含重链区可变结构域(VH)和轻链区可变结构域(VL)的抗体或抗体片段对所述样品进行免疫测定,其中所述VH包含与如SEQ ID NO:30-34中任一个中所示的序列具有至少约90%同一性的氨基酸序列,并且其中所述VL包含与如SEQ ID NO:35-40中任一个中所示的序列具有至少约90%同一性的氨基酸序列。

2. 如权利要求1所述的方法,其中所述磷酸化tau选自pTau-181、pTau-212、pTau-217、pTau-231、pTau-214和pTau-220。

3. 如权利要求1-2中任一项所述的方法,其中所述磷酸化tau是pTau-217。

4. 如权利要求1-2中任一项所述的方法,其中所述磷酸化tau是pTau-231。

5. 如权利要求2所述的方法,其中所述方法检测pTau-217和pTau-231。

6. 如权利要求2所述的方法,其中所述方法检测pTau-212和pTau-217。

7. 如权利要求2所述的方法,其中所述方法检测pTau-212和pTau-231。

8. 如权利要求2所述的方法,其中所述方法检测pTau-181和pTau-217。

9. 如权利要求2所述的方法,其中所述方法检测pTau-181和pTau-231。

10. 如权利要求2所述的方法,其中所述方法检测pTau-181、pTau-217和pTau-231。

11. 如权利要求2所述的方法,其中所述方法检测pTau-212、pTau-217和pTau-231。

12. 如权利要求5所述的方法,其中所述方法检测选自血浆样品和血清样品的样品中的pTau-217和pTau-231。

13. 如权利要求6所述的方法,其中所述方法检测选自血浆样品和血清样品的样品中的pTau-212和pTau-217。

14. 如权利要求7所述的方法,其中所述方法检测选自血浆样品和血清样品的样品中的pTau-212和pTau-231。

15. 如权利要求8所述的方法,其中所述方法检测选自血浆样品和血清样品的样品中的pTau-181和pTau-217。

16. 如权利要求9所述的方法,其中所述方法检测选自血浆样品和血清样品的样品中的pTau-181和pTau-231。

17. 如权利要求10所述的方法,其中所述方法检测选自血浆样品和血清样品的样品中的pTau-181、pTau-217和pTau-231。

18. 如权利要求11所述的方法,其中所述方法检测选自血浆样品和血清样品的样品中的pTau-212、pTau-217和pTau-231。

19. 如权利要求1-18中任一项所述的方法,其中所述VH包含根据SEQ ID NO:30-34中任一个的氨基酸序列。

20. 如权利要求1-19中任一项所述的方法,其中所述VL包含根据SEQ ID NO:35-40中任一个的氨基酸序列。

21. 如权利要求1-20中任一项所述的方法,其中所述VH包含根据SEQ ID NO:30-34中任一个的氨基酸序列,并且其中所述VL包含根据SEQ ID NO:35-40中任一个的氨基酸序列。

22. 如权利要求1-21中任一项所述的方法,其中所述VH包含与SEQ ID NO:30具有至少约90%同一性的氨基酸序列,并且其中所述VL包含与SEQ ID NO:35具有至少约90%同一性的氨基酸序列。

23. 如权利要求1-21中任一项所述的方法,其中所述VH包含与SEQ ID NO:31具有至少约90%同一性的氨基酸序列,并且其中所述VL包含与SEQ ID NO:36具有至少约90%同一性的氨基酸序列。

24. 如权利要求1-21中任一项所述的方法,其中所述VH包含与SEQ ID NO:31具有至少约90%同一性的氨基酸序列,并且其中所述VL包含与SEQ ID NO:37具有至少约90%同一性的氨基酸序列。

25. 如权利要求1-21中任一项所述的方法,其中所述VH包含与SEQ ID NO:32具有至少约90%同一性的氨基酸序列,并且其中所述VL包含与SEQ ID NO:38具有至少约90%同一性的氨基酸序列。

26. 如权利要求1-21中任一项所述的方法,其中所述VH包含与SEQ ID NO:33具有至少约90%同一性的氨基酸序列,并且其中所述VL包含与SEQ ID NO:39具有至少约90%同一性的氨基酸序列。

27. 如权利要求1-21中任一项所述的方法,其中所述VH包含与SEQ ID NO:34具有至少约90%同一性的氨基酸序列,并且其中所述VL包含与SEQ ID NO:40具有至少约90%同一性的氨基酸序列。

28. 如权利要求1-27中任一项所述的方法,其中所述抗体或抗体片段包含与SEQ ID NO:41-51中任一个具有至少约90%同一性的氨基酸序列。

29. 如权利要求1-28中任一项所述的方法,其还包括对所述样品进行测定,以确定选自以下的生物标志物的水平: $A\beta$ 42、 $A\beta$ 40、 $A\beta$ 38、BACE1、hFABP、TREM2、YKL-40、IP-10、神经颗粒蛋白、SNAP-25、突触结合蛋白、 $\alpha$ -突触核蛋白、TDP-43、铁蛋白、VILIP-1、NfL、GFAP及其组合。

30. 如权利要求1-29中任一项所述的方法,其中所述样品选自血液样品、血浆样品、血清样品和脑脊液(CSF)样品。

31. 如权利要求1-30中任一项所述的方法,其还包括基于磷酸化tau的检测确定所述个体的阿尔茨海默病。

32. 如权利要求1-31中任一项所述的方法,其还包括基于磷酸化tau的检测确定所述个体发展阿尔茨海默病的预后。

33. 如权利要求32所述的方法,其还确定所述个体的年龄、基因型或生物标志物表达。

34. 如权利要求33所述的方法,其中所述生物标志物选自 $A\beta$ 42、 $A\beta$ 40、 $A\beta$ 38、BACE1、hFABP、TREM2、YKL-40、IP-10、神经颗粒蛋白、SNAP-25、突触结合蛋白、 $\alpha$ -突触核蛋白、TDP-43、铁蛋白、VILIP-1、NfL、GFAP及其组合。

35. 如权利要求1-34中任一项所述的方法,其中所述方法对于检测磷酸化tau具有至少约80%的特异性。

36. 如权利要求1-34中任一项所述的方法,其中所述方法对于检测磷酸化tau具有至少约85%的特异性。

37. 如权利要求1-34中任一项所述的方法,其中所述方法对于检测磷酸化tau具有至少约90%的特异性。

38. 如权利要求1-37中任一项所述的方法,其中所述方法对于检测磷酸化tau具有至少约80%的灵敏度。

39. 如权利要求1-37中任一项所述的方法,其中所述方法对于检测磷酸化tau具有至少约85%的灵敏度。

40. 如权利要求1-37中任一项所述的方法,其中所述方法对于检测磷酸化tau具有至少约90%的灵敏度。

41. 如权利要求1-40中任一项所述的方法,其中所述方法能够以至少约1.0皮克/毫升(pg/mL)的检测限值检测所述样品中的磷酸化tau。

42. 如权利要求1-40中任一项所述的方法,其中所述方法能够以至少约1.5皮克/毫升(pg/mL)的检测限值检测所述样品中的磷酸化tau。

43. 如权利要求1-40中任一项所述的方法,其中所述方法能够以至少约5皮克/毫升(pg/mL)的检测限值检测所述样品中的磷酸化tau。

44. 一种抗tau抗体,其包含i) 包含可变重链(VH)结构域的重链和ii) 包含可变轻链(VL)结构域的轻链,其中所述VH结构域包含具有选自SEQ ID NO:1-5的序列的HCDR1序列、具有选自SEQ ID NO:6-9的序列的HCDR2序列、和具有选自SEQ ID NO:10-13的序列的HCDR3序列,并且VL结构域包含具有选自SEQ ID NO:14-19的序列的LCDR1序列、具有选自SEQ ID NO:20-23的序列的LCDR2序列、和具有选自SEQ ID NO:24-29的序列的LCDR3序列。

45. 如权利要求44所述的抗tau抗体,其中所述HCDR1序列包含SEQ ID NO:1,HCDR2序列包含SEQ ID NO:6,HCDR3序列包含SEQ ID NO:10,LCDR1序列包含SEQ ID NO:14,LCDR2序列包含SEQ ID NO:20,并且LCDR3序列包含SEQ ID NO:24。

46. 如权利要求44所述的抗tau抗体,其中所述HCDR1序列包含SEQ ID NO:2,HCDR2序列包含SEQ ID NO:7,HCDR3序列包含SEQ ID NO:11,LCDR1序列包含SEQ ID NO:15,LCDR2序列包含SEQ ID NO:21,并且LCDR3序列包含SEQ ID NO:25。

47. 如权利要求44所述的抗tau抗体,其中所述HCDR1序列包含SEQ ID NO:2,HCDR2序列包含SEQ ID NO:7,HCDR3序列包含SEQ ID NO:11,LCDR1序列包含SEQ ID NO:16,LCDR2序列包含SEQ ID NO:22,并且LCDR3序列包含SEQ ID NO:26。

48. 如权利要求44所述的抗tau抗体,其中所述HCDR1序列包含SEQ ID NO:3,HCDR2序列包含SEQ ID NO:8,HCDR3序列包含SEQ ID NO:10,LCDR1序列包含SEQ ID NO:17,LCDR2序列包含SEQ ID NO:20,并且LCDR3序列包含SEQ ID NO:27。

49. 如权利要求44所述的抗tau抗体,其中所述HCDR1序列包含SEQ ID NO:4,HCDR2序列包含SEQ ID NO:7,HCDR3序列包含SEQ ID NO:12,LCDR1序列包含SEQ ID NO:18,LCDR2序列包含SEQ ID NO:23,并且LCDR3序列包含SEQ ID NO:28。

50. 如权利要求44所述的抗tau抗体,其中所述HCDR1序列包含SEQ ID NO:5,HCDR2序列包含SEQ ID NO:9,HCDR3序列包含SEQ ID NO:13,LCDR1序列包含SEQ ID NO:19,LCDR2序列包含SEQ ID NO:21,并且LCDR3序列包含SEQ ID NO:29。

51. 如权利要求44所述的抗tau抗体,其中所述VH结构域与选自SEQ ID NO:30-34的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%序列同一性。

52. 如权利要求44所述的抗tau抗体,其中所述VL结构域与选自SEQ ID NO:35-40的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%序列同一性。

53. 如权利要求44-52中任一项所述的抗tau抗体,其中所述抗tau抗体是嵌合抗体或其抗原结合片段。

54. 如权利要求44-53中任一项所述的抗tau抗体,其中所述抗tau抗体包括IgG-scFv、纳米抗体、BiTE、双链抗体、DART、TandAb、scDiabody、scDiabody-CH3、三体、微型抗体、微抗体、TriBi微抗体、scFv-CH3 KIH、Fab-scFv-Fc KIH、Fab-scFv、scFv-CH-CL-scFv、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、F(ab')<sub>3</sub>、F(ab')<sub>2</sub>-scFv<sub>2</sub>、scFv、scFv-KIH、Fab-scFv-Fc、四价HCAb、scDiabody-Fc、双链抗体-Fc、串联scFv-Fc或内抗体。

55. 如权利要求44-54中任一项所述的抗tau抗体,其中所述抗tau抗体是IgG1抗体。

56. 如权利要求44-55中任一项所述的抗tau抗体,其中所述抗tau抗体是IgG2抗体。

57. 如权利要求44-56中任一项所述的抗tau抗体,其中所述抗tau抗体是IgG4抗体。

58. 如权利要求44-57中任一项所述的抗tau抗体,其中所述轻链是κ链。

59. 如权利要求44-58中任一项所述的抗tau抗体,其中所述抗tau抗体对于人tau具有约100pM至约3nM的结合亲和力。

60. 如权利要求44-59中任一项所述的抗tau抗体,其中所述抗tau抗体包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸与选自SEQ ID NO:52-56的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%序列同一性。

61. 如权利要求44-60中任一项所述的抗tau抗体,其中所述抗tau抗体包含由核酸编码的VL结构域,所述核酸与选自SEQ ID NO:57-62的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%序列同一性。

62. 如权利要求44-61中任一项所述的抗tau抗体,其中所述抗tau抗体包含由与选自SEQ ID NO:52-56的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%序列同一性的核酸编码的VH结构域和由与选自SEQ ID NO:57-62的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%序列同一性的核酸编码的VL结构域。

63. 如权利要求44-62中任一项所述的抗tau抗体,其中所述抗tau抗体包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:52-56相同的序列。

64. 如权利要求44-63中任一项所述的抗tau抗体,其中所述抗tau抗体包含由核酸编码的VL结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:57-62相同的序列。

65. 如权利要求44-64中任一项所述的抗tau抗体,其中所述抗tau抗体包含由包含与SEQ ID NO:52-56相同的序列的核酸编码的VH结构域和由包含与SEQ ID NO:57-62相同的序列的核酸编码的VL结构域。

## 磷酸化-TAU抗体和使用方法

[0001] 交叉引用

[0002] 本申请要求2021年9月9日提交的美国临时专利申请号63/242,437的权益,所述专利申请通过引用整体并入。

### 背景技术

[0003] 阿尔茨海默病(AD)和其他tau蛋白病的生物标志物发现和筛查技术是一个正在进行开发的领域,其中这些工具可以应用于筛查群体,以确定哪些非痴呆个体患AD痴呆的风险最大并评估患者的疾病进展。已经通过各种手段来检测反映AD病理学的蛋白质,包括淀粉样蛋白 $\beta_{42}$ ( $A\beta_{42}$ )、神经丝轻链和各种tau亚型。tau的异常或过度磷酸化与病理正常的tau分子转化为指示各种tau蛋白病病理的配对螺旋丝(PHF) tau和神经原纤维缠结(NFT)相关联。

### 发明内容

[0004] Tau是一种重要的微管相关蛋白,在CNS神经元中大量表达,并且在正常细胞生理中发挥关键作用。还发现Tau在阿尔茨海默病和其他tau蛋白病中失调。tau蛋白的六种亚型通过选择性剪接由TAU基因生成。所述亚型彼此不同之处在于两个N末端插入物和一个被称为R2的重复序列的存在或不存在。tau的所有六种蛋白质亚型在正常和健康的细胞条件下都是高度可溶的,并且通常通过磷酸化和去磷酸化来调节。Tau已被证明与微管相互作用并促进微管组装。在神经元中,tau促进轴突微管的形成并使其稳定。Tau在驱动神经突生长方面具有额外的作用。tau与微管的相互作用受损可能是tau蛋白病的病理学、发展和进展的重要组成部分。tau的过度磷酸化是AD和其他tau蛋白病的标志性特征,并且过度磷酸化的程度通常与疾病进展相关。tau蛋白的过度磷酸化可能导致tau的配对螺旋丝和直丝的不溶性缠结的自组装。这些不溶性缠结聚集体,被称为神经原纤维缠结(NFT),包含过度磷酸化的tau,并且被认为是tau蛋白病的病理学标志物。

[0005] 分别从脑脊液(CSF)和/或血液中检测到的磷酸化tau(pTau)、总tau和 $A\beta_{42}$ 是阿尔茨海默病和若干其他相关tau蛋白病的个体生物标志物。与年龄和性别匹配的对照相比,在后来被确认为患有AD的个体中,CSF pTau在前驱期和痴呆期均增加。在患有AD的个体中,CSF pTau水平与认知障碍的程度表现出强烈的相关性。实际上,CSF pTau水平可以以一定的精确度用作生物标志物来预测从认知未受损到轻度认知障碍(MCI)再到AD痴呆的进展。就作为预测AD进展的甚至相对早期阶段的生物标志物的效用而言,已经显示CSF pTau在来自临床前AD个体的样品中显著增加。pTau磷酸化程度的变化已经在AD的临床前散发病例和常染色体显性遗传AD的早期阶段中均得到证明。当在同一个体内进行测定时,pTau、总tau和 $A\beta_{42}$ 的血液水平通常低于CSF水平,并且如果这些生物标志物的血液水平可以以足够的特异性和精确性进行测定,则可以用作AD和其他相关tau蛋白病的信息性生物标志物。

[0006] 已经鉴定了导致聚集成NFT的过度磷酸化tau的若干磷酸化位点。在最长的tau亚型中,存在79个潜在的丝氨酸或苏氨酸磷酸化位点,并且这些位点中的至少30个已经被鉴

定为在NFT聚集体中磷酸化。用于测定tau分子的磷酸化状态的常见位点是苏氨酸-181。CSF液体含有一系列不同丰度的tau片段。来自tau多肽的N末端区域和中间区域的tau片段在CSF样品中比C末端tau片段丰富得多。来自个体的血浆样品也含有tau多肽和tau多肽片段,但它们往往以比在匹配的CSF样品中更低的浓度存在。能够检测与疾病病理学和进展相关的特定氨基酸残基处的tau磷酸化是诊断、疾病分期的关键组成部分,并且是测量AD和其他tau蛋白病的治疗功效的指标。检测和测量来自血浆样品的特定疾病相关残基处的pTau水平将大大有助于开发针对可能具有发展AD或其他tau蛋白病的风险或处于其早期阶段的个体的更敏感和精细的诊断、预后和疾病分析。在苏氨酸217处的tau磷酸化(pTau 217)是在一种在开发新的生物标志物和诊断测定中特别感兴趣的这样的残基。CSF和血浆中pTau生物标志物浓度的变化被认为先于AD和其他tau蛋白病中的可测量行为或认知变化。开发能够产生某些残基的tau磷酸化的特定点和程度的连续体的新测定无疑将有助于临床相关的医学诊断和治疗决策。将新测定的结果与现有测定的结果进行比较也可以产生进一步的医学信息性确定。基于血浆的tau生物标志物测定的结果可以与匹配的CSF样品(检测CSF pTau或CSF可溶性A $\beta$ )进行比较,并且也可以与正电子发射断层扫描(PET)扫描进行比较,所述PET扫描检测A $\beta$ 聚集体的程度和位置,作为其实用性的指标,尤其是用于临床前或早期疾病阶段的分析。

[0007] 本文提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,所述方法包括:使用包含重链区可变结构域(VH)和轻链区可变结构域(VL)的抗体或抗体片段对所述样品进行免疫测定,其中所述VH包含与如SEQ ID NO:30-34中任一个中所示的序列具有至少约90%同一性的氨基酸序列,并且其中所述VL包含与如SEQ ID NO:35-40中任一个中所示的序列具有至少约90%同一性的氨基酸序列。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述磷酸化tau选自pTau-181、pTau-212、pTau-217、pTau-231、pTau-214和pTau-220。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述磷酸化tau是pTau-217。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述磷酸化tau是pTau-231。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述方法检测pTau-217和pTau-231。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述方法检测pTau-212和pTau-217。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述方法检测pTau-212和pTau-231。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述方法检测pTau-181和pTau-217。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述方法检测pTau-181和pTau-231。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述方法检测pTau-181、pTau-217和pTau-231。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述方法检测pTau-212、pTau-217和pTau-231。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述方法检测选自血浆样品和血清样品的样品中的pTau-217和pTau-231。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述方法检测选自血浆样品和血清样品的样品中的pTau-212和pTau-217。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述方法检测选自血浆样品和血清样品的样品中的pTau-212和pTau-231。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述方法检测选自血浆样品和血清样品的样品中的pTau-181和pTau-217。

本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述方法检测选自血浆样品和血清样品的样品中的pTau-181和pTau-231。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述方法检测选自血浆样品和血清样品的样品中的pTau-181、pTau-217和pTau-231。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述方法检测选自血浆样品和血清样品的样品中的pTau-212、pTau-217和pTau-231。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述VH包含根据SEQ ID NO:30-34中任一个的氨基酸序列。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述VL包含根据SEQ ID NO:35-40中任一个的氨基酸序列。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述VH包含根据SEQ ID NO:30-34中任一个的氨基酸序列,并且其中所述VL包含根据SEQ ID NO:35-40中任一个的氨基酸序列。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述VH包含与SEQ ID NO:30具有至少约90%同一性的氨基酸序列,并且其中所述VL包含与SEQ ID NO:35具有至少约90%同一性的氨基酸序列。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述VH包含与SEQ ID NO:31具有至少约90%同一性的氨基酸序列,并且其中所述VL包含与SEQ ID NO:36具有至少约90%同一性的氨基酸序列。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述VH包含与SEQ ID NO:31具有至少约90%同一性的氨基酸序列,并且其中所述VL包含与SEQ ID NO:37具有至少约90%同一性的氨基酸序列。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述VH包含与SEQ ID NO:32具有至少约90%同一性的氨基酸序列,并且其中所述VL包含与SEQ ID NO:38具有至少约90%同一性的氨基酸序列。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述VH包含与SEQ ID NO:33具有至少约90%同一性的氨基酸序列,并且其中所述VL包含与SEQ ID NO:39具有至少约90%同一性的氨基酸序列。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述VH包含与SEQ ID NO:34具有至少约90%同一性的氨基酸序列,并且其中所述VL包含与SEQ ID NO:40具有至少约90%同一性的氨基酸序列。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述抗体或抗体片段包含与SEQ ID NO:41-51中任一个具有至少约90%同一性的氨基酸序列。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其还包括对所述样品进行测定,以确定选自以下的生物标志物的水平: A $\beta$ 42、A $\beta$ 40、A $\beta$ 38、BACE1、hFABP、TREM2、YKL-40、IP-10、神经颗粒蛋白、SNAP-25、突触结合蛋白、 $\alpha$ -突触核蛋白、TDP-43、铁蛋白、VILIP-1、NfL、GFAP及其组合。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述样品选自血液样品、血浆样品、血清样品和脑脊液(CSF)样品。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其还包括基于磷酸化tau的检测确定所述个体的阿尔茨海默病。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其还包括基于磷酸化tau的检测确定所述个体发展阿尔茨海默病的预后。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其还确定所述个体的年龄、基因型或生物标志物表达。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述生物标志物选自A $\beta$ 42、A $\beta$ 40、A $\beta$ 38、BACE1、hFABP、TREM2、YKL-40、IP-10、神经颗粒蛋白、SNAP-25、突触结合蛋白、 $\alpha$ -突触核蛋白、TDP-43、铁蛋白、VILIP-1、NfL、GFAP及其组合。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述方法对于检测磷酸化tau具有至少约80%的特异

性。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述方法对于检测磷酸化tau具有至少约85%的特异性。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述方法对于检测磷酸化tau具有至少约90%的特异性。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述方法对于检测磷酸化tau具有至少约80%的灵敏度。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述方法对于检测磷酸化tau具有至少约85%的灵敏度。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述方法对于检测磷酸化tau具有至少约90%的灵敏度。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述方法能够以至少约1.0皮克/毫升(pg/mL)的检测限值检测所述样品中的磷酸化tau。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述方法能够以至少约1.5皮克/毫升(pg/mL)的检测限值检测所述样品中的磷酸化tau。本文还提供了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述方法能够以至少约5皮克/毫升(pg/mL)的检测限值检测所述样品中的磷酸化tau。

[0008] 在某些实施方案中,本文还提供了抗tau抗体,其包含i)包含可变重链(VH)结构域的重链和ii)包含可变轻链(VL)结构域的轻链,其中所述VH结构域包含具有选自SEQ ID NO:1-5的序列的HCDR1序列、具有选自SEQ ID NO:6-9的序列的HCDR2序列、和具有选自SEQ ID NO:10-13的序列的HCDR3序列,并且VL结构域包含具有选自SEQ ID NO:14-19的序列的LCDR1序列、具有选自SEQ ID NO:20-23的序列的LCDR2序列、和具有选自SEQ ID NO:24-29的序列的LCDR3序列。在一些实施方案中,所述HCDR1序列包含SEQ ID NO:1,所述HCDR2序列包含SEQ ID NO:6,所述HCDR3序列包含SEQ ID NO:10,所述LCDR1序列包含SEQ ID NO:14,所述LCDR2序列包含SEQ ID NO:20,并且所述LCDR3序列包含SEQ ID NO:24。在一些实施方案中,所述HCDR1序列包含SEQ ID NO:2,所述HCDR2序列包含SEQ ID NO:7,所述HCDR3序列包含SEQ ID NO:11,所述LCDR1序列包含SEQ ID NO:15,所述LCDR2序列包含SEQ ID NO:21,并且所述LCDR3序列包含SEQ ID NO:25。在一些实施方案中,所述HCDR1序列包含SEQ ID NO:2,所述HCDR2序列包含SEQ ID NO:7,所述HCDR3序列包含SEQ ID NO:11,所述LCDR1序列包含SEQ ID NO:16,所述LCDR2序列包含SEQ ID NO:22,并且所述LCDR3序列包含SEQ ID NO:26。在一些实施方案中,所述HCDR1序列包含SEQ ID NO:3,所述HCDR2序列包含SEQ ID NO:8,所述HCDR3序列包含SEQ ID NO:10,所述LCDR1序列包含SEQ ID NO:17,所述LCDR2序列包含SEQ ID NO:20,并且所述LCDR3序列包含SEQ ID NO:27。在一些实施方案中,所述HCDR1序列包含SEQ ID NO:4,所述HCDR2序列包含SEQ ID NO:7,所述HCDR3序列包含SEQ ID NO:12,所述LCDR1序列包含SEQ ID NO:18,所述LCDR2序列包含SEQ ID NO:23,并且所述LCDR3序列包含SEQ ID NO:28。在一些实施方案中,所述HCDR1序列包含SEQ ID NO:5,所述HCDR2序列包含SEQ ID NO:9,所述HCDR3序列包含SEQ ID NO:13,所述LCDR1序列包含SEQ ID NO:19,所述LCDR2序列包含SEQ ID NO:21,并且所述LCDR3序列包含SEQ ID NO:29。在一些实施方案中,本文还提供了抗tau抗体,其包含i)包含可变重链(VH)结构域的重链和ii)包含可变轻链(VL)结构域的轻链,其中所述VH结构域与选自SEQ ID NO:30-34的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%序列同一性。在一些实施方案中,本文还提供了抗tau抗体,其包含i)包含可变重链(VH)结构域的重链和ii)包含可变轻链(VL)结构域的轻链,其中所述VL结构域与选自SEQ ID NO:35-40的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、

至少95%序列同一性。在一些实施方案中,本文所述的抗tau抗体是嵌合抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,本文所述的抗tau抗体包括IgG-scFv、纳米抗体、BiTE、双链抗体、DART、TandAb、scDiabody、scDiabody-CH3、三体(triple body)、微型抗体(mini-antibody)、微抗体(minibody)、TriBi微抗体、scFv-CH3 KIH、Fab-scFv-Fc KIH、Fab-scFv、scFv-CH-CL-scFv、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、F(ab')<sub>3</sub>、F(ab')<sub>2</sub>-scFv<sub>2</sub>、scFv、scFv-KIH、Fab-scFv-Fc、四价HCAb、scDiabody-Fc、双链抗体-Fc、串联scFv-Fc或内抗体。在一些实施方案中,本文所述的抗tau抗体是IgG1抗体。在一些实施方案中,本文所述的抗tau抗体是IgG2抗体。在一些实施方案中,本文所述的抗tau抗体是IgG4抗体。在一些实施方案中,本文还提供了抗tau抗体,其包含i)包含可变重链(VH)结构域的重链和ii)包含可变轻链(VL)结构域的轻链,其中所述轻链是κ链。在一些实施方案中,本文还提供了抗tau抗体,其包含i)包含可变重链(VH)结构域的重链和ii)包含可变轻链(VL)结构域的轻链,其中所述抗tau抗体对于人tau具有约100pM至约3nM的结合亲和力。在一些实施方案中,本文提供了抗tau抗体,其包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸与选自SEQ ID NO:52-56的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%序列同一性。在一些实施方案中,本文提供了抗tau抗体,其包含由核酸编码的VL结构域,所述核酸与选自SEQ ID NO:57-62的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%序列同一性。在一些实施方案中,本文提供了抗tau抗体,其包含由与选自SEQ ID NO:52-56的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%序列同一性的核酸编码的VH结构域和由与选自SEQ ID NO:57-62的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%序列同一性的核酸编码的VL结构域。在一些实施方案中,本文提供了抗tau抗体,其包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:52-56相同的序列。在一些实施方案中,本文提供了抗tau抗体,其包含由核酸编码的VL结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:57-62相同的序列。在一些实施方案中,本文提供了抗tau抗体,其包含由包含与SEQ ID NO:52-56相同的序列的核酸编码的VH结构域和由包含与SEQ ID NO:57-62相同的序列的核酸编码的VL结构域。

#### [0009] 援引并入

[0010] 本说明书中提到的所有出版物、专利和专利申请都通过引用并入本文,其并入程度如同每个单独的出版物、专利或专利申请被明确且单独地指示通过引用并入。

#### 附图说明

[0011] 本专利或申请文件含有至少一幅以彩色绘制的附图。在提出请求并支付必要费用后,专利局将提供具有一幅或多幅彩色附图的本专利或专利申请公布的副本。

[0012] 图1描绘了本文所用的用于测定本文所述的tau抗体的单分子阵列(Simoa®)方法的纲要。在将底物添加到样品中(珠上的夹心ELISA, 1.1)之后,将样品添加到Simoa®圆盘(1.2)中。给予珠时间,使其沉淀到圆盘上的微阵列孔中(每个孔一个珠)(1.3)。然后,使用密封油去除多余的珠,以便进行成像(1.4)。具有夹心复合物的珠(阳性珠)将通过底物发出荧光并在成像过程中显示;没有夹心复合物的珠(阴性)仍将在成像中显示,但不会发出荧光(1.5)。将阳性珠的百分比转化为AEB(平均酶/珠)值。

[0013] 图2A-2D描绘了Simoa®测定中抗体1、抗体2、抗体3、抗体4、抗体5和抗体6的数

据。

[0014] 图3描绘了ELISA数据。

[0015] 图4A-4G描绘了抗体6的免疫组织化学染色的数据。

[0016] 图5A-5G描绘了抗体5的免疫组织化学染色的数据。

[0017] 图6A-6G描绘了抗体2的免疫组织化学染色的数据。

[0018] 图7描绘了间接ELISA测定的图和测定与pTau-217肽结合的抗体的ELISA数据的图。

[0019] 图8描绘了120个来源于血浆的临床样品的与pTau-217肽结合的抗体2的ELISA测定的信号/噪声(S/N)分析的图和120个来源于血浆的临床样品的与pTau-217肽结合的抗体2的ELISA测定的变异系数(CV%)的图。

[0020] 图9描绘了与使用ADx p204抗体的测定相比,对指定QTx的来源于脑脊液(68个CSF样品)和血浆(120个血浆样品)的临床样品的组(板)使用抗体2进行基于Simoa®的pTau-217测定的校准曲线(Cal曲线)的图。

[0021] 图10描绘了在来自样品个体的来源于血浆(Y轴)或CSF(X轴)的匹配样品中使用抗体2的基于Simoa®的pTau测定-217结果的图,以及对非阿尔茨海默病临床诊断、不确定诊断或阿尔茨海默病临床诊断的个体的相关结果的统计分析。

[0022] 图11描绘了使用抗体2/样品的基于Simoa®的pTau测定-217结果相对于使用抗体2/样品的基于Simoa®的pTau测定-181结果的图,以及相关结果的统计分析。

[0023] 图12描绘了使用抗体2/样品的基于Simoa®的pTau测定-217结果相对于使用Innotest pTau 181抗体/样品的基于Simoa®的Tau测定结果的图,以及相关结果的统计分析。

[0024] 图13描绘了使用抗体2作为捕获抗体、抗体ADx p204作为检测抗体和肽作为校准器的基于Simoa®的pTau测定结果的图,以及相关结果的统计分析。

[0025] 图14描绘了使用抗体2的将来自临床诊断为阿尔茨海默病的个体的样品和来自对照个体的来源于CSF或血浆的样品分组在一起的基于Simoa®的pTau测定-217结果的图。

[0026] 图15描绘了使用抗体2针对不同浓度的EDTA血浆样品的基于Simoa®的pTau测定-217结果的图,以及列出每个样品浓度的变异系数以说明测定的精确性的图表。

[0027] 图16描绘了使用抗体2的基于Simoa®的pTau测定-217结果的图,作为变异系数(CV%)相对于测量浓度进行作图。

[0028] 图17描绘了使用抗体2的基于Simoa®的pTau测定-217结果的图,和对并行性的统计分析,以确定稀释之后含有高内源性分析物浓度的实际样品是否在标准曲线中提供类似程度的检测。

[0029] 图18描绘了使用抗体2的基于Simoa®的pTau测定-217结果的图,和对线性的统计分析,以确定在四个样品加缓冲液尖峰的标准曲线范围内稀释之后,用高于检测上限的检测分析物加标的样品基质是否仍然可以提供可靠的定量。

[0030] 图19描绘了使用抗体2的基于Simoa®的pTau测定-217结果的图,和对线性的统计分析,以确定在三个样品加校准样品的标准曲线范围内稀释之后,用高于检测上限的检

测分析物加标的样品基质是否仍然可以提供可靠的定量。

[0031] 图20描绘了在记忆临床队列的临床验证中使用抗体2的基于Simoa®的pTau测定-217结果的图,以及针对pTau-217测定灵敏度作图的受试者操作特征(ROC)分析的图。

[0032] 图21描绘了使用抗体2针对来自对照和AD痴呆个体的组的基于Simoa®的pTau测定-217结果的图。

[0033] 图22描绘了使用来自Quanterix®的抗体针对来自对照和AD痴呆个体的组的基于Simoa®的pTau测定-181结果的图和样品分层的图表。

[0034] 图23描绘了使用抗体2的基于Simoa®的pTau测定-217结果和使用来自Quanterix®的抗体的基于Simoa®的pTau测定-181结果的图,示出了具有计算变异系数的精确性图。

[0035] 图24描绘了比较灵敏度和特异性的各种基于Simoa®的pTau测定的临床性能的图,和具有结果的统计分析的图表。

[0036] 图25描绘了指示各种蛋白质结构域的相对位置和苏氨酸残基的位置的Tau的示意图,其可以使用本文公开的方法测定磷酸化状态。

[0037] 图26描绘了在各种抗体的间接ELISA中对具有非磷酸化T217 (Bio-pt654) 和全长Tau (Tau441) 的Tau片段的反应性的图。

[0038] 图27描绘了在各种抗体的间接ELISA中对具有磷酸化T181 (Bio-pt126) 和磷酸化T231 (Bio-pt146) 的Tau片段的反应性的图。

[0039] 图28描绘了利用pTau217单克隆抗体作为各种合成肽的捕获工具的测定的图,和使用抗体2作为捕获工具的此测定的结果的图。

[0040] 图29描绘了使用各种Tau抗体针对来自AD患者或对照对象的脑裂解液样品的蛋白质印迹分析。

## 具体实施方式

[0041] 阿尔茨海默病(AD)是一种复杂的疾病,并且有效的治疗需要准确诊断。本文描述了用于检测AD的改善的组合物和方法,其包含用于在诊断和/或预后测定中使用的改善的抗体。

[0042] 某些术语

[0043] 在整个本公开中,各种实施方案以范围形式呈现。应理解,范围格式的描述仅为了方便和简洁,而不应被解释为对任何实施方案的范围的严格限制。因此,除非上下文另有明确指示,否则应认为对范围的描述已具体公开了所有可能的子范围以及在此范围内直至下限单位的十分之一的单个数值。例如,对范围诸如从1至6的描述应视为已具体公开了子范围,诸如从1至3、从1至4、从1至5、从2至4、从2至6、从3至6等,以及此范围内的单个值,例如,1.1、2、2.3、5和5.9。无论范围的宽度如何,这都适用。这些中间范围的上限和下限可以独立地包括在较小的范围内,并且也包括在本发明内,受规定范围内任何明确排除的限制。当所述范围包括一个或两个限值时,除非上下文另外明确指出,否则不包含所包括的那些限值中的一个或两个的范围也包括在本发明中。

[0044] 本文所用的术语仅出于描述特定实施方案的目的,并且不旨在限制任何实施方

案。如本文所用,单数形式“一种(a/an)”、“一个(a/an)”和“所述(the)”旨在包括复数形式,除非上下文另有明确指出。还将理解,当在本说明书中使用术语“包括(comprises)”和/或“包含(comprising)”时,其指定了所述特征、整体、步骤、操作、要素和/或组件的存在,但并不排除一个或多个其他特征、整体、步骤、操作、要素、组件和/或其群组的存在或添加。如本文所用,术语“和/或”包括一个或多个相关联的所列项目的任何和所有组合。

[0045] 除非特别说明或从上下文可以明显看出,否则如本文所用,术语“约”在提及数值或数值范围时应理解是指所述数值及其 $\pm 10\%$ 的数值,或对于一个范围中列出的值,则指从比列出的下限低10%到比列出的上限高10%。

[0046] 术语“个体”、“患者”或“对象”可互换使用。所述术语均不要求或限于以卫生保健工作者(例如,医生、注册护士、执业护士、医师助理、护理员或临终关怀工作者)进行监督(例如,持续或间断)为特征的情况。此外,这些术语是指人或动物对象。

[0047] 本文中的术语“抗体”以最广泛的意义使用并且包括单克隆抗体,包括完整抗体及其功能性(抗原结合)抗体片段,包括以下片段:抗原结合(Fab)片段、F(ab')<sub>2</sub>片段、Fab'片段、Fv片段、重组IgG(rIgG)片段、单链抗体片段(包括单链可变片段(sFv或scFv))和单结构域抗体(例如,sdAb、sdFv、纳米抗体)片段。所述术语涵盖免疫球蛋白的基因工程和/或以其他方式修饰的形式,诸如胞内抗体(intrabodies)、肽抗体(peptibodies)、嵌合抗体和杂缀合物抗体(heteroconjugate antibodies)、串联双-scFv、串联三-scFv。除非另有说明,否则术语“抗体”应理解成涵盖其功能性抗体片段。所述术语还涵盖完整抗体或全长抗体,包括任何类别或亚类的抗体,包括IgG及其亚类、IgM、IgE、IgA和IgD。抗体可以包含兔IgG1恒定区。抗体可以包含兔IgG4恒定区。抗体包括但不限于全长抗体和天然抗体以及其保留其结合特异性的片段和部分,诸如其任何特异性结合部分,包括具有任何数目的免疫球蛋白类别和/或同型(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA、IgD、IgE和IgM)的那些;及其生物学相关(抗原结合)片段或特异性结合部分,包括但不限于Fab、F(ab')<sub>2</sub>、Fv和scFv(单链或相关实体)。单克隆抗体通常是基本上均质的抗体的组合物内的一种;因此,单克隆抗体组合物内所包含的任何单个抗体都是相同的,除了可能以微量存在的天然存在的突变。单克隆抗体可以包含兔IgG1恒定区或兔IgG4恒定区。

[0048] 术语“互补决定区”或“CDR”是抗体可变区的区段,其在结构上与抗体结合的表位互补,并且比可变区域的其余部分更具可变性。因此,CDR有时被称为高变区。可变区包含三个CDR。CDR肽可以通过构建编码感兴趣的抗体的CDR的基因来获得。例如,通过使用聚合酶链反应从产生抗体的细胞的RNA合成可变区域来制备此类基因。参见例如Larrick等人,Methods:A Companion to Methods in Enzymology 2:106(1991);Courtenay-Luck,“Genetic Manipulation of Monoclonal Antibodies,”Monoclonal Antibodies: Production,Engineering and Clinical Application,Ritter等人(编),第166-179页(Cambridge University Press 1995);以及Ward等人,“Genetic Manipulation and Expression of Antibodies,”Monoclonal Antibodies:Principles and Applications,Birch等人(编),第137-185页(Wiley-Liss,Inc.1995)。

[0049] 术语“Fab”是指含有轻链的恒定结构域和重链的第一恒定结构域(CH1)的蛋白质。Fab片段与Fab'片段的不同之处在于在重链CH1结构域的羧基末端处添加了一些残基,包括来自抗体铰链区的一个或多个半胱氨酸。Fab'-SH是本文中Fab'的名称,其中恒定结构域的

一个或多个半胱氨酸残基带有游离巯基。Fab'片段通过还原F(ab')<sub>2</sub>片段的重链二硫键来产生。抗体片段的其他化学偶联也是已知的。

[0050] “单链可变片段(scFv)”是抗体重链(VH)和轻链(VL)可变区的融合蛋白,通过10至约25个氨基酸的短接头肽连接。接头通常富含甘氨酸以提高柔性,以及丝氨酸或苏氨酸以提高溶解性,并且可以将VH的N末端与VL的C末端连接,或者反之亦然。所述蛋白质保留了原始抗体的特异性,尽管去除了恒定区并引入了接头。scFv抗体例如在Houston, J. S., *Methods in Enzymol.* 203(1991)46-96)中进行描述。另外,抗体片段包含具有以下VH结构域的特征,即能够与VL结构域一起,或VL结构域的特征,即能够与VH结构域一起组装到功能性抗原结合位点,并且从而提供全长抗体的抗原结合特性的单链多肽。

[0051] 如本文所用,关于序列的术语“氨基酸序列同一性百分比(%)”被定义为:在比对序列并引入空位(如果需要以实现最大序列同一性百分比)之后,并且不将任何保守取代视为序列同一性的一部分,候选序列中与特定序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比。用于确定氨基酸序列同一性百分比的比对可以本领域技术范围内的各种方式来实现,例如,使用可公开获得的计算机软件,诸如EMBOSS MATCHER、EMBOSS WATER、EMBOSS STRETCHER、EMBOSS NEEDLE、EMBOSS LALIGN、BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megaalign(DNASTAR)软件。本领域技术人员可以确定用于测量比对的适当参数,包括为了在被比较的序列的全长上实现最大比对所需要的任何算法。

[0052] 在ALIGN-2用于氨基酸序列比较的情形下,给定氨基酸序列A对于、与或相对于给定氨基酸序列B的氨基酸序列同一性%(其可以可替代地措词为给定氨基酸序列A对于、与或相对于给定氨基酸序列B具有或包含某一氨基酸序列同一性%)如下计算: $100 \times \text{分数} X/Y$ ,其中X为通过序列比对程序ALIGN-2在所述程序的A和B的比对中评分为相同匹配的氨基酸残基的数目,并且其中Y为B中的氨基酸残基的总数。应理解,在氨基酸序列A的长度不等于氨基酸序列B的长度的情况下,A与B的氨基酸序列同一性%将不等于B与A的氨基酸序列同一性%。除非另外明确说明,否则本文所用的全部氨基酸序列同一性%值如紧接上一段中所述那样使用ALIGN-2计算机程序获得。

[0053] 术语“互补决定区”和“CDR”(其与“高变区”或“HVR”同义)在本领域中已知是指抗体可变区内的非连续氨基酸序列,其赋予抗原特异性和/或结合亲和力。通常,在每个重链可变区中有三个CDR(CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3),并且在每个轻链可变区中有三个CDR(CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3)。“框架区”和“FR”在本领域中是已知的,指代重链和轻链的可变区的非CDR部分。通常,在每个全长重链可变区中有四个FR(FR-H1、FR-H2、FR-H3和FR-H4),并且在每个全长轻链可变区中有四个FR(FR-L1、FR-L2、FR-L3和FR-L4)。给定CDR或FR的精确氨基酸序列边界可以使用许多熟知方案中的任一种容易地确定,所述方案包括以下文献中所述的那些:Kabat等人(1991),“Sequences of Proteins of Immunological Interest,”第5版Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD(“Kabat”编号方案);Al-Lazikani等人,(1997) *JMB* 273,927-948(“Chothia”编号方案);MacCallum等人,*J.Mol.Biol.* 262:732-745(1996),“Antibody-antigen interactions:Contact analysis and binding site topography,”*J.Mol.Biol.* 262,732-745.”(“Contact”编号方案);Lefranc MP等人,“IMGT unique numbering for immunoglobulin and Tcell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains,”*Dev Comp Immunol*,2003年1

月;27(1):55-77(“IMGT”编号方案);Honegger A和Plückthun A,“Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains:an automatic modeling and analysis tool,”J Mol Biol,2001年6月8日;309(3):657-70(“Aho”编号方案);以及Whitelegg NR和Rees AR,“WAM:an improved algorithm for modelling antibodies on the WEB,”Protein Eng.2000年12月;13(12):819-24(“AbM”编号方案)。在某些实施方案中,本文所述的抗体的CDR可以通过选自Kabat、Chothia、IMGT、Aho、AbM或其组合的方法定义。

[0054] 给定CDR或FR的边界可能根据用于鉴定的方案而有差别。例如,Kabat方案是基于结构比对,而Chothia方案是基于结构信息。Kabat和Chothia方案的编号均是基于最常见的抗体区域序列长度,在一些抗体中出现插入(其通过插入字母适应,例如“30a”)和缺失。两个方案将某些插入和缺失(“插入缺失”)放在不同的位置,得到不同的编号。Contact方案是基于对复杂的晶体结构的分析并且在许多方面中与Chothia编号方案相似。

[0055] 除非另外定义,否则本文所用的所有技术和科学术语具有与本文所述的方法和组合物所属领域的普通技术人员通常理解的相同的含义。尽管与本文所述的那些类似或等同的任何方法和材料也可用于实践或测试本文所述的方法和组合物,但现在描述代表性的示例性方法和材料。

[0056] Tau抗体

[0057] 本文提供了与tau结合的抗体。在一些情况下,与tau结合的抗体是单克隆抗体。在某些方面,本文公开了一种抗tau抗体。在一些情况下,所述抗tau抗体与哺乳动物tau特异性结合。在一些情况下,所述抗tau抗体与人tau特异性结合。在一些情况下,所述抗tau抗体与tau的N末端部分特异性结合。在一些情况下,所述抗tau抗体与人tau的N末端部分特异性结合。在一些情况下,所述抗tau抗体与tau的包含蛋白质结构域P2的部分特异性结合。在一些情况下,所述抗tau抗体与人tau的包含蛋白质结构域P2的部分特异性结合。在一些情况下,所述抗tau抗体与tau的包含蛋白质结构域P1的部分特异性结合。在一些情况下,所述抗tau抗体与人tau的包含蛋白质结构域P1的部分特异性结合。在一些情况下,所述抗tau抗体与tau的包含蛋白质结构域P1和P2的部分特异性结合。在一些情况下,所述抗tau抗体与人tau的包含蛋白质结构域P1和P2的部分特异性结合。

[0058] 在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含i)包含可变重链(VH)结构域的重链和ii)包含可变轻链(VL)结构域的轻链。在一些实施方案中,VH结构域包含具有选自SEQ ID NO:1-5的序列的重链CDR1(HCDR1)序列、具有选自SEQ ID NO:6-9的序列的重链CDR2(HCDR2)序列、和具有选自SEQ ID NO:10-13的序列的重链CDR3(HCDR3)序列。在一些实施方案中,VL结构域包含具有选自SEQ ID NO:14-19的序列的轻链CDR1(LCDR1)序列、具有选自SEQ ID NO:20-23的序列的轻链CDR2(LCDR2)序列、和具有选自SEQ ID NO:24-29的序列的轻链CDR3(LCDR3)序列。

[0059] 在一些实施方案中,抗tau抗体的VH区包含选自表1的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列。

[0060] 表1.HCDR氨基酸序列

[0061]

SEQ ID NO:	HCDR1序列
1	SQKVG
2	SYAMI
3	NYKVG

4	NYAMS
5	THAMT
SEQ ID NO:	HCDR2序列
6	IINNYGSTYYASWAKG
7	FISRSGITYYASWAKG
8	IINYYSQTYYASWAKG
9	VINPSGSAYYATWVNG
SEQ ID NO:	HCDR3序列
10	DPDGSIVFDI
11	EFGAVGSDYYRDAFNL
12	EFGAVGSDYYRDALRL
13	DYITAGDYMDAFDP

[0062] 在一些实施方案中, VH区包含具有SEQ ID NO:1的HCDR1序列;具有SEQ ID NO:6的HCDR2序列;和具有SEQ ID NO:10的HCDR3序列。在一些实施方案中, VH区包含具有SEQ ID NO:2的HCDR1序列;具有SEQ ID NO:7的HCDR2序列;和具有SEQ ID NO:11的HCDR3序列。在一些实施方案中, VH区包含具有SEQ ID NO:3的HCDR1序列;具有SEQ ID NO:8的HCDR2序列;和具有SEQ ID NO:10的HCDR3序列。在一些实施方案中, VH区包含具有SEQ ID NO:4的HCDR1序列;具有SEQ ID NO:7的HCDR2序列;和具有SEQ ID NO:12的HCDR3序列。在一些实施方案中, VH区包含具有SEQ ID NO:5的HCDR1序列;具有SEQ ID NO:9的HCDR2序列;和具有SEQ ID NO:13的HCDR3序列。

[0063] 在一些实施方案中, 抗tau抗体的VL区包含选自表2的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。

[0064] 表2.LCDR氨基酸序列

SEQ ID NO:	LCDR1序列
14	QSSQSVVYNNRLS
15	QASESINSWLS
16	QASQNIYSNLA
17	QSSQSVYSNKRLA
18	QASQSIGSNLA
19	QASQSISNQLS
SEQ ID NO:	LCDR2序列
20	GASTLAS
21	RASTLAS
22	GASNLAS
23	GASTLES
SEQ ID NO:	LCDR3序列
24	LGSYDCSSGDCHA
25	QSYEEDGIGYA
26	QGYDYSTAGAYP
27	AGGYDCSTGDCWT

28	QSYYESDYGIA
29	QQGYNRDNDNL

[0066] 在一些实施方案中,VL区包含具有SEQ ID NO:14的LCDR1序列;具有SEQ ID NO:20的LCDR2序列;和具有SEQ ID NO:24的LCDR3序列。在一些实施方案中,VL区包含具有SEQ ID NO:15的LCDR1序列;具有SEQ ID NO:21的LCDR2序列;和具有SEQ ID NO:25的LCDR3序列。在一些实施方案中,VL区包含具有SEQ ID NO:16的LCDR1序列;具有SEQ ID NO:22的LCDR2序列;和具有SEQ ID NO:26的LCDR3序列。在一些实施方案中,VL区包含具有SEQ ID NO:17的LCDR1序列;具有SEQ ID NO:20的LCDR2序列;和具有SEQ ID NO:27的LCDR3序列。在一些实施方案中,VL区包含具有SEQ ID NO:18的LCDR1序列;具有SEQ ID NO:23的LCDR2序列;和具有SEQ ID NO:28的LCDR3序列。在一些实施方案中,VL区包含具有SEQ ID NO:19的LCDR1序列;具有SEQ ID NO:21的LCDR2序列;和具有SEQ ID NO:29的LCDR3序列。

[0067] 在一些实施方案中,所述抗tau抗体是其抗原结合片段。在一些实施方案中,所述抗tau抗体是嵌合抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包括IgG-scFv、纳米抗体、微型抗体、微抗体、scFv-CH3 KIH、Fab-scFv-Fc KIH、Fab-scFv、scFv-CH-CL-scFv、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、F(ab')<sub>3</sub>、F(ab')<sub>2</sub>-scFv<sub>2</sub>、scFv、scFv-KIH、Fab-scFv-Fc或内抗体。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包括双特异性抗体。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包括多特异性抗体。在一些实施方案中,所述抗tau抗体是IgG1抗体。在一些实施方案中,所述抗tau抗体是IgG2抗体。在一些实施方案中,所述抗tau抗体是IgG4抗体。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含轻链,其中所述轻链是κ链。

[0068] 在一些实施方案中,所述抗tau抗体对于人tau具有约100pM至约3nM的结合亲和力。在一些实施方案中,所述抗tau抗体对于人tau具有约100pM至300pM的结合亲和力。在一些实施方案中,所述抗tau抗体对于人tau具有约100pM至500pM的结合亲和力。在一些实施方案中,所述抗tau抗体对于人tau具有约100pM至800pM的结合亲和力。在一些实施方案中,所述抗tau抗体对于人tau具有约300pM至600pM的结合亲和力。在一些实施方案中,所述抗tau抗体对于人tau具有约300pM至900pM的结合亲和力。在一些实施方案中,所述抗tau抗体对于人tau具有约400pM至1nM的结合亲和力。在一些实施方案中,所述抗tau抗体对于人tau具有约500pM至1.5nM的结合亲和力。在一些实施方案中,所述抗tau抗体对于人tau具有约500pM至2nM的结合亲和力。在一些实施方案中,所述抗tau抗体对于人tau具有约600pM至3nM的结合亲和力。在一些实施方案中,所述抗tau抗体对于人tau具有约100pM至约3nM的结合亲和力。

[0069] 在一些实施方案中,所述抗tau抗体对于磷酸化人tau具有约100pM至300pM的结合亲和力。在一些实施方案中,所述抗tau抗体对于磷酸化人tau具有约100pM至500pM的结合亲和力。在一些实施方案中,所述抗tau抗体对于磷酸化人tau具有约100pM至800pM的结合亲和力。在一些实施方案中,所述抗tau抗体对于磷酸化人tau具有约300pM至600pM的结合亲和力。在一些实施方案中,所述抗tau抗体对于磷酸化人tau具有约300pM至900pM的结合亲和力。在一些实施方案中,所述抗tau抗体对于磷酸化人tau具有约400pM至1nM的结合亲和力。在一些实施方案中,所述抗tau抗体对于磷酸化人tau具有约500pM至1.5nM的结合亲和力。在一些实施方案中,所述抗tau抗体对于磷酸化人tau具有约500pM至2nM的结合亲和力。在一些实施方案中,所述抗tau抗体对于磷酸化人tau具有约600pM至3nM的结合亲和力。

[0070] 本文描述了包含表3或表4中所示的任何序列的序列的抗体。

[0071] 表3.重链可变结构域

[0072]

名称	SEQ ID NO:	氨基酸序列
抗体 1 重链可 变结构 域	30	METGLRWLLLVAVLKGVCQCSLEESGGRLVTPG TPLTLT CTVSGFSLSSQKVGWVRQAPGKGLEWIGIINNY GSTYYAS WAKGRFTISKSTTTVDLRITSLTAEDTATYFCAR DPDGSIV FDIWGPGLVTVSL

抗体 2 和抗体 3 重链 可变结 构域	31	METGLRWLLLVAVLKGVCQCSVEESGGRLVTP GTPLTLT CTVSGFSLSSYAMIWVRQAPGKGLEWIGFISRS GITYYASW AKGRFTISKTSSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARE FGAVGS DYYRDAFNLWGPGLTVTVSS
抗体 4 重链可 变结构 域	32	METGLRWLLLVAVLKGVCQCSLEESGGRLVTPG TPLTLT CTVSGFSLNNYKVGWVRQAPGKGLEWIGIINYY SQTYYA SWAKGRFTISKTSSTTVDLKLTSPPTTEDTATYFCA RDPDGS IVFDIWGPGLTVTVSL
[0073]	抗体 5 重链可 变结构 域	33 METGLRWLLLVAVLKGVCQCSVEESGGGLVTP GGTLTLT CTVSGFSLSNYAMSWVRQAPGKGLEWIGFISRS GITYYAS WAKGRFTISKTSSTTVDLKITSPTTEDTAAYFCAR EFGAVGS DYYRDALRLWGPGLTVTVSS
抗体 6 重链可 变结构 域	34	METGLRWLLLVAVLKGVCQCSLEESGGRLVTPG TPLTLT CTVSGIDLSTHAMTWVRQAPGKGLEWIGVINPS GSAYYA TWVNGRFTISKTSSTTVDLKITSPTTGDTAKYFCA RDYITA GDYYMDAFDPWGPGLTVTVSS

[0074] 表4.轻链可变结构域

[0075]

名称	SEQ ID NO:	氨基酸序列
抗体 1 轻链可 变结构 域	35	MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATFAQVLTQTASPV SAAVG GTVTINCQSSQSVVYNNRLSWFQQKPGQPPKLLI YGAST LASGVPSRFKGS GSGTQFTLTISDVQCDDAATYY CLGSY DCSSGDCHAFGGGTEVVVK
抗体 2 轻链可 变结构 域	36	MDMRAPTQLLGLLLLWLPGARCADIVMTQTTPAS VEAA VGGTVTINCQASESINSWLSWYQQKPGQPPNLLI YRAST LASGVPSRFSGGGSGTEYTLTISDLECADAVTY CQSY EEDGIGYAFGGGTEVVVE
抗体 3 轻链可 变结构 域	37	MDMRAPTQLLGLLLLWLPGARCADIVMTQTTPSS VSAA VGGTVTINCQASQNIYSNLAWYQQKPGQRPRLLI YGAS NLASGVPSRFKGSRSRGTEFTLTISDLECADAA TY YCQGY DYSTAGAYPFGGGTAVVVK
抗体 4 轻链可 变结构	38	MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATFAQVLTQTASPV SAAV GSTVTINCQSSQSVYSNKRLAWFQLKPGQPPKLL

域		IYGAS TLASGVPSRFKGS GSGTQFTLTISDVQCDDAATY YCAGG YDCSTGDCWTFGGGTEVVVT
抗体 5 轻链可 变结构 域	39	MDMRAPTQLLGLLLLWLP GARCADIVMTQTPSS VSAA VGGTVTIKCQASQSIGSNLAWYQQKPGQPPKLLI YGAS TLESGVPSRFKGS GSGTEYTLTISDLECADAATY YCQSY YEGSDIGYAFGGGTEVVVE
抗体 6 轻链可 变结构 域	40	MDTRAPTQLLGLLLLWLP GARCADIVMTQTPAS VSAA VGGTVTIKCQASQSISNQLSWYQQKSGQPPKLLI YRAS TLASGVPSRFKGS GSGTEFTLTISDLECADAATY YCQQ GYNRDNVDNLFGGGTEVVVK

[0077] 在一些实施方案中,所述重链区可变结构域(VH)包含与根据SEQ ID NO:30-34中任一个的氨基酸序列具有至少70%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VH包含与根据SEQ ID NO:30-34中任一个的氨基酸序列具有至少80%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VH包含与根据SEQ ID NO:30-34中任一个的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VH包含与根据SEQ ID NO:30-34中任一个的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VH包含与根据SEQ ID NO:30-34中任一个的氨基酸序列具有至少91%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VH包含与根据SEQ ID NO:30-34中任一个的氨基酸序列具有至少92%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VH包含与根据SEQ ID NO:30-34中任一个的氨基酸序列具有至少93%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VH包含与根据SEQ ID NO:30-34中任一个的氨基酸序列具有至少94%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VH包含与根据SEQ ID NO:30-34中任一个的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VH包含与根据SEQ ID NO:30-34中任一个的氨基酸序列具有至少96%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VH包含与根据SEQ ID NO:30-34中任一个的氨基酸序列具有至少97%序列同一性的氨





个连续氨基酸残基的氨基酸序列,并且与SEQ ID NO:30-34中任一个的至少115个连续氨基酸残基具有至少95%序列同一性。在一些实施方案中,所述VH包含SEQ ID NO:30-34中任一个的至少120个连续氨基酸残基的氨基酸序列,并且与SEQ ID NO:30-34中任一个的至少120个连续氨基酸残基具有至少95%序列同一性。

[0082] 在一些实施方案中,所述VH包含SEQ ID NO:30-34中任一个的至少100个连续氨基酸残基的氨基酸序列,并且与SEQ ID NO:30-34中任一个的至少100个连续氨基酸残基具有至少99%序列同一性。在一些实施方案中,所述VH包含SEQ ID NO:30-34中任一个的至少105个连续氨基酸残基的氨基酸序列,并且与SEQ ID NO:30-34中任一个的至少105个连续氨基酸残基具有至少99%序列同一性。在一些实施方案中,所述VH包含SEQ ID NO:30-34中任一个的至少110个连续氨基酸残基的氨基酸序列,并且与SEQ ID NO:30-34中任一个的至少110个连续氨基酸残基具有至少99%序列同一性。在一些实施方案中,所述VH包含SEQ ID NO:30-34中任一个的至少115个连续氨基酸残基的氨基酸序列,并且与SEQ ID NO:30-34中任一个的至少115个连续氨基酸残基具有至少99%序列同一性。在一些实施方案中,所述VH包含SEQ ID NO:30-34中任一个的至少120个连续氨基酸残基的氨基酸序列,并且与SEQ ID NO:30-34中任一个的至少120个连续氨基酸残基具有至少99%序列同一性。

[0083] 在一些实施方案中,所述轻链区可变结构域(VL)包含与根据SEQ ID NO:35-40中任一个的氨基酸序列具有至少70%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VL包含与根据SEQ ID NO:35-40中任一个的氨基酸序列具有至少80%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VL包含与根据SEQ ID NO:35-40中任一个的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VL包含与根据SEQ ID NO:35-40中任一个的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VL包含与根据SEQ ID NO:35-40中任一个的氨基酸序列具有至少91%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VL包含与根据SEQ ID NO:35-40中任一个的氨基酸序列具有至少92%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VL包含与根据SEQ ID NO:35-40中任一个的氨基酸序列具有至少93%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VL包含与根据SEQ ID NO:35-40中任一个的氨基酸序列具有至少94%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VL包含与根据SEQ ID NO:35-40中任一个的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VL包含与根据SEQ ID NO:35-40中任一个的氨基酸序列具有至少96%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VL包含与根据SEQ ID NO:35-40中任一个的氨基酸序列具有至少97%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VL包含与根据SEQ ID NO:35-40中任一个的氨基酸序列具有至少98%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VL包含与根据SEQ ID NO:35-40中任一个的氨基酸序列具有至少99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VL包含根据SEQ ID NO:35-40中任一个的氨基酸序列。

[0084] 在一些实施方案中,所述VL包含SEQ ID NO:35-40中任一个的至少50个连续氨基酸残基的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VL包含SEQ ID NO:35-40中任一个的至少60个连续氨基酸残基的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VL包含SEQ ID NO:35-40中任一个的至少70个连续氨基酸残基的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VL包含SEQ ID NO:35-40中任一个的至少80个连续氨基酸残基的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VL包含













VH包含与根据SEQ ID NO:33的氨基酸序列具有至少98%序列同一性的氨基酸序列;并且所述VL包含与根据SEQ ID NO:39的氨基酸序列具有至少98%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VH包含与根据SEQ ID NO:33的氨基酸序列具有至少99%序列同一性的氨基酸序列;并且所述VL包含与根据SEQ ID NO:39的氨基酸序列具有至少99%序列同一性的氨基酸序列。

[0094] 在一些实施方案中,所述VH包含与根据SEQ ID NO:34的氨基酸序列具有至少70%序列同一性的氨基酸序列;并且所述VL包含与根据SEQ ID NO:40的氨基酸序列具有至少70%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VH包含与根据SEQ ID NO:34的氨基酸序列具有至少80%序列同一性的氨基酸序列;并且所述VL包含与根据SEQ ID NO:40的氨基酸序列具有至少80%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VH包含与根据SEQ ID NO:34的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列;并且所述VL包含与根据SEQ ID NO:40的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VH包含与根据SEQ ID NO:34的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;并且所述VL包含与根据SEQ ID NO:40的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VH包含与根据SEQ ID NO:34的氨基酸序列具有至少91%序列同一性的氨基酸序列;并且所述VL包含与根据SEQ ID NO:40的氨基酸序列具有至少91%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VH包含与根据SEQ ID NO:34的氨基酸序列具有至少92%序列同一性的氨基酸序列;并且所述VL包含与根据SEQ ID NO:40的氨基酸序列具有至少92%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VH包含与根据SEQ ID NO:34的氨基酸序列具有至少93%序列同一性的氨基酸序列;并且所述VL包含与根据SEQ ID NO:40的氨基酸序列具有至少93%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VH包含与根据SEQ ID NO:34的氨基酸序列具有至少94%序列同一性的氨基酸序列;并且所述VL包含与根据SEQ ID NO:40的氨基酸序列具有至少94%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VH包含与根据SEQ ID NO:34的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的氨基酸序列;并且所述VL包含与根据SEQ ID NO:40的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VH包含与根据SEQ ID NO:34的氨基酸序列具有至少96%序列同一性的氨基酸序列;并且所述VL包含与根据SEQ ID NO:40的氨基酸序列具有至少96%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VH包含与根据SEQ ID NO:34的氨基酸序列具有至少97%序列同一性的氨基酸序列;并且所述VL包含与根据SEQ ID NO:40的氨基酸序列具有至少97%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VH包含与根据SEQ ID NO:34的氨基酸序列具有至少98%序列同一性的氨基酸序列;并且所述VL包含与根据SEQ ID NO:40的氨基酸序列具有至少98%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VH包含与根据SEQ ID NO:34的氨基酸序列具有至少99%序列同一性的氨基酸序列;并且所述VL包含与根据SEQ ID NO:40的氨基酸序列具有至少99%序列同一性的氨基酸序列。

[0095] 在一些实施方案中,本文描述了抗体或抗体片段,其包含与如SEQ ID NO:41、43、46、48和50中任一个中所示的序列具有至少约90%同一性的重链序列。在一些情况下,抗体或抗体片段包含与SEQ ID NO:41、43、46、48和50中任一个具有至少或约70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链序列。

[0096] 在一些实施方案中,本文描述了抗体或抗体片段,其包含与如SEQ ID NO:42、44、45、47、49和51中任一个中所示的序列具有至少约90%同一性的轻链序列。在一些情况下,抗体或抗体片段包含与SEQ ID NO:42、44、45、47、49和51中任一个具有至少或约70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链序列。

[0097] 在一些实施方案中,本文描述了抗体或抗体片段,其包含与如SEQ ID NO:41、43、46、48和50中任一个中所示的序列具有至少约90%同一性的重链序列,和与如SEQ ID NO:42、44、45、47、49和51中任一个中所示的序列具有至少约90%同一性的轻链序列。在一些情况下,所述抗体或抗体片段包含与SEQ ID NO:41、43、46、48和50中任一个具有至少或约70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链序列,和与SEQ ID NO:42、44、45、47、49和51中任一个具有至少或约70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链序列。

[0098] 表5.重链和轻链序列

[0099]

名称	SEQ ID NO:	氨基酸序列
抗体 1 重 链	41	METGLRWLLLVAVLKGVCQCSLEESGGRLVTPGTP LTLTCTVSG FSLSSQKVGWVRQAPGKGLEWIGIINNYGSTYYAS WAKGRFTIS KTSTTVDLRITSLTAEDTATYFCARPDGSI VFDIWG PGTLVTVSL GQPKAPSVFPLAPCCGDTSPSTVTLGCLVKGYLPEP VTVTWNSG TLTNGVRTFPSVRQSSGLYSLSSVVSVTSSSQPVTCN VAHPATNT KVDKTVAPSTCSKPTCPPPELLGRSSVFIFPPKPKDT LMISRTPEV TCVVVDVSQDDPEVQFTWYINNEQVRTARPLREQ QFNSTIRVV STLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAPIEKTISKA RGQPLEPKV YTMGPPREELSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKN GKAEDNYK TTPAVLSDSGSYFLYSKLSVPTSEWQRGDVFTCSV MHEALHNH YTQKSISRSPGK
抗体 1 轻 链	42	MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATFAQVLTQTASPVSA AVGGTVTI NCQSSQSVVYNNRLSWFQQKPGQPPKLLIYGASTL ASGVPSRF

		<p>KGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCLGSYDCSSGD                  CHAFGGG                  TEVVVKGDPVAPTVLIFPPAADQVATGTVTIVCVAN                  KYFPDVT                  VTWEVDGTTQTTGIENSKTPQNSADCTYNLSSTLTL                  TSTQYNH                  KEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC</p>
[0100]	抗体 2 和 抗体 3 重 链	43 <p>METGLRWLLLVAVLKGVCQSVESGGRLVTPGTP                  LTLTCTVSG                  FSLSSYAMIWVRQAPGKGLEWIGFISRSGITYYASW                  AKGRFTISK                  TSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCAREFGAVGSDYYR                  DAFNLWGP                  GTLVTVSSGQPKAPSVFPLAPCCGDTPSSTVTLGCL                  VKGYLPEPV                  TVTWNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGLYSLSSVVSPTS                  SSQPVTCNV                  AHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPPELLGRSSVFIF                  PPKPKDTL                  MISRTPEVTCVVVDVSQDDPEVQFTWYINNEQVRT                  ARPPLREQQ                  FNSTIRVVSTLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAP                  IEKTISKAR                  GQPLEPKVYTMGPPREELSSRSVSLTCMINGFYPSDI                  SVEWEKNG                  KAEDNYKTPAVLDSGYSFLYSKLSVPTSEWQRG                  DVFTCSVM                  HEALHNHYTQKSISRSPGK</p>

抗体 2 轻 链	44	MDMRAPTQLLGLLLLWLPGARCADIVMTQTPASVE AAVGGTV TINCQASESINSWLSWYQQKPGQPPNLLIYRASTLAS GVPSRFSG GGSGTEYTLTISDLECADAVTYYCQSYEEDGIGYA FGGGTEVV VEGDPVAPTVLIFPPAADQVATGTVTIVCVANKYFP DVTVTWE VDGTTQTTGIENSKTPQNSADCTYNLSSTLTLTSTQ YNSHKEYT CKVTQGTTSVVQSFNRGDC
抗体 3 轻 链	45	MDMRAPTQLLGLLLLWLPGARCADIVMTQTPSSVS AAVGGTVT INCQASQNIYSNLAWYQQKPGQRPRLLIYGASNLAS GVPSRFKG SRSGTEFTLTISDLECADAAATYYCQGYDYSTAGAYP FGGGTAVV VKGDPVAPTVLIFPPAADQVATGTVTIVCVANKYFP DVTVTWEV DGTTQTTGIENSKTPQNSADCTYNLSSTLTLTSTQY NSHKEYTCK VTQGTTSVVQSFNRGDC
抗体 4 重 链	46	METGLRWLLLVAVLKGVQCQSLEESGGRLVTPGTP LTLTCTVS GFSLNNYKVGWVRQAPGKGLEWIGIINYYSQTYYA SWAKGRF TISKSTTTVDLKLTSPTTEDTATYFCARDPDGSIVFDI WPGTLV TVSLGQPKAPSVFPLAPCCGDTPSSTVTLGCLVKGY

[0101]

[0102]		<p>LPEPVTVT  WNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGLYSLSSVVSVTSSSQ  PVTCNVAH  PATNTKVDKTVVPSTCSKPTCPPPELLGRSSVFIFPP  KPKDTLMI  SRTPEVTCVVVDVSQDDPEVQFTWYINNEQVRTAR  PPLREQQF  NSTIRVVSTLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAPI  EKTISKAR  GQPLEPKVYTMGPPREELSSRSVSLTCMINGFYPSDI  SVEWEKN  GKAEDNYKTPAVLSDGSYFLYSKLSVPTSEWQR  GDVFTCSV  MHEALHNHYTQKSISRSPGK</p>
抗体 4 轻 链	47	<p>MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATFAQVLTQTASPVSA  AVGSTVTIN  CQSSQSVYSNKRLAWFQLKPGQPPKLLIYGASTLAS  GVPSRFKG  SGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCAGGYDCSTGDC  WTFGGGTE  VVVTGDPVAPTVLIFPPAADQVATGTVTIVCVANK  YFPDVTVT  WEVDGTTQTTGIENSKTPQNSADCTYNLSSTLTLTS  TQYNSHKE  YTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC</p>

[0103]

抗体 5 重链	48	<p>METGLRWLLLVAVLKGVQCQSVEESGGGLVTPGG  TLTLTCTVS  GFSLSNYAMSWVRQAPGKGLEWIGFISRSGITYYAS  WAKGRFT  ISKTSTTVDLKITSPTTEDTAA YFCAREFGAVGSDYY  RDALRLW  GPGTLVTVSSGQPKAPSVFPLAPCCGDTPSSTVTLG  CLVKGYLP  EPVTVTWNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGLYSLSSVVS  VTSSSQPVT  CNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPPELLGRSS  VFIFPPKPK  DTLMISRTPEVTCVVVDVSQDDPEVQFTWYINNEQ  VRTARPL  REQQFNSTIRVVSTLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNK  ALPAPIEKT  ISKARGQPLEPKVYTMGPPREELSSRSVSLTCMINGF  YPSDISVE  WEKNGKAEDNYKTTPAVLDS DGSYFLYSKLSVPTS  EWQRGDV  FTCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK</p>
抗体 5 轻链	49	<p>MDMRAPTQLLGLLLLWLPGARCADIVMTQTPSSVS  AAVGGTVT  IKCQASQSIGSNLAWYQQKPGQPPKLLIYGASTLES  GVPSRFKGS  GSGTEYTLTISDLECADAATYYCQSY YEGSDIGYAF  GGGTEVVV  EGDPVAPTVLIFPPAADQVATGTVTIVCVANKYFPD  VTVTWEVD</p>

		GTTQTTGIENSKTPQNSADCTYNLSSTLTLTSTQYNS HKEYTCKV TQGTTSVVQSFNRGDC
抗体 6 重链	50	METGLRWLLLVAVLKGVQCQSLEESGGRLVTPGTP LTLTCTVS GIDLSTHAMTWVRQAPGKGLEWIGVINPSGSAYYA TWVNGRF TISKSTTVDLKITSPTTGDTAKYFCARDYITAGDYY MDAFDPW GPGTLVTVSSGQPKAPSVFPLAPCCGDTPSSTVTLG CLVKGYLP EPVTVTWNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGLYSLSSVVS VTSSSQPV TCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPPELLGRS SVFIFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSQDDPEVQFTWYINNE QVRTARPP LREQQFNSTIRVVSTLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNK ALPAPIEK TISKARGQPLEPKVYTMGPPREELSSRSVSLTCMING FYPSDISV EWEKNGKAEDNYKTTPAVLDSGYSYFLYSKLSVPT SEWQRGD VFTCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK
抗体 6 轻链	51	MDTRAPTQLLGLLLLWLPGARCADIVMTQTPASVS AAVGGTV TIKCQASQSISNQLSWYQQKSGQPPKLLIYRASTLAS GVPSRFK GSGSGTEFTLTISDLECADAATYYCQQGYNRDNVD

[0104]

[0105]	NLFGGGT EVVVKGDPVAPTVLIFPPAADQVATGTVTIVCVAN KYFPDVTV TWEVDGTTQTTGIENSKTPQNSADCTYNLSSTLTLT STQYNHS KEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC
--------	--

[0106] 在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸与选自SEQ ID NO:52-56的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%序列同一性。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的VL结构域,所述核酸与选自SEQ ID NO:57-62的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%序列同一性。在此所述的抗tau-tau抗体的VH结构域的核酸序列在表6中列出,并且在此所述的抗tau-tau抗体的VL结构域的核酸序列在表7中列出。在一些实施方案中,所述抗tau-tau抗体包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸与SEQ ID NO:52具有至少90%序列同一性。在一些实施方案中,所述抗tau-tau抗体包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸与SEQ ID NO:53具有至少90%序列同一性。在一些实施方案中,所述抗tau-tau抗体包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸与SEQ ID NO:54具有至少90%序列同一性。在一些实施方案中,所述抗tau-tau抗体包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸与SEQ ID NO:55具有至少90%序列同一性。在一些实施方案中,所述抗tau-tau抗体包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸与SEQ ID NO:56具有至少90%序列同一性。在一些实施方案中,所述抗tau-tau抗体包含由核酸编码的VL结构域,所述核酸与SEQ ID NO:57具有至少90%序列同一性。在一些实施方案中,所述抗tau-tau抗体包含由核酸编码的VL结构域,所述核酸与SEQ ID NO:58具有至少90%序列同一性。在一些实施方案中,所述抗tau-tau抗体包含由核酸编码的VL结构域,所述核酸与SEQ ID NO:59具有至少90%序列同一性。在一些实施方案中,所述抗tau-tau抗体包含由核酸编码的VL结构域,所述核酸与SEQ ID NO:60具有至少90%序列同一性。在一些实施方案中,所述抗tau-tau抗体包含由核酸编码的VL结构域,所述核酸与SEQ ID NO:61具有至少90%序列同一性。在一些实施方案中,所述抗tau-tau抗体包含由核酸编码的VL结构域,所述核酸与SEQ ID NO:62具有至少90%序列同一性。在一些实施方案中,所述抗tau-tau抗体包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸与SEQ ID NO:52具有至少90%序列同一性;和由核酸编码的VL结构域,所述核酸与SEQ ID NO:57具有至少90%序列同一性。在一些实施方案中,所述抗tau-tau抗体包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸与SEQ ID NO:53具有至少90%序列同一性;和由核酸编码的VL结构域,所述核酸与SEQ ID NO:58具有至少90%序列同一性。在一些实施方案中,所述抗tau-tau抗体包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸与SEQ ID NO:53具有至少90%序列同一性;和由核酸编码的VL结构域,所述核酸与SEQ ID NO:59具有至少90%序列同一性。在一些实施方案中,所述抗tau-tau抗体包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸与SEQ ID NO:54具有至少90%序列同一性;和由核酸编码的VL结构域,所述核酸与SEQ ID NO:60具有至少90%序列同一性。在一些实施方案中,所述抗tau-tau抗体包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸与SEQ ID NO:55具有至少90%序列同一性;和由核酸编码的VL结构域,所述核酸与SEQ ID NO:61具有至少90%序列同一性。在

一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸与SEQ ID NO:563具有至少90%序列同一性;和由核酸编码的VL结构域,所述核酸与SEQ ID NO:62具有至少90%序列同一性。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:52相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:53相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:54相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:55相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:56相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的VL结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:57相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的VL结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:58相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的VL结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:59相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的VL结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:60相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的VL结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:61相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的VL结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:62相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:52相同的序列;和由核酸编码的VL结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:57相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:53相同的序列;和由核酸编码的VL结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:58相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:53相同的序列;和由核酸编码的VL结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:59相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:54相同的序列;和由核酸编码的VL结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:60相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:55相同的序列;和由核酸编码的VL结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:61相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:56相同的序列;和由核酸编码的VL结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:62相同的序列。

[0107] 表6. 编码VH结构域的核酸序列

[0108]

SE Q ID NO :	编码 VH 结构域的核酸序列
52	ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTGCT CAAAGG TGTCCAGTGTCAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTG GTCACG CCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGATT TTCCCT CAGTAGCCAGAAAGTGGGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGG AAGGGG CTGGAATGGATCGGAATCATTAAATAATTATGGTAGCACAT ACTACGC GAGCTGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCGAAAACCTCG ACCACA GTGGATCTGAGAATCACCAGTCTGACGGCCGAGGACACGG CCACCT ATTTCTGTGCCCGTGATCCTGATGGTAGTATTGTCTTTGAC ATCTGGG GCCCAGGCACCCTTGTCACCGTCTCCTTG
53	ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTGCT CAAAGG TGTCCAGTGTCAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTG GTCACGC CTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACCGTCTCTGGATTC TCCCTC

[0109]

	<p>AGTAGCTATGCAATGATCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGA                  AGGGGC                  TGAATGGATCGGATTCATTAGTCGTAGTGGTATCACATA                  CTACGCG                  AGCTGGGCAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAACCTCGA                  CCACGG                  TGGATCTGAAAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGGC                  CACCTA                  TTTCTGTGCCAGAGAATTCGGTGCTGTTGGTAGTGATTATT                  ATAGGG                  ACGCCTTTAACTTGTGGGGCCCAGGCACCCTGGTCACCGTC                  TCCTCA</p>
<p>54</p>	<p>ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTGCT                  CAAAGG                  TGTCCAGTGTTCAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGGTCGCCTG                  GTCACG                  CCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGATT                  TTCCCT                  AAATAACTACAAAGTGGGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGA                  AAGGG                  GCTGGAATGGATCGGAATCATTA ACTATTATAGTCAGACA                  TACTAC                  GCGAGCTGGGCCAAAGGCCGATTCACCATCTCGAAAACCT                  CGACC                  ACGGTG                  GATCTGAAGCTCACCAGTCCGACAACCGAAGACACGGCC                  ACCTATTTCTGTGCCCGTGATCCTGATGGTAGTATTGTCTT                  TGACAT                  CTGGGGCCCAGGCACCCTTGTACCGTCTCCTTG</p>

[0110]

55	<p>ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTGCT  CAAAGG  TGTCCAGTGTCAGTCGGTGGAGGAGTCCGGAGGAGGCCTG  GTAACG  CCTGGAGGAACCCTGACACTCACCTGCACCGTCTCTGGATT  CTCCCT  CAGTAACTATGCAATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGG  AAGGGG  CTGGAATGGATCGGATTCATTAGTCGTAGTGGTATTACATA  CTACGC  GAGCTGGGCAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCG  ACCACG  GTGGATCTGAAAATCACCAGTCCGACGACCGAGGACACGG  CCGCCT  ATTTCTGTGCCAGAGAATTCGGTGCTGTTGGTAGTGATTAT  TATAGG  GACGCCTTGAGGTTGTGGGGCCCAGGCACCCTGGTCACCG  TCTCCT  CA</p>
56	<p>ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTGCT  CAAAGG  TGTCCAGTGTCAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTG  GTAACG  CCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGAA  TCGACCT  CAGTACCCATGCAATGACCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGA  AAGGGG  CTGGAATGGATCGGAGTCATTAATCCTAGTGGTAGCGCAT  ACTACG</p>

[0111]

CGACCTGGGTGAATGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTC GACCACG GTGGATCTGAAAATCACCAGTCCGACAACCGGGGACACGG CCAAGT ATTTCTGTGCCAGAGATTATATTACTGCGGGTGATTATTAT ATGGAT GCTTTTGATCCCTGGGGCCCAGGCACCCTGGTCACCGTCTC CTCA
---

[0112] 表7. 编码VL结构域的核酸序列

[0113]

SEQ ID NO :	编码 VL 结构域的核酸序列
57	ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTG CTGCTC TGGCTCCAGGTGCCACATTTGCCCAAGTGCTGACCCAG ACTGCA TCCCCCGTGTCTGCGGCTGTTGGAGGCACAGTCACCATC AATTGC CAGTCCAGTCAGAGTGTTGTATATAACAACCGCTTATCCT GGTTT CAACAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTAT GGTGCA TCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAAGGC AGTGGA TCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGACGTGCAG TGTGAC

[0114]

	<p>GATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCTCCTATGATTGTA GTAGT GGTGATTGCCATGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTG GTCAAA</p>
58	<p>ATGGACATGAGGGCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTA CTGCTC TGGCTCCCAGGTGCCAGATGTGCTGACATTGTGATGACC CAGACT CCAGCCTCCGTGGAGGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCACC ATCAA TTGCCAAGCCAGTGAGAGCATTAAATAGTTGGTTGTCCTG GTATCA GCAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAACCTCCTGATCTACAG GGCATC CACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCGCGGTTTCAGTGGCGG TGGATC TGGGACAGAGTACACTCTCACCATCAGCGACCTGGAGTG TGCCGA TGCTGTCACTTATTACTGTCAAAGCTATTATGAGGAGGAT GGTAT TGGTTATGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCTGA A</p>
59	<p>ATGGACATGAGGGCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTG CTGCTCTG GCTCCCAGGTGCCAGATGTGCTGACATTGTGATGACCCA GACTCCAT CCTCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCACCATCA ATTGCCAG GCCAGTCAGAACATTTACAGCAATTTAGCCTGGTATCAG</p>

[0115]

	<p> CAGAAAC  CAGGGCAGCGTCCCAGGCTCCTGATCTATGGCGCATCCA  ATCTGGCA  TCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAAGGCAGTAGATCTGGG  ACAGAGTT  CACTCTCACCATCAGCGACCTGGAGTGTGCCGATGCTGC  CACTTACT  ACTGTCAAGGCTATGATTATAGTACTGCTGGTGCCTATCC  TTTCGGC  GGAGGGACCGCGGTGGTGGTCAA </p>
60	<p> ATGGACACGAGGGCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTG  CTGCTCTG  GCTCCCAGGTGCCACATTTGCCCAAGTGCTGACCCAGAC  TGCATCGC  CCGTGTCTGCGGCTGTGGGAAGCACAGTCACCATCAATT  GCCAGTCC  AGTCAGAGCGTTTATAGTAACAAGCGCTTAGCCTGGTTT  CAGCTGAA  ACCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATGGTGCATC  CACACTGG  CATCTGGGGTCCCATCGCGATTCAAGGGCAGTGGATCTG  GGACACAG  TTC ACTCTCACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGATGCT  GCCACTTA  CTACTGTGCAGGCGGTTATGATTGTAGTACTGGTGATTGT  TGGACTTT  CGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCACA </p>
61	<p> ATGGACATGAGGGCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTG  CTGCTC </p>

[0116]

	<p>TGGCTCCCAGGTGCCAGATGTGCTGACATCGTGATGACC  CAGACT  CCATCCTCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCACC  ATCAAG  TGCCAGGCCAGTCAGAGCATTGGTAGTAATTTAGCCTGG  TATCAG  CAGAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATGGT  GCATCC  ACTCTGGAATCTGGGGTCCCATCGCGGTTTAAAGGCAGT  GGATCT  GGGACAGAGTACACTCTCACCATCAGCGACCTGGAGTGT  GCCGAT  GCTGCCACTTACTACTGTCAAAGCTATTATGAGGGTAGT  GATATT  GGTTATGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCGAA</p>
62	<p>ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTG  CTGCTC  TGGCTCCCAGGTGCCAGATGTGCTGACATCGTGATGACC  CAGACT  CCAGCCTCTGTGTCTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCACC  ATCAAG  TGCCAGGCCAGTCAGAGCATTAGCAACCAACTATCCTGG  TATCAG  CAGAAATCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTACAGG  GCATCT  ACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAAGGCAGT  GGATCT  GGGACAGAGTTCACCTCTCACCATCAGCGACCTGGAGTGT  GCCGAT</p>

[0117]	<p>GCTGCCACTTACTACTGTCAACAGGGTTATAATAGAGAT AATGTT GATAATCTTTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAA</p>
--------	---

[0118] 在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的重链,所述核酸包含与选自SEQ ID NO:63-67的序列相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的轻链,所述核酸包含与选自SEQ ID NO:68-73的序列相同的序列。在此所述的抗tau抗体的重链的核酸序列在表8中列出,并且在此所述的抗tau抗体的轻链的核酸序列在表9中列出。在表8和表9中列出的核酸序列可以在本文所述的抗体的体外生产过程中使用。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的重链,所述核酸包含与SEQ ID NO:63相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的重链,所述核酸包含与SEQ ID NO:64相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的重链,所述核酸包含与SEQ ID NO:65相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的重链,所述核酸包含与SEQ ID NO:66相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的重链,所述核酸包含与SEQ ID NO:67相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的轻链,所述核酸包含与SEQ ID NO:68相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的轻链,所述核酸包含与SEQ ID NO:69相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的轻链,所述核酸包含与SEQ ID NO:70相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的轻链,所述核酸包含与SEQ ID NO:71相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的轻链,所述核酸包含与SEQ ID NO:72相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的轻链,所述核酸包含与SEQ ID NO:73相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的重链,所述核酸包含与SEQ ID NO:63相同的序列;和由核酸编码的轻链,所述核酸包含与SEQ ID NO:68相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的重链,所述核酸包含与SEQ ID NO:64相同的序列;和由核酸编码的轻链,所述核酸包含与SEQ ID NO:69相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的重链,所述核酸包含与SEQ ID NO:64相同的序列;和由核酸编码的轻链,所述核酸包含与SEQ ID NO:70相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的重链,所述核酸包含与SEQ ID NO:65相同的序列;和由核酸编码的轻链,所述核酸包含与SEQ ID NO:71相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的重链,所述核酸包含与SEQ ID NO:66相同的序列;和由核酸编码的轻链,所述核酸包含与SEQ ID NO:72相同的序列。在一些实施方案中,所述抗tau抗体包含由核酸编码的重链,所述核酸包含与SEQ ID NO:67相同的序列;和由核酸编码的轻链,所述核酸包含与SEQ ID NO:73相同的序列。

[0119] 表8. 编码重链的核酸序列

[0120]

SE Q ID NO :	编码重链的核酸序列
63	ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTGC TCAAAGGTG TCCAGTGTCAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGG TCACGCCTGG GACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGATTTTCC CTCAGTAGC CAGAAAGTGGGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGG GCTGGAATGG ATCGGAATCATTAAATAATTATGGTAGCACATACTACGCG AGCTGGGCG

[0121]

AAAGGCCGATTCACCATCTCGAAAACCTCGACCACAGTG  
GATCTGAGA  
ATCACCAGTCTGACGGCCGAGGACACGGCCACCTATTTC  
TGTGCCCGTG  
ATCCTGATGGTAGTATTGTCTTTGACATCTGGGGCCCAGG  
CACCTTGTC  
ACCGTCTCCTTGGGGCAACCTAAGGCTCCATCAGTCTTCC  
CACTGGCCC  
CCTGCTGCGGGGACACACCAGCTCCACGGTGACCCTGG  
GCTGCCTGGT  
CAAAGGCTACCTCCCGGAGCCAGTGACCGTGACCTGGAA  
CTCGGGCAC  
CCTCACCAATGGGGTACGCACCTTCCCGTCCGTCCGGCA  
GTCCTCAGGC  
CTCTACTCGCTGAGCAGCGTGGTGAGCGTGACCTCAAGC  
AGCCAGCCC  
GTCACCTGCAACGTGGCCCACCCAGCCACCAACACCAAA  
GTGGACAAG  
ACCGTTGCGCCCTCGACATGCAGCAAGCCCACGTGCCCA  
CCCCCTGAA  
CTCCTGGGGCGATCCTCTGTCTTCATCTTCCCCCAAAC  
CCAAGGACA  
CCCTCATGATCTCACGCACCCCCGAGGTCACATGCGTGG  
TGGTGGACG  
TGAGCCAGGATGACCCCGAGGTGCAGTTCACATGGTACA  
TAAACAAC  
GAGCAGGTGCGCACCGCCCCGGCCGCCGCTACGGGAGCA  
GCAGTTCAAC  
AGCACGATCCGCGTGGTCAGCACCCCTCCCCATCGCGCAC

[0122]

CAGGACTGG  
CTGAGGGGCAAGGAGTTCAAGTGCAAAGTCCACAACAA  
GGCACTCCC  
GGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAGAGGGCA  
GCCCTGG  
AGCCGAAGGTCTACACCATGGGCCCTCCCCGGGAGGAGC  
TGAGCAGC  
AGGTCGGTCAGCCTGACCTGCATGATCAACGGCTTCTAC  
CCTTCCGAC  
ATCTCGGTGGAGTGGGAGAAGAACGGGAAGGCAGAGGA  
CAACTACAA  
GACCACGCCGGCCGTGCTGGACAGCGACGGCTCCTACTT  
CCTCTACAG  
CAAGCTCTCAGTGCCCACGAGTGAGTGGCAGCGGGGCGA  
CGTCTTCAC  
CTGCTCCGTGATGCACGAGGCCTTGCACAACCACTACAC  
GCAGAAGTC  
CATCTCCCGCTCTCCGGGTAAATGA

[0123]

64	ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTGC TCAAAGG TGTCCAGTGTCAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCT GGTCACGC CTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACCGTCTCTGGATT CTCCCTC AGTAGCTATGCAATGATCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGG AAGGGGC TGGAATGGATCGGATTCATTAGTCGTAGTGGTATCACAT ACTACGCG AGCTGGGCAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCG ACCACGG TGGATCTGAAAATGACCAGTCTGACAACCGAGGACACGG CCACCTA TTTCTGTGCCAGAGAATTCGGTGCTGTTGGTAGTGATTAT TATAGGGA CGCCTTTAACTTGTGGGGCCCAGGCACCCTGGTCACCGTC TCCTCAGG GCAACCTAAGGCTCCATCAGTCTTCCCCTGGCCCCCTGC TGCGGGGA CACACCCAGCTCCACGGTGACCCTGGGCTGCCTGGTCAA AGGCTACCT CCCGGAGCCAGTGACCGTGACCTGGAACCTCGGGCACCCCT CACCAATGG GGTACGCACCTTCCCGTCCGTCCGGCAGTCCTCAGGCCTC TACTCGCTG AGCAGCGTGGTGAGCGTGACCTCAAGCAGCCAGCCCGTC ACCTGCAAC GTGGCCCACCCAGCCACCAACACCAAAGTGGACAAGACC
----	--

[0124]

GTTGCGCCC  
TCGACATGCAGCAAGCCCACGTGCCACCCCCTGAACTC  
CTGGGGCGA  
TCCTCTGTCTTCATCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCC  
TCATGATCT  
CACGCACCCCCGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGA  
GCCAGGAT  
GACCCCGAGGTGCAGTTCACATGGTACATAAACAACGAG  
CAGGTGCG  
CACCGCCCGGCCGCGCTACGGGAGCAGCAGTTCAACAG  
CACGATCC  
GCGTGGTCAGCACCCCTCCCCATCGCGCACCAGGACTGGC  
TGAGGGGC  
AAGGAGTTCAAGTGCAAAGTCCACAACAAGGCACTCCCG  
GCCCCAT  
CGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAGAGGGCAGCCCCTGG  
AGCCGAAG  
GTCTACACCATGGGCCCCTCCCCGGGAGGAGCTGAGCAGC  
AGGTCGGT  
CAGCCTGACCTGCATGATCAACGGCTTCTACCCTTCCGAC  
ATCTCGGT  
GGAGTGGGAGAAGAACGGGAAGGCAGAGGACA ACTACA  
AGACCACG  
CCGGCCGTGCTGGACAGCGACGGCTCCTACTTCCTCTAC  
AGCAAGCTC  
TCAGTGCCCACGAGTGAGTGGCAGCGGGGCGACGTCTTC  
ACCTGCTCC  
GTGATGCACGAGGCCTTGCACAACCACTACACGCAGAAG  
TCCATCTC

[0125]

CCGCTCTCCGGGTAAATGA

[0126]

65	ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTGC TCAAAGG TGTCCAGTGTCAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCT GGTCACG CCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGA TTTTCCCT AAATAACTACAAAGTGGGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGG AAAGGG GCTGGAATGGATCGGAATCATTAACTATTATAGTCAGAC ATACTAC GCGAGCTGGGCCAAAGGCCGATTCACCATCTCGAAAACC TCGACC ACGGTG GATCTGAAGCTCACCAAGTCCGACAACCGAAGACACGGCC ACCTATTTCTGTGCCCGTGATCCTGATGGTAGTATTGTCT TTGACAT CTGGGGCCCAGGCACCCTTGTCACCGTCTCCTTGGGGCA ACCTAAGG CTCCATCAGTCTTCCCCTGGCCCCCTGCTGCGGGGACAC ACCCAGC TCCACGGTGACCCTGGGCTGCCTGGTCAAAGGCTACCTC CCGGAGCC AGTGACCGTGACCTGGAACCTCGGGCACCCCTACCAATGG GGTACGCA CCTTCCCGTCCGTCCGGCAGTCCTCAGGCCTCTACTCGCT GAGCAGCG TGGTGAGCGTGACCTCAAGCAGCCAGCCCGTCACCTGCA ACGTGGCC CACCCAGCCACCAACACCAAAGTGGACAAGACCGTTGTG
----	---

[0127]

CCCTCGAC  
ATGCAGCAAGCCCACGTGCCACCCCCTGAACTCCTGGG  
GCGATCCT  
CTGTCTTCATCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCAT  
GATCTCAC  
GCACCCCGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC  
AGGATGAC  
CCCGAGGTGCAGTTCACATGGTACATAAACAACGAGCAG  
GTGCGCAC  
CGCCCGGCCGCGCTACGGGAGCAGCAGTTCAACAGCAC  
GATCCGCG  
TGGTCAGCACCTCCCCATCGCGCACCAGGACTGGCTGA  
GGGGCAAG  
GAGTTCAAGTGCAAAGTCCACAACAAGGCACTCCCGGCC  
CCCATCGA  
GAAAACCATCTCCAAAGCCAGAGGGCAGCCCCTGGAGCC  
GAAGGTCT  
ACACCATGGGCCCTCCCCGGGAGGAGCTGAGCAGCAGGT  
CGGTCAGC  
CTGACCTGCATGATCAACGGCTTCTACCCTTCCGACATCT  
CGGTGGAG  
TGGGAGAAGAACGGGAAGGCAGAGGACAACACTACAAGAC  
CACGCCGG  
CCGTGCTGGACAGCGACGGCTCCTACTTCTCTACAGCA  
AGCTCTCAG  
TGCCCACGAGTGAGTGGCAGCGGGGCGACGTCTTCACCT  
GCTCCGTGA  
TGCACGAGGCCTTGCACAACCACTACACGCAGAAGTCCA  
TCTCCCGCT

[0128]

CTCCGGGTAAATGA

[0129]

66	ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTGC TCAAAGG TGTCCAGTGTCAGTCGGTGGAGGAGTCCGGAGGAGGCCT GGTAACG CCTGGAGGAACCCTGACACTCACCTGCACCGTCTCTGGA TTCTCCCT CAGTAACTATGCAATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGG GAAGGGG CTGGAATGGATCGGATTCATTAGTCGTAGTGGTATTACAT ACTACGC GAGCTGGGCAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTC GACCACG GTGGATCTGAAAATCACCAGTCCGACGACCGAGGACACG GCCGCCT ATTTCTGTGCCAGAGAATTCGGTGCTGTTGGTAGTGATTA TTATAGG GACGCCTTGAGGTTGTGGGGCCCAGGCACCCTGGTCACC GTCTCCTC AGGGCAACCTAAGGCTCCATCAGTCTTCCCCTGGCCCC CTGCTGCG GGGACACACCCAGCTCCACGGTGACCCTGGGCTGCCTGG TCAAAGG CTACCTCCCGGAGCCAGTGACCGTGACCTGGAACCTCGGG CACCTCA CCAATGGGGTACGCACCTTCCCGTCCGTCCGGCAGTCCTC AGGCCTC TACTCGCTGAGCAGCGTGGTGAGCGTGACCTCAAGCAGC CAGCCCGT CACCTGCAACGTGGCCCACCCAGCCACCAACACCAAAGT
----	--

[0130]

GGACAAGA  
CCGTTGCGCCCTCGACATGCAGCAAGCCCACGTGCCAC  
CCCCTGAAC  
TCCTGGGGCGATCCTCTGTCTTCATCTTCCCCCAAACC  
CAAGGACA  
CCCTCATGATCTCACGCACCCCGAGGTCACATGCGTGG  
TGGTGGACG  
TGAGCCAGGATGACCCCGAGGTGCAGTTCACATGGTACA  
TAAACAAC  
GAGCAGGTGCGCACCCGCCCGCCGCTACGGGAGCA  
GCAGTTCAA  
CAGCACGATCCGCGTGGTCAGCACCCCTCCCCATCGCGCA  
CCAGGACTG  
GCTGAGGGGCAAGGAGTTCAAGTGCAAAGTCCACAACA  
AGGCACTCC  
CGGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAGAGGGC  
AGCCCCTG  
GAGCCGAAGGTCTACACCATGGGCCCCTCCCCGGGAGGAG  
CTGAGCAG  
CAGGTCGGTCAGCCTGACCTGCATGATCAACGGCTTCTA  
CCCTTCCGA  
CATCTCGGTGGAGTGGGAGAAGAACGGGAAGGCAGAGG  
ACAACCTAC  
AAGACCACGCCGGCCGTGCTGGACAGCGACGGCTCCTAC  
TTCCTCTA  
CAGCAAGCTCTCAGTGCCCACGAGTGAGTGGCAGCGGGG  
CGACGTC  
TTCACCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCTTGCACAACCACT  
ACACGCA

[0131]

GAAGTCCATCTCCCGCTCTCCGGGTAAATGA

[0132]

67	ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTGC TCAAAGG TGTCCAGTGTCAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCT GGTAACG CCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGA ATCGACCT CAGTACCCATGCAATGACCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGG AAAGGGG CTGGAATGGATCGGAGTCATTAATCCTAGTGGTAGCGCA TACTACG CGACCTGGGTGAATGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCT CGACCACG GTGGATCTGAAAATCACCAAGTCCGACAACCGGGGACACG GCCAAGT ATTTCTGTGCCAGAGATTATATTACTGCGGGTGATTATTA TATGGAT GCTTTTGATCCCTGGGGCCCAGGCACCCTGGTCACCGTCT CCTCAGG GCAACCTAAGGCTCCATCAGTCTTCCCCTGGCCCCCTGC TGCGGGG ACACACCAGCTCCACGGTGACCCTGGGCTGCCTGGTCA AAGGCTAC CTCCCGGAGCCAGTGACCGTGACCTGGAACCTCGGGCACC CTCACCAA TGGGGTACGCACCTTCCCGTCCGTCCGGCAGTCCTCAGG CCTCTACTC GCTGAGCAGCGTGGTGAGCGTGACCTCAAGCAGCCAGCC CGTCACCT GCAACGTGGCCCACCCAGCCACCAACACCAAAGTGGACA
----	--

[0133]

AGACCGTT  
GCGCCCTCGACATGCAGCAAGCCCACGTGCCACCCCCT  
GAACTCCT  
GGGGCGATCCTCTGTCTTCATCTTCCCCCAAACCCAAG  
GACACCC  
TCATGATCTCACGCACCCCCGAGGTCACATGCGTGGTGG  
TGGACGTG  
AGCCAGGATGACCCCGAGGTGCAGTTCACATGGTACATA  
AACAACG  
AGCAGGTGCGCACCCGCCCGCCGCTACGGGAGCAGC  
AGTTCAA  
CAGCACGATCCGCGTGGTCAGCACCTCCCCATCGCGCA  
CCAGGACT  
GGCTGAGGGGCAAGGAGTTCAAGTGCAAAGTCCACAAC  
AAGGCACT  
CCCGGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAGAGG  
GCAGCCC  
CTGGAGCCGAAGGTCTACACCATGGGCCCTCCCCGGGAG  
GAGCTGA  
GCAGCAGGTCGGTCAGCCTGACCTGCATGATCAACGGCT  
TCTACCC  
TTCCGACATCTCGGTGGAGTGGGAGAAGAACGGGAAGG  
CAGAGGA  
CAACTACAAGACCACGCCGGCCGTGCTGGACAGCGACGG  
CTCCTA  
CTTCCTCTACAGCAAGCTCTCAGTGCCCACGAGTGAGTG  
GCAGCGG  
GGCGACGTCTTCACCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCTTG  
CACAACC

[0134]

	ACTACACGCAGAAGTCCATCTCCCGCTCTCCGGGTAAAT GA
--	---

[0135] 表9. 编码轻链的核酸序列

[0136]

SEQ ID NO :	编码轻链的核酸序列
68	ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTG CTGCTCTG GCTCCCAGGTGCCACATTTGCCCAAGTGCTGACCCAGAC TGCATCCC CCGTGTCTGCGGCTGTTGGAGGCACAGTCACCATCAATT GCCAGTCC AGTCAGAGTGTTGTATATAACAACCGCTTATCCTGGTTTC

[0137]

	<p>AACAGAA                  ACCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATGGTGCATC                  CACTCTGG                  CATCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTG                  GGACACA                  GTTCACTCTCACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGATGC                  TGCCACTT                  ACTACTGTCTAGGCTCCTATGATTGTAGTAGTGGTGATTG                  CCATGCT                  TTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAAGGTGATCCA                  GTTGAC                  CTA CTGTCCTCATCTTCCCACCAGCTGCTGATCAGGTGGC                  AACTGGA                  ACAGTCACCATCGTGTGTGTGGCGAATAAATACTTTCCC                  GATGTCAC                  CGTCACCTGGGAGGTGGATGGCACCACCCAAACA ACTGG                  CATCGAG                  AACAGTAAAACACCGCAGAATTCTGCAGATTGTACCTAC                  AACCTCA                  GCAGCACTCTGACACTGACCAGCACACAGTACAACAGCC                  ACAAAG                  AGTACACCTGCAAGGTGACCCAGGGCACGACCTCAGTCG                  TCCAGAG                  CTTCAATAGGGGTGACTGTTAG</p>
<p>69</p>	<p>ATGGACATGAGGGCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTA                  CTGCTCTG                  GCTCCCAGGTGCCAGATGTGCTGACATTGTGATGACCCA                  GACTCCAG                  CCTCCGTGGAGGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCACCATCA</p>

[0138]

	<p> ATTGCCAA  GCCAGTGAGAGCATTAAATAGTTGGTTGTCCTGGTATCAG  CAGAAACC  AGGGCAGCCTCCCAACCTCCTGATCTACAGGGCATCCAC  TCTGGCAT  CTGGGGTCCCATCGCGGTTTCAGTGGCGGTGGATCTGGGA  CAGAGTAC  ACTCTCACCATCAGCGACCTGGAGTGTGCCGATGCTGTC  ACTTATTA  CTGTCAAAGCTATTATGAGGAGGATGGTATTGGTTATGC  TTTCGGCG  GAGGGACCGAGGTGGTGGTCGAAGGTGATCCAGTTGCAC  CTACTGT  CCTCATCTTCCCACCAGCTGCTGATCAGGTGGCAACTGG  AACAGTCA  CCATCGTGTGTGTGGCGAATAAATACTTTCCCGATGTCAC  CGTCACC  TGGGAGGTGGATGGCACCACCCAAACAACCTGGCATCGA  GAACAGTA  AAACACCGCAGAATTCTGCAGATTGTACCTACAACCTCA  GCAGCACT  CTGACACTGACCAGCACACAGTACAACAGCCACAAAGA  GTACACCT  GCAAGGTGACCCAGGGCACGACCTCAGTCGTCCAGAGCT  TCAATAG  GGGTGACTGTTAG </p>
70	<p> ATGGACATGAGGGCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTG  CTGCTCTG  GCTCCCAGGTGCCAGATGTGCTGACATTGTGATGACCCA </p>

[0139]

	<p>GACTCCAT                  CCTCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCACCATCA                  ATTGCCAG                  GCCAGTCAGAACATTTACAGCAATTTAGCCTGGTATCAG                  CAGAAACC                  AGGGCAGCGTCCCAGGCTCCTGATCTATGGCGCATCCAA                  TCTGGCAT                  CTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAAGGCAGTAGATCTGGGA                  CAGAGTT                  CACTCTCACCATCAGCGACCTGGAGTGTGCCGATGCTGC                  CACTTACT                  ACTGTCAAGGCTATGATTATAGTACTGCTGGTGCCTATCC                  TTTCGGC                  GGAGGGACCGCGGTGGTGGTCAAAGGTGATCCAGTTGCA                  CCTACTG                  TCCTCATCTTCCCACCAGCTGCTGATCAGGTGGCAACTGG                  AACAGTC                  ACCATCGTGTGTGTGGCGAATAAATACTTTCCCGATGTC                  ACCGTCAC                  CTGGGAGGTGGATGGCACCACCCAAACAACACTGGCATCGA                  GAACAG                  TAAAACACCGCAGAATTCTGCAGATTGTACCTACAACCT                  CAGCAGC                  ACTCTGACACTGACCAGCACACAGTACAACAGCCACAAA                  GAGTAC                  ACCTGCAAGGTGACCCAGGGCACGACCTCAGTCGTCCAG                  AGCTTCA                  ATAGGGGTGACTGTTAG</p>
71	ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTG

[0140]

CTGCTCTG  
GCTCCCAGGTGCCACATTTGCCCAAGTGCTGACCCAGAC  
TGCATCGC  
CCGTGTCTGCGGCTGTGGGAAGCACAGTCACCATCAATT  
GCCAGTCC  
AGTCAGAGCGTTTATAGTAACAAGCGCTTAGCCTGGTTT  
CAGCTGAA  
ACCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATGGTGCATC  
CACACTGG  
CATCTGGGGTCCCATCGCGATTCAAGGGCAGTGGATCTG  
GGACACAG  
TTCACTCTCACCATCAGCGACGTGCAGTGTGACGATGCT  
GCCACTTA  
CTACTGTGCAGGCGGTTATGATTGTAGTACTGGTGATTGT  
TGGACTTT  
CGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCACAGGTGATCCAG  
TTGCACCT  
ACTGTCCTCATCTTCCCACCAGCTGCTGATCAGGTGGCAA  
CTGGAAC  
AGTCACCATCGTGTGTGTGGCGAATAAATACTTTCCCGA  
TGTCACCG  
TCACCTGGGAGGTGGATGGCACCACCCAAACA ACTGGCA  
TCGAGAA  
CAGTAAAACACCGCAGAATTCTGCAGATTGTACCTACAA  
CCTCAGCA  
GCACTCTGACACTGACCAGCACACAGTACAACAGCCACA  
AAGAGTA  
CACCTGCAAGGTGACCCAGGGCACGACCTCAGTCGTCCA  
GAGCTTC

[0141]

	AATAGGGGTGACTGTTAG
72	ATGGACATGAGGGCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTG CTGCTCTG GCTCCCAGGTGCCAGATGTGCTGACATCGTGATGACCCA GACTCCAT CCTCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCACCATCA AGTGCCAG GCCAGTCAGAGCATTGGTAGTAATTTAGCCTGGTATCAG CAGAAACC AGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATGGTGCATCCAC TCTGGAAT CTGGGGTCCCATCGCGGTTTAAAGGCAGTGGATCTGGGA CAGAGTA CACTCTACCATCAGCGACCTGGAGTGTGCCGATGCTGC CACTTACT ACTGTCAAAGCTATTATGAGGGTAGTGATATTGGTTATG CTTTCGGC GGAGGGACCGAGGTGGTGGTCGAAGGTGATCCAGTTGC ACCTACTG TCCTCATCTTCCCACCAGCTGCTGATCAGGTGGCAACTGG AACAGTC ACCATCGTGTGTGTGGCGAATAAATACTTTCCCGATGTC ACCGTCAC CTGGGAGGTGGATGGCACCACCCAAACA ACTGGCATCGA GAACAGT AAAACACCGCAGAATTCTGCAGATTGTACCTACAACCTC AGCAGCA CTCTGACACTGACCAGCACACAGTACAACAGCCACAAAG AGTACAC

[0142]

	<p>CTGCAAGGTGACCCAGGGCACGACCTCAGTCGTCCAGAG CTTCAAT AGGGGTGACTGTTAG</p>
73	<p>ATGGACACGAGGGCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTG CTGCTCTG GCTCCCAGGTGCCAGATGTGCTGACATCGTGATGACCCA GACTCCAG CCTCTGTGTCTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCACCATCA AGTGCCAG GCCAGTCAGAGCATTAGCAACCAACTATCCTGGTATCAG CAGAAAT CAGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTACAGGGCATCTA CTCTGGCA TCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGG ACAGAGTT CACTCTCACCATCAGCGACCTGGAGTGTGCCGATGCTGC CACTTACT ACTGTCAACAGGGTTATAATAGAGATAATGTTGATAATC TTTTCGGC GGAGGGACCGAGGTGGTGGTCAAAGGTGATCCAGTTGC ACCTACTG TCCTCATCTTCCCACCAGCTGCTGATCAGGTGGCAACTGG AACAGTC ACCATCGTGTGTGTGGCGAATAAATACTTTCCCGATGTC ACCGTCAC CTGGGAGGTGGATGGCACCACCCAAACA ACTGGCATCGA GAACAGT AAAACACCGCAGAATTCTGCAGATTGTACCTACAACCTC AGCAGCA</p>

[0143]	<p>CTCTGACACTGACCAGCACACAGTACAACAGCCACAAAG  AGTACAC</p> <p>CTGCAAGGTGACCCAGGGCACGACCTCAGTCGTCCAGAG  CTTCAAT</p> <p>AGGGGTGACTGTTAG</p>
--------	--

[0144] 本公开的方法

[0145] 本文公开了用于使用本文所述的抗体检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法。在一些实施方案中,所述磷酸化tau选自pTau-212、pTau-217、pTau-231、pTau-214和pTau-220。在一些实施方案中,用于使用本文所述的抗体检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法包括改善的特异性和灵敏度。

[0146] 本文描述了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,所述方法包括:使用与磷酸化tau结合的抗体或抗体片段对所述样品进行测定。本文描述了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,所述方法包括:使用与磷酸化tau结合的抗体或抗体片段对所述样品进行免疫测定。在一些实施方案中,所述磷酸化tau选自pTau-212、pTau-217、pTau-231、pTau-214、pTau-220和pTau-181。在一些实施方案中,所述磷酸化tau选自pTau-212、pTau-217、pTau-231、pTau-214和pTau-220。在一些实施方案中,所述磷酸化tau是pTau-217。在一些实施方案中,所述磷酸化tau是pTau-231。在一些实施方案中,所述磷酸化tau是pTau-181。在一些实施方案中,所述磷酸化tau是pTau-212。在一些实施方案中,所述磷酸化tau是pTau-217。在一些实施方案中,所述磷酸化tau是pTau-214。在一些实施方案中,所述磷酸化tau是pTau-220。在一些实施方案中,所述磷酸化tau是pTau-181和pTau-217。在一些实施方案中,所述磷酸化tau是pTau-181和pTau-231。在一些实施方案中,所述磷酸化tau是pTau-217和pTau-231。在一些实施方案中,所述磷酸化tau是pTau-181、pTau-217和pTau-231。

[0147] 本文还描述了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,所述方法包括:使用与多种磷酸化tau蛋白结合的抗体或抗体片段对所述样品进行测定。在一些实施方案中,所述方法检测pTau-217和pTau-231。在一些实施方案中,所述方法检测pTau-212和pTau-217。在一些实施方案中,所述方法检测pTau-212和pTau-231。在一些实施方案中,所述方法检测pTau-212、pTau-217和pTau-231。

[0148] 本文描述了用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,其中所述方法检测选自血浆样品和血清样品的样品中的pTau-217和pTau-231。在一些实施方案中,所述方法检测选自血浆样品和血清样品的样品中的pTau-212和pTau-217。在一些实施方案中,所述方法检测选自血浆样品和血清样品的样品中的pTau-212和pTau-231。在一些实施方案中,所述方法检测选自血浆样品和血清样品的样品中的pTau-212、pTau-217和pTau-231。

[0149] 如本文所述的方法可以包括对样品进行测定,其中所述样品选自血浆样品和血清样品。在一些情况下,所述样品是血液样品。在一些情况下,所述样品是脑脊液样品。样品可以通过静脉抽血获得的血液样品。样品可以从手指穿刺抽血获得的血液样品。样品可以通过卫生保健提供者或对象获得。所述方法可以包括从对象获得样品。在一些情况下,样

品是在就诊诊所或医院期间从对象获得的。

[0150] 在一些实施方案中,本文还描述了确定生物标志物的水平的方法,所述生物标志物选自A $\beta$ 42、A $\beta$ 40、A $\beta$ 38、BACE1、hFABP、TREM2、YKL-40、IP-10、神经颗粒蛋白、SNAP-25、突触结合蛋白、 $\alpha$ -突触核蛋白、TDP-43、铁蛋白、VILIP-1、NfL、GFAP及其组合。在一些情况下,所述生物标志物是A $\beta$ 42。在一些情况下,所述生物标志物是A $\beta$ 40。在一些情况下,所述生物标志物是A $\beta$ 42和A $\beta$ 40。在一些情况下,所述生物标志物是APOE。在一些情况下,所述生物标志物选自APOE2、APOE3和APOE4。在一些情况下,所述生物标志物是APOE4。

[0151] 在一些实施方案中,用于检测样品中的磷酸化tau的方法包括使用本文所述的抗体或抗体片段进行的免疫测定或配体测定。在一些情况下,所述测定选自酶联免疫吸附测定(ELISA)、比色免疫测定、均相免疫测定、非光学免疫测定、荧光免疫测定、化学发光免疫测定、电化学发光免疫测定、荧光共振能量转移(FRET)免疫测定、时间分辨荧光免疫测试、侧流免疫测定、微点免疫测定(microspot immunoassay)、表面等离子体共振测定、配体测定、凝集测定、色谱法测定和免疫捕获结合质谱法。在一些情况下,所述测定包括免疫测定。在一些情况下,所述测定选自蛋白质印迹、酶联免疫吸附测定(ELISA)和色谱法。在一些情况下,所述免疫测定是单重的。在一些情况下,所述免疫测定是多重的。

[0152] 如本文所述的方法可以包括使用本文所述的抗体或抗体片段进行的多个免疫测定。在一些情况下,所述多个免疫测定是相同的免疫测定(例如,四个或更多个ELISA测定)。当多个免疫测定是相同的免疫测定时,多个免疫测定中的每一个可以检测不同的磷酸化tau。当多个免疫测定是相同的免疫测定时,多个免疫测定中的每一个可以在相同的反应室或不同的反应室中进行。反应室可以是用于进行免疫测定的任何合适的空间。反应室的实例包括但不限于微孔板中的孔、Eppendorf管或液滴。

[0153] 在一些情况下,所述多个免疫测定是不同的免疫测定。当多个免疫测定是不同的免疫测定时,多个免疫测定中的每一个可以检测不同的磷酸化tau。当多个免疫测定是不同的免疫测定时,多个免疫测定中的每一个可以在相同的反应室或不同的反应室中进行。

[0154] 在一些情况下,所述测定包括非免疫测定。在一些情况下,所述测定选自高效液相色谱法(HPLC)、高效液相质谱法(HPLC-MS)、气相色谱-质谱法(GC-MS)、液相色谱-质谱法(LC-MS)、液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)、免疫组织化学(IHC)、聚合酶链式反应(PCR)、定量PCR(qPCR)及其组合。

[0155] 使用本文所述的抗体进行的如本文所述的方法可以用于基于磷酸化tau的检测确定个体的阿尔茨海默病。在一些实施方案中,如果在来自个体的样品中检测到pTau-212、pTau-217、pTau-231、pTau-214、pTau-220或其组合,则确定个体的阿尔茨海默病。

[0156] 使用本文所述的抗体进行的如本文所述的方法可以用于基于磷酸化tau的检测对个体发展阿尔茨海默病进行预后。在一些实施方案中,如果在来自个体的样品中检测到pTau-212、pTau-217、pTau-231、pTau-214、pTau-220或其组合,则确定个体发展阿尔茨海默病的预后。

[0157] 与选自以下的疾病或病症或神经和认知未受损的病状相比,使用本文所述的抗体进行的如本文所述的方法可以用于准确地且特异性地确定个体的阿尔茨海默病(AD):非阿尔茨海默病(AD)神经退行性疾病、A $\beta$ 阴性非AD神经退行性疾病、A $\beta$ 阳性非AD神经退行性疾病、行为变异型额颞叶痴呆(BvFTD)、原发性进行性失语(PPA)、血管性痴呆(VaD)、帕金森病

(PD)、PD伴痴呆(PDD)、多系统萎缩(MSA)、进行性核上性麻痹(PSP)、皮质基底综合征(CBS)、A $\beta$ 阴性认知受损或未受损对照及其组合。在一些实施方案中,与疾病或病症或神经和认知未受损的病状相比,使用本文所述的抗体进行的如本文所述的方法包括确定AD的至少或约70%、80%、90%、95%、99%或更大的改善准确性或特异性。

[0158] 与神经病理学检查或临床诊断相比,使用本文所述的抗体进行的如本文所述的方法可以用于准确地且特异性地确定个体的阿尔茨海默病(AD)。在一些实施方案中,与神经病理学检查或临床诊断相比,使用本文所述的抗体进行的如本文所述的方法包括确定AD的至少或约70%、80%、90%、95%、99%或更大的改善准确性或特异性。在一些实施方案中,神经病理学检查或临床诊断包括神经测试、心理检查或脑成像(例如,MRI、CT或PET扫描)。

[0159] 使用本文所述的抗体进行的如本文所述的方法可以能够以检测下限检测样品中的磷酸化tau。在一些实施方案中,使用本文所述的抗体进行的如本文所述的方法能够以至少约1.5皮克/毫升(pg/mL)的检测限值检测所述样品中的磷酸化tau。在一些实施方案中,使用本文所述的抗体进行的如本文所述的方法能够以至少约5皮克/毫升(pg/mL)的检测限值检测所述样品中的磷酸化tau。在一些实施方案中,使用本文所述的抗体进行的如本文所述的方法能够以以下范围内的检测限值检测所述样品中的磷酸化tau:约0.5pg/mL至约10pg/mL、约1pg/mL至约8pg/mL、约1.5pg/mL至约7pg/mL、约2pg/mL至约6pg/mL、或约3pg/mL至约5pg/mL。

[0160] Tau抗体的产生

[0161] 在一些实施方案中,本文所述的抗体或抗体片段使用本领域已知的可用于合成抗体或抗体片段的任何方法,具体地通过化学合成或通过重组表达来产生,并且优选地通过重组表达技术来产生。

[0162] 在一些情况下,抗体或其结合片段是重组表达的,并且编码所述抗体或其结合片段的核酸由化学合成的寡核苷酸组装而成(例如,如Kutmeier等人,1994,BioTechniques 17:242中所述),这涉及合成含有编码抗体的序列的一部分的重叠寡核苷酸,对这些寡核苷酸进行退火和连接,然后通过PCR扩增连接的寡核苷酸。

[0163] 可替代地,编码抗体的核酸分子任选地通过使用与序列的3'和5'端可杂交的合成引物进行PCR扩增,或通过使用对特定基因序列具有特异性的寡核苷酸探针进行克隆从合适的来源(例如,抗体cDNA文库,或从表达免疫球蛋白的任何组织或细胞生成的cDNA文库)生成。

[0164] 在一些情况下,抗体或其结合任选地通过对动物(诸如小鼠)进行免疫以生成多克隆抗体或更优选地通过生成单克隆抗体来生成,例如,如由Kohler和Milstein(1975,Nature 256:495-497)或如由Kozbor等人(1983,Immunology Today 4:72)或Cole等人(1985Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy,Alan R.Liss,Inc.,第77-96页)所述。可替代地,编码所述抗体的至少Fab部分的克隆任选地通过筛选Fab表达文库(例如,如在Huse等人,1989,Science 246:1275-1281中所述)以获得结合特定抗原的Fab片段的克隆或通过筛选抗体文库(参见例如Clackson等人,1991,Nature 352:624;Hane等人,1997Proc.Natl.Acad.Sci.USA 94:4937)来获得。

[0165] 在一些实施方案中,使用通过剪接来自具有适当抗原特异性的小鼠抗体分子的基因以及来自具有适当生物活性的人抗体分子的基因来产生“嵌合抗体”而开发的技术

(Morrison等人,1984,Proc.Natl.Acad.Sci.81:851-855;Neuberger等人,1984,Nature 312:604-608;Takeda等人,1985,Nature 314:452-454)。嵌合抗体是一种分子,其中不同部分衍生自不同的动物物种,诸如具有衍生自鼠单克隆抗体的可变区和人免疫球蛋白恒定区的那些分子。

[0166] 在一些实施方案中,针对单链抗体的产生描述的技术(美国专利号4,694,778; Bird,1988,Science 242:423-42;Huston等人,1988,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-5883;以及Ward等人,1989,Nature334:544-54)适于产生单链抗体。单链抗体是通过经由氨基酸桥连接Fv区的重链和轻链片段、从而产生单链多肽而形成的。还任选地使用用于在大肠杆菌中组装功能性Fv片段的技术(Skerra等人,1988,Science 242:1038-1041)。

[0167] 在一些实施方案中,通过常规技术(例如,电穿孔、脂质体转染和磷酸钙沉淀)将包含抗体的核苷酸序列的表达载体或抗体的核苷酸序列转移到宿主细胞中,并且然后通过常规技术培养转染的细胞以产生抗体。在具体实施方案中,抗体的表达由组成型、诱导型或组织特异性启动子调节。

[0168] 在一些实施方案中,利用多种宿主表达载体系统来表达本文所述的抗体或其结合片段。此类宿主表达系统代表借以产生并随后纯化抗体的编码序列的媒介物,而且还代表当用适当的核苷酸编码序列转化或转染时原位表达抗体或其结合片段的细胞。这些包括但不限于用含有抗体或其结合片段编码序列的重组噬菌体DNA、质粒DNA或黏粒DNA表达载体转化的微生物,诸如细菌(例如,大肠杆菌和枯草芽孢杆菌);用含有抗体或其结合片段编码序列的重组酵母表达载体转化的酵母(例如,毕赤酵母);用含有抗体或其结合片段编码序列的重组病毒表达载体(例如,杆状病毒)感染的昆虫细胞系统;用重组病毒表达载体(例如,花椰菜花叶病毒(CaMV)和烟草花叶病毒(TMV))感染或用含有抗体或其结合片段编码序列的重组质粒表达载体(例如,Ti质粒)转化的植物细胞系统;或携带含有衍生自哺乳动物细胞基因组(例如,金属硫蛋白启动子)或哺乳动物病毒(例如,腺病毒晚期启动子;牛痘病毒7.5K启动子)的启动子的重组表达构建体的哺乳动物细胞系统(例如,COS、CHO、BH、293、293T、3T3细胞)。

[0169] 对于重组蛋白的长期高产率产生,稳定表达是优选的。在一些情况下,任选地对稳定表达抗体的细胞系进行工程化。用受适当的表达控制元件(例如,启动子、增强子、序列、转录终止子、聚腺苷酸化位点等)控制的DNA和可选择标志物转化宿主细胞,而不是使用含有病毒复制起点的表达载体。在引入外来DNA后,然后使工程化细胞在富集培养基中生长1-2天,然后转换到选择性培养基。重组质粒中的可选择标志物赋予选择抗性并允许细胞将质粒稳定整合到其染色体中,并且生长以形成基因座,细胞转而进行克隆并扩增成细胞系。此方法可以有利地用于对表达抗体或其结合片段的细胞系进行工程化。

[0170] 在一些情况下,使用多种选择系统,包括但不限于分别在tk-、hgp<sup>r</sup>t-或ap<sup>r</sup>t-细胞中采用单纯疱疹病毒胸苷激酶(Wigler等人,1977,Cell 11:223)、次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖基转移酶(Szybalska和Szybalski,192,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 48:202)以及腺嘌呤磷酸核糖基转移酶(Lowy等人,1980,Cell 22:817)基因。另外,使用抗代谢物抗性作为以下基因的选择基础:dhfr,其赋予对于甲氨蝶呤的抗性(Wigler等人,1980,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:357;O'Hare等人,1981,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 78:1527);gpt,其赋予对于霉酚酸的抗性(Mulligan和Berg,1981,Proc.Natl.Acad.Sci.USA

78:2072); neo, 其赋予对于氨基糖苷G-418的抗性 (Clinical Pharmacy 12:488-505; Wu和Wu, 1991, Biotherapy 3:87-95; Tolstoshev, 1993, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32:573-596; Mulligan, 1993, Science 260:926-932; 以及Morgan和Anderson, 1993, Ann. Rev. Biochem. 62:191-217; 1993年5月, TIB TECH 11 (5):155-215) 以及hygro, 其赋予对于潮霉素的抗性 (Santerre等人, 1984, Gene 30:147)。可以使用的重组DNA技术领域通常已知的方法在以下中描述: Ausubel等人 (编, 1993, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley&Sons, NY; Kriegler, 1990, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY; 以及第12和13章, Dracopoli等人 (编), 1994, Current Protocols in Human Genetics, John Wiley&Sons, NY.; Colberre-Garapin等人, 1981, J. Mol. Biol. 150:1)。

[0171] 在一些情况下, 抗体的表达水平通过载体扩增而增加 (关于综述, 参见Bebbington和Hentschel, the use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, 第3卷. (Academic Press, New York, 1987))。当表达抗体的载体系统中的标志物是可扩增的时, 宿主细胞的培养物中存在的抑制剂的水平增加将使标志物基因的拷贝数增加。因为扩增区与抗体的核苷酸序列相关联, 所以所述抗体的产生也将增加 (Crouse等人, 1983, Mol. Cell Biol. 3:257)。

[0172] 在一些情况下, 使用本领域中已知的用于抗体纯化的任何方法, 例如, 通过色谱法 (例如, 离子交换色谱法、亲和色谱法 (特别是通过对于蛋白A之后特定抗原的亲和力) 和定径柱色谱法)、离心、差别溶解度或者通过用于纯化蛋白质的任何其他标准技术。

[0173] 表达载体

[0174] 在一些实施方案中, 载体包括衍生自真核或原核来源的任何合适的载体。在一些情况下, 载体是从细菌 (例如, 大肠杆菌)、昆虫、酵母 (例如, 毕赤酵母)、藻类或哺乳动物来源获得的。示例性细菌载体包括pACYC177、pASK75、pBAD载体系列、pBADM载体系列、pET载体系列、pETM载体系列、pGEX载体系列、pHAT、pHAT2、pMal-c2、pMal-p2、pQE载体系列、pRSET A、pRSET B、pRSET C、pTrcHis2系列、pZA31-Luc、pZE21-MCS-1、pFLAG ATS、pFLAG CTS、pFLAG MAC、pFLAG Shift-12c、pTAC-MAT-1、pFLAG CTC或pTAC-MAT-2。

[0175] 示例性昆虫载体包括pFastBac1、pFastBac DUAL、pFastBac ET、pFastBac HTa、pFastBac HTb、pFastBac HTc、pFastBac M30a、pFastBac M30b、pFastBac M30c、pVL1392、pVL1393、pVL1393 M10、pVL1393M11、pVL1393 M12、FLAG载体诸如pPolh-FLAG1或pPolh-MAT2或者MAT载体诸如pPolh-MAT1或pPolh-MAT2。

[0176] 在一些情况下, 酵母载体包括Gateway®pDEST™14载体、Gateway®pDEST™15载体、Gateway®pDEST™17载体、Gateway®pDEST™24载体、Gateway®pYES-DEST52载体、pBAD-DEST49Gateway®目的载体、pA0815毕赤酵母属载体、pFLD1巴斯德毕赤酵母载体、pGAPZ A、B和C巴斯德毕赤酵母载体、pPIC3.5K毕赤酵母属载体、pPIC6 A、B和C毕赤酵母属载体、pPIC9K毕赤酵母属载体、pTEF1/Zeo、pYES2酵母载体、pYES2/CT酵母载体、pYES2/NTA、B和C酵母载体或pYES3/CT酵母载体。

[0177] 示例性藻类载体包括pChlamy-4载体或MCS载体。

[0178] 哺乳动物载体的实例包括瞬时表达载体或稳定表达载体。哺乳动物瞬时表达载体可以包括pRK5、p3xFLAG-CMV 8、pFLAG-Myc-CMV 19、pFLAG-Myc-CMV 23、pFLAG-CMV 2、

pFLAG-CMV 6a,b,c、pFLAG-CMV 5.1、pFLAG-CMV 5a,b,c、p3xFLAG-CMV 7.1、pFLAG-CMV 20、p3xFLAG-Myc-CMV 24、pCMV-FLAG-MAT1、pCMV-FLAG-MAT2、pBICEP-CMV 3或pBICEP-CMV 4。哺乳动物稳定表达载体可以包括pFLAG-CMV 3、p3xFLAG-CMV 9、p3xFLAG-CMV 13、pFLAG-Myc-CMV 21、p3xFLAG-Myc-CMV 25、pFLAG-CMV 4、p3xFLAG-CMV 10、p3xFLAG-CMV 14、pFLAG-Myc-CMV 22、p3xFLAG-Myc-CMV 26、pBICEP-CMV 1或pBICEP-CMV 2。

[0179] 在一些情况下,无细胞系统是来自由细胞的细胞质和/或细胞核组分的混合物,并且用于体外核酸合成。在一些情况下,无细胞系统利用原核细胞组分或真核细胞组分。有时,核酸合成是在基于例如果蝇细胞、非洲爪蟾卵或HeLa细胞的无细胞系统中获得的。示例性无细胞系统包括但不限于大肠杆菌S30提取系统、大肠杆菌T7 S30系统或PURExpress®。

[0180] 宿主细胞

[0181] 在一些实施方案中,宿主细胞包括任何合适的细胞,诸如天然来源的细胞或遗传修饰的细胞。在一些情况下,宿主细胞是生产宿主细胞。在一些情况下,宿主细胞是真核细胞。在其他情况下,宿主细胞是原核细胞。在一些情况下,真核细胞包括真菌(例如,酵母细胞)、动物细胞或植物细胞。在一些情况下,原核细胞是细菌细胞。细菌细胞的实例包括革兰氏阳性细菌或革兰氏阴性细菌。有时,革兰氏阴性细菌是厌氧的、杆状的或两者兼有。

[0182] 在一些情况下,革兰氏阳性细菌包括放线菌门、厚壁菌门或软壁菌门。在一些情况下,革兰氏阳性细菌包括产水菌门(Aquificae)、异常球菌-栖热菌门(Deinococcus-Thermus)、纤维杆菌门-绿菌门/拟杆菌门(Fibrobacteres-Chlorobi/Bacteroidetes)(FCB group)、梭杆菌门(Fusobacteria)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、硝化螺旋菌门(Nitrospirae)、浮霉菌门-疣微菌门/衣原体门(Planctomycetes-Verrucomicrobia/Chlamydiae)(PVC group)、变形菌门(Proteobacteria)、螺旋体门(Spirochaetes)或互养菌门(Synergistetes)。其他细菌可以是酸杆菌门(Acidobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、产金菌门(Chrysiogenetes)、蓝细菌(Cyanobacteria)、脱铁杆菌门(Deferribacteres)、网团菌门(Dictyoglomi)、热脱硫杆菌门(Thermodesulfobacteria)或热袍菌门(Thermotogae)。细菌细胞可以是大肠杆菌(大肠埃希氏菌)、肉毒杆菌(*Clostridium botulinum*)或大肠杆菌(*Coli bacilli*)。

[0183] 示例性原核宿主细胞包括但不限于BL21、Mach1™、DH10B™、TOP10、DH5α、DH10Bac™、OmniMax™、MegaX™、DH12S™、INV110、TOP10F'、INVαF、TOP10/P3、ccdB Survival、PIR1、PIR2、Stb12™、Stb13™或Stb14™。

[0184] 在一些情况下,动物细胞包括来自脊椎动物或无脊椎动物的细胞。在一些情况下,动物细胞包括来自海洋无脊椎动物、鱼类、昆虫、两栖动物、爬行动物或哺乳动物的细胞。在一些情况下,真菌细胞包括酵母细胞,诸如啤酒酵母、面包酵母或葡萄酒酵母。

[0185] 真菌包括子囊菌诸如酵母、霉菌、丝状真菌、担子菌或接合菌。在一些情况下,酵母包括子囊菌门或担子菌门。在一些情况下,子囊菌门包括酵母亚门(Saccharomycotina)(真酵母,例如酿酒酵母(面包酵母))或外囊菌亚门(Taphrinomycotina)(例如,裂殖酵母纲(裂殖酵母))。在一些情况下,担子菌门包括伞菌亚门(Agaricomycotina)(例如,银耳纲(Tremellomycetes))或柄锈菌亚门(Pucciniomycotina)(例如,微球黑粉菌纲(Microbotryomycetes))。

[0186] 示例性酵母或丝状真菌包括例如以下属:酵母菌属(*Saccharomyces*)、裂殖酵母属(*Schizosaccharomyces*)、念珠菌属(*Candida*)、毕赤酵母属(*Pichia*)、汉逊酵母属(*Hansenula*)、克鲁维酵母属(*Kluyveromyces*)、接合酵母(*Zygosaccharomyces*)、耶氏酵母属(*Yarrowia*)、丝孢酵母属(*Trichosporon*)、红冬孢酵母属(*Rhodosporida*)、曲霉属(*Aspergillus*)、镰孢霉属(*Fusarium*)或木霉属(*Trichoderma*)。示例性酵母或丝状真菌包括例如以下物种:酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)、产朊假丝酵母(*Candida utilis*)、博伊丁假丝酵母(*Candida boidini*)、白假丝酵母(*Candida albicans*)、热带假丝酵母(*Candida tropicalis*)、星形念珠菌(*Candida stellatoidea*)、光滑念珠菌(*Candida glabrata*)、克柔念珠菌(*Candida krusei*)、近平滑念珠菌(*Candida parapsilosis*)、季蒙假丝酵母(*Candida guilliermondii*)、维斯假丝酵母(*Candida viswanathii*)、葡萄牙假丝酵母(*Candida lusitaniae*)、胶红酵母(*Rhodotorula mucilaginosa*)、甲醇毕赤酵母(*Pichia metanolica*)、安格斯毕赤酵母(*Pichia angusta*)、巴斯德毕赤酵母(*Pichia pastoris*)、异常毕赤酵母(*Pichia anomala*)、多形汉逊酵母(*Hansenula polymorpha*)、乳酸克鲁维酵母(*Kluyveromyces lactis*)、鲁氏接合酵母(*Zygosaccharomyces rouxii*)、解脂耶氏酵母(*Yarrowia lipolytica*)、茁芽丝孢酵母(*Trichosporon pullulans*)、圆红冬孢酵母-黑曲霉(*Rhodosporeidium toru-Aspergillus niger*)、构巢曲霉(*Aspergillus nidulans*)、泡盛曲霉(*Aspergillus awamori*)、米曲霉(*Aspergillus oryzae*)、里氏木霉(*Trichoderma reesei*)、解脂耶氏酵母(*Yarrowia lipolytica*)、布鲁塞尔酒香酵母(*Brettanomyces bruxellensis*)、星形假丝酵母(*Candida stellata*)、粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)、孢圆酵母(*Torulaspora delbrueckii*)、拜耳接合酵母(*Zygosaccharomyces bailii*)、新型隐球菌(*Cryptococcus neoformans*)、加特隐球酵母(*Cryptococcus gattii*)或布拉氏酵母(*Saccharomyces boulardii*)。

[0187] 示例性酵母宿主细胞包括但不限于巴斯德毕赤酵母菌株,诸如GS115、KM71H、SMD1168、SMD1168H和X-33;以及酿酒酵母菌株,诸如INVSc1。

[0188] 在一些情况下,额外的动物细胞包括从软体动物、节肢动物、蜥蜴或海绵动物中获得的细胞。在一些情况下,额外的动物细胞是哺乳动物细胞,例如,来自灵长类动物、猿类、马、牛、猪、犬科动物、猫科动物或啮齿动物。在一些情况下,啮齿动物包括小鼠、大鼠、仓鼠、沙鼠、仓鼠、栗鼠、花枝鼠或豚鼠。

[0189] 示例性哺乳动物宿主细胞包括但不限于293A细胞系、293FT细胞系、293F细胞、293H细胞、CHO DG44细胞、CHO-S细胞、CHO-K1细胞、FUT8 KO CHO-K1、Expi293F<sup>TM</sup>细胞、Flp-In<sup>TM</sup>T-REx<sup>TM</sup>293细胞系、Flp-In<sup>TM</sup>-293细胞系、Flp-In<sup>TM</sup>-3T3细胞系、Flp-In<sup>TM</sup>-BHK细胞系、Flp-In<sup>TM</sup>-CHO细胞系、Flp-In<sup>TM</sup>-CV-1细胞系、Flp-In<sup>TM</sup>-Jurkat细胞系、FreeStyle<sup>TM</sup>293-F细胞、FreeStyle<sup>TM</sup>CHO-S细胞、GripTite<sup>TM</sup>293MSR细胞系、GS-CHO细胞系、HepaRG<sup>TM</sup>细胞、T-REx<sup>TM</sup>Jurkat细胞系、Per.C6细胞、T-REx<sup>TM</sup>-293细胞系、T-REx<sup>TM</sup>-CHO细胞系和T-REx<sup>TM</sup>-HeLa细胞系。

[0190] 在一些情况下,哺乳动物宿主细胞是稳定细胞系,或者是将感兴趣的遗传物质整合到其自身基因组中并且能够在多代细胞分裂之后表达遗传物质的产物的细胞系。在一些情况下,哺乳动物宿主细胞是瞬时细胞系,或者是没有将感兴趣的遗传物质整合到其自身

基因组中并且不能在多代细胞分裂之后表达遗传物质的产物的细胞系。

[0191] 示例性昆虫宿主细胞包括但不限于果蝇S2细胞、Sf9细胞、Sf21细胞、High Five™细胞和expresSF+®细胞。

[0192] 在一些情况下,植物细胞包括来自藻类的细胞。示例性昆虫细胞系包括但不限于来自莱茵衣藻137c (*Chlamydomonas reinhardtii* 137c) 或细长聚球藻PPC 7942 (*Synechococcus elongatus* PPC 7942) 的菌株。

[0193] 编号实施方案

[0194] 编号实施方案1包括一种用于检测来自个体的样品中的磷酸化tau的方法,所述方法包括:使用包含重链区可变结构域(VH)和轻链区可变结构域(VL)的抗体或抗体片段对所述样品进行免疫测定,其中所述VH包含与如SEQ ID NO:30-34中任一个中所示的序列具有至少约90%同一性的氨基酸序列,并且其中所述VL包含与如SEQ ID NO:35-40中任一个中所示的序列具有至少约90%同一性的氨基酸序列。编号实施方案2包括如编号实施方案1所述的方法,其中所述磷酸化tau选自pTau-181、pTau-212、pTau-217、pTau-231、pTau-214和pTau-220。编号实施方案3包括如编号实施方案1-2所述的方法,其中所述磷酸化tau是pTau-217。编号实施方案4包括如编号实施方案1-2所述的方法,其中所述磷酸化tau是pTau-231。编号实施方案5包括如编号实施方案2所述的方法,其中所述方法检测pTau-217和pTau-231。编号实施方案6包括如编号实施方案2所述的方法,其中所述方法检测pTau-212和pTau-217。编号实施方案7包括如编号实施方案2所述的方法,其中所述方法检测pTau-212和pTau-231。编号实施方案8包括如编号实施方案2所述的方法,其中所述方法检测pTau-181和pTau-217。编号实施方案9包括如编号实施方案2所述的方法,其中所述方法检测pTau-181和pTau-231。编号实施方案10包括如编号实施方案2所述的方法,其中所述方法检测pTau-181、pTau-217和pTau-231。编号实施方案11包括如编号实施方案2所述的方法,其中所述方法检测pTau-212、pTau-217和pTau-231。编号实施方案12包括如编号实施方案5所述的方法,其中所述方法检测选自血浆样品和血清样品的样品中的pTau-217和pTau-231。编号实施方案13包括如编号实施方案6所述的方法,其中所述方法检测选自血浆样品和血清样品的样品中的pTau-212和pTau-217。编号实施方案14包括如编号实施方案7所述的方法,其中所述方法检测选自血浆样品和血清样品的样品中的pTau-212和pTau-231。编号实施方案15包括如编号实施方案11所述的方法,其中所述方法检测选自血浆样品和血清样品的样品中的pTau-181和pTau-217。编号实施方案16包括如编号实施方案11所述的方法,其中所述方法检测选自血浆样品和血清样品的样品中的pTau-181和pTau-231。编号实施方案17包括如编号实施方案11所述的方法,其中所述方法检测选自血浆样品和血清样品的样品中的pTau-181、pTau-217和pTau-231。编号实施方案18包括如编号实施方案11所述的方法,其中所述方法检测选自血浆样品和血清样品的样品中的pTau-212、pTau-217和pTau-231。编号实施方案19包括如编号实施方案1-18所述的方法,其中所述VH包含根据SEQ ID NO:30-34中任一个的氨基酸序列。编号实施方案20包括如编号实施方案1-19所述的方法,其中所述VL包含根据SEQ ID NO:35-40中任一个的氨基酸序列。编号实施方案21包括如编号实施方案1-20所述的方法,其中所述VH包含根据SEQ ID NO:30-34中任一个的氨基酸序列,并且其中所述VL包含根据SEQ ID NO:35-40中任一个的氨基酸序列。编号实施方案22包括如编号实施方案1-21所述的方法,其中所述VH包含与SEQ ID NO:30具有至少约90%同

一性的氨基酸序列,并且其中所述VL包含与SEQ ID NO:35具有至少约90%同一性的氨基酸序列。编号实施方案23包括如编号实施方案1-21所述的方法,其中所述VH包含与SEQ ID NO:31具有至少约90%同一性的氨基酸序列,并且其中所述VL包含与SEQ ID NO:36具有至少约90%同一性的氨基酸序列。编号实施方案24包括如编号实施方案1-21所述的方法,其中所述VH包含与SEQ ID NO:31具有至少约90%同一性的氨基酸序列,并且其中所述VL包含与SEQ ID NO:37具有至少约90%同一性的氨基酸序列。编号实施方案25包括如编号实施方案1-21所述的方法,其中所述VH包含与SEQ ID NO:32具有至少约90%同一性的氨基酸序列,并且其中所述VL包含与SEQ ID NO:38具有至少约90%同一性的氨基酸序列。编号实施方案26包括如编号实施方案1-21所述的方法,其中所述VH包含与SEQ ID NO:33具有至少约90%同一性的氨基酸序列,并且其中所述VL包含与SEQ ID NO:39具有至少约90%同一性的氨基酸序列。编号实施方案27包括如编号实施方案1-21所述的方法,其中所述VH包含与SEQ ID NO:34具有至少约90%同一性的氨基酸序列,并且其中所述VL包含与SEQ ID NO:40具有至少约90%同一性的氨基酸序列。编号实施方案28包括如编号实施方案1-27所述的方法,其中所述抗体或抗体片段包含与SEQ ID NO:41-51中任一个具有至少约90%同一性的氨基酸序列。编号实施方案29包括如编号实施方案1-28所述的方法,其还包括对所述样品进行测定,以确定选自以下的生物标志物的水平: $A\beta$ 42、 $A\beta$ 40、 $A\beta$ 38、BACE1、hFABP、TREM2、YKL-40、IP-10、神经颗粒蛋白、SNAP-25、突触结合蛋白、 $\alpha$ -突触核蛋白、TDP-43、铁蛋白、VILIP-1、NfL、GFAP及其组合。编号实施方案30包括如编号实施方案1-29所述的方法,其中所述样品选自血液样品、血浆样品、血清样品和脑脊液(CSF)样品。编号实施方案31包括如编号实施方案1-30所述的方法,其还包括基于磷酸化tau的检测确定所述个体的阿尔茨海默病。编号实施方案32包括如编号实施方案1-31所述的方法,其还包括基于磷酸化tau的检测确定所述个体发展阿尔茨海默病的预后。编号实施方案33包括如编号实施方案32所述的方法,其还确定所述个体的年龄、基因型或生物标志物表达。编号实施方案34包括如编号实施方案33所述的方法,其中所述生物标志物选自 $A\beta$ 42、 $A\beta$ 40、 $A\beta$ 38、BACE1、hFABP、TREM2、YKL-40、IP-10、神经颗粒蛋白、SNAP-25、突触结合蛋白、 $\alpha$ -突触核蛋白、TDP-43、铁蛋白、VILIP-1、NfL、GFAP及其组合。编号实施方案35包括如编号实施方案1-34所述的方法,其中所述方法对于检测磷酸化tau具有至少约80%的特异性。编号实施方案36包括如编号实施方案1-34所述的方法,其中所述方法对于检测磷酸化tau具有至少约85%的特异性。编号实施方案37包括如编号实施方案1-34所述的方法,其中所述方法对于检测磷酸化tau具有至少约90%的特异性。编号实施方案38包括如编号实施方案1-37所述的方法,其中所述方法对于检测磷酸化tau具有至少约80%的灵敏度。编号实施方案39包括如编号实施方案1-37所述的方法,其中所述方法对于检测磷酸化tau具有至少约85%的灵敏度。编号实施方案40包括如编号实施方案1-37所述的方法,其中所述方法对于检测磷酸化tau具有至少约90%的灵敏度。编号实施方案41包括如编号实施方案1-40所述的方法,其中所述方法能够以至少约1.0皮克/毫升(pg/mL)的检测限值检测所述样品中的磷酸化tau。编号实施方案42包括如编号实施方案1-40所述的方法,其中所述方法能够以至少约1.5皮克/毫升(pg/mL)的检测限值检测所述样品中的磷酸化tau。编号实施方案43包括如编号实施方案1-40所述的方法,其中所述方法能够以至少约5皮克/毫升(pg/mL)的检测限值检测所述样品中的磷酸化tau。

[0195] 编号实施方案44包括一种抗tau抗体,其包含i)包含可变重链(VH)结构域的重链

和ii)包含可变轻链(VL)结构域的轻链,其中所述VH结构域包含具有选自SEQ ID NO:1-5的序列的HCDR1序列、具有选自SEQ ID NO:6-9的序列的HCDR2序列、和具有选自SEQ ID NO:10-13的序列的HCDR3序列,并且VL结构域包含具有选自SEQ ID NO:14-19的序列的LCDR1序列、具有选自SEQ ID NO:20-23的序列的LCDR2序列、和具有选自SEQ ID NO:24-29的序列的LCDR3序列。编号实施方案45包括如编号实施方案44所述的抗tau抗体,其中所述HCDR1序列包含SEQ ID NO:1,HCDR2序列包含SEQ ID NO:6,HCDR3序列包含SEQ ID NO:10,LCDR1序列包含SEQ ID NO:14,LCDR2序列包含SEQ ID NO:20,并且LCDR3序列包含SEQ ID NO:24。编号实施方案46包括如编号实施方案44所述的抗tau抗体,其中所述HCDR1序列包含SEQ ID NO:2,HCDR2序列包含SEQ ID NO:7,HCDR3序列包含SEQ ID NO:11,LCDR1序列包含SEQ ID NO:15,LCDR2序列包含SEQ ID NO:21,并且LCDR3序列包含SEQ ID NO:25。编号实施方案47包括如编号实施方案44所述的抗tau抗体,其中所述HCDR1序列包含SEQ ID NO:2,HCDR2序列包含SEQ ID NO:7,HCDR3序列包含SEQ ID NO:11,LCDR1序列包含SEQ ID NO:16,LCDR2序列包含SEQ ID NO:22,并且LCDR3序列包含SEQ ID NO:26。编号实施方案48包括如编号实施方案44所述的抗tau抗体,其中所述HCDR1序列包含SEQ ID NO:3,HCDR2序列包含SEQ ID NO:8,HCDR3序列包含SEQ ID NO:10,LCDR1序列包含SEQ ID NO:17,LCDR2序列包含SEQ ID NO:20,并且LCDR3序列包含SEQ ID NO:27。编号实施方案49包括如编号实施方案44所述的抗tau抗体,其中所述HCDR1序列包含SEQ ID NO:4,HCDR2序列包含SEQ ID NO:7,HCDR3序列包含SEQ ID NO:12,LCDR1序列包含SEQ ID NO:18,LCDR2序列包含SEQ ID NO:23,并且LCDR3序列包含SEQ ID NO:28。编号实施方案50包括如编号实施方案44所述的抗tau抗体,其中所述HCDR1序列包含SEQ ID NO:5,HCDR2序列包含SEQ ID NO:9,HCDR3序列包含SEQ ID NO:13,LCDR1序列包含SEQ ID NO:19,LCDR2序列包含SEQ ID NO:21,并且LCDR3序列包含SEQ ID NO:29。编号实施方案51包括如编号实施方案44所述的抗tau抗体,其中所述VH结构域与选自SEQ ID NO:30-34的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%序列同一性。编号实施方案52包括如编号实施方案44所述的抗tau抗体,其中所述VL结构域与选自SEQ ID NO:35-40的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%序列同一性。

[0196] 编号实施方案53包括如编号实施方案44-52所述的抗tau抗体,其中所述抗tau抗体是嵌合抗体或其抗原结合片段。编号实施方案54包括如编号实施方案44-53所述的抗tau抗体,其中所述抗tau抗体包括IgG-scFv、纳米抗体、BiTE、双链抗体、DART、TandAb、scDiabody、scDiabody-CH3、三体、微型抗体、微抗体、TriBi微抗体、scFv-CH3KIH、Fab-scFv-Fc KIH、Fab-scFv、scFv-CH-CL-scFv、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、F(ab')<sub>3</sub>、F(ab')<sub>2</sub>-scFv<sub>2</sub>、scFv、scFv-KIH、Fab-scFv-Fc、四价HCAb、scDiabody-Fc、双链抗体-Fc、串联scFv-Fc或内抗体。编号实施方案55包括如编号实施方案44-54所述的抗tau抗体,其中所述抗tau抗体是IgG1抗体。编号实施方案56包括如编号实施方案44-55所述的抗tau抗体,其中所述抗tau抗体是IgG2抗体。编号实施方案57包括如编号实施方案44-56所述的抗tau抗体,其中所述抗tau抗体是IgG4抗体。编号实施方案58包括如编号实施方案44-57所述的抗tau抗体,其中所述轻链是κ链。编号实施方案59包括如编号实施方案44-58所述的抗tau抗体,其中所述抗tau抗体对于人tau具有约100pM至约3nM的结合亲和力。编号实施方案60包括如编号实施方案44-59所述的抗tau抗体,其中所述抗tau抗体包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸与选自SEQ ID NO:52-56的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%序列同一性。编号实施方

案61包括如编号实施方案44-60所述的抗tau抗体,其中所述抗tau抗体包含由核酸编码的VL结构域,所述核酸与选自SEQ ID NO:57-62的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%序列同一性。编号实施方案62包括如编号实施方案44-61所述的抗tau抗体,其中所述抗tau抗体包含由与选自SEQ ID NO:52-56的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%序列同一性的核酸编码的VH结构域和由与选自SEQ ID NO:57-62的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%序列同一性的核酸编码的VL结构域。编号实施方案63包括如编号实施方案44-62所述的抗tau抗体,其中所述抗tau抗体包含由核酸编码的VH结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:52-56相同的序列。编号实施方案64包括如编号实施方案44-63所述的抗tau抗体,其中所述抗tau抗体包含由核酸编码的VL结构域,所述核酸包含与SEQ ID NO:57-62相同的序列。编号实施方案65包括如编号实施方案44-64所述的抗tau抗体,其中所述抗tau抗体包含由包含与SEQ ID NO:52-56相同的序列的核酸编码的VH结构域和由包含与SEQ ID NO:57-62相同的序列的核酸编码的VL结构域。

#### [0197] 实施例

[0198] 给出以下实施例是出于说明本发明的各种实施方案的目的,并不意味着以任何方式限制本发明。本发明实施例连同本文所述的方法目前代表优选的实施方案,是示例性的,并且不意图作为对本发明范围的限制。本领域技术人员将会想到包含在如权利要求的范围所限定的本发明精神内的其中的变化和其他用途。

#### [0199] 实施例1: Tau抗体筛选

[0200] 根据制造商的说明书,在Simoa®珠测定中使用2步或3步方案测定来测定检测磷酸化Tau的Tau抗体。参见图1。

[0201] 所测试的抗体是抗体1、抗体2、抗体3、抗体4、抗体5和抗体6。捕获结果可以见于图2A-2D。图2A是来自2步方案测定的数据,其中所有捕获抗体都针对Tau-12检测器(检测N末端的Tau)进行测试。数据表明所有捕获都具有类似的结果,在抗体6的情况下看到改善的灵敏度。图2B是来自2步方案测定的数据,其中所有捕获抗体都针对HT7-BT2检测器(检测中结构域区域的Tau)进行测试。使用了两种生物素化抗体。数据显示与Tau-12检测器相比,背景增加了约10倍。在1000pg/mL下未检测到任何捕获的信号。图2C是来自3步方案测定的数据,其中所有捕获抗体都针对Tau-12检测器进行测试。数据表明与2步方案相比,灵敏度降低,并且在抗体6的情况下看到改善的灵敏度。图2D是来自3步方案测定的数据,其中所有捕获抗体都针对HT7-BT2检测器进行测试。使用了两种生物素化抗体。数据显示与Tau-12检测器相比,背景增加了约10倍。基于所述结果,对2步方案的灵敏度进行进一步优化。

#### [0202] 实施例2. Tau抗体的药代动力学

[0203] 测试抗体的药代动力学谱。

[0204] 抗体的抗原信息见于表10。

[0205] 表10.

描述	抗原名称	SEQ ID NO:	序列
[0206] pT217a	WZN-1A	74	RSRTPSLP(pT)PPTREPKC
pT217b	WZN-1B	75	TPSLP(pT)PPTREPKKVAC
T217	WZN-1C	76	RSRTPSLPTPPTREPKKVAC
pT212	WZN-1D	77	RSR(pT)PSLPTPPTREPKC
pS214	WZN-1E	78	RSRTP(pS)LPTPPTREPKC
pT220	WZN-1F	79	RSRTPSLPTPP(pT)REPKKVAC
pT231	WZN-1G	80	KVAVVR(pT)PPKSPSSAC
T231	WZN-1H	81	KVAVVRTPPKSPSSAC

[0207] 生成抗体并进行纯化。使用标准间接ELISA方案测定抗体。简而言之,将对应于SEQ ID NO:74-81的肽抗原在PBS中稀释至1 $\mu$ g/ml,并铺板到Greiner Bio One Microlon 96孔板上。肽抗原由制造商Abcam产生。WZN-1A和WZN-1B充当靶标。WZN-1C、WZN-1D、WZN-1E、WZN-1F、WZN-1G和WZN-1H充当阴性对照。在肽抗原序列中,磷酸化残基通过(pT)指示磷酸化苏氨酸或通过(pS)指示磷酸化丝氨酸。在用在pH 7.4的PBS中的1% BSA封闭之后,将抗体以1 $\mu$ g/ml的初始浓度连续稀释1至4。在温育之后,用1X TBST洗去未结合的抗体,并且根据制造商的说明书应用HRP标记的山羊抗兔第二抗体。随后,用1X TBST洗去未结合的第二抗体,并且在室温下应用3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)5分钟,并在650nm处读取板。数据见于图3。图3示出了不同肽浓度的不同单克隆抗体的筛选数据。

[0208] 实施例3.用于免疫组织化学的Tau抗体

[0209] 在免疫组织化学测定中测试本文所述的Tau抗体。

[0210] 简而言之,使用一系列浓度(0.01-3.00 $\mu$ g/ml)优化所有抗体并使用Leica Bond RX自动IHC平台进行染色:在100 $^{\circ}$ C下进行ER1抗原修复(柠檬酸钠,pH 6)20min;第一抗体在RT下15分钟;在室温下进行IVD级Leica Polymer Refine HRP检测8分钟;DAB发色团在室温下10分钟,并且最后在室温下进行苏木精复染5分钟。通过碱性IHC染色的抗体在碱性磷酸酶(AP)处理(200U/ml,37 $^{\circ}$ C,持续60分钟)后继续进行IHC染色。还采用了仅媒介物对照(不含AP的缓冲液)。阳性抗原对照组织是FFPE正常人大脑皮层和来自阿尔茨海默病患者的大脑皮层。阴性抗原对照组织是FFPE正常人肝脏、骨骼肌和心肌。将所有组织整理成组织微阵列,以简化IHC染色过程。采用阴性试剂(仅检测系统)对照并显示为阴性。与测试抗体一起染色的基准抗体是针对Tau的兔单克隆[EPR22524-95](ab254256,Abcam plc)和针对Tau(磷酸S214)的兔单克隆[EPR1884(2)](ab170892,Abcam plc)。

[0211] 基准抗体证明抗体在阴性对照组织中表现出阴性染色并且在阳性对照组织中表现出阳性染色(数据未示出)。Tau抗体的数据见于图4A-4G(抗体6)、图5A-5G(抗体5)和图6A-6G(抗体2)。抗体5和抗体6显示与基准抗体类似的数据,即在阴性对照组织中观察到阴性染色,所述阴性对照组织包括正常心脏、正常肝脏和正常骨骼肌以及正常大脑皮层,并且在阳性对照组织中观察到阳性染色,所述阳性对照组织包括阿尔茨海默病大脑皮层。抗体

1-4没有表现出与基准抗体类似的数据。

[0212] 实施例4. 使用Tau抗体检测Tau肽

[0213] 在ELISA测定中测试本文所述的检测磷酸化Tau的Tau抗体。首先通过间接ELISA测试Tau抗体的pTau 217反应性。图7展示了描绘所使用的间接ELISA测定格式的图。简而言之,将链霉亲和素珠与板结合,并且在允许生物素-链霉亲和素结合的条件下将生物素化的肽添加到板上。生物素化肽是一种合成肽,其包含一部分Tau并在位置217处具有磷酸化苏氨酸残基(pT217)。这是靶肽。在通过生物素-链霉亲和素复合物的形成将合成肽与板结合之后,在允许抗体-靶肽结合的条件下将Tau抗体添加到板上。在结合之后,洗涤板以去除任何未结合的抗体,然后向板添加针对衍生Tau抗体的物种的第二抗体或示踪抗体(与过氧化物酶缀合的山羊抗小鼠抗体或与过氧化物酶缀合的驴抗兔抗体)。在结合之后,洗涤板以去除任何未结合的示踪抗体,接下来向板添加TMB ELISA过氧化物酶发色底物(3,3',5,5'-四甲基联苯胺)以在间接ELISA实验中使抗体反应性可视化。使用ELISA微板读取器对抗体样品结合进行定量。

[0214] 如图7所示,使用这种间接ELISA技术测试了五种抗体检测磷酸化Tau的能力。IBA493 mAb对应于能够与在苏氨酸残基217处磷酸化的Tau(pTau 217)结合的兔抗Tau抗体(Eli Lilly and Company)。PT3对应于小鼠抗磷酸化(T212/T217)Tau选择性抗体(Janssen Biotech Inc.)。30H10L2对应于本文所述的抗体2。71H1L2对应于本文所述的抗体6。62H10L7对应于本文所述的抗体5。在两个单独的ELISA仪器中,以以下浓度测定所有五种抗体与pTau 217的反应性: $10^{-2}$ 、 $10^{-1}$ 、 $10^0$ 、 $10^1$ 、 $10^2$ 、 $10^3$ 和 $10^4$ ng/mL/板。如可以在Bio-pt655(磷酸化T217)和Bio-pt660(磷酸化T217)图中所见,IBA493 mAb和PT3均表现出对pTau 217的稳健的浓度依赖性水平的反应性。抗体2对pTau 217表现出更适度的浓度依赖性水平的反应性,在 $10^4$ ng/mL/板下揭示。抗体5和抗体6在这些测定中没有表现出对pTau217的反应性。图7中显示针对磷酸酶处理的pTau使用五种测试抗体的此ELISA测定的结果的图证明了抗体IBA493 mAb、PT3和抗体2在检测磷酸化Tau方面的特异性。

[0215] 在基于Simoa®的测定中测试本文所述的检测磷酸化Tau的Tau抗体。图8-24展示了Simoa®测定的结果,所述测定被设计来对本文所述的抗体的Tau反应性进行灵敏度测试。在一些方面,与间接ELISA测定中检测相同分析物相比,基于Simoa®的测定可以大约1000X更大的灵敏度检测给定分析物。基于Simoa®的测定的这种升高的灵敏度允许开发和使用先前使用传统测定(诸如间接ELISA)无法生成可检测信号的生物标志物。与常规免疫测定(诸如间接ELISA)相比,基于Simoa®的测定的灵敏度升高是由于以下事实:Simoa®方法能够检测单个靶分子,而传统免疫测定通常需要大的反应体积和数百万个荧光团,或数百万个抗体缀合酶与产色底物反应,然后才可以检测光信号。对于基于Simoa®的测定,平均酶/珠(AEB)代表原始信号输出。

[0216] 在图8中,在基于Simoa®的测定中使用如本文所述的能够检测pTau 217的抗体2,以检测分析物水平/来源于个体的血浆样品。通过Simoa®确定每个样品的信噪(S/N)比并绘制在图中。从个体中取120个血浆样品并进行测定。绘制的S/N比指示,除一个样品外,所有测试样品都产生了预期浓度范围内的信号。当血浆样品以1:3稀释,然后再次测定

时,120个样品中只有3个产生的结果低于空白对照的测量值,并且只有5个样品显示S/N 1.5的测量值,这被确定为检测限值 (LOD)。在图8中,对于所测定的120个血浆样品中的每一个,进行计算以确定每个样品的变异系数 (CV%),并且将结果针对测量的浓度进行作图。120个样品中的10个样品产生大于20的CV%,并且根据此分析,确定估计的分析定量下限 (LLOQ) 为0.08pg/mL。此LLOQ值代表可以以可接受的精确性水平定量确定的分析物 (在T217处磷酸化的Tau) 的最低量。图8中的这些结果指示**Simoa®**方法使用抗体2检测在T217处磷酸化的Tau的灵敏度。

[0217] 在图9中,使用68个CSF样品和120个血浆样品 (使用抗体2将其分到4个板中并且使用ADx神经科学抗体ADx204将其分到4个板中),生成**Simoa®** pTau-217测定的校准曲线并作图 [AEB相对于log (CAL) pg/mL]。在另一个在单独仪器上进行的此测定的图 [AEB相对于log (CAL) pg/mL] 中,以对数标度绘制的AEB表明,在测量样品时,数据拟合可以实现准确的分析物定量计算。

[0218] 在图10中,使用抗体2,用**Simoa®** pTau-217测定测量38个配对CSF和EDTA血浆样品。此测定还被称为ALZpath Dx。对结果进行作图,并且用临床诊断 (非AD、不确定或AD) 来指示样品。这些结果及其统计分析指示,CSF与血浆pTau水平之间有很强的相关性,如使用抗体2的**Simoa®** pTau-217测定测量 (非AD与AD之间双尾T检验的R值为~0.7并且P值<0.0001)。

[0219] 在图11中,用**Simoa®** pTau-217测定 (使用抗体2) 和**Simoa®** pTau-181测定 (使用来自**Quanterix®** (Quanterix® Corp., 项目号103714) 的pTau-181抗体) 测量42个CSF样品并针对彼此进行绘图。这表明,使用抗体2的**Simoa®** pTau-217测定显示出与在CSF中检测到的AD相关分析物 (pTau-181) 的预期关系。统计分析指示双尾T检验的R值为~0.8并且P值<0.0001。

[0220] 在图12中,用**Simoa®** pTau-217测定 (使用抗体2) 和**Simoa®** pTau测定 (使用Innotest pTau-181抗体) 测量42个CSF样品并针对彼此进行绘图。这表明,使用抗体2的**Simoa®** pTau-217测定显示出与在CSF中检测到的AD相关分析物 (pTau) 的预期关系。统计分析指示双尾T检验的R值为~0.77并且P值<0.0001。

[0221] 在图13中,用**Simoa®** HD-X测定测量42个CSF样本,使用抗体2作为捕获抗体,使用ADx204抗体作为检测器,并且使用肽作为校准器。这表明,使用已知AD生物标志物的**Simoa®** 测定显示出预期的关系。统计分析指示双尾T检验的R值为~0.9并且P值<0.0001。

[0222] 在图14中,使用抗体2,用**Simoa®** pTau-217测定测量CSF样品和血浆样品并在单独图中进行作图。使用AD的临床诊断或没有AD诊断的对照作为每个样品的分类器。对作图结果的分析指示,对于CSF样品和血浆样品两者,来源于临床AD诊断的个体相对于对照的样品之间存在显著差异。CSF样品的曲线下面积 (AUC) 计算值为0.94,并且血浆样品为0.86。这些结果指示,使用抗体2的**Simoa®** pTau-217测定能够区分CSF和血浆中的AD病例。

[0223] 在图15中,4个具有高pTau水平的EDTA血浆样品充当质量对照 (标记为QC\_L1、QC\_

L2、QC\_M和QC\_H),使用抗体2,用Simoa® pTau-217测定在一式两份测试中进行测量并计算pTau水平。绘制来自重复测试的结果证明了使用抗体2的Simoa® pTau-217测定的精确性和再现性。

[0224] 在图16中,使用抗体2,用Simoa® pTau-217测定测量来自图15的对照样品和额外的测量样品并在两个单独实验中绘图以生成精确性谱。精确性谱是基于测量的样品浓度和4个QC样品的内部运行CV%。根据此实验,确定此测定中pTau-217的功能LL0Q为0.26pg/mL。

[0225] 在图17中,使用抗体2,在Simoa® pTau-217测定中评估并行性。并行性的确定也很重要,因为它显示信号是否是特异性的。并行性确定在稀释之后的标准曲线中,含有高内源性分析物浓度的实际样品在测定中是否提供相同程度的检测。这可以表示抗体对内源性分析物和标准或校准分析物的结合亲和力的差异。这可以确保重组标准物平行于内源性分析物的天然鉴定。在此实验中,从3X的稀释度开始,在5个步骤中用因子2稀释4个血浆样品,每个样品来自不同的供体,具有相对高浓度的检测的pTau-217和加标稀释缓冲液(样品5)。从稀释因子12X开始,所有4个血浆样品的浓度均降低至低于LL0D。在 $\log$ (测量的pg/mL)相对于 $\log$ [稀释因子(DF)]的图中,血浆测量值与尖峰测量值之间的关系表明,在各种稀释度下,检测呈线性。4个血浆样品中的3个被确定为落在可接受的并行性范围内,样品4正好落在可接收的范围之外。可接受的并行性范围 $<15\%$ 。这些结果表明,对血浆样品使用抗体2的Simoa® pTau-217测定在不同浓度下产生一致且精确的pTau-217水平计算,从而证明了其作为生物标志物测定的实用性。

[0226] 在图18-19中,使用抗体2的Simoa® pTau-217测定进行稀释线性,以证明尖峰浓度为约定量上限(UL0Q)的样品可以稀释至工作范围内的浓度,同时仍能产生可靠的测定结果。在图18中,对三个加标样品(s1、s2和s3)和校准样品进行测定,并将其绘制为 $\log$ (测量的pg/mL)相对于 $\log$ (DF),以确定稀释线性。在图19中,对三个加标样品(s1、s2和s3)和校准样品进行测定,并将其绘制为 $\log$ (测量的pg/mL)相对于 $\log$ (DF),以确定稀释线性,从s1、s2和s3中省略最高尖峰点,因为它处于50pg/mL的校准范围之外。

[0227] 在图20中,使用抗体2的Simoa® pTau-217测定用于评估从记忆临床队列中采集的样品。测量血浆样品并针对计算的pTau217浓度进行作图。使用AD的临床诊断为分类器。AUC计算为0.916,指示使用抗体2的Simoa® pTau-217测定成功将此队列中的AD+与AD-区分开。同样在图20中,对受试者操作特征(ROC)曲线进行绘图,以说明此二元分类器系统的诊断能力(AD+或AD-),因为分类器之间的判别阈值是不同的。

[0228] 在图21-22中,将使用抗体2的Simoa® pTau-217测定的临床性能与使用抗体P-tau181-Quanterix®的Simoa® pTau-181测定进行比较。在图21中,抗体2能够区分取自AD痴呆个体与对照的血浆样品(抗体2的P值为 $1.3e^{-12}$ )。在图22中,可商购获得的P-tau181-Quanterix® Simoa®测定(Quanterix® Corp.,项目号103714)也能够区分取自AD痴呆个体与对照的血浆样品(P值为 $9.6e^{-08}$ )。图21-22中数据的样品所来源于的个体的数据在图22中列出。

[0229] 在图23中,使用P-tau217抗体2和P-tau181-Quanterix®抗体(Quanterix®

Corp., 项目号103714) 生成Simoa®测定的精确性图。计算的LLOD分别为0.55pg/mL和0.24pg/mL。没有对浓度进行反计算, 并且因此也没有对LLOD值进行反计算。

[0230] 在图24中, 针对P-tau181-Quanterix®抗体(Quanterix® Corp., 项目号103714) 和P-tau217抗体2绘制ROC曲线。数据分析指示, 在将AD痴呆与对照区分开方面, 与使用P-tau181-Quanterix®抗体的Simoa®测定相比, P-tau217抗体2表现出更优异的灵敏度和特异性。针对血浆样品进行测试时, 此Simoa®方法中抗体2对AD痴呆的诊断准确性为92.5%。针对血浆样品进行测试时, 此Simoa®方法中抗体2对AD痴呆的诊断特异性为85%。

[0231] 在图25中, 描绘了指示各种蛋白质结构域的相对位置和苏氨酸残基的位置的Tau多肽的示意图, 其可以使用本文公开的方法测定磷酸化状态。指示了Tau的P2结构域内pT217的位置。pT181位于P1结构域内, 并且pT231位于P2与R1结构域之间的边界附近。

[0232] 在图26中, 使用间接ELISA测定各种Tau抗体, 并且对对于具有非磷酸化T217(Bio-pt654)的Tau片段和全长Tau(Tau441)的反应性程度进行作图。IBA493 mAB和PT3对于Bio-pt654和Tau441均展示出浓度依赖性反应性。本文所述的抗体2、5和6在此测定中对于Bio-pt654或Tau441均未展示出任何反应性, 从而证明了抗体2、5和6的pTau-217检测的精确性和特异性。

[0233] 在图27中, 使用间接ELISA测定各种Tau抗体, 并且对对于具有磷酸化T181(Bio-pt126)和磷酸化T231(Bio-pt146)的Tau片段的反应性程度进行作图。本文所述的IBA493 mAB和抗体2对于Bio-pt126展示出浓度依赖性反应性。IBA493 mAB是所测试的抗体中对于Bio-pt146展示出浓度依赖性反应性的唯一抗体。这表明基于每种抗体经由间接ELISA与哪些分析物相互作用, 本文所述的IBA493mAB、PT3和抗体2各自是可区分的。IBA493 mAB与pTau-217、非磷酸化T217、全长Tau、pTau-181和pTau-231相互作用。PT3与pTau-217、非磷酸化T217和全长Tau相互作用。抗体2与pTau-217和pTau-181相互作用。还显示IBA493 mAB与非磷酸化T217的相互作用明显小于PT3与非磷酸化T217的交互作用。

[0234] 在图28中, 描绘了使用抗体2检测特定Tau肽的捕获的测定的图。在此测定中, 抗体2与板结合, 并且在有利于形成特异性抗体-配体相互作用的条件下来自板的样品孔经受各种生物素化肽。然后洗涤样品以去除过量的未结合的生物素化肽。链霉亲和素珠与过氧化物酶缀合, 然后添加样品中, 允许生物素-链霉亲和素复合物在肽结合的抗体上形成。然后添加TMB<sub>还原</sub>底物, 并且使用ELISA板读取器测量样品的比色显影。对结果进行绘图, 在所测试的各种pTau-217、pTau-231和pTau-181肽中, Adx-pt655产生特定的剂量依赖性反应性。这些结果说明了抗体2对于pTau(即, 在苏氨酸217处磷酸化的Tau)的特定特征的特异性。在相同条件下使用相同的Tau肽通过间接ELISA测试的抗体5和抗体6对于所测试的Tau肽没有产生特定的剂量依赖性反应性。

[0235] 还在中尺度发现技术平台上评价对应于在此所述的抗体1、抗体2、抗体3、抗体4、抗体5和抗体5的各种pTau-217抗体, 作为直接涂覆到或涂覆到链霉亲和素涂覆板上的捕获抗体。此系统使用非放射性的电化学发光标记, 从而赋予与传统ELISA测定相比的显著优势。这些优势包括较低的背景信号、改善的灵敏度和动态检测范围。

[0236] 在图29中, 使用蛋白质印迹来评估各种抗体与来自AD患者和对照对象的脑裂解液

样品的结合。在所示的五个蛋白质印迹中,根据图29中所示的相同样品密钥加载样品。在泳道1和10中运行蛋白质梯。在泳道2中运行以0.05ug的量加载的磷酸酶处理的pTau。在泳道3中运行以0.05ug的量加载的全长Tau (Tau411)。泳道4-6含有来自不同对照对象的稀释因子为5的样品。泳道7-9含有来自不同AD对象的稀释因子为5的样品。结果指示,IBA394 mAb和PT3均与对照样品和AD样品中不同长度的Tau亚型结合并使其免疫沉淀,并且在AD样品中使显著更多的Tau免疫沉淀,同时与合成的全长Tau或磷酸酶处理的pTau没有显示相互作用。抗体2 (30H2L10) 与AD样品中不同长度的Tau亚型结合并使其免疫沉淀,但在来自对照个体的样品中没有使显著量的Tau免疫沉淀。抗体5和抗体6在此测定中没有产生可检测的蛋白质印迹信号。

[0237] 虽然本文已经示出并描述了本公开的优选实施方案,但对于本领域技术人员显而易见的是,此类实施方案仅以示例的方式提供。在不脱离本公开的情况下,本领域技术人员将会想到许多变化、改变和替换。应理解,在实践本公开时可以采用本文所述的本公开的实施方案的各种替代方案。旨在以所附权利要求书限定本公开的范围,并且由此涵盖这些权利要求范围内的方法和结构及其等同方案。

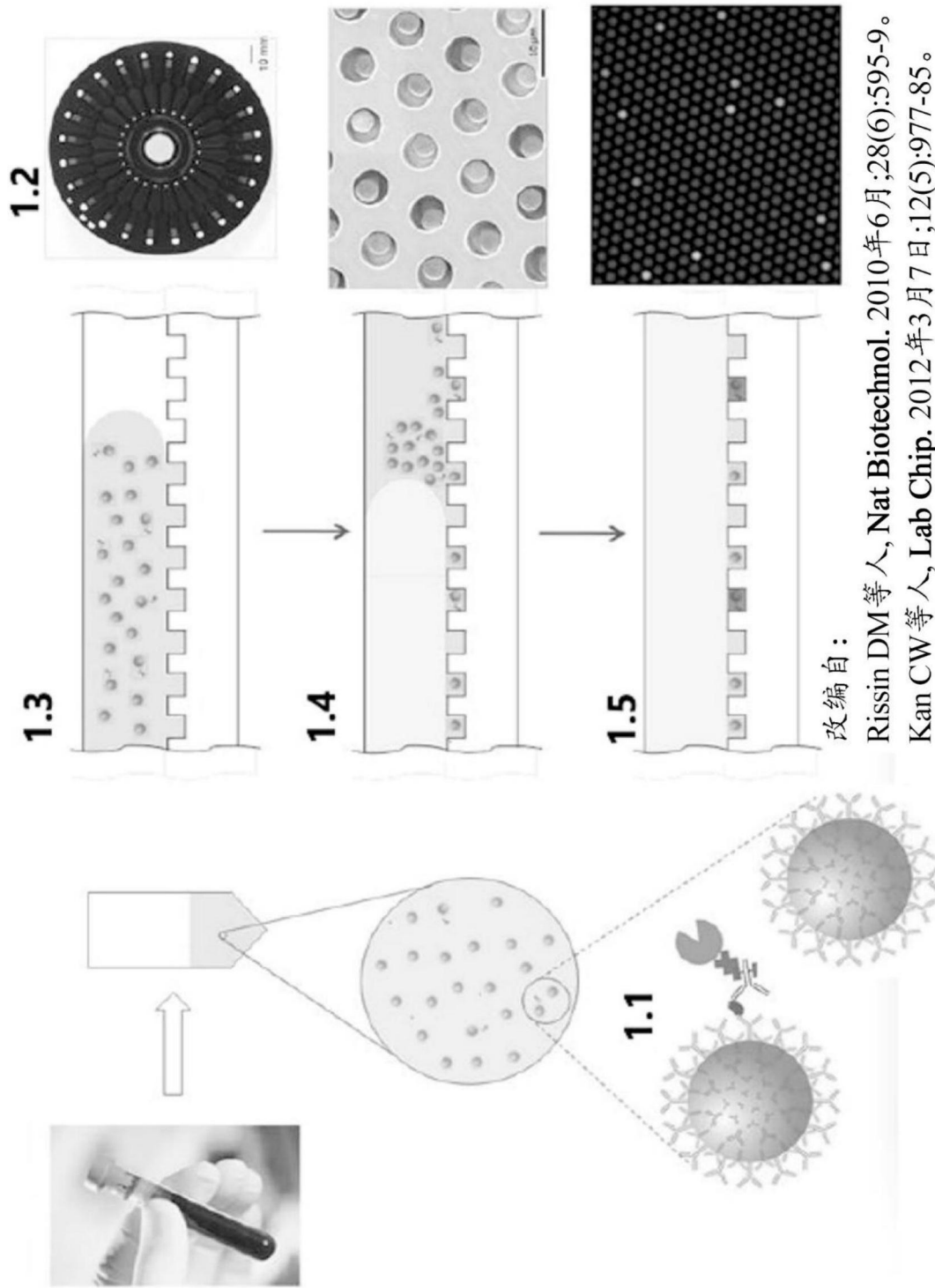


图1

捕获	pTau (pg/mL)	平均AEB	S/B	LOD (pg/mL)
H7L4	0	0.0059	-	6.8
	1	0.0051	0.9	
	10	0.0087	1.5	
	100	0.0357	6.0	
	1000	0.2782	47	
H3L12	0	0.0065	-	5.0
	1	0.0078	1.2	
	10	0.0092	1.4	
	100	0.0369	5.7	
	1000	0.2622	41	
H1L2	0	0.0034	-	2.6
	1	0.0036	1.1	
	10	0.0069	2.0	
	100	0.0326	9.5	
	1000	0.2832	83	

图2A

捕获	pTau (pg/mL)	平均AEB	S/B
H7L4	0	0.0491	-
	1	0.0487	1.0
	10	0.0433	0.9
	100	0.0436	0.9
	1000	0.0441	0.9
H3L12	0	0.0660	-
	1	0.0669	1.0
	10	0.0640	1.0
	100	0.0660	1.0
	1000	0.0595	0.9
H1L2	0	0.0364	-
	1	0.0344	0.9
	10	0.0318	0.9
	100	0.0302	0.8
	1000	0.0323	0.9

图2B

捕获	pTau (pg/mL)	平均AEB	S/B	LOD (pg/mL)
H7L4	0	0.0034	-	14.7
	1	0.0035	1.0	
	10	0.0045	1.3	
	100	0.0078	2.3	
	1000	0.0447	13	
H3L12	0	0.0056	-	88.1
	1	0.0052	0.9	
	10	0.0046	0.8	
	100	0.0106	1.9	
	1000	0.0474	8.4	
H1L2	0	0.0026	-	9.1
	1	0.0029	1.1	
	10	0.0036	1.4	
	100	0.0069	2.7	
	1000	0.0331	13	

图2C

捕获	pTau (pg/mL)	平均AEB	S/B
H7L4	0	0.0204	-
	1	0.0218	1.1
	10	0.0210	1.0
	100	0.0227	1.1
	1000	0.0247	1.2
H3L12	0	0.0348	-
	1	0.0356	1.0
	10	0.0352	1.0
	100	0.0366	1.1
	1000	0.0347	1.0
H1L2	0	0.0123	-
	1	0.0125	1.0
	10	0.0157	1.3
	100	0.0141	1.2
	1000	0.0157	1.3

图2D

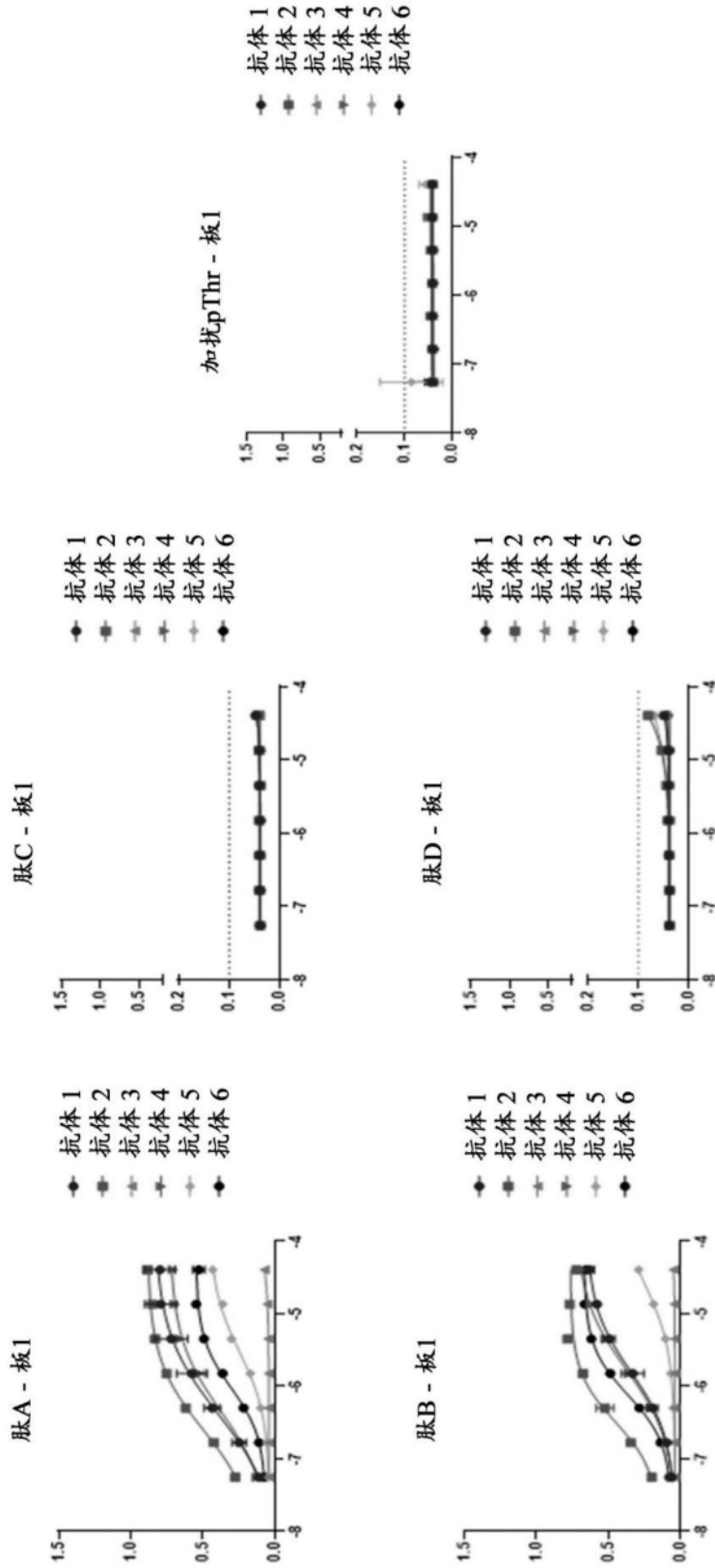
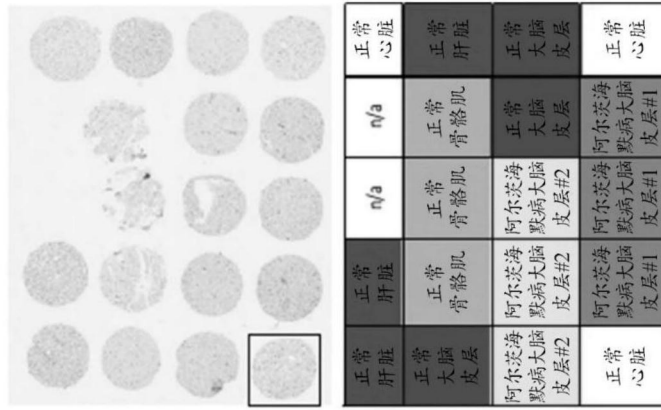
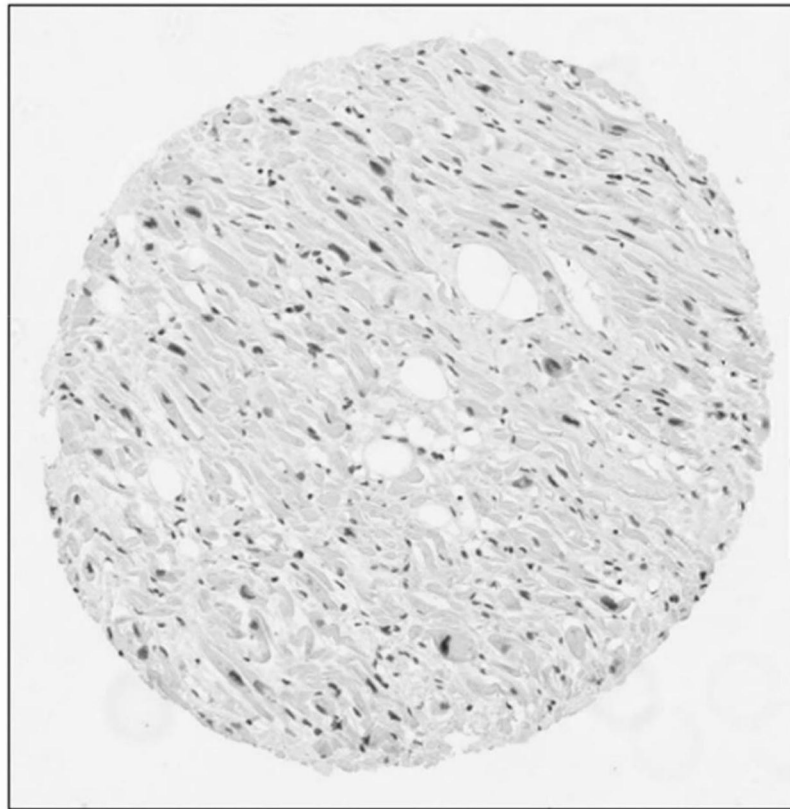


图3

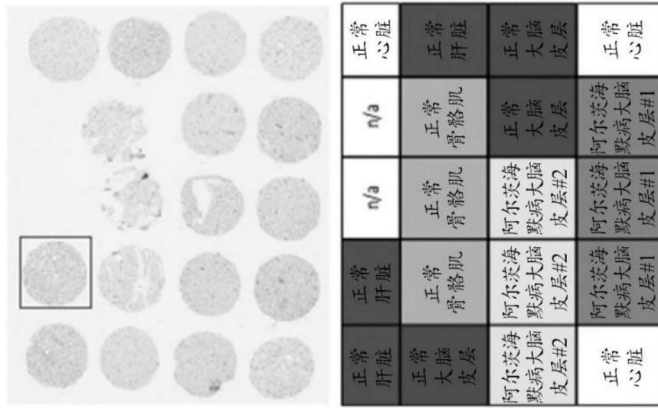


抗体6

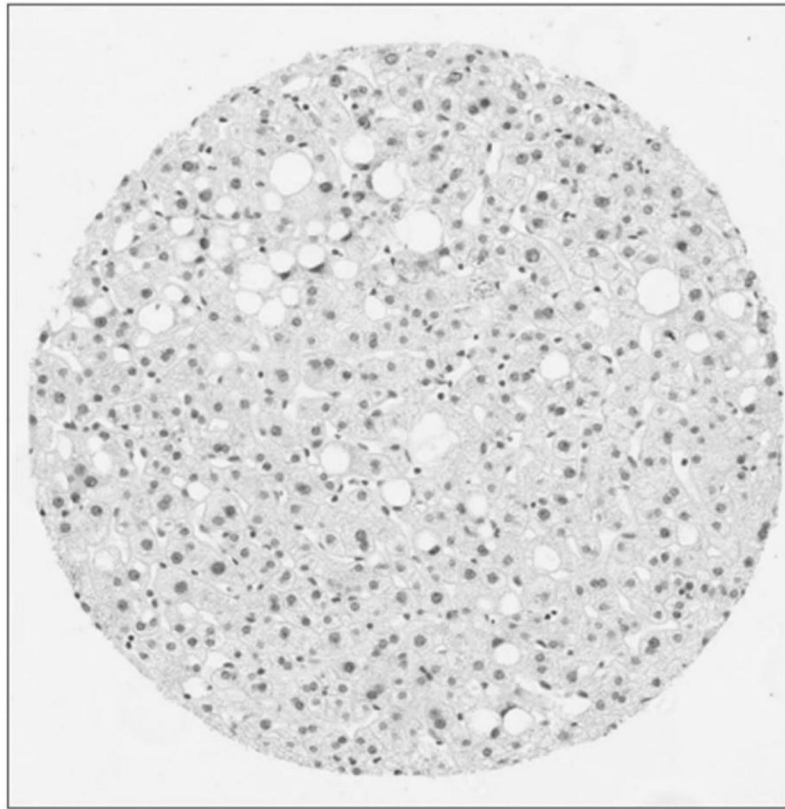


正常心脏：  
没有染色

图4A

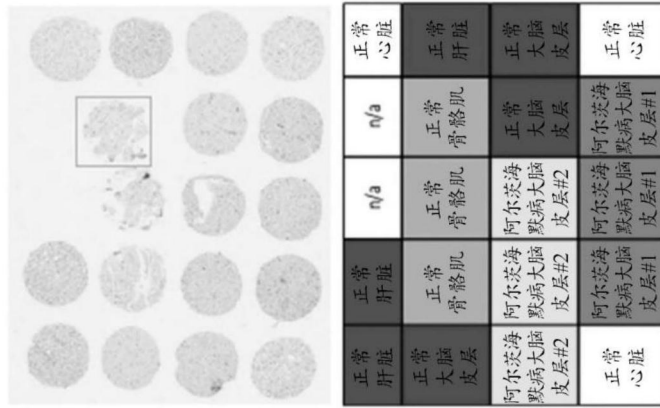


抗体6



正常肝脏：  
没有染色

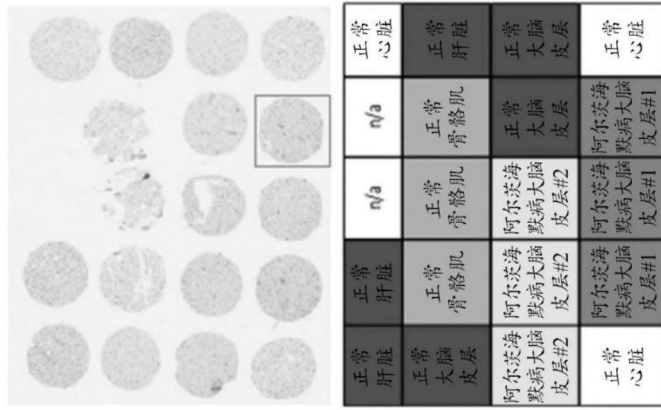
图4B



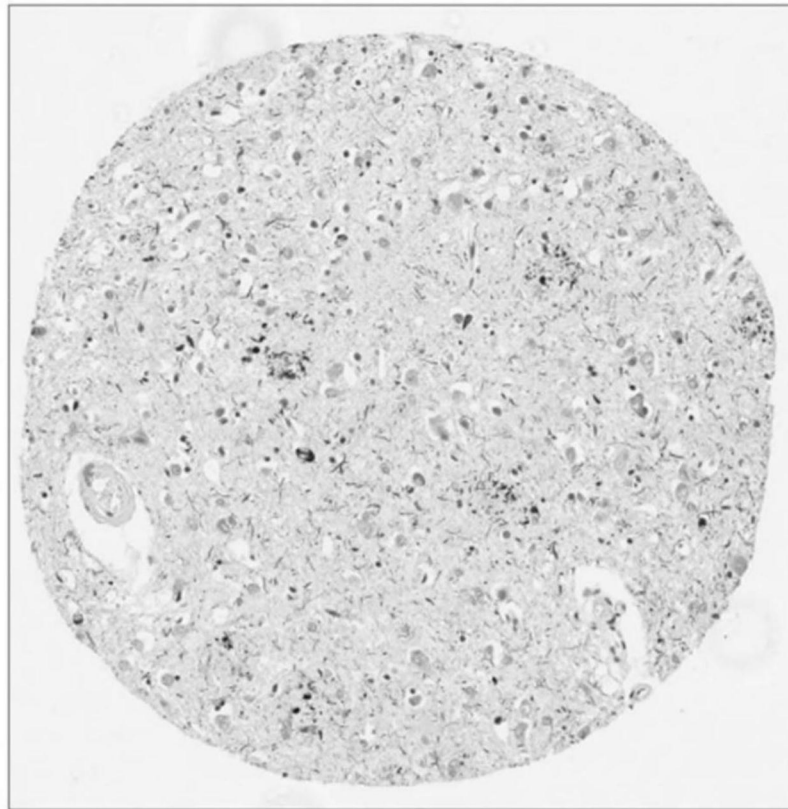
抗体6

正常骨骼肌：  
没有染色

图4C

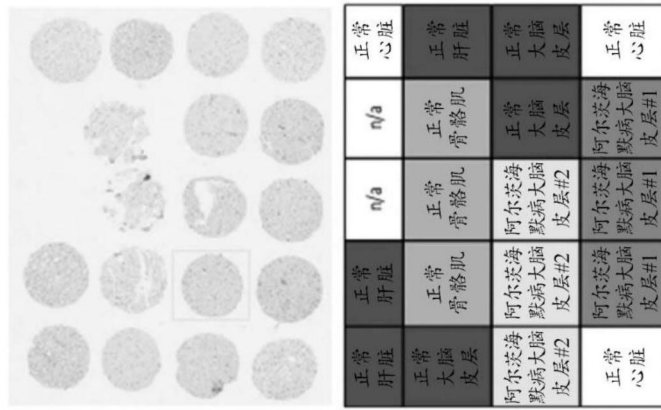


抗体6

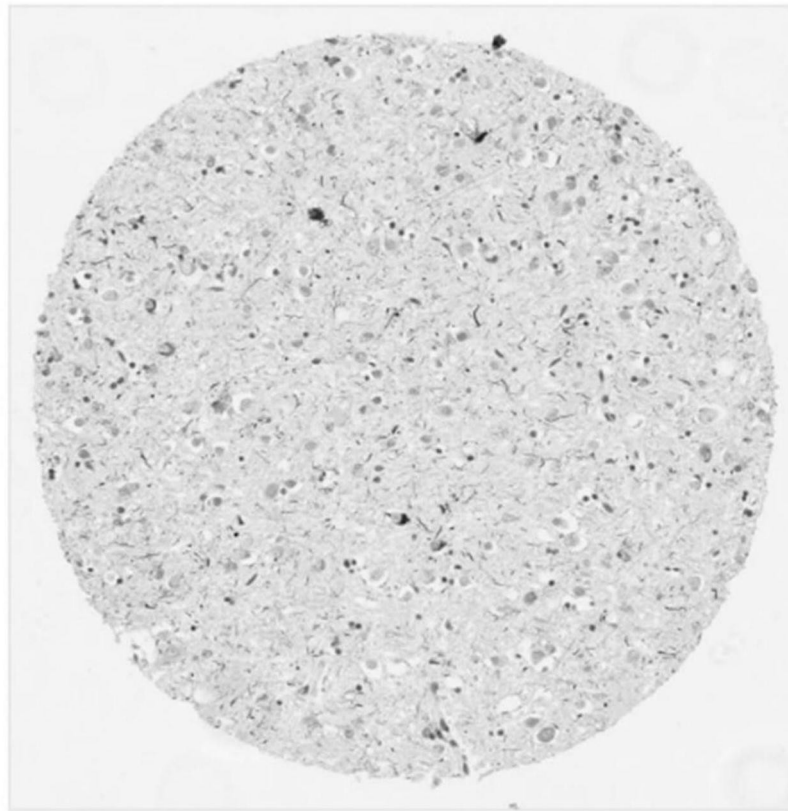


阿尔茨海默病  
大脑皮层#1

图4D

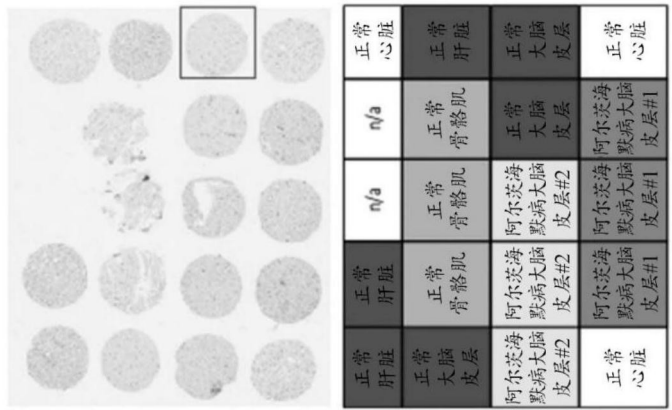


抗体6

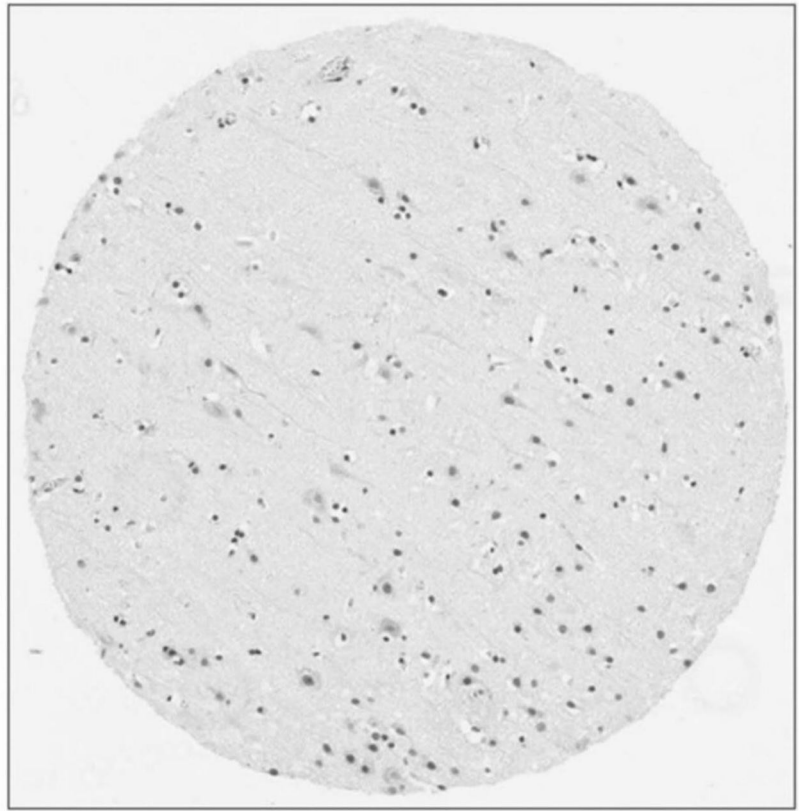


阿尔茨海默病  
大脑皮层#2

图4E



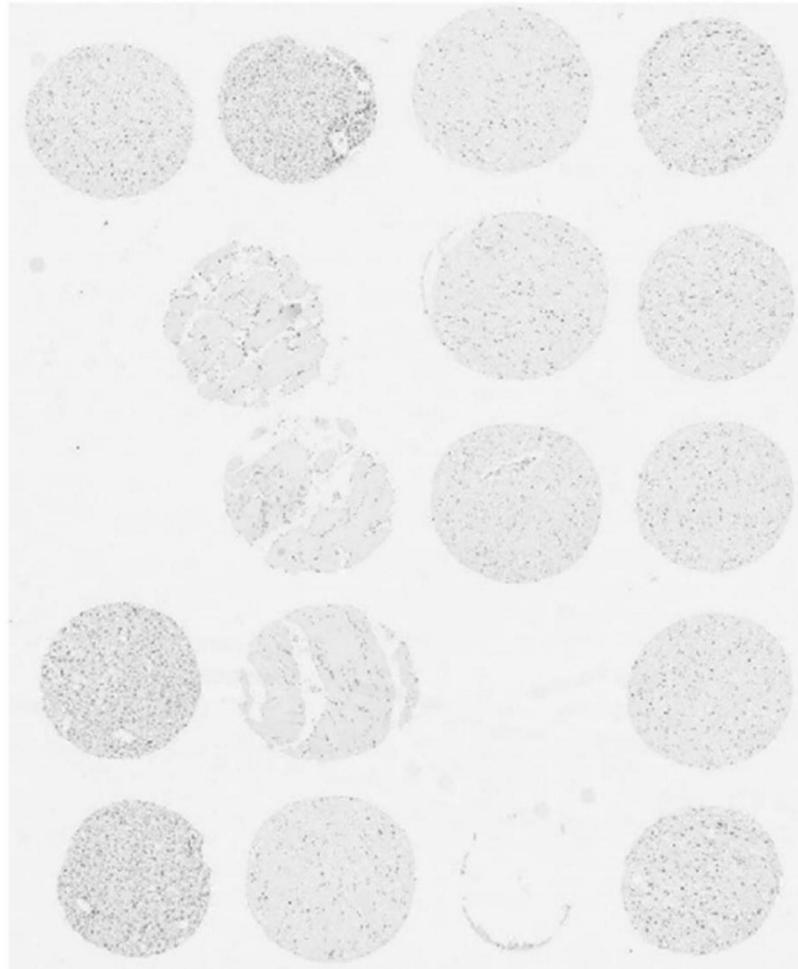
抗体6



正常  
大脑皮层

图4F

抗体6

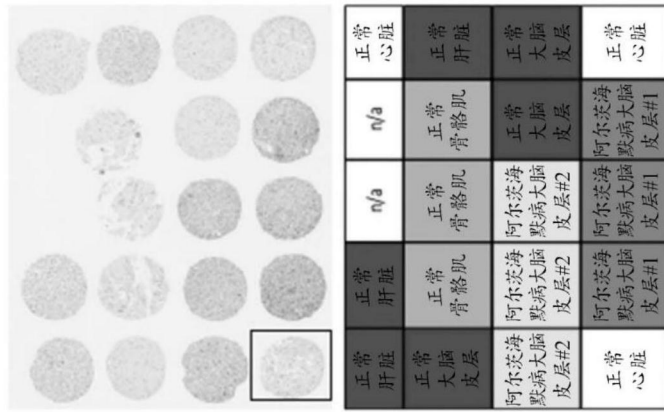


碱性磷酸酶  
处理

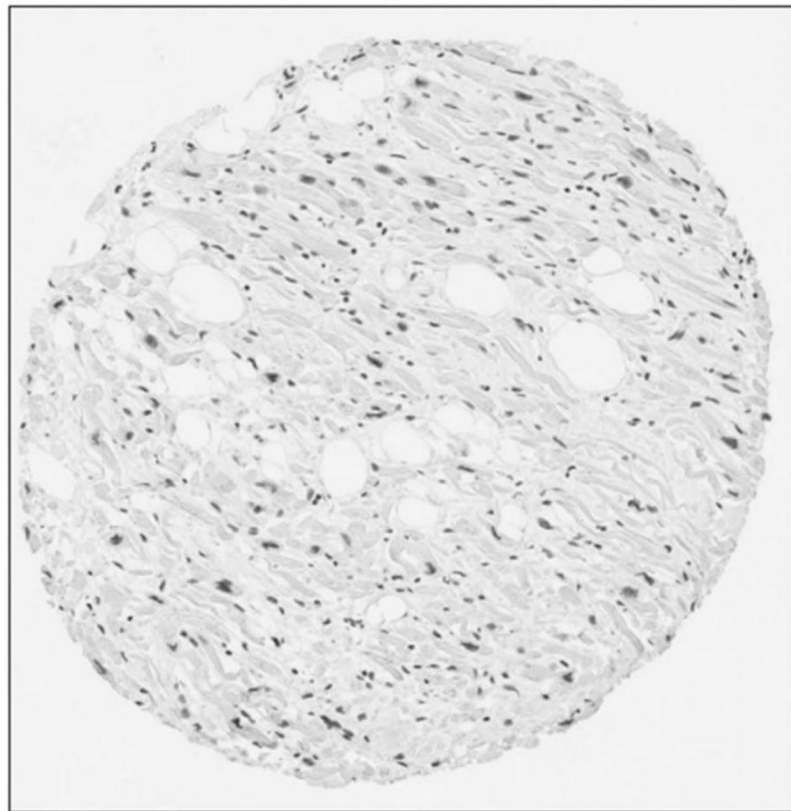
(200 U/ml,  
37°C,  
60分钟)

图4G

正常 肝脏	正常 肝脏	n/a	正常 心脏
正常 大脑 皮层	正常 骨骼肌	正常 骨骼肌	正常 肝脏
阿尔茨海 默病大脑 皮层#2	阿尔茨海 默病大脑 皮层#2	阿尔茨海 默病大脑 皮层#2	正常 大脑 皮层
正常 心脏	阿尔茨海 默病大脑 皮层#1	阿尔茨海 默病大脑 皮层#1	阿尔茨海 默病大脑 皮层#1



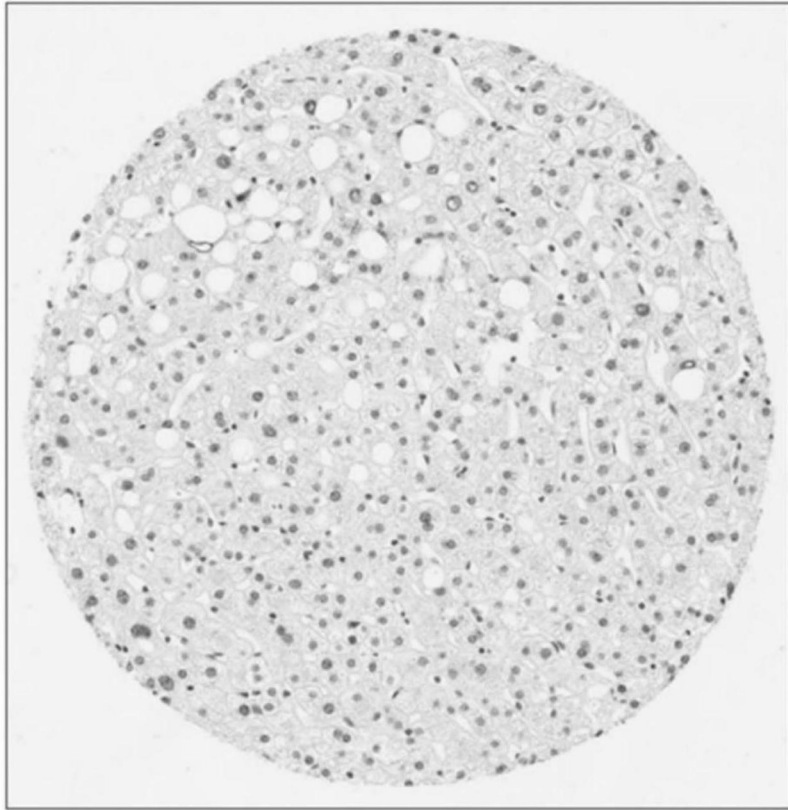
抗体5



正常心脏：  
没有染色

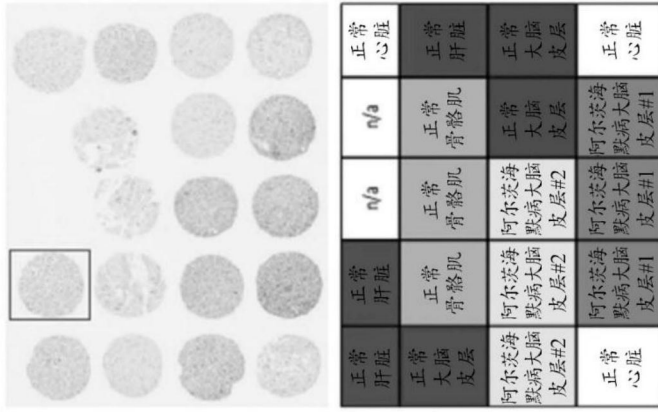
图5A

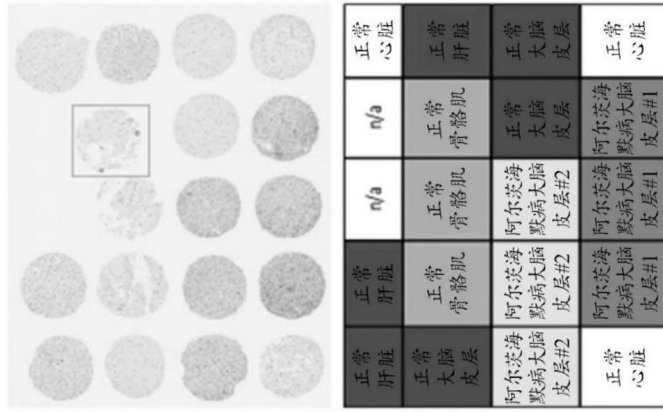
抗体5



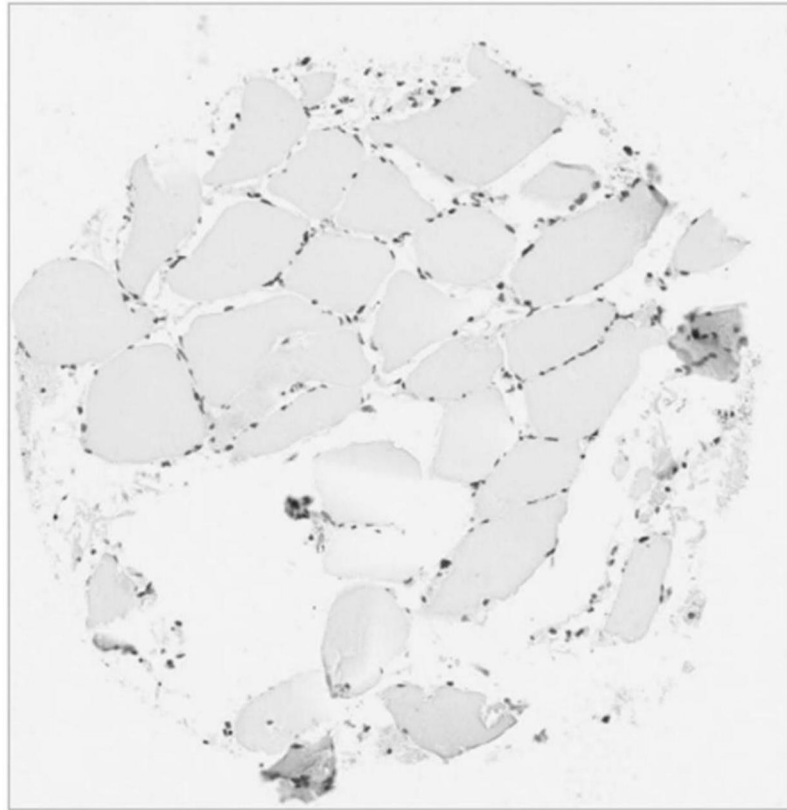
正常肝脏：  
没有染色

图5B



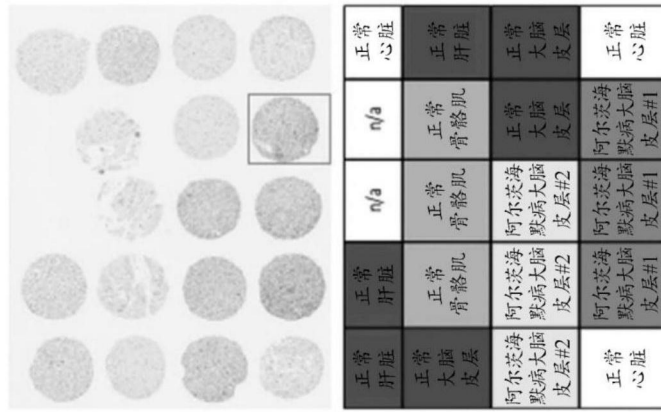


抗体5

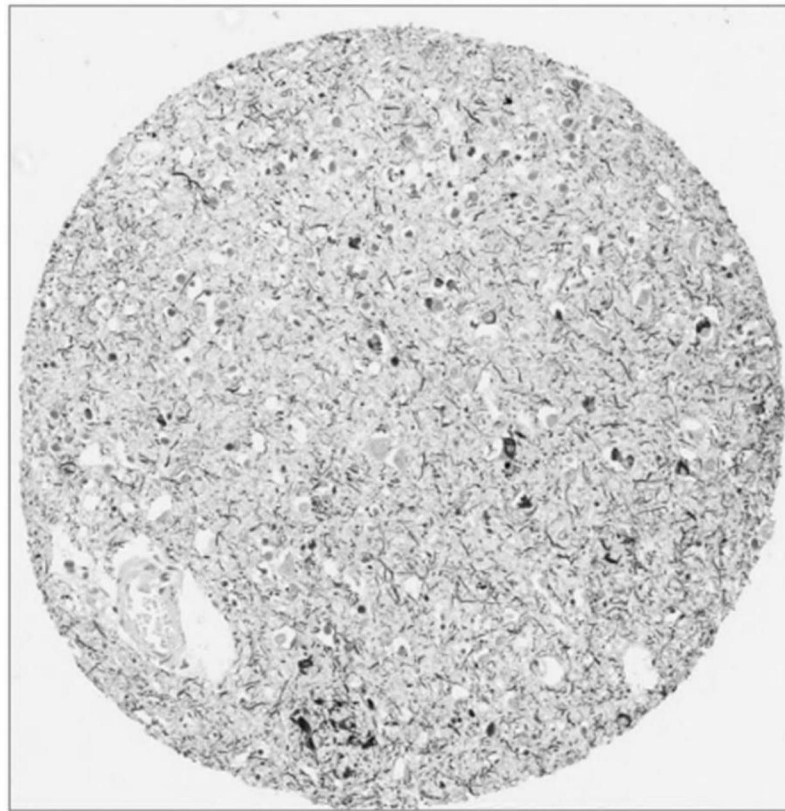


正常骨骼肌：  
没有染色

图5C

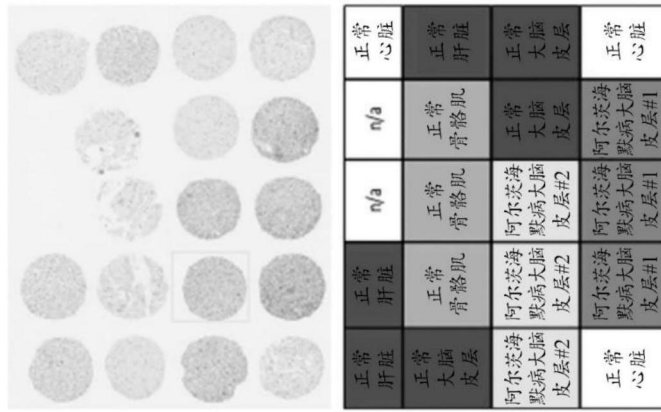


抗体5

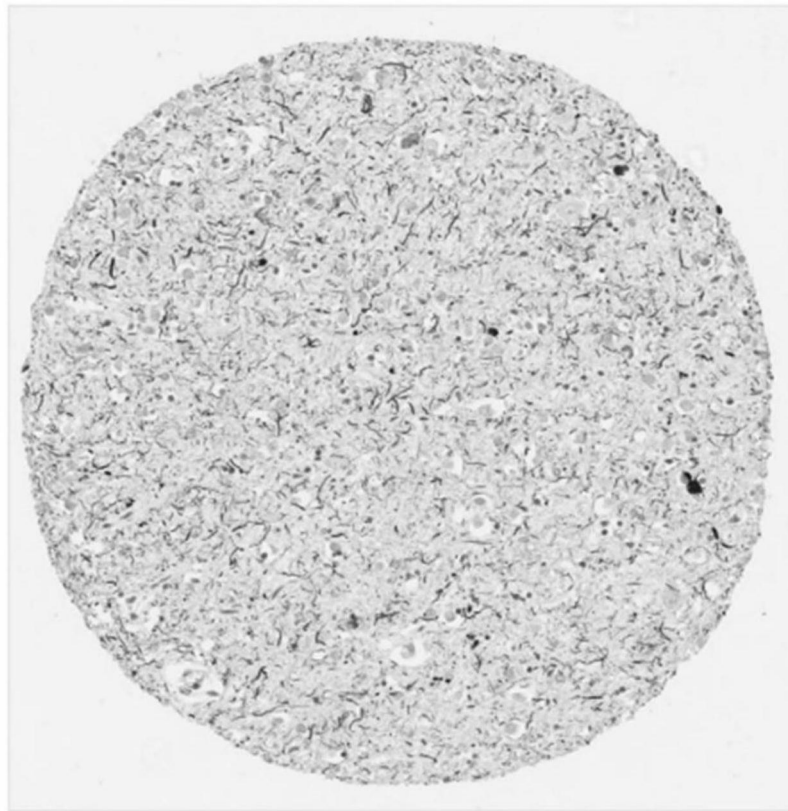


阿尔茨海默病  
大脑皮层#1

图5D

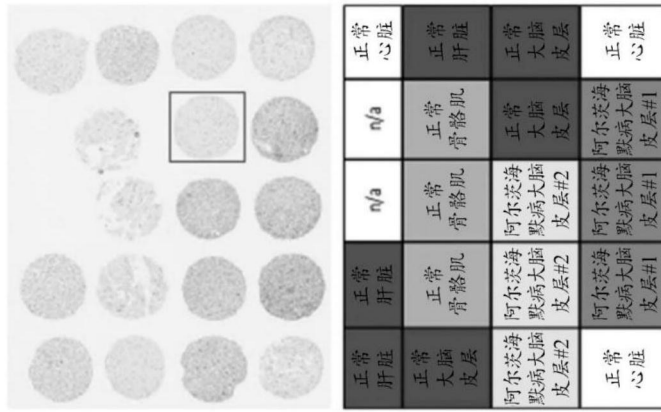


抗体5

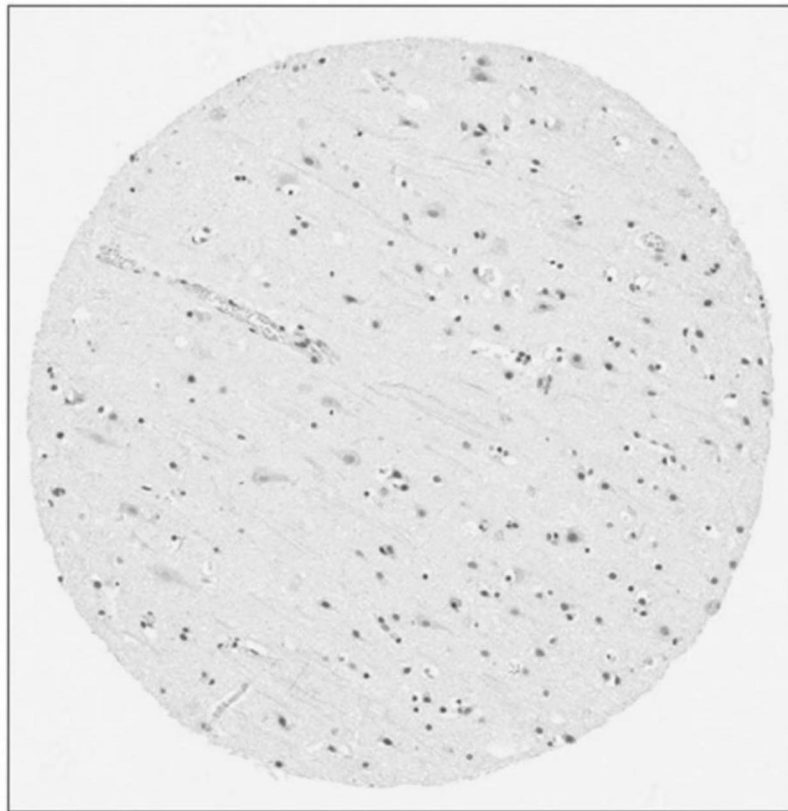


阿尔茨海默病  
大脑皮层#2

图5E



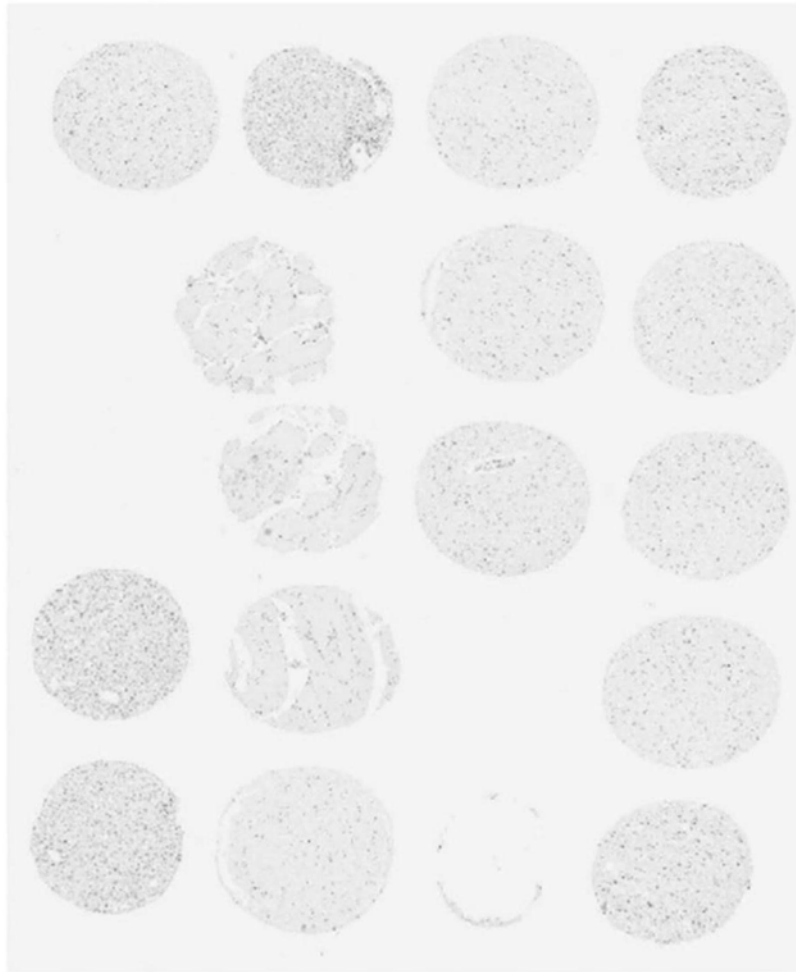
抗体5



正常  
大脑皮层

图5F

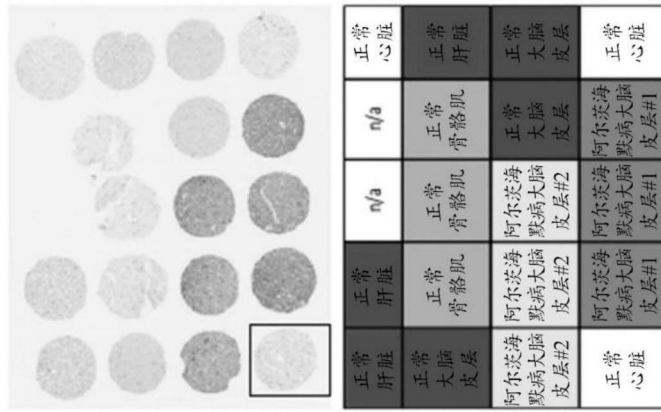
抗体5



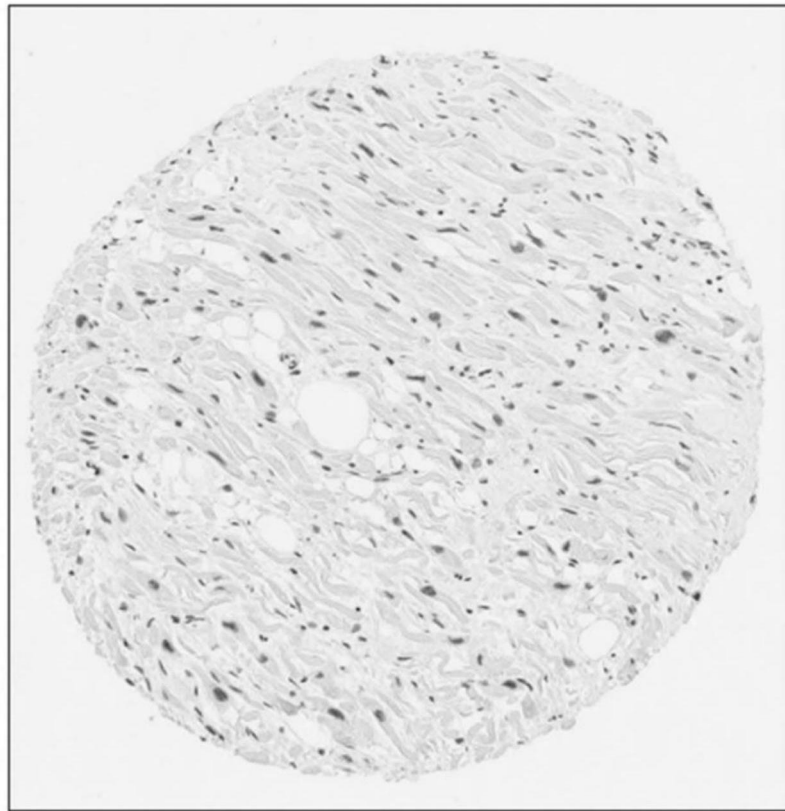
碱性磷酸酶  
处理  
(200 U/ml,  
37°C,  
60分钟)

正常 肝脏	正常 肝脏	n/a	n/a	正常 心脏
正常 大脑 皮层	正常 骨骼肌	正常 骨骼肌	正常 骨骼肌	正常 肝脏
阿尔茨海 默病大脑 皮层#2	阿尔茨海 默病大脑 皮层#2	阿尔茨海 默病大脑 皮层#2	阿尔茨海 默病大脑 皮层#1	正常 大脑 皮层
阿尔茨海 默病大脑 皮层#1	阿尔茨海 默病大脑 皮层#1	阿尔茨海 默病大脑 皮层#1	阿尔茨海 默病大脑 皮层#1	正常 心脏

图5G

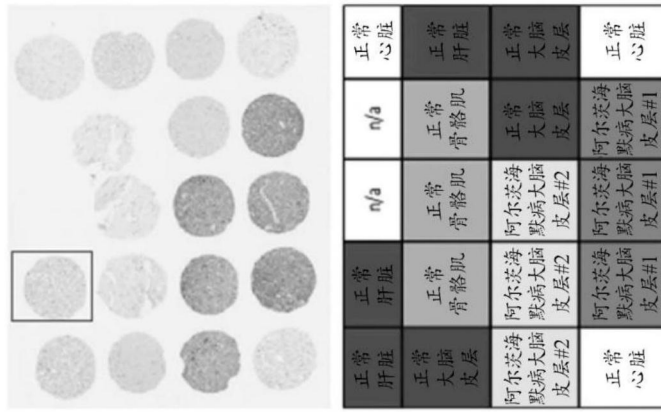


抗体2

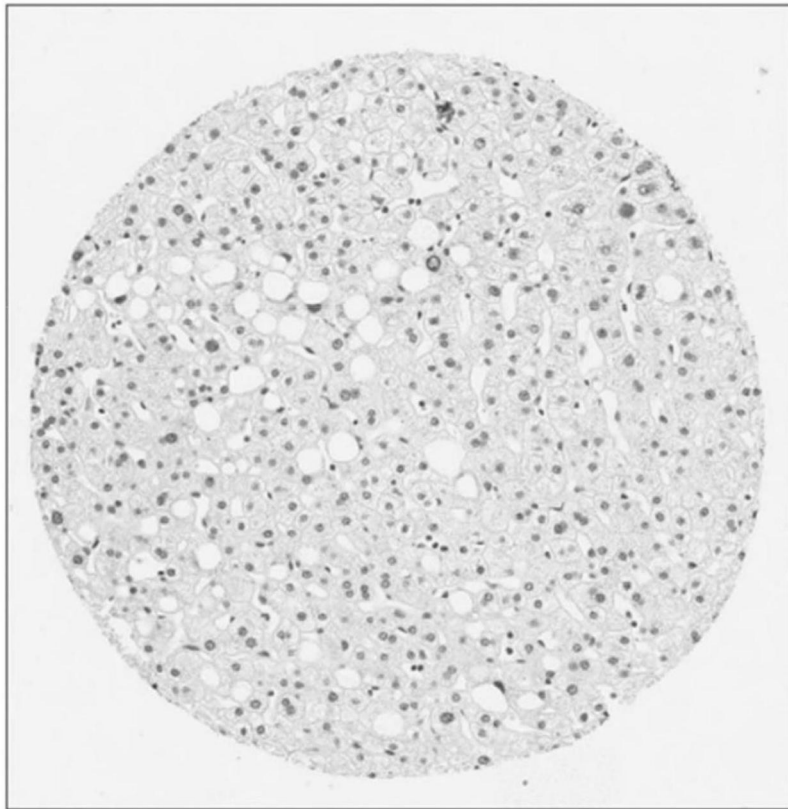


正常心脏：  
没有染色

图6A

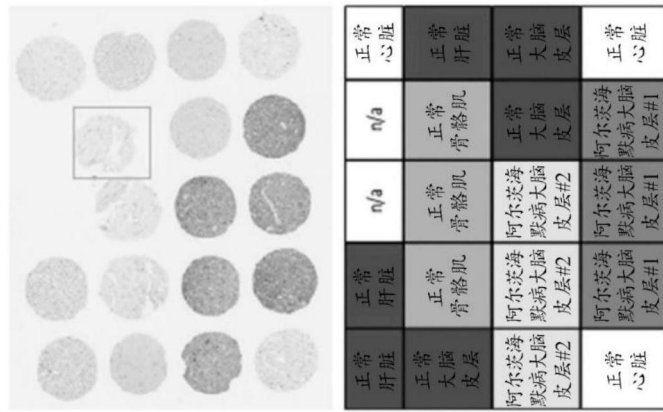


抗体2

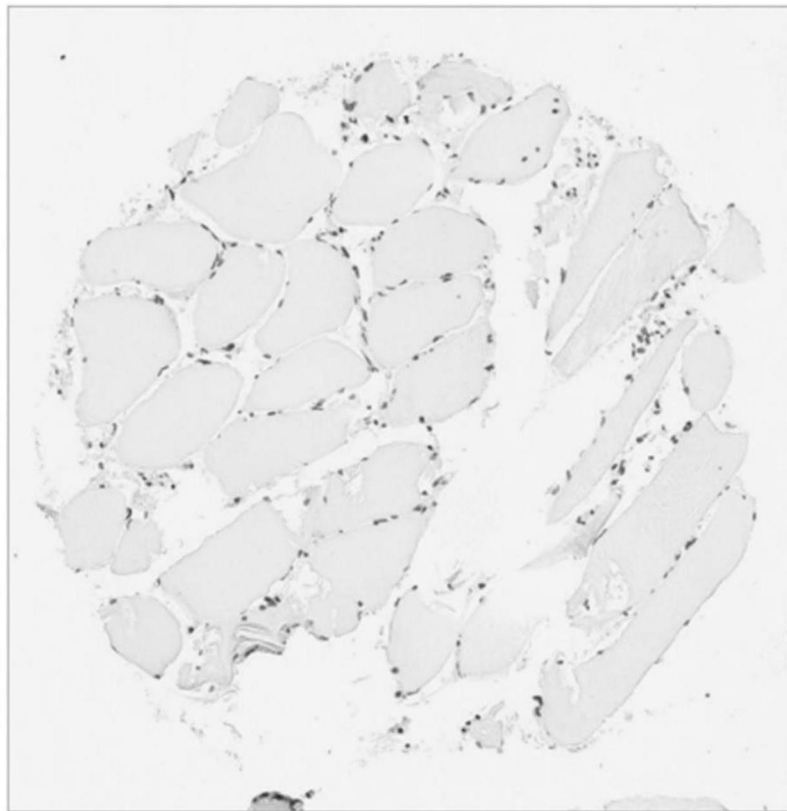


正常肝脏：  
没有染色

图6B

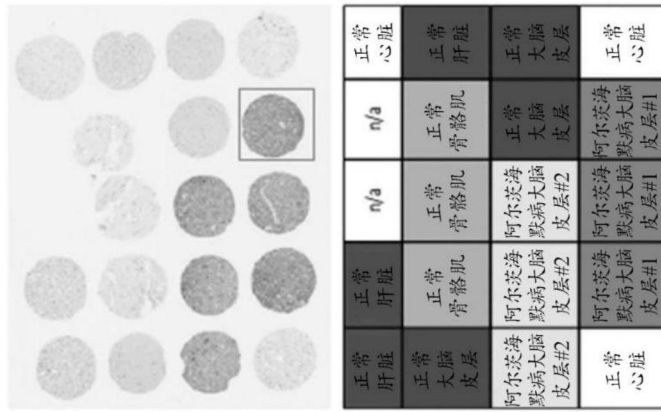


抗体2

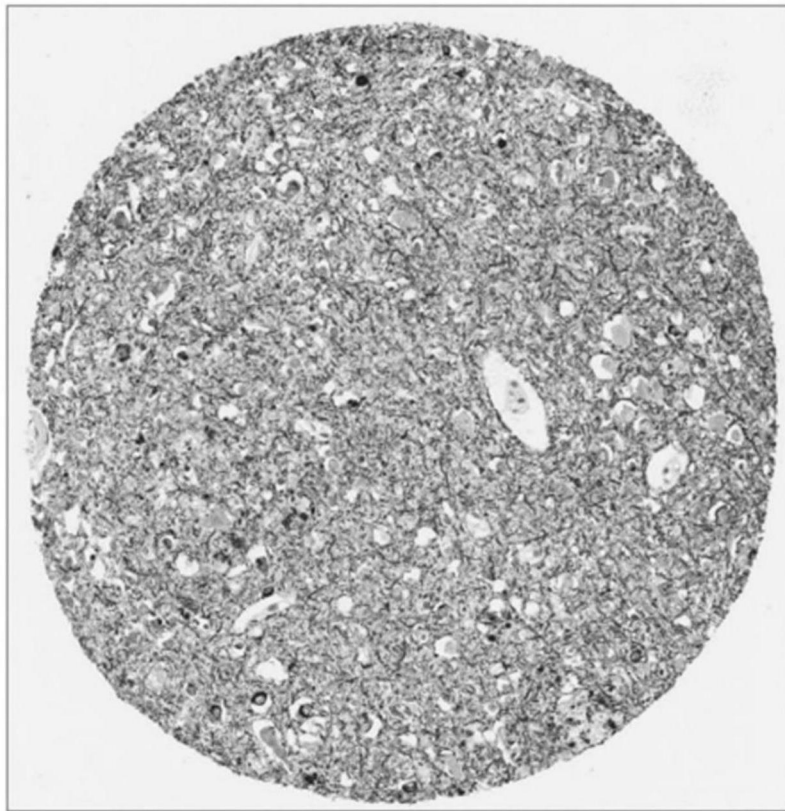


正常骨骼肌：  
没有染色

图6C



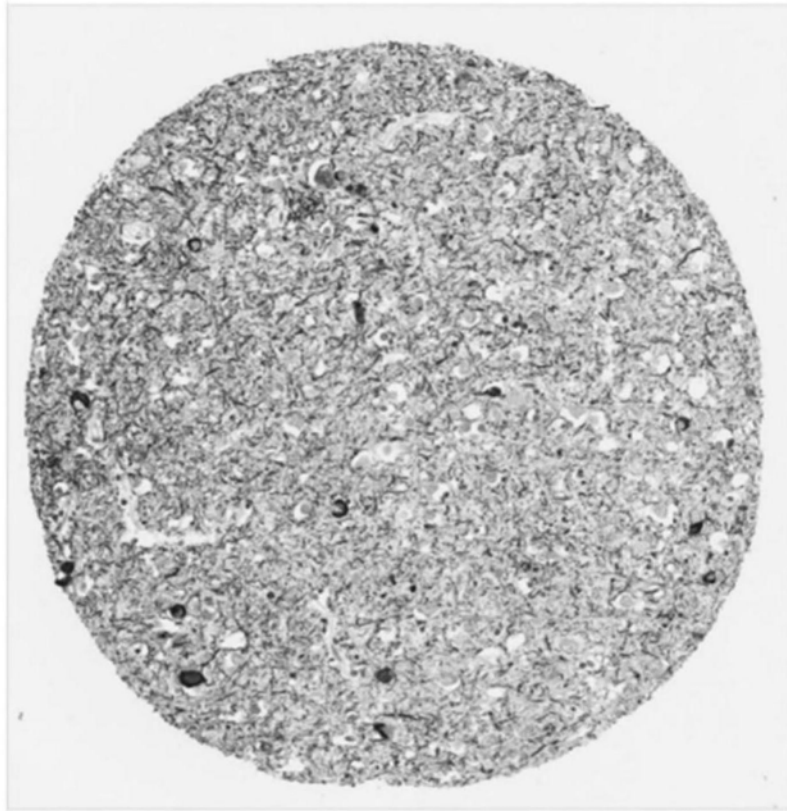
抗体2



阿尔茨海默病  
大脑皮层#1

图6D

抗体2



阿尔茨海默病大脑  
皮层#2

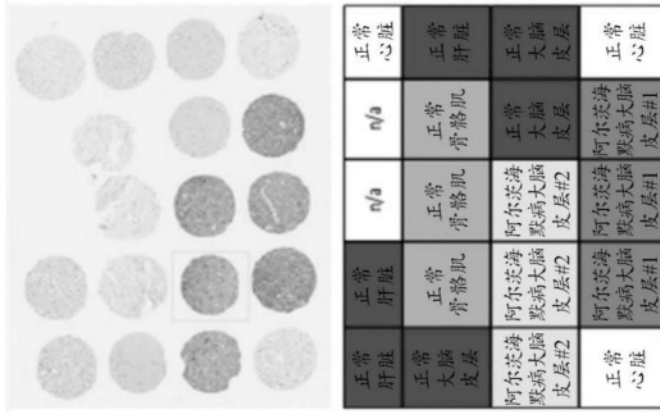
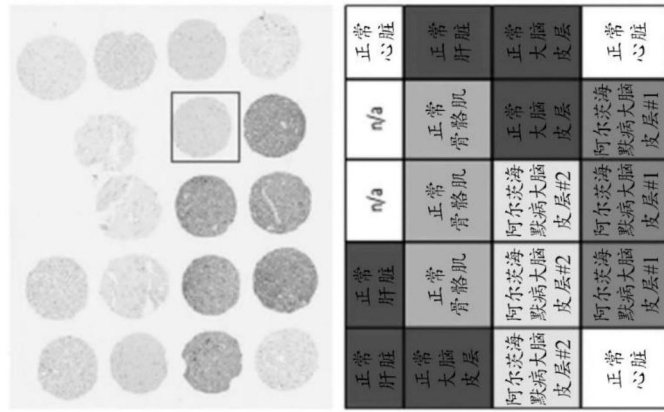
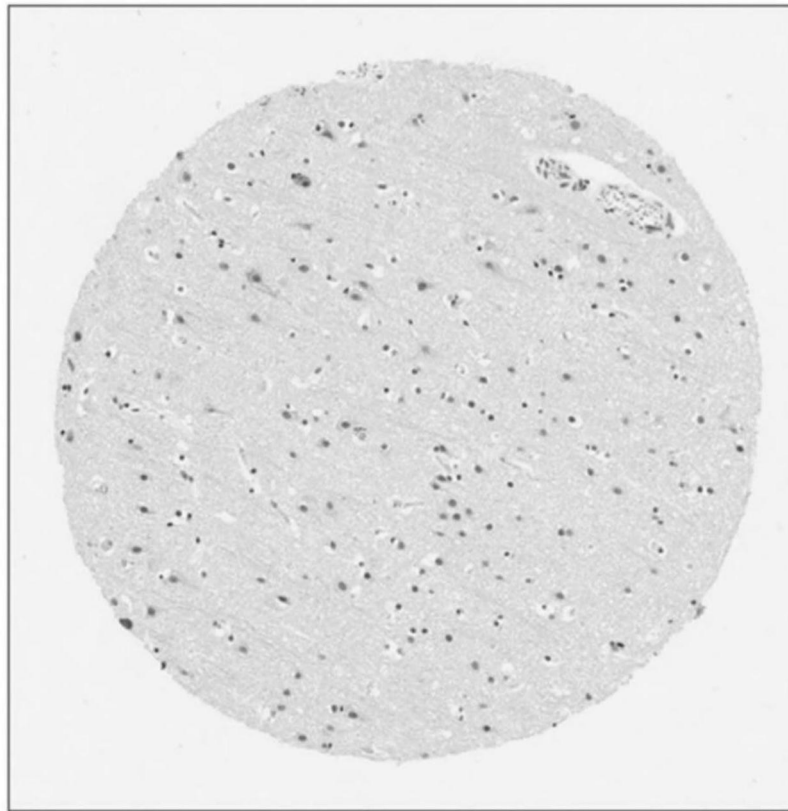


图6E



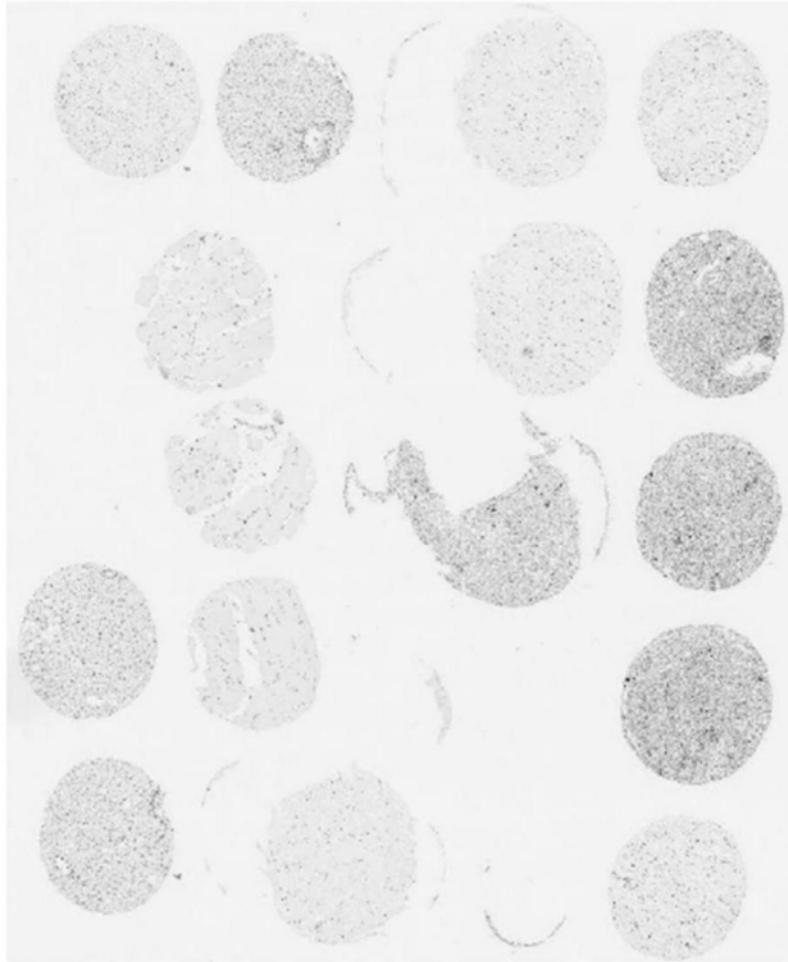
抗体2



正常  
大脑皮层

图6F

抗体2



碱性磷酸酶  
处理  
(200 U/ml,  
37°C,  
60分钟)

正常 肝脏	正常 骨骼肌	阿尔茨海 默病大脑 皮层#2	正常 心脏
正常 肝脏	正常 骨骼肌	阿尔茨海 默病大脑 皮层#1	正常 心脏
n/a	正常 骨骼肌	阿尔茨海 默病大脑 皮层#2	n/a
n/a	正常 骨骼肌	阿尔茨海 默病大脑 皮层#1	正常 心脏

图6G

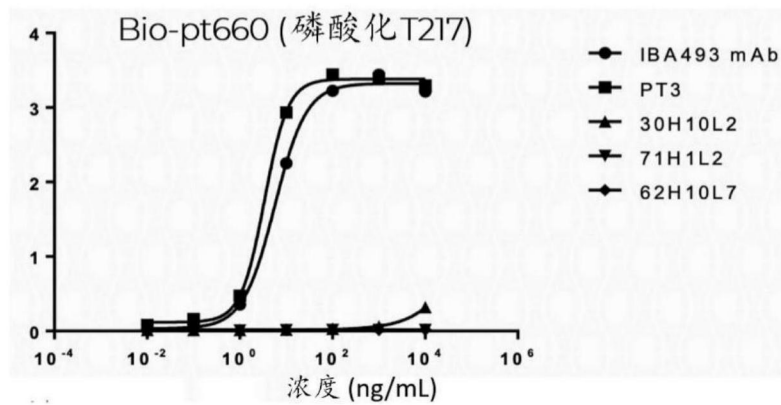
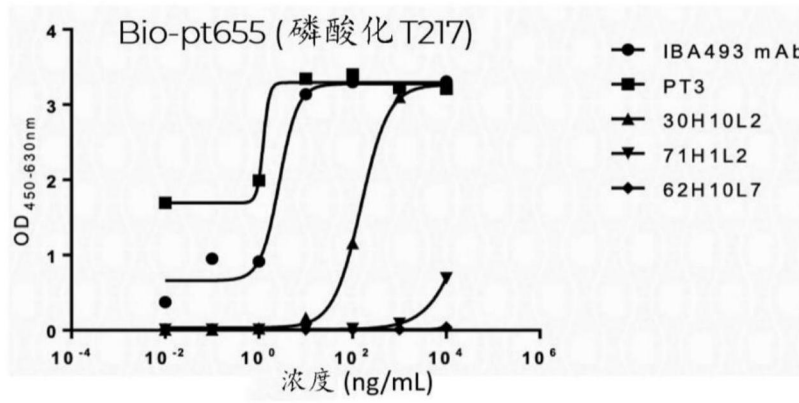
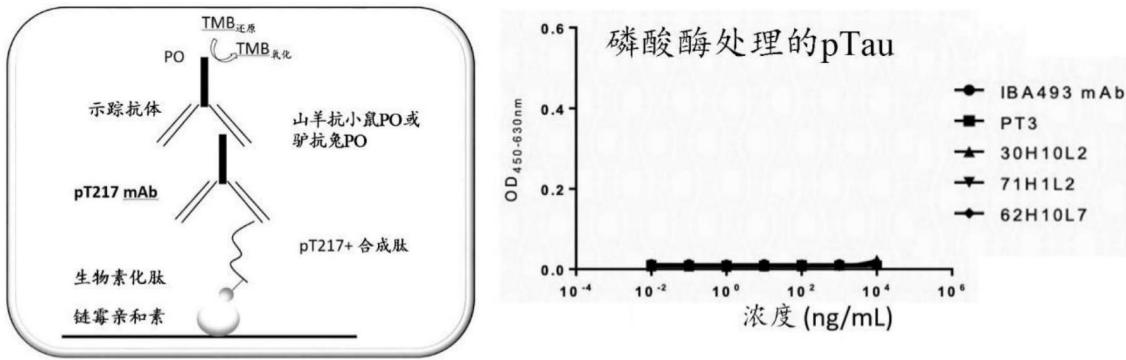
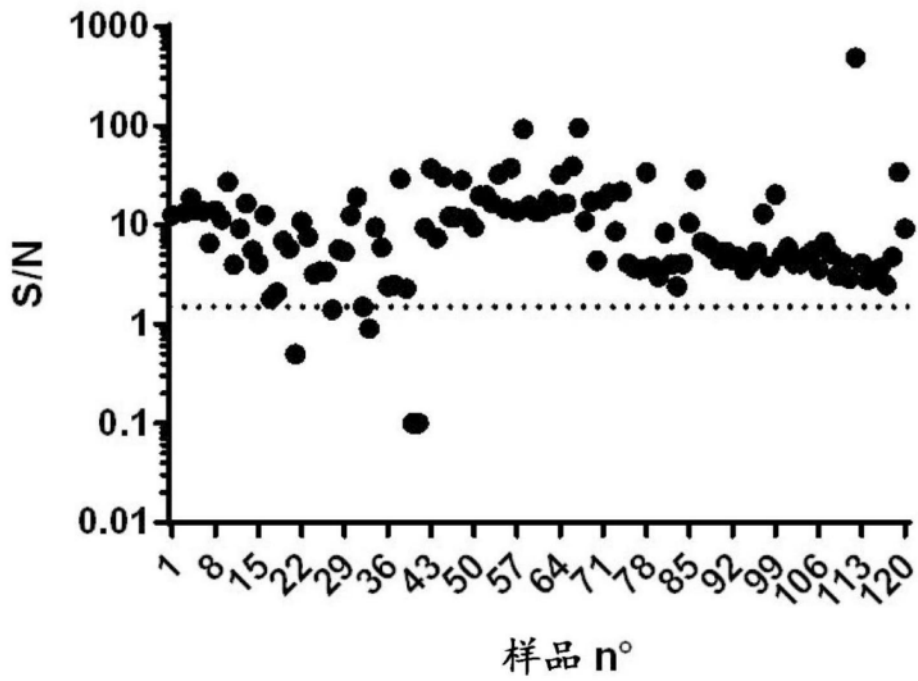


图7

### S/N 分析的血浆样品



### 样品 CV%

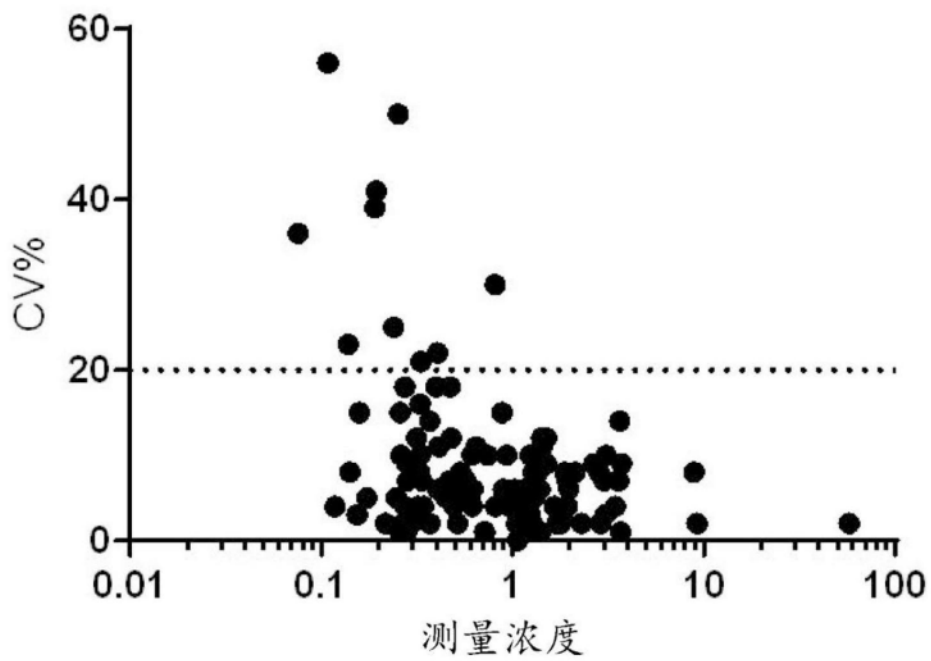
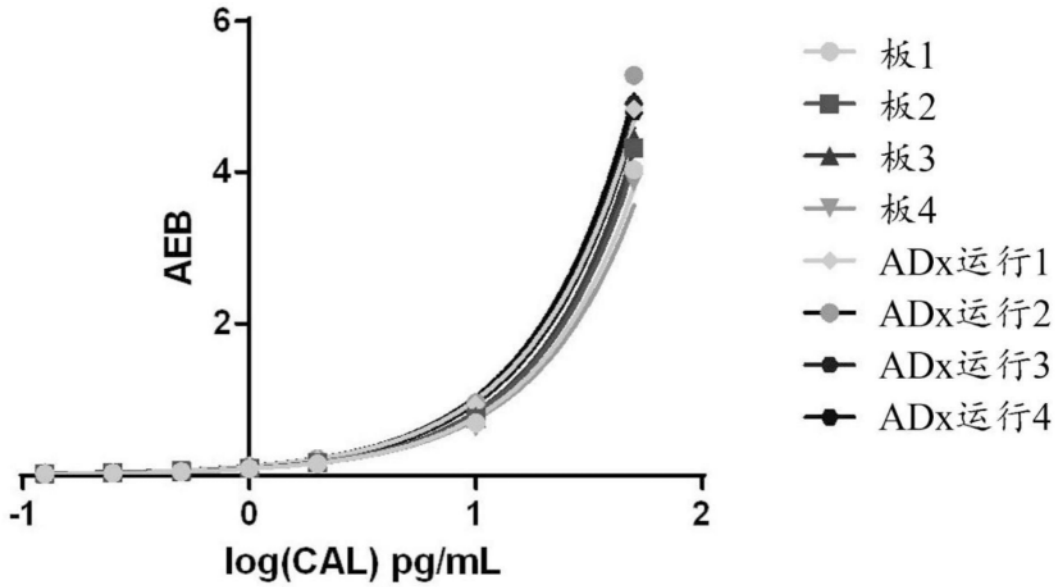


图8

### 校准曲线p-tau测定 QTx相对于ADx运行



### 校准曲线p-tau测定 QTx相对于ADx运行

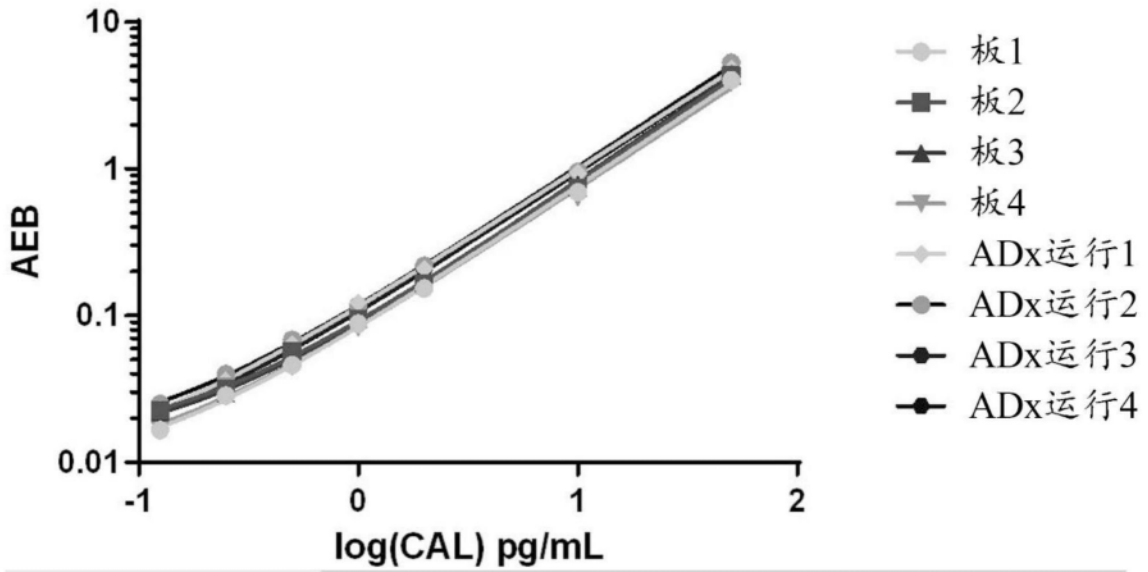
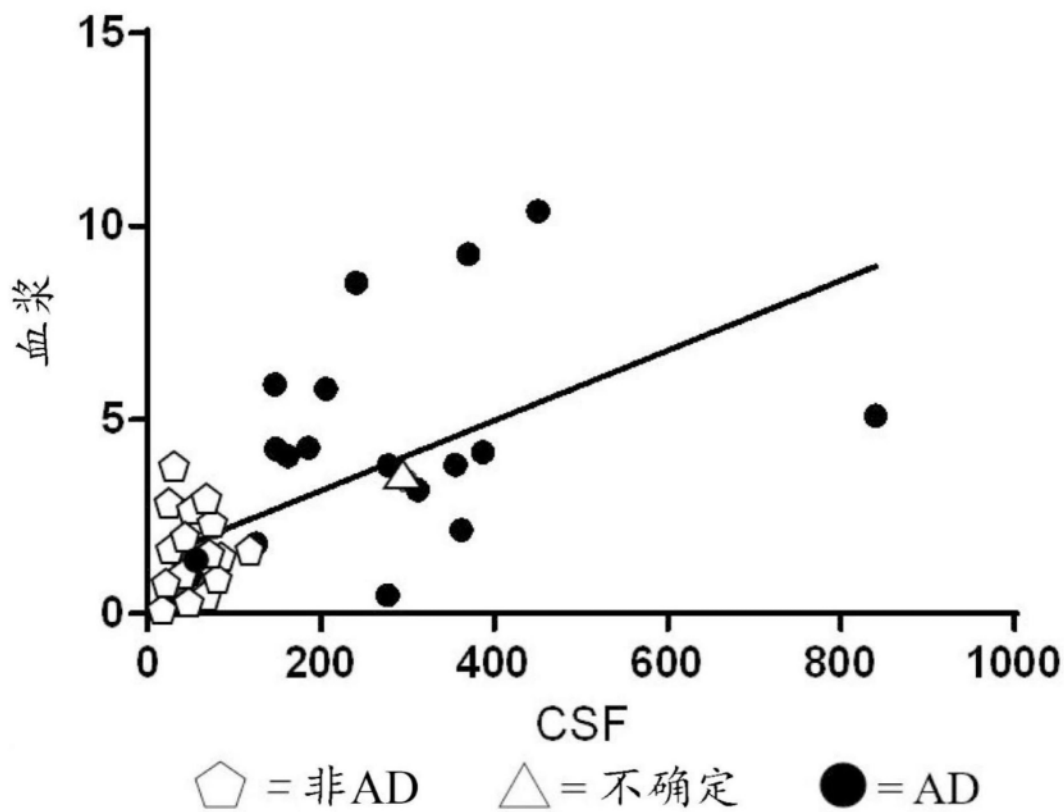


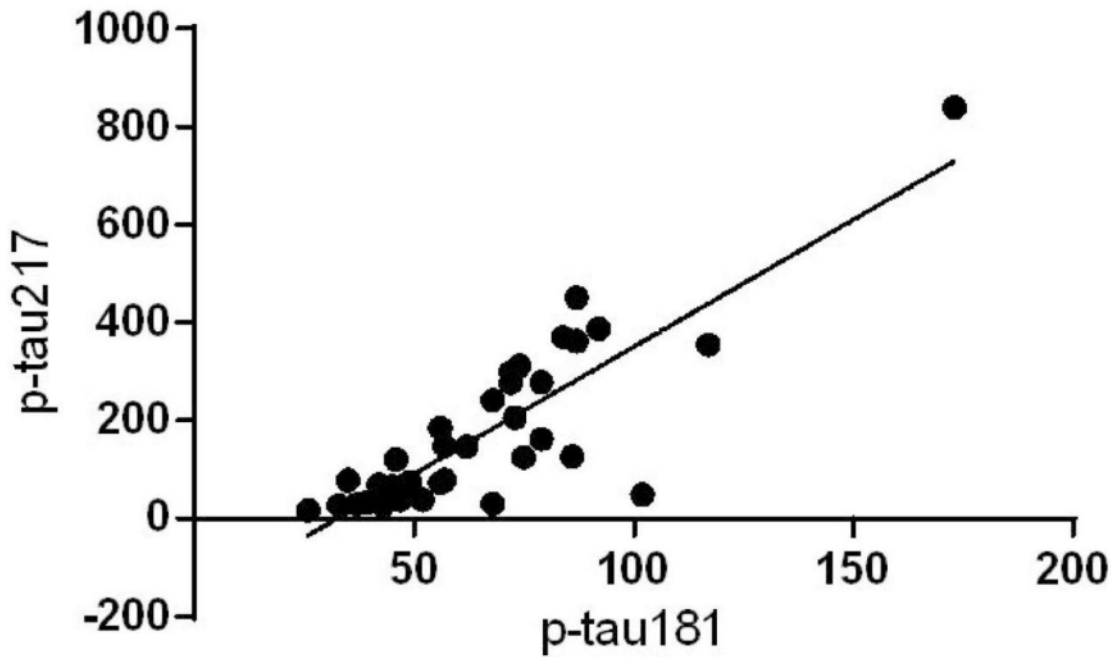
图9



	CSF 相对于 血浆
Spearman r	
r	0.6965
95%置信区间	0.4772 至 0.8341
P值	
P(双尾)	< 0.0001
P值总结	****
精确或近似的P值?	近似
显著?( $\alpha = 0.05$ )	是
XY对的数量	38

图10

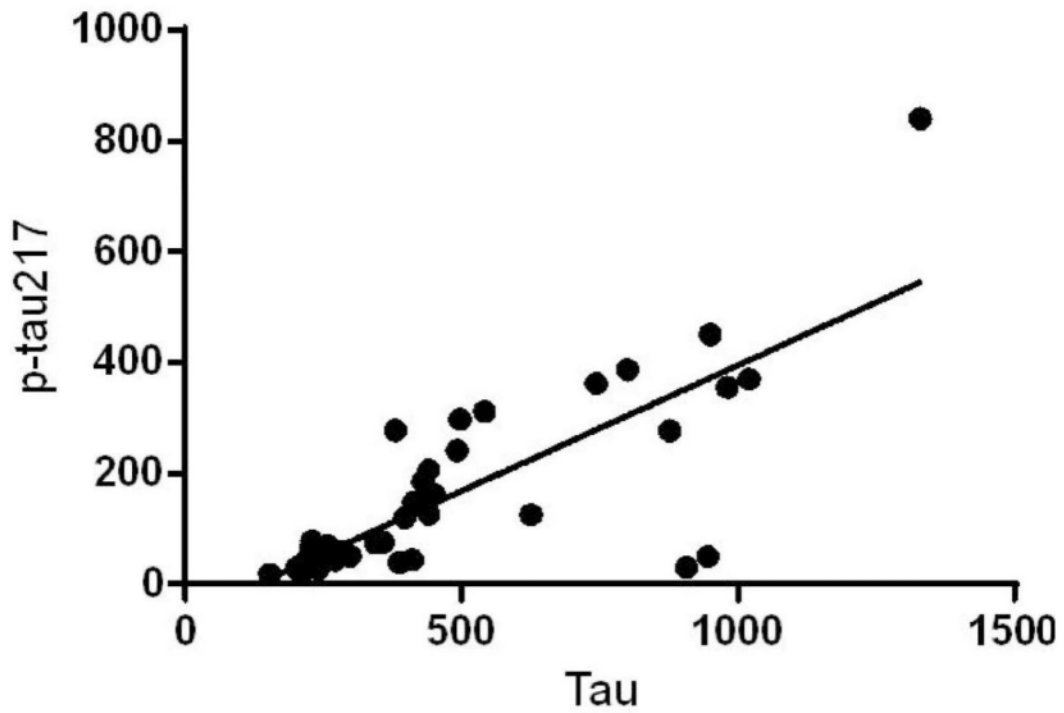
### p-Tau CSF 相关性



	p-tau181 相对于 p-tau217
Spearman r	
r	0.7952
95%置信区间	0.6424 至 0.8872
P值	
P(双尾)	< 0.0001
P值总结	****
精确或近似的P值?	近似
显著?( $\alpha = 0.05$ )	是
XY对的数量	42

图11

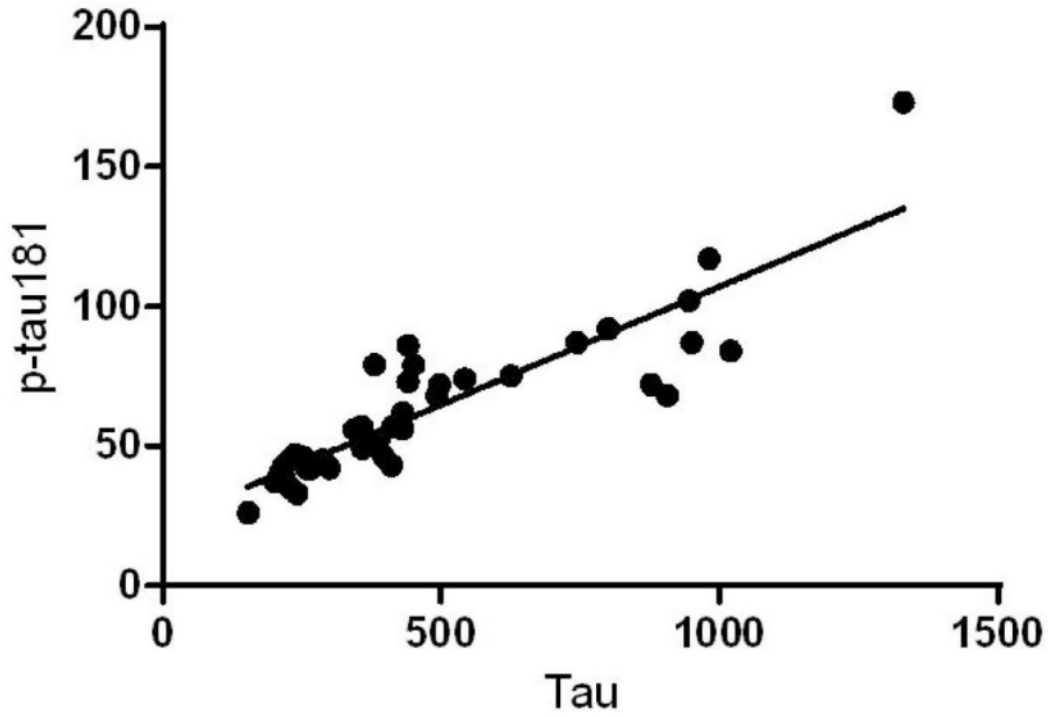
### p-Tau CSF 相关性



	Tau 相对于 p-tau217
Spearman r	
r	0.7729
95%置信区间	0.6071 至 0.8742
P值	
P(双尾)	< 0.0001
P值总结	****
精确或近似的P值?	近似
显著?( $\alpha = 0.05$ )	是
XY对的数量	42

图12

### p-Tau CSF 相关性



	Tau 相对于 p-tau181
Spearman r	
r	0.8978
95%置信区间	0.8136 至 0.9451
P值	
P(双尾)	< 0.0001
P值总结	****
精确或近似的P值?	近似
显著?( $\alpha = 0.05$ )	是
XY对的数量	42

图13

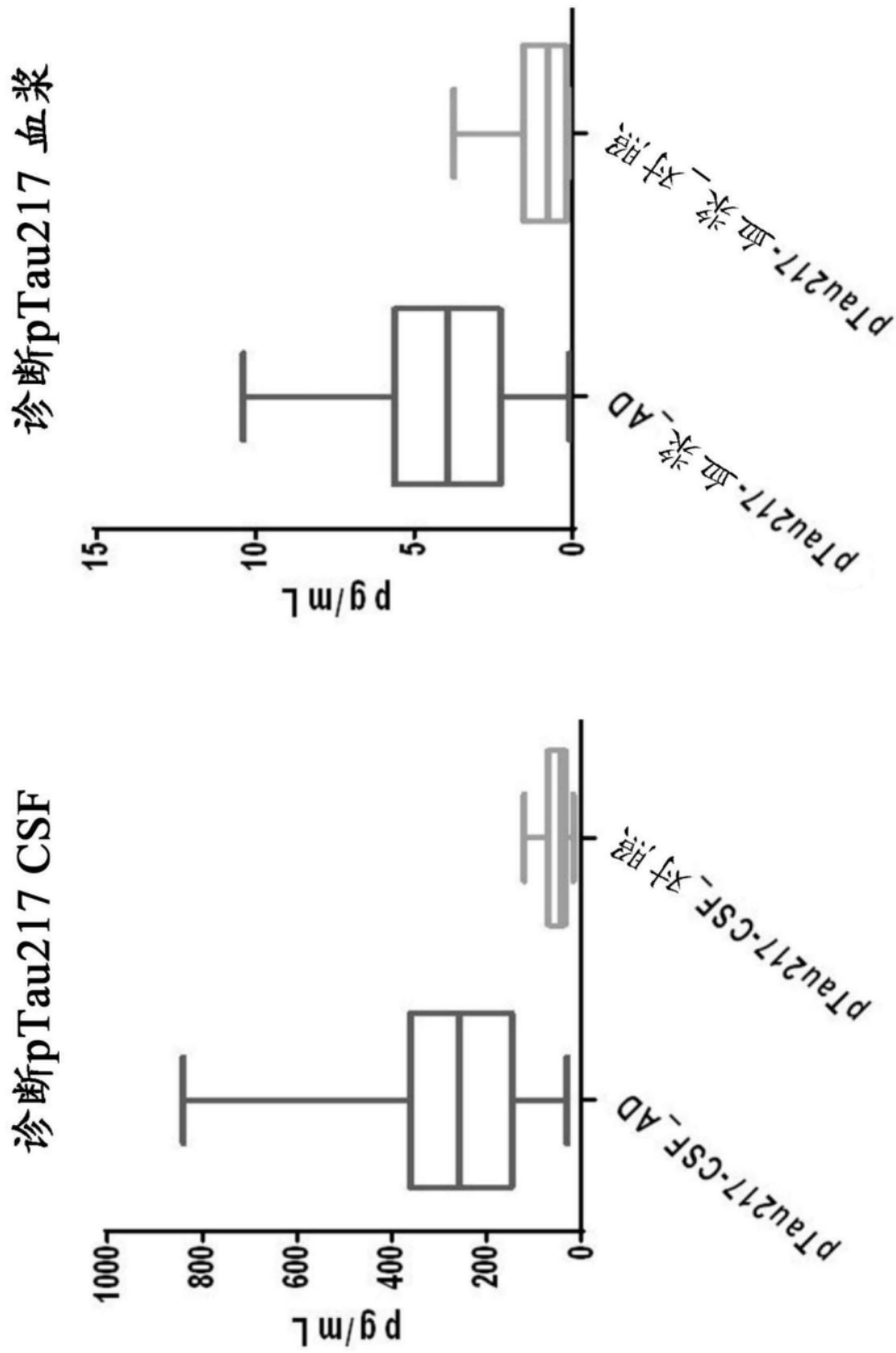


图14

### 样品精确性 (基于所有重复)

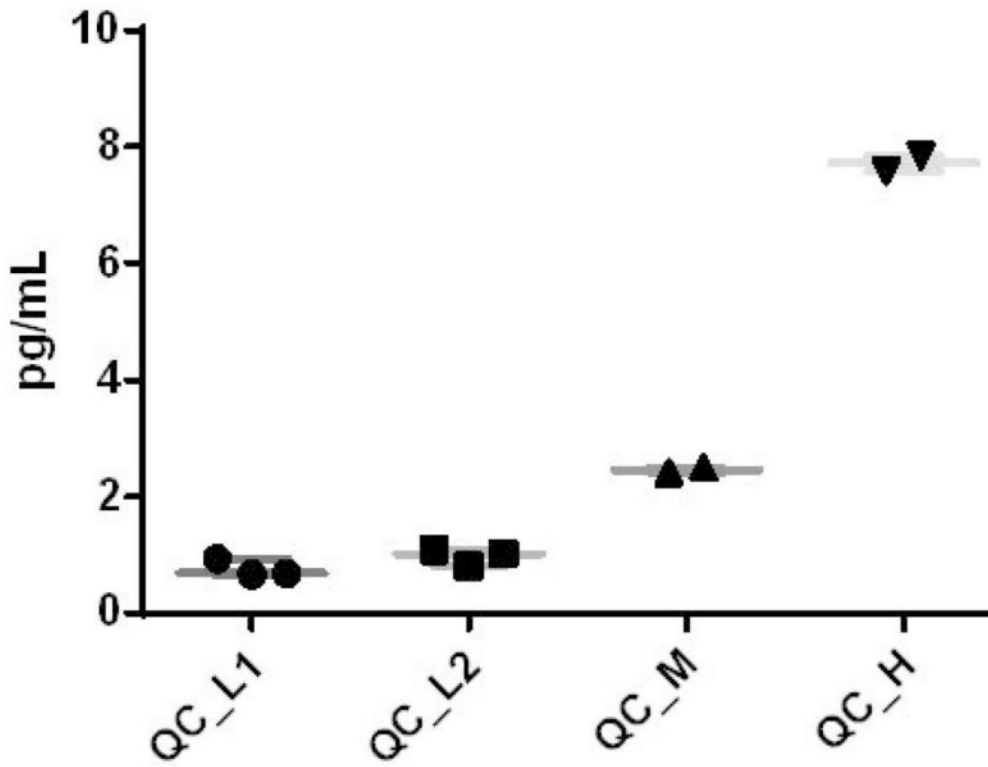
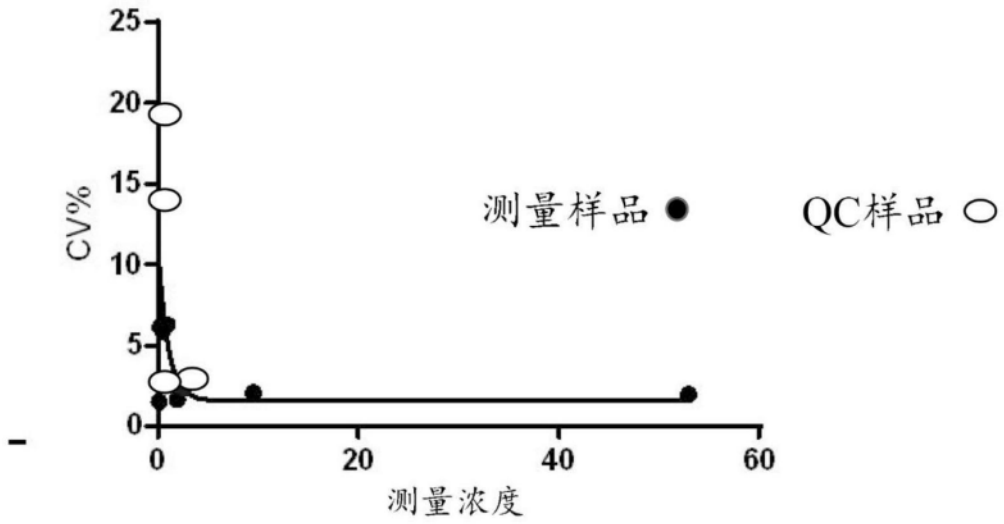


图15

基于测量的样品浓度和4个QC样品的内部运行CV%的精确性谱



	QC_L1	QC_L2	QC_M	QC_H
值的数量	3	3	2	2
变异系数	19.42%	14.00%	2.70%	2.36%

基于测量的样品浓度和4个QC样品的内部运行CV%的精确性谱

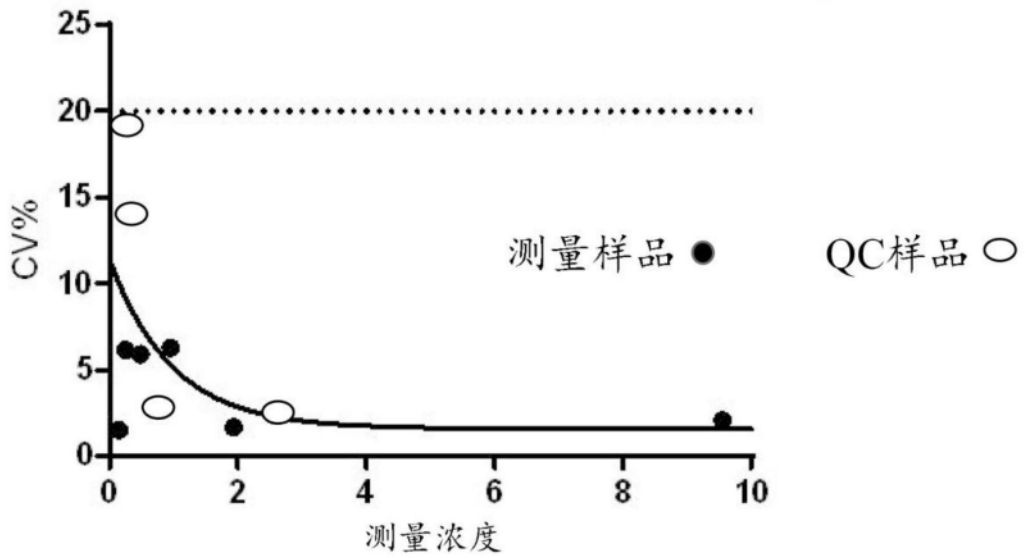
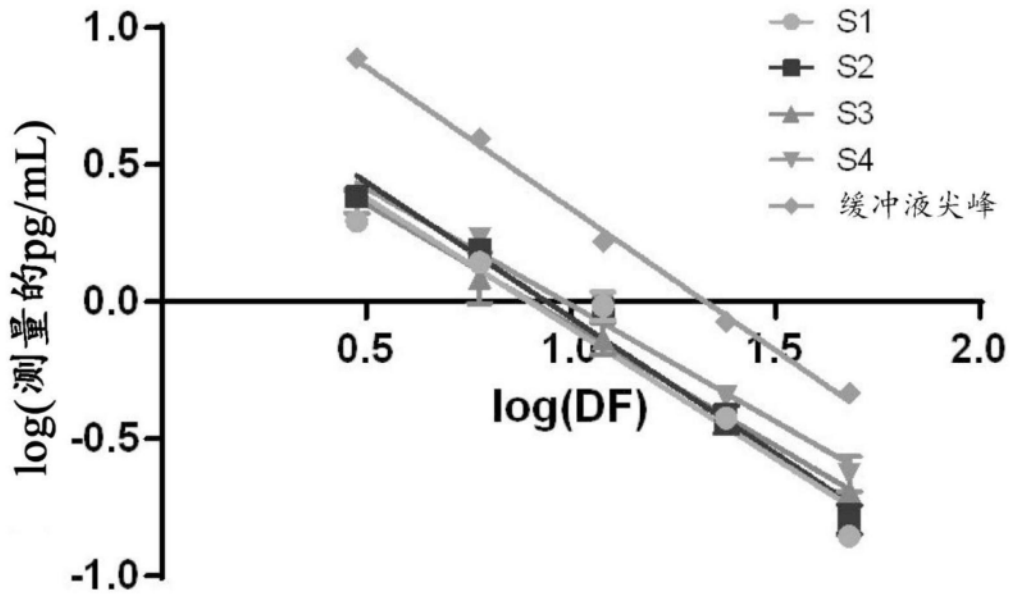


图16

### 血浆/尖峰线性



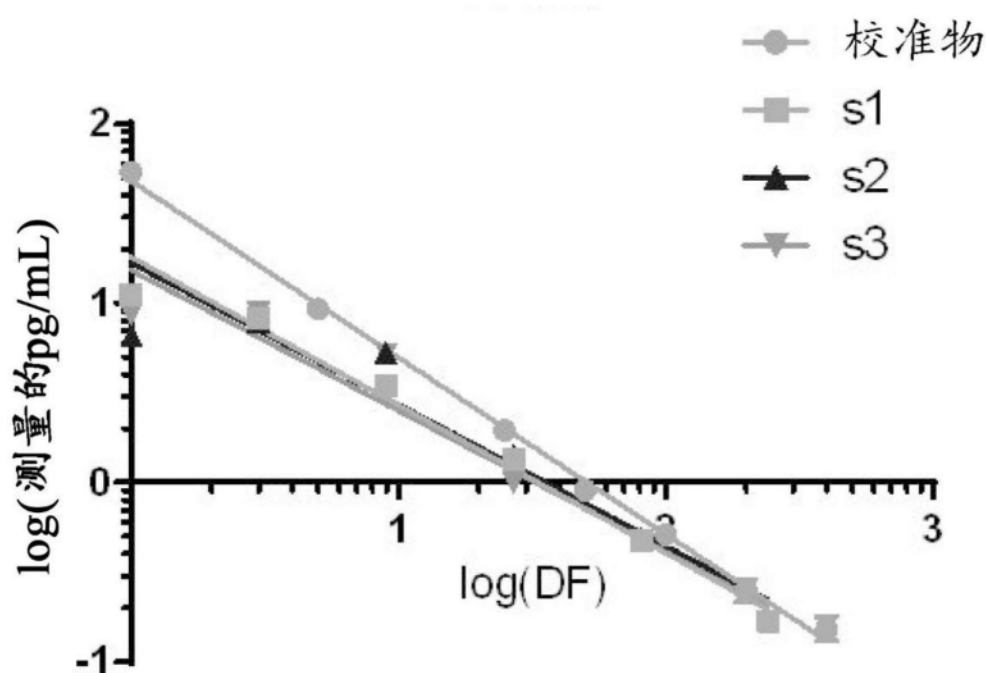
	S1	S2	S3	S4	缓冲液尖峰
Y截距	0.86	0.93	0.80	0.84	1.38
斜率	-0.95	-0.99	-0.88	-0.85	-1.03
差值%	92%	96%	85%	82%	100%

表4. 并行性	校准器 (在以下段落中表示为'recks l')	样品1	样品2	样品3	样品4	样品5 (加标稀释缓冲液)
名称标志物	Df(x)	Df(x)	Df(x)	Df(x)	Df(x)	Df(x)
pTAU217	1	3	3	3	3	3
	5	6	6	6	6	6
	25	12	12	12	12	12
	50	24	24	24	24	24
	100	48	48	48	48	48
	200					
斜率(a)	0,8669	0,7865	0,8272	0,7459	0,7239	0,9167
在范围内(%)	85-115	91	95	86	84	106

Df= 测定中使用的样品的稀释因子

图17

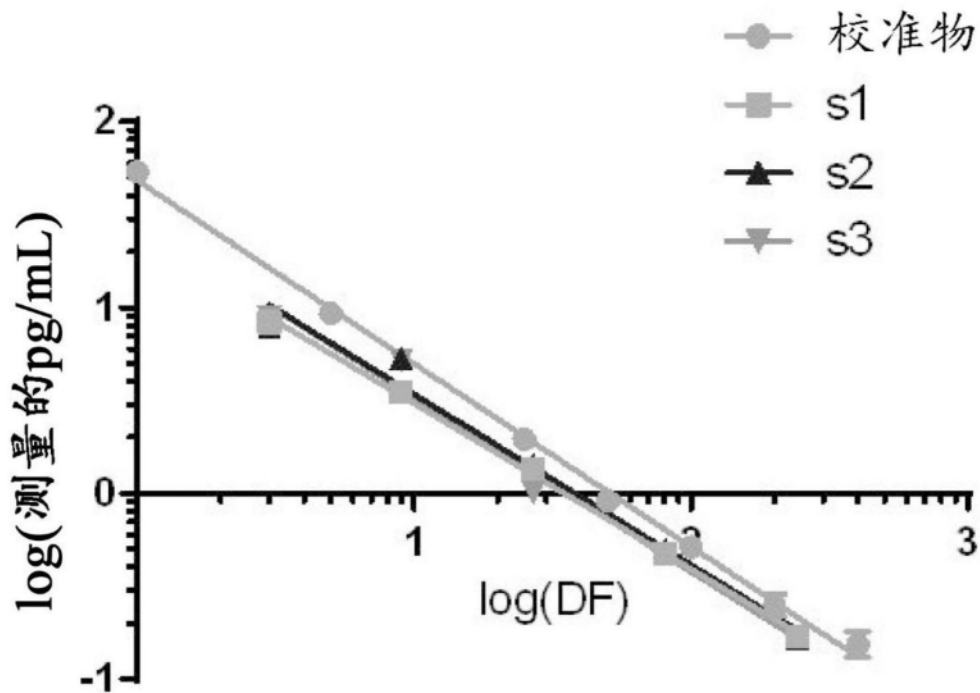
## 与校准物相比加标样品的稀释线性



	校准物	s1	s2	s3
Y截距	1.68	1.26	1.23	1.19
斜率	-0.99	-0.83	-0.79	-0.78
差值%		84%	80%	79%

图18

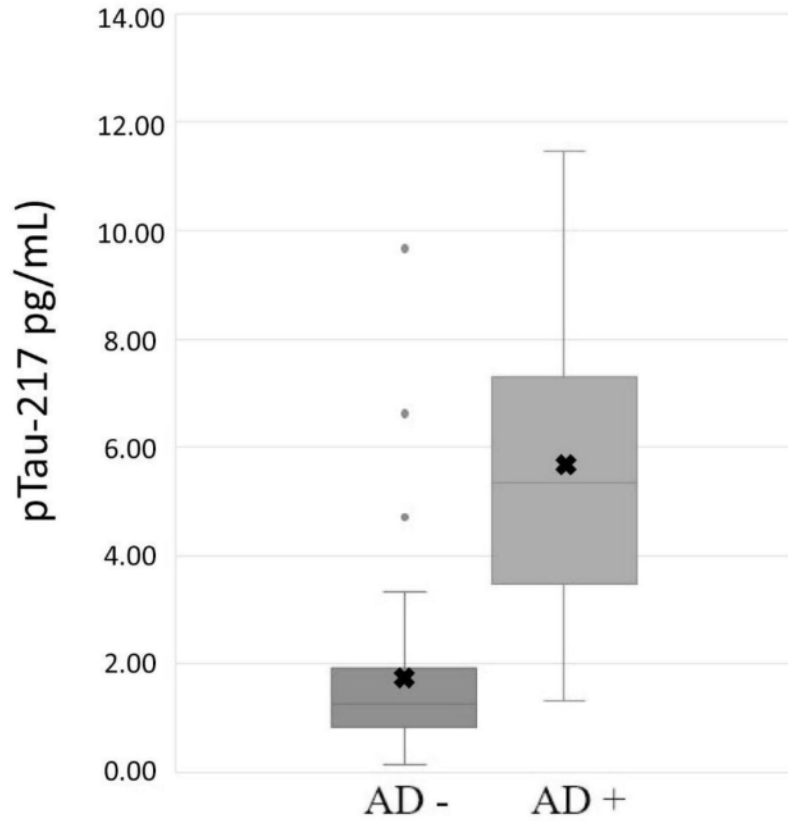
### 与校准物相比加标样品的稀释线性



	校准物	s1	s2	s3
Y截距	1.68	1.38	1.45	1.46
斜率	-0.99	-0.89	-0.92	-0.94
差值%		90%	93%	95%

图19

### ALZPath pTau-217 临床验证



### ROC 曲线

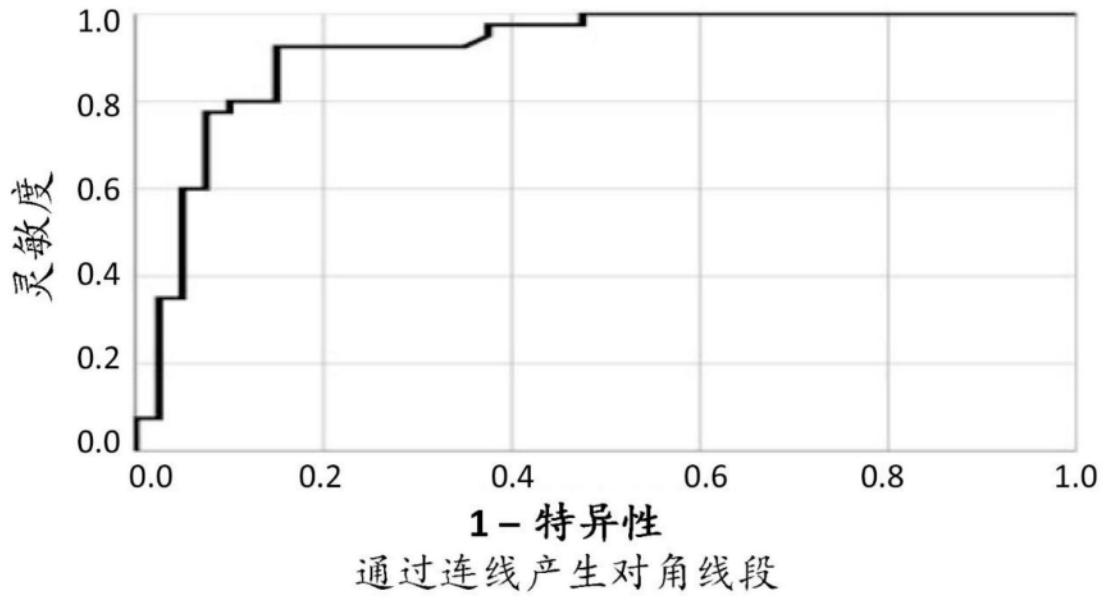


图20

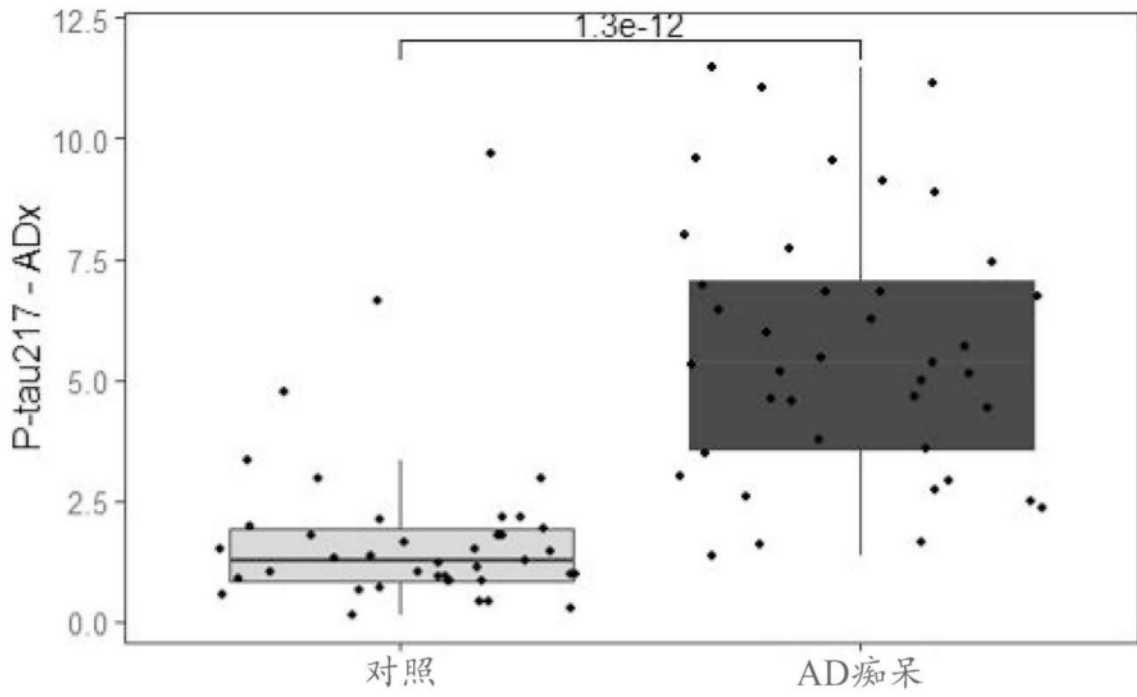
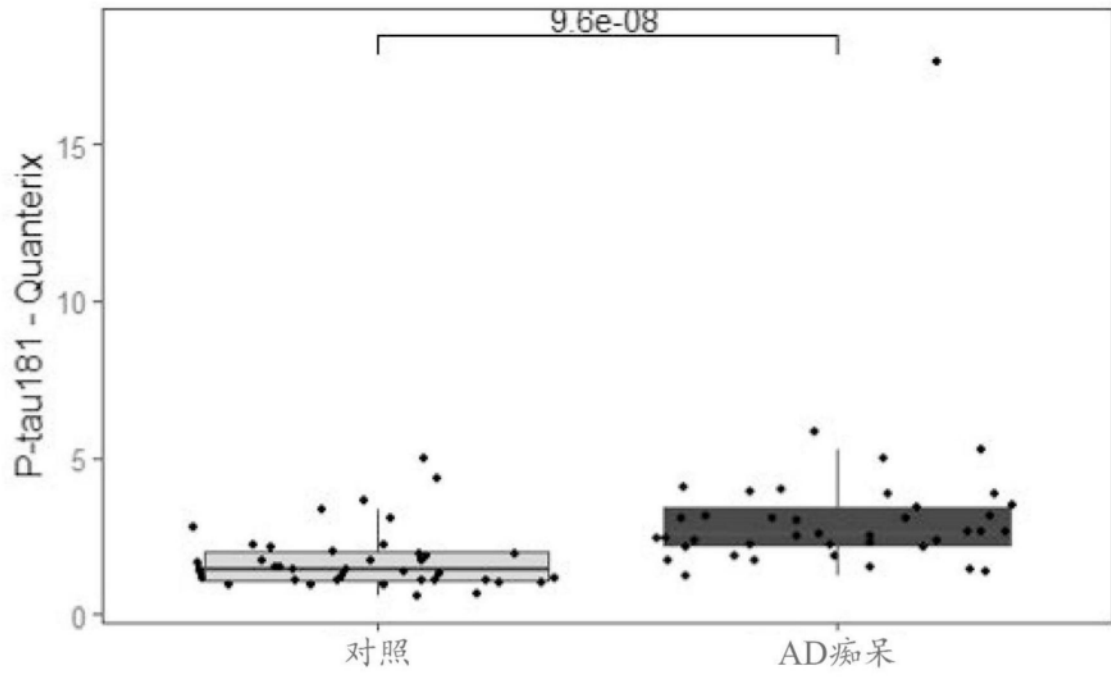


图21



		针对诊断分层			
		对照		AD痴呆	
		女性	男性	女性	男性
总计, n	80	28	12	28	12
女性性别(%)	28 (70%)	28 (70%)	12 (30%)	28 (70%)	12 (30%)
年龄 (中值[范围])	64 [54-83]	63 [54-81]	66 [58-83]	65 [57-71]	66.5 [61-72]

图22

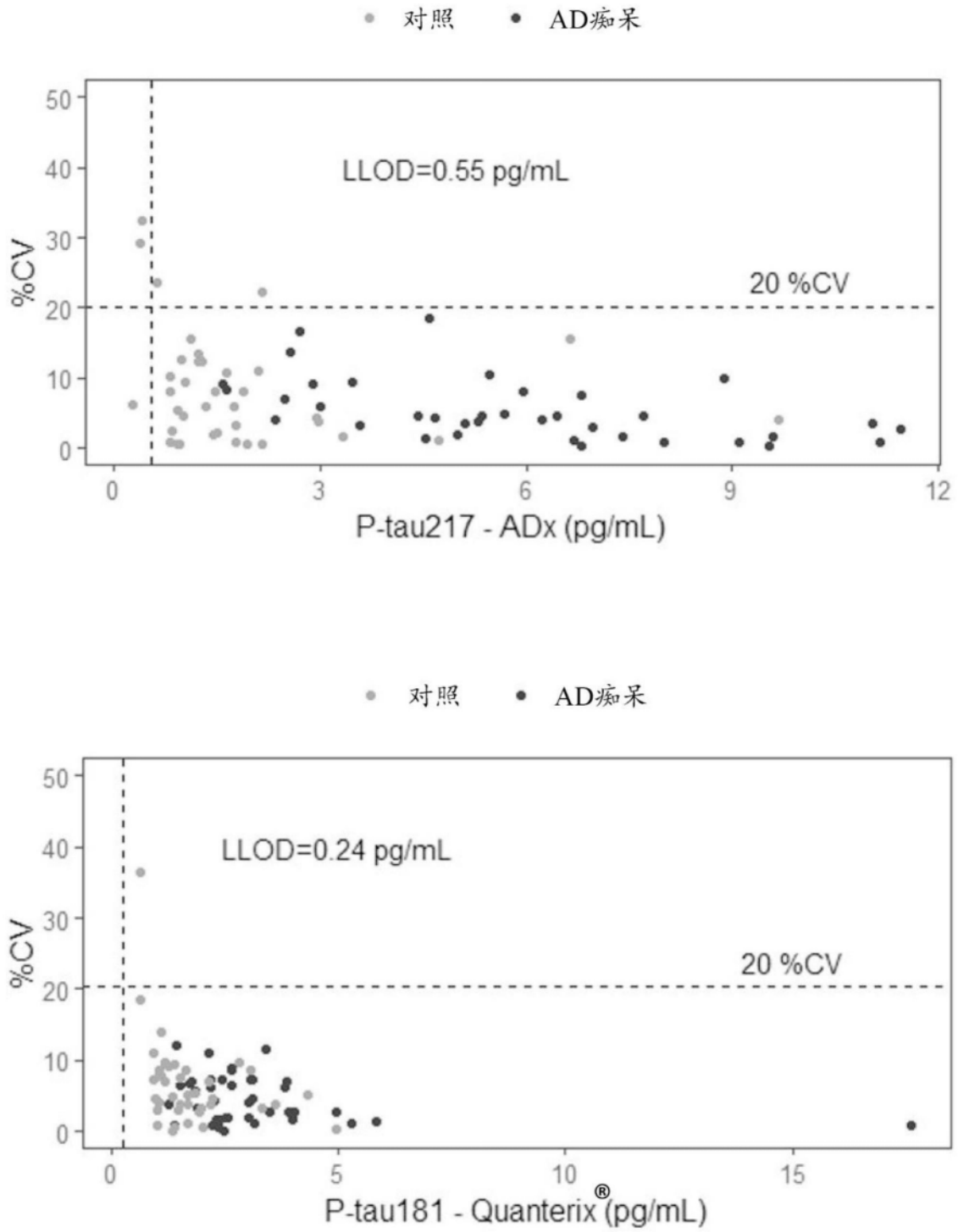
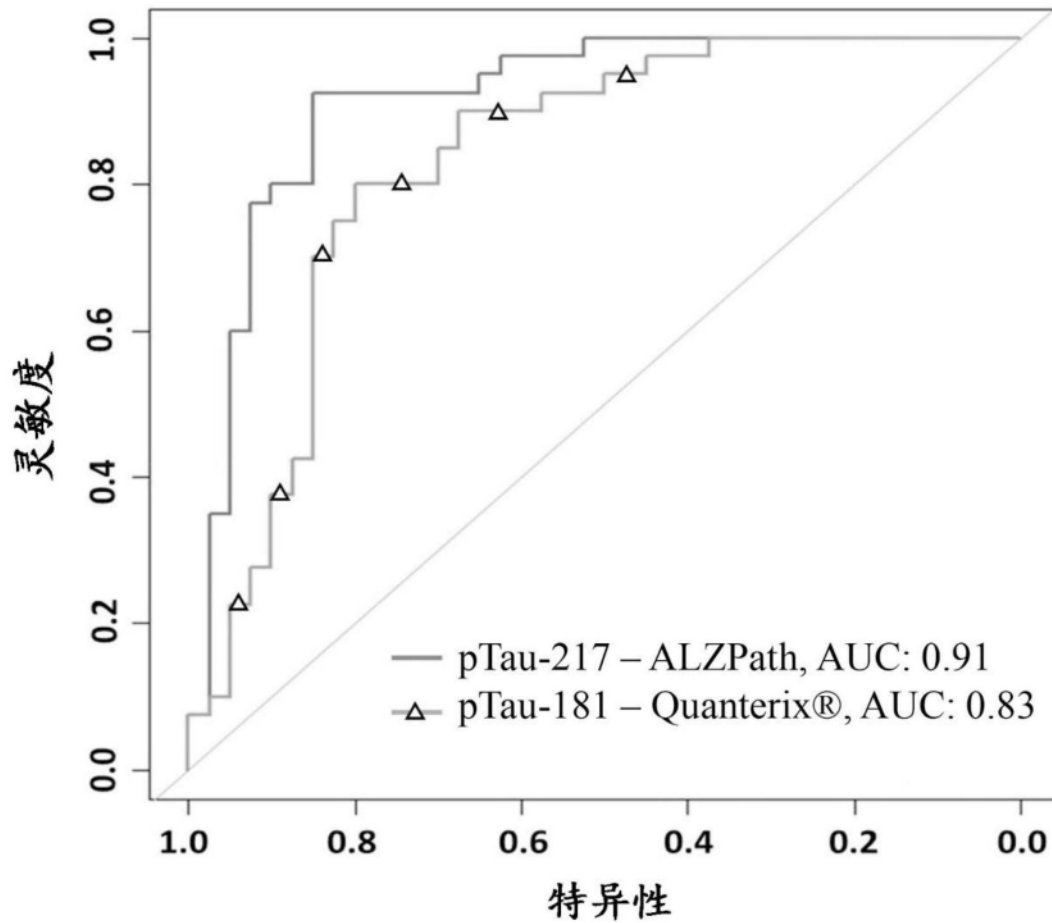


图23



	AD-痴呆	对照	倍数 变化	微分	AD-痴呆相对于对照		
	中值(IQR)	中值		AUC (95% CI)	截止值	灵敏度%	特异性%
<b>pTau-217 ALZPath</b>	5.2 (3.5 - 6.8)	1.3 (0.8 - 1.9)	4.2	0.91 (0.85 - 0.98)	2.26	92.5	85
<b>pTau-181 Quanterix®</b>	2.5 (2.2 - 3.3)	1.4 (1.1 - 1.9)	1.8	0.83 (0.74 - 0.920)	2.14	80	80

图24

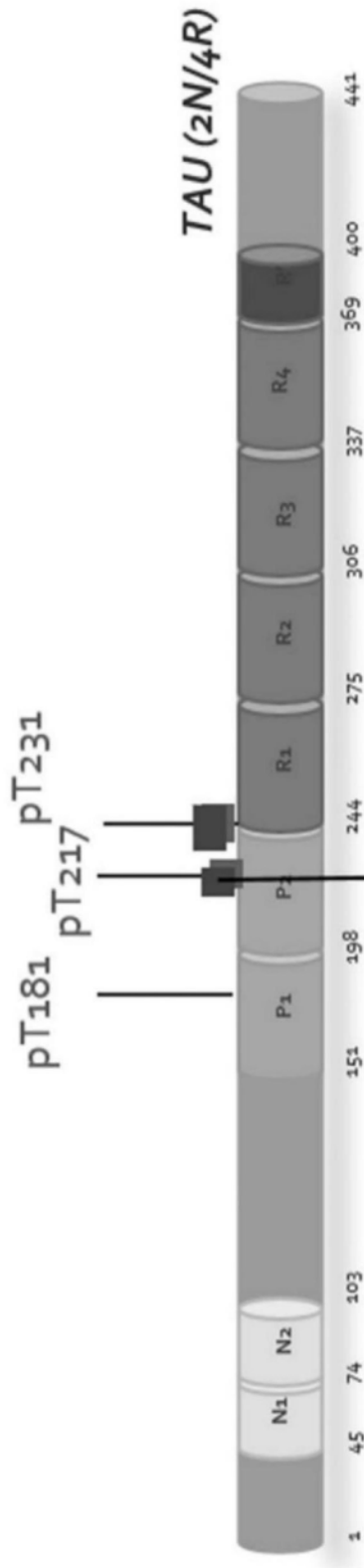


图25

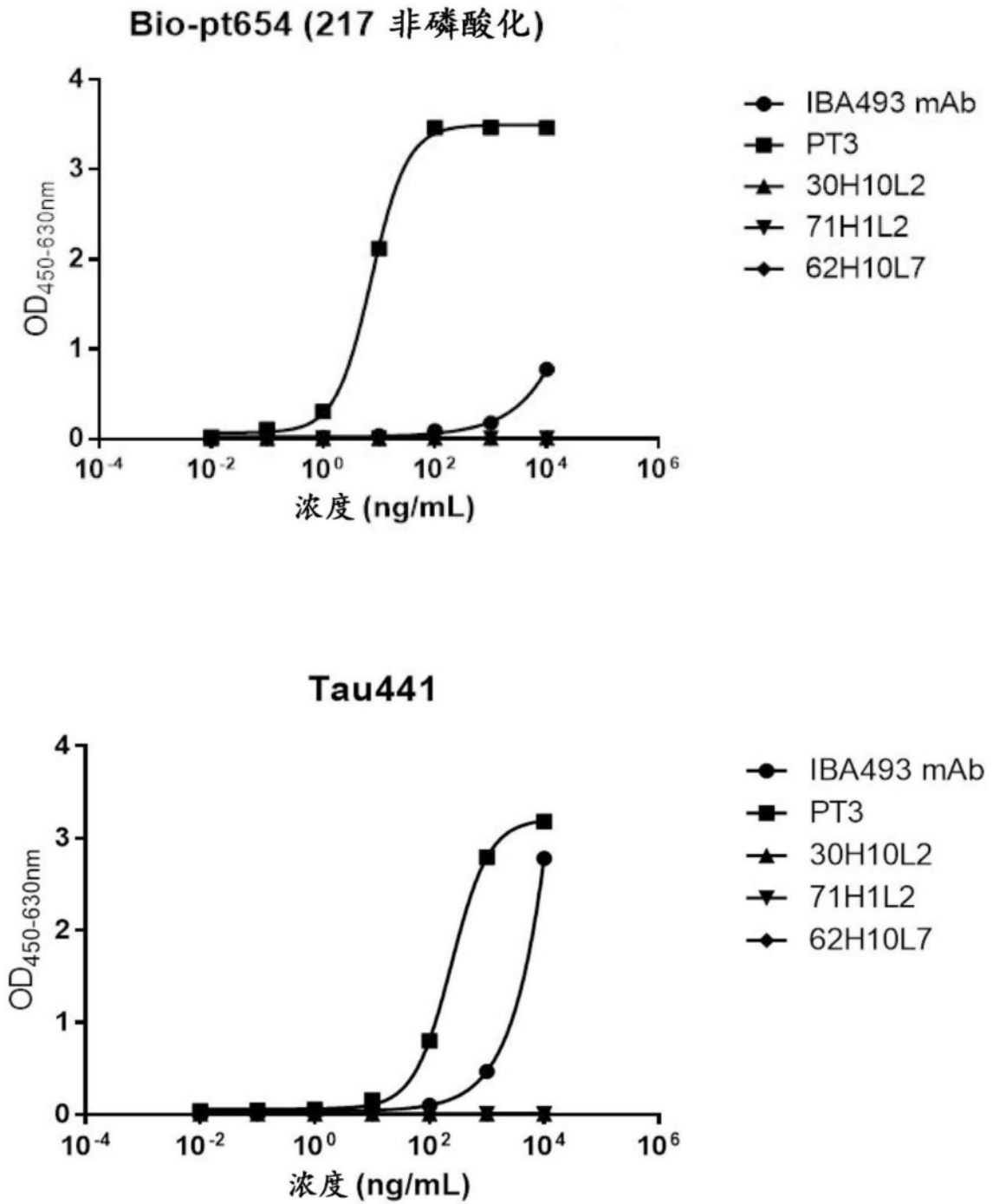


图26

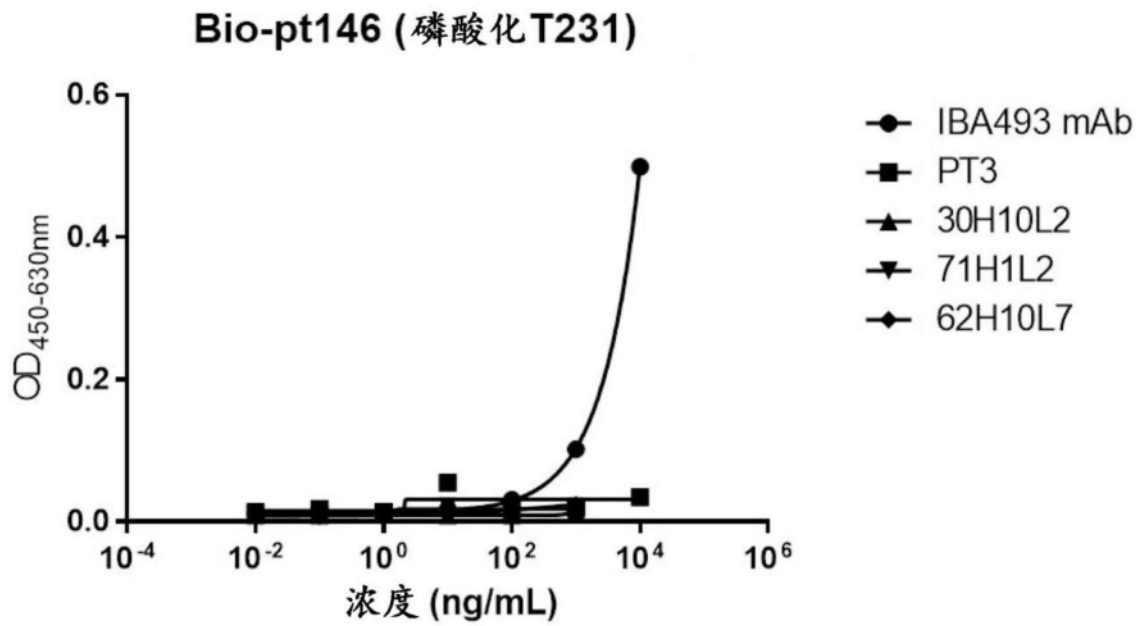
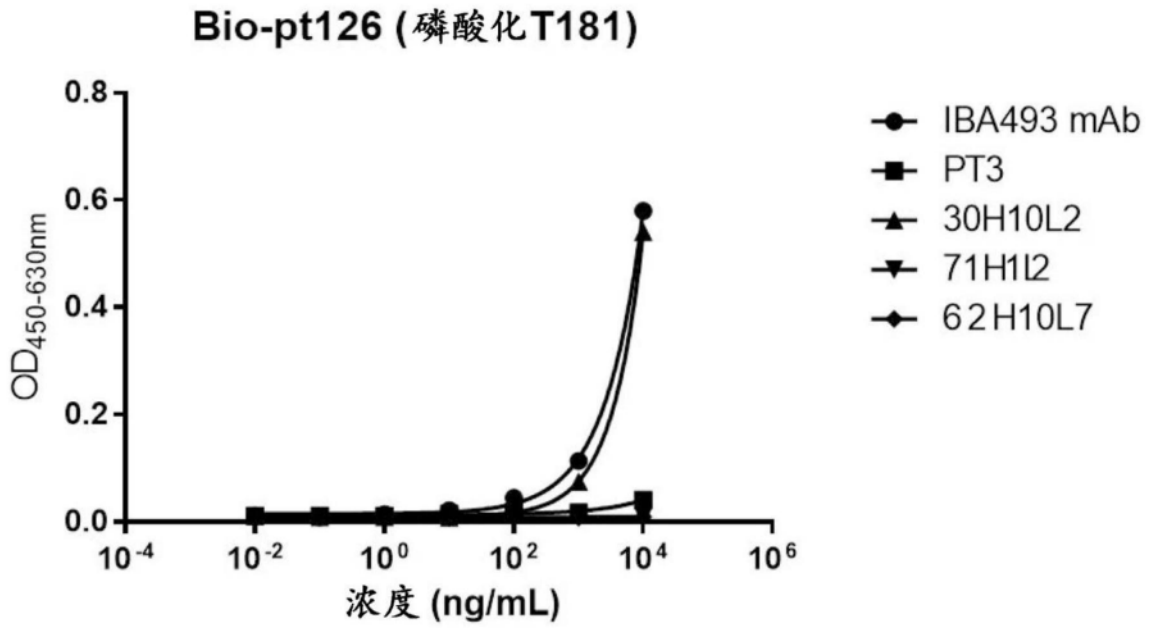


图27

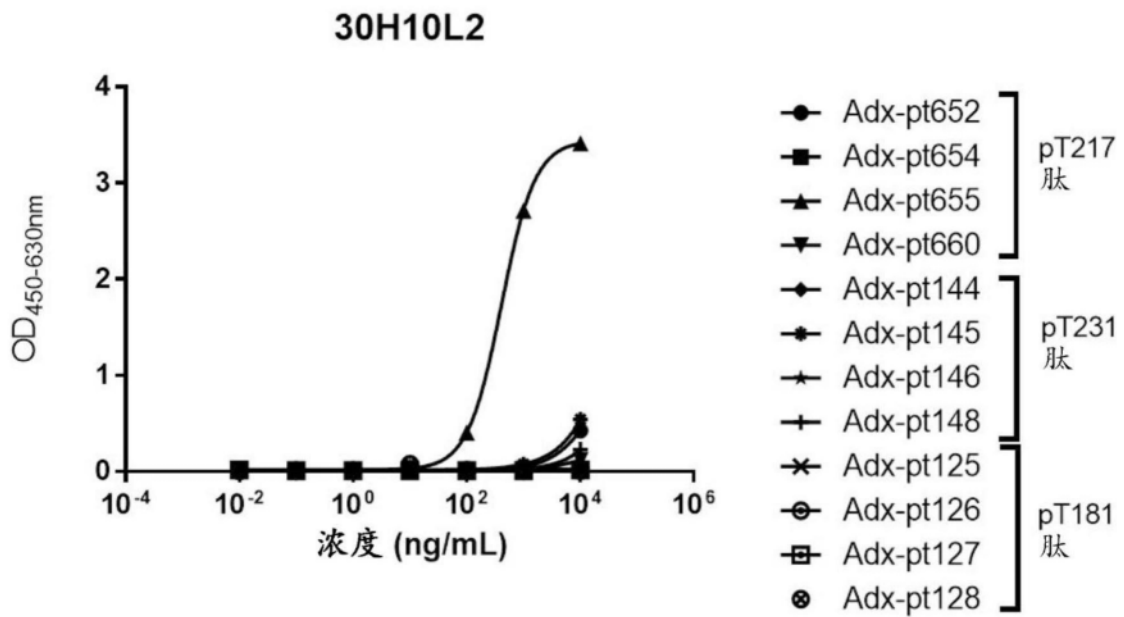
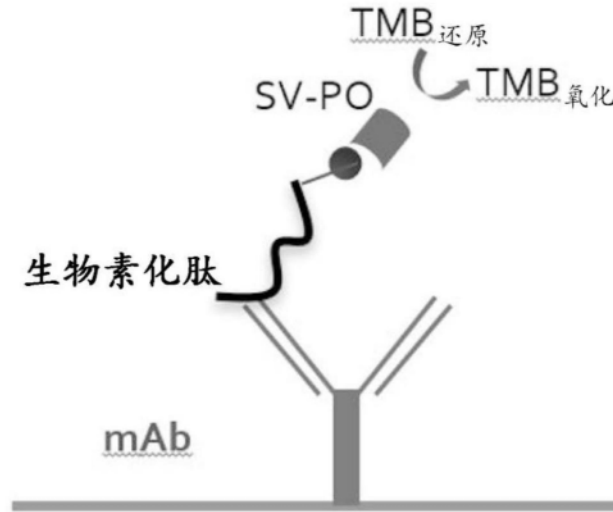


图28

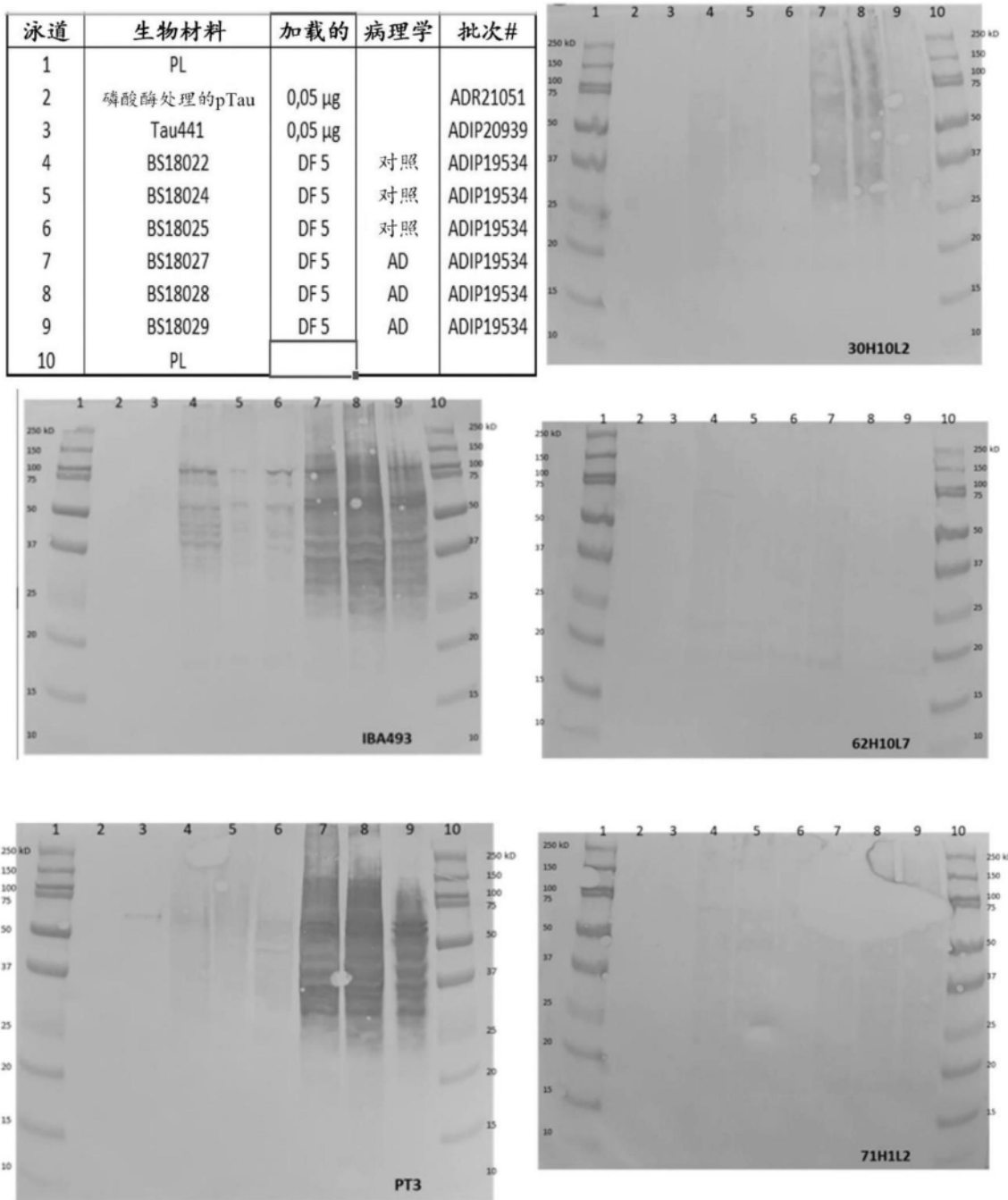


图29