(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 113853382 A
(43)申请公布日 2021.12.28

(21)申请号 202080017996.0

(22)申请日 2020.01.06

(30)优先权数据
62/789,114 2019.01.07 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2021.08.31

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2020/012323 2020.01.06

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2020/146236 EN 2020.07.16

(71)申请人 森纳生物科学公司
地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 纳兹尼恩·德维基

(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262
代理人 贺淑东

(51)Int.Cl.
C07K 7/06(2006.01)
C07K 19/00(2006.01)
A61K 38/08(2019.01)
A61P 25/28(2006.01)
A61P 25/00(2006.01)
A61P 25/16(2006.01)
A61P 37/02(2006.01)
A61P 21/00(2006.01)

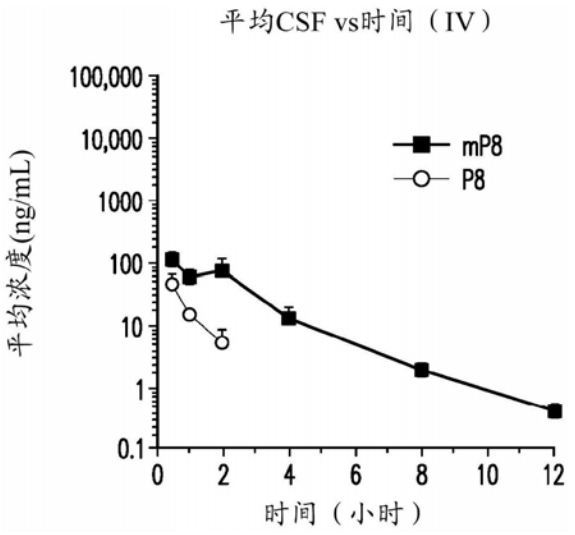
权利要求书2页 说明书45页
序列表3页 附图5页

(54)发明名称

新型肽及其用途

(57)摘要

包含Ac-DEEEDEEL-NH_2序列、dEEEDEEL-NH_2序列或Ac-dEEEDEEL-NH_2序列的肽，包含所述肽的药物组合物和所述肽用于治疗疾病或病症的使用。



CN 113853382 A

1.肽,其包含

(i)Ac-DEEEDEEL-NH_2序列(SEQ ID NO:3),其中N末端氨基酸Asp乙酰化并且C末端氨基酸Leu酰胺化;

(ii)dEEEDEEL-NH_2序列(SEQ ID NO:4),其中N末端氨基酸Asp为D-氨基酸并且C末端氨基酸Leu酰胺化;或者

(iii)Ac-dEEEDEEL-NH_2序列(SEQ ID NO:5),其中N末端氨基酸Asp为D-氨基酸且乙酰化并且C末端氨基酸Leu酰胺化。

2.根据权利要求1所述的肽,其中所述肽包含Ac-DEEEDEEL-NH_2序列(SEQ ID NO:3)。

3.根据权利要求1所述的肽,其中所述肽包含dEEEDEEL-NH_2序列(SEQ ID NO:4)。

4.根据权利要求1所述的肽,其中所述肽包含Ac-dEEEDEEL-NH_2序列(SEQ ID NO:5)。

5.肽,其包含含有SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的序列的第一域,和第二域。

6.根据权利要求5所述的肽,其中所述第二域包含Fc域。

7.根据权利要求5所述的肽,其中所述第二域包含纯化肽。

8.药物组合物,其包含根据权利要求1至7中任一项所述的肽和药物可用的赋形剂。

9.减弱细胞中β-淀粉样前体蛋白(β-APP)与早老素-1(PS-1)和/或早老素-2(PS-2)的结合的方法,其包括将细胞与根据权利要求1至7中任一项所述的肽或者根据权利要求8所述的药物组合物接触。

10.在细胞中减少淀粉样蛋白β的产生、减弱淀粉样蛋白β的活性、减少τ蛋白的产生或者减弱τ蛋白的活性的方法,其包括将所述细胞与根据权利要求1至7中任一项所述的肽或者根据权利要求8所述的药物组合物接触,其中任选地所述淀粉样蛋白β的活性是淀粉样蛋白β引起的信号转导,并且其中任选地所述τ蛋白的活性是τ蛋白引起的信号转导。

11.在受试者中减少淀粉样蛋白β的产生、减弱淀粉样蛋白β的活性、减少τ蛋白的产生或者减弱τ蛋白的活性的方法,其包括向所述受试者施用治疗有效量的根据权利要求1至7中任一项所述的肽或者根据权利要求8所述的药物组合物,其中任选地所述淀粉样蛋白β的活性是淀粉样蛋白β引起的信号转导,并且其中任选地所述τ蛋白的活性是τ蛋白引起的信号转导。

12.根据权利要求10或11所述的方法,其中所述淀粉样蛋白β是淀粉样蛋白β40。

13.根据权利要求10或11所述的方法,其中所述淀粉样蛋白β是淀粉样蛋白β42。

14.治疗受试者中的疾病或病症的方法,其包括向所述受试者施用治疗有效量的根据权利要求1至7中任一项所述的肽或者根据权利要求8所述的药物组合物。

15.根据权利要求14所述的方法,其中所述疾病或病症是淀粉样蛋白(或淀粉样蛋白β)相关疾病或病症、与淀粉样蛋白原纤维形成、聚集或沉积有关的疾病或病症、神经系统疾病或神经退行性疾病。

16.根据权利要求14所述的方法,其中所述疾病或病症选自阿尔茨海默氏病、帕金森氏病、创伤性脑损伤、肌萎缩性侧索硬化、多发性硬化和痴呆病。

17.根据权利要求14所述的方法,其中所述疾病或病症是痴呆病或痴呆病相关疾病或病症,其选自额颞叶痴呆、与皮克氏病有关的额颞叶变性、血管性痴呆、皮质基底核退化症、缺血性血管性痴呆(IVD)、路易体痴呆症和阿尔茨海默氏痴呆病。

18.根据权利要求14所述的方法,其中所述疾病或病症是眼部病症或唐氏综合症。

19.根据权利要求18所述的方法,其中所述眼部病症与阿尔茨海默氏病有关。

20.根据权利要求18所述的方法,其中所述眼部病症是黄斑变性,并且其中任选地,所述黄斑变性是年龄相关性黄斑变性(AMD)。

21.根据权利要求14所述的方法,其中所述疾病或病症选自传染性海绵状脑病、大脑淀粉样血管病、遗传性脑出血伴淀粉样变性、轻度认知障碍、散发性包涵体肌炎和年龄相关性黄斑变性。

22.用于改善受试者的记忆的方法,其包括向受试者施用治疗有效量的根据权利要求1至7中任一项所述的肽或者根据权利要求8所述的药物组合物。

23.根据权利要求11至22中任一项所述的方法,其中所述受试者是人受试者。

新型肽及其用途

[0001] 本发明是在国立卫生研究院(NIH)提供的R44AG043278政府支持下进行的。政府对本发明具有一定的权利。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本发明申请主张2019年1月7日提交的美国临时专利申请NO.62/789,114的权益，该专利申请以其全部内容作为参考并入本文。

[0004] 序列表

[0005] 本发明申请作为参考并入了作为于2020年1月3日创建并且大小为4,096字节的标题为14461-003-228_SEQ_LISTING.TXT的文本文件与本发明申请一起提交的序列表。

1.技术领域

[0006] 本文提供了结合至β-APP上的早老素1和/或早老素2结合域的新型肽和包含所述肽的药物组合物，它们的方法和用途。

2.背景技术

[0007] 神经退行性病症是以特定神经元群体的丧失和相应神经元功能的丧失为特征的进行性疾病。在多种神经退行性疾病中，阿尔茨海默氏病(AD)是最普遍的，其特征为进行性记忆损伤和认知减退。AD最典型的神经病理学标志是在患病大脑中存在淀粉样蛋白斑块和神经纤维缠结。前者是通过淀粉样蛋白β(Aβ)的胞外沉积形成的，淀粉样蛋白β是淀粉样蛋白前体蛋白(APP;参见Serrano-Pozo等人,2011,Cold Spring Harb Perspect Med.1,1,a006189)在γ-分泌酶切割后的蛋白水解产物(参见Zhang等人,2011,Mol.Brain 4,3)。

[0008] 早老素1和2(PS-1和PS-2)是γ-分泌酶的催化组分。在AD流行病学研究中，已在PS-1和PS-2中鉴别了超过150种不同的突变，它们与Aβ肽产生的调节有关(参见Haas等人,2012,Cold Spring Harb Perspect Med.2(5):a006270)。Aβ的产生和积累引起神经退行性事件级联，从而在AD中导致神经炎性斑块形式和神经元内纤维缠结以及神经元丧失(参见Greenfield等人,2000,Front.Biosci.5,D72-D83;Golde,2005,Brain Pathol.15,84-87)。

3.发明内容

[0009] 在一个方面，本文提供了一种肽，其包含(i)Ac-DEEEDEEL-NH_2序列(SEQ ID NO:3)，其中N末端氨基酸Asp乙酰化并且C末端氨基酸Leu酰胺化;(ii)

[0010] dEEEDEEL-NH_2序列(SEQ ID NO:4)，其中N末端氨基酸Asp为D-氨基酸并且C末端氨基酸Leu酰胺化;或者(iii)Ac-dEEEDEEL-NH_2序列(SEQ ID NO:5)，其中N末端氨基酸Asp为D-氨基酸且乙酰化并且C末端氨基酸Leu酰胺化。

[0011] 在一些实施方式中，所述肽包含Ac-DEEEDEEL-NH_2序列(SEQ ID NO:3)。在一些实施方式中，所述肽包含dEEEDEEL-NH_2序列(SEQ ID NO:4)。在其它实施方式中，所述肽包含Ac-dEEEDEEL-NH_2序列(SEQ ID NO:5)。

[0012] 在另一个方面，本文提供了包含含有SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5所

示的序列的第一域和第二域的肽。

[0013] 在一些实施方式中，所述第二域包含Fc域。在其它实施方式中，所述第二域包含纯化肽。

[0014] 在另一个方面，本文提供了包含本文所提供的肽和药物可用的赋形剂的药物组合物。

[0015] 在另一个方面，本文提供了减弱细胞中β-淀粉样前体蛋白(β-APP)与早老素-1(PS-1)和/或早老素-2(PS-2)的结合的方法，其包括将细胞与所述肽或本文所提供的药物组合物接触。

[0016] 在另一个方面，本文提供了减弱细胞中淀粉样蛋白β的产生的方法，其包括将细胞与所述肽或本文所提供的药物组合物接触。

[0017] 在另一个方面，本文提供了减弱受试者中淀粉样蛋白β水平的方法，其包括向所述受试者施用治疗有效量的所述肽或本文所提供的药物组合物。

[0018] 在一些实施方式中，所述淀粉样蛋白β是淀粉样蛋白β40。在其它实施方式中，所述淀粉样蛋白β是淀粉样蛋白β42。

[0019] 在另一个方面，本文提供了治疗受试者中疾病或病症的方法，其包括向所述受试者施用治疗有效量的所述肽或本文所提供的药物组合物。

[0020] 在一些实施方式中，所述疾病或病症是淀粉样蛋白(或淀粉样蛋白β)相关疾病或病症、与淀粉样蛋白原纤维形成、聚集或沉积有关的疾病或病症、神经系统疾病或神经退行性疾病。

[0021] 在一些实施方式中，所述疾病或病症选自阿尔茨海默氏病、帕金森氏症、创伤性脑损伤、肌萎缩性侧索硬化、多发性硬化和痴呆病。

[0022] 在一些实施方式中，所述疾病或病症是痴呆病或痴呆病相关疾病或病症，其选自额颞叶痴呆、与皮克病有关的额颞叶变性、血管性痴呆、皮质基底核退化症、缺血性血管性痴呆(IVD)、路易体痴呆症和阿尔茨海默氏痴呆病。

[0023] 在一些实施方式中，所述疾病或病症是眼部病症或唐氏综合症。在一些实施方式中，所述眼部病症与阿尔茨海默氏病有关。在其它实施方式中，所述眼部病症是黄斑变性。在一些实施方式中，所述黄斑变性是年龄相关性黄斑变性(AMD)。

[0024] 在一些实施方式中，所述疾病或病症选自传染性海绵状脑病、大脑淀粉样血管病、遗传性脑出血伴淀粉样变性、轻度认知障碍、散发性包涵体肌炎和年龄相关性黄斑变性。

[0025] 在另一个方面，本文提供了用于改善受试者的记忆的方法，其包括向所述受试者施用治疗有效量的所述肽或本文所提供的药物组合物。

[0026] 本文提供了减弱受试者中淀粉样蛋白β引起的活性的方法，其包括向所述受试者施用治疗有效量的所述肽或本文所提供的药物组合物。

[0027] 本文提供了抑制受试者中淀粉样蛋白β引起的活性的方法，其包括向所述受试者施用治疗有效量的所述肽或本文所提供的药物组合物。

[0028] 本文提供了减弱细胞中淀粉样蛋白β引起的活性的方法，其包括将所述细胞与治疗有效量的所述肽或本文所提供的药物组合物接触。

[0029] 本文提供了抑制受试者中τ蛋白的产生的方法，其包括向所述受试者施用治疗有效量的所述肽或本文所提供的药物组合物。在一个实施方式中，所述τ蛋白是磷酸化τ蛋白。

在另一个实施方式中,所述τ蛋白是过磷酸化τ蛋白。

[0030] 本文提供了减弱受试者中τ蛋白水平的方法,其包括向所述受试者施用治疗有效量的所述肽或本文所提供的药物组合物。在一个实施方式中,所述τ蛋白是磷酸化τ蛋白。在另一个实施方式中,所述τ蛋白是过磷酸化τ蛋白。

[0031] 本文提供了抑制细胞中τ蛋白的产生的方法,其包括将所述细胞与有效量的所述肽或本文所提供的药物组合物接触。在一个实施方式中,所述τ蛋白是磷酸化τ蛋白。在另一个实施方式中,所述τ蛋白是过磷酸化τ蛋白。

[0032] 本文提供了减弱受试者中τ蛋白引起的活性的方法,其包括向所述受试者施用治疗有效量的所述肽或本文所提供的药物组合物。

[0033] 在一些实施方式中,所述受试者是人受试者。

4.附图说明

[0034] 图1A-1D显示了IV(图1A和图B)和SC(图1C和图1D)施用后,大鼠血浆和CSF中的P8(圆形)和8M2D(正方形)的“平均浓度相对于时间”的谱图。

[0035] 图2显示了在转基因小鼠中SC施用后的平均8M2D(mP8)血浆浓度。

[0036] 图3显示了在实施例4中所描述的药效学(PD)测定结果,其表明8M2D可以比P8和8M1D更有效地降低Aβ40,其中对大鼠皮下施用不同的肽,并且在剂量施用后的不同时间点定量血浆中的Aβ40。

[0037] 图4A显示了多个脑区中的P8浓度。图4B显示了P8(左图)和8M2D(中间和右图)施用后,APP转基因小鼠的CSF中的Aβ分析。

[0038] 5.详细说明

[0039] 本发明公开提供了特异性结合至β-APP上的早老素1和/或早老素2结合域的新型肽和包含所述肽的药物组合物,它们的方法和用途。更具体地,本发明公开提供了可以抑制β-APP向Aβ的加工的肽,包含所述肽的药物组合物,它们的方法和用途。

[0040] 神经退行性病症是以特定神经元群体的丧失和相应神经元功能的丧失为特征的进行性疾病。出现神经退行性病症的最稳定的风险因素是衰老(参见Tanner,1992,Neurol.Clin.10:317-329)。这些神经退行性病症包括(例如)阿尔茨海默病(AD)、帕金森病(PD)、亨廷顿病(HD)和肌萎缩性侧索硬化(ALS)(参见Przedborski等人,2003,JClin Invest.111(1):3-10)。

[0041] 阿尔茨海默氏病(AD)是老年人中最普遍的神经退行性病症,其特征为进行性记忆损伤和认知减退。AD最典型的神经病理学标志是在患病大脑中存在淀粉样蛋白斑块和神经纤维缠结。前者是通过淀粉样蛋白β(Aβ)的胞外沉积所形成的,淀粉样蛋白β是淀粉样蛋白前体蛋白(APP)的蛋白水解产物(参见Serrano-Pozo等人,2011,Cold Spring Harb Perspect Med.1,1,a006189)。AD的一个亚组(<10%),家族性早发性AD(FAD)是常染色体显性病症,其在比散发病例更年轻的年龄出现临床可辨认的AD症状。已发现染色体1和14上编码早老素(PS-1和PS-2)的基因中的突变是造成大部分FAD病例的原因(参见Levy-Lahad等人,1995,Science 269,973-977;Sherrington等人,1995,Nature 375,754-760)。由于FAD和散发AD病例之间的病理学特征中的差异极小,因此据信PS-1和PS-2参与AD的一般性病理发生,包括构成大部分AD的散发病例(参见Zhang等人,2014,Front Cell Neurosci.8,

427)。

[0042] 已发现早老素1和2是γ-分泌酶的催化组分。γ-分泌酶属于膜内切割蛋白酶(i-CLiPs)家族,该家族成员在称为受调控的膜内蛋白水解的过程中在脂质双分子层平面内酶促切割它们的底物(Brown等人,2000,Cell 100,391-398;Kopan and Ilagan,2004,Nat.Rev.Mol.Cell Biol.5,499-504)。已证明γ-分泌酶切割多种底物,如APP。具体地,首先通过β-分泌酶将APP切割成可溶性APPβ(sAPPβ)和APP的羧基末端片段(CTF)。通过γ-分泌酶将CTF进一步切割以产生Aβ和APP的胞内域(AICD)。γ-分泌酶-介导的切割发生在多个位点,从而导致产生了不同种类的Aβ,如Aβ40和Aβ42(参见Zhang等人,2011,Mol.Brain 4,3)。

[0043] PS-1或PS-2中的缺陷影响γ-分泌酶的活性,因此改变了Aβ肽的产生并且改变了Aβ42相对于Aβ40的相对量(参见Haas等人,2012,Cold Spring Harb Perspect Med.2(5):a006270)。Aβ的产生和积累引起神经退行性事件级联,从而在多种疾病或病症,如AD中导致神经炎性斑块形成和神经元内纤维缠结以及神经元丧失(参见Greenfield等人,2000,Front.Biosci.5,D72-D83;Golde,2005,Brain Pathol.15,84-87)。

[0044] 除APP外,γ-分泌酶还切割多种其它I型跨膜蛋白底物:Notch(参见De Strooper等人,1999,Nature 398,518-522)、E-钙粘素(参见Marambaud等人,2002,EMBO J.21,1948-1956)、ErbB4(参见Ni等人,2001,Science 294,2179-2181)、CD44(参见Lammich等人,2002,J.Biol.Chem.277,44754-44759)、酪氨酸酶(参见Wang等人,2006,Proc.Natl.Acad.Sci.U S A 103,353-358)、TREM2(参见Wunderlich等人,2013,J.Biol.Chem.288,33027-33036)和Alcadein(参见Hata等人,2012,Mol.Neurodegener.7:16.10.1186/1750-1326-7-16)等,这表明γ-分泌酶参与了广泛的生物活动(参见Zhang等人,2014,Front Cell Neurosci.8,427)。因此,毫不意外,设计靶向γ-分泌酶的药物未在临床试验中显示出很大的前景。例如,在γ-分泌酶抑制剂(GSI)司马西特(semagacestat)的III期临床试验中,它对认知功能改善无效,其中接受高剂量的患者具有功能性能力的显著恶化。它还与更多不良事件,包括皮肤癌和感染有关(参见Doody等人,2013,N.Engl.J.Med.369,341-350)。甚至对于选择性结合APP,同时空出Notch的新型γ-分泌酶抑制剂,如来自Bristol-Myers-Squibb(BMS)的BMS-708,163(参见Gillman等人,2010,ACS Med Chem Lett 1:120-124)和来自Pfizer的PF-3,084,014(参见Lanz等人,2010,JPharmacol Exp Ther 334:269-277;De Strooper等人,2012,Cold Spring Harb Perspect Med.2(1):a006304),就临床试验中的进步而言,未看到进展。随后,在GSI失败后,整个行业转向开发γ-分泌酶调节剂(GSM)。第一代GSM显示出低效力和不被期望的神经药代动力学性质(参见Zhang等人,2014,Front Cell Neurosci.8,427)。唯一进入临床开发的第二代GSM,E2012,自2008年以来就没有来自其资助单位Eisai Medical Research Inc.的更新。因此,仍需要能够特异性干扰γ-分泌酶和βAPP的相互作用,同时不影响其它底物的新型治疗剂。

[0045] 如以下第6节所示,在某些实施方式中,本文所提供的肽通过竞争性占据βAPP上的酶结合位点来防止γ-分泌酶与βAPP的结合。由于本文所提供的肽结合至底物βAPP而不是靶向酶γ-分泌酶,因此它赋予所述肽无可比拟的特异性,这将很可能转化为优良的效力和安全性谱。本文所提供的肽有效地减少了Aβ40(例如,一次皮下施用24h后,8M2D显示出了将Aβ40减少约27%的持久效果)。本文所提供的肽在人新鲜血浆中也是相对稳定的(例如,培

育24hr后，保留率为约50％至90％)。此外，当通过不同途径在大鼠中施用时，本文所提供的肽具有稳健的药物动力学暴露。上述及其它性质使本文所提供的肽成为治疗与Aβ有关的多种疾病或病况(例如，AD)的有利候选。

[0046] 5.1定义

[0047] 为了帮助理解本文所述的公开内容，以下定义了一些术语。

[0048] 本文所描述或参考的技术和程序包括使用常规方法，本领域技术人员通常很好地理解和/或常用的那些技术和程序。

[0049] 除非在本文中另外定义，否则在本发明的描述中所使用的技术和科学术语具有本领域那些技术人员通常所理解的含义。出于解释本说明书的目的，术语的下列描述将适用，并且在任何适当的时候，以单数使用的术语还将包括复数，反之亦然。如果所述术语的任何描述与作为参考并入本文的任何文档冲突，则应以以下所述术语的描述为准。

[0050] 在本文中，术语“多肽”和“肽”和“蛋白”是可互换使用的并且表示任何长度的氨基酸的聚合物。所述聚合物可以是直链或支链的，它可以包含修饰的氨基酸，并且它可以被非氨基酸中断。所述术语还涵盖了已天然或通过干预修饰的氨基酸聚合物；例如，二硫键形成、糖基化、脂化、乙酰化、磷酸化或任何其它操作或修饰。例如，含有氨基酸的一种或多种类似物，包括(但不限于)非天然氨基酸以及本领域中已知的其它修饰的多肽也包括在该定义内。

[0051] 术语“结合(binds)”或“结合(binding)”表示分子之间的相互作用，包括(例如)为了形成复合物。相互作用可以是(例如)非共价相互作用，包括氢键、离子键、疏水相互作用和/或范德华相互作用。复合物还可以包括通过共价或非共价键、相互作用或作用力保持在一起的两种或更多种分子的结合。两个肽之间的总非共价相互作用的强度是一个肽对另一个肽的亲合力。肽对另一个肽的解离速率(koff)与结合速率(kon)的比值(koff/kon)是解离常数KD，它与亲合力逆相关。KD值越小，则亲合力越大。可以使用本文所提供的任何方法或者本领域技术人员熟知的任何其它方法确定肽对本文所提供的它的靶标的解离常数KD。

[0052] 当结合肽使用时，术语“变体”可以表示与天然或未修饰的序列相比，包含一个或多个(如约1至约5个)氨基酸序列替换、缺失和/或添加的肽或多肽。如本文所使用的，术语“变体”还包括肽中氨基酸残基/位置的“修饰”，并且氨基酸残基/位置的“修饰”是指与起始氨基酸序列相比，一级氨基酸序列的变化，其中所述变化是由包括所述氨基酸残基/位置的序列变化所造成的。例如，典型的修饰包括残基被另一个氨基酸(例如，保守或非保守替换)或其异构形式替换、氨基酸残基的化学修饰、邻近所述残基/位置的一个或多个(例如，通常少于5、4或3个)氨基酸的插入和/或所述残基/位置的缺失。

[0053] 术语“同一性”或“同源性”是指两个或更多个多肽分子或两个或更多个核酸分子的序列之间的关系，如通过序列比对和比较所确定的。将相对于参考多肽序列的“氨基酸序列同一性百分比(％)”定义为在序列比对并且引入缺口后与参考多肽序列中的氨基酸残基相同的候选序列中的氨基酸残基的百分比，如有必要，以实现最大序列同一性百分比，并且不将任何保守替换认为是序列同一性的一部分。出于确定氨基酸序列同一性百分比的目的，可以通过本领域技术范围内的多种方式实现比对，例如，使用公开可用的计算机软件，如BLAST、BLAST-2、ALIGN或MEGALIGN(DNAStar,Inc.)软件。本领域技术人员可以确定用于序列比对的适当参数，包括对正在比较的序列全长实现最大比对所需的任何算法。

[0054] 在本文中，术语“Fc区”用于定义免疫球蛋白重链的C末端区，其包括(例如)天然序列Fc区、重组Fc区和变体Fc区。尽管免疫球蛋白重链的Fc区的边界可能不同，但是人IgG重链Fc区通常定义在以从位置Cys226或Pro230处的氨基酸残基延伸至其羧基末端。例如，可以在抗体的产生或纯化期间或者通过重组工程设计编码抗体重链的核酸来除去Fc区的C末端赖氨酸(根据EU编号系统的残基447)。因此，完整抗体的组合物可以包含所有K447残基除去的抗体群体、K447残基未除去的抗体群体以及具有和不具有K447残基的抗体的混合物的抗体群体。“功能性Fc区”具有天然序列Fc区的“效应因子功能”。示例性“效应因子功能”包括C1q结合；CDC；Fc受体结合；ADCC；吞噬；细胞表面受体(例如，B细胞受体)下调等。这些效应因子功能通常需要Fc区与结合区或结合域(例如，抗体可变区或域)组合并且可以使用本领域技术人员已知的多种测定评价。“变体Fc区”包含借助于至少一种氨基酸修饰(例如，替换、添加或缺失)不同于天然序列Fc区的氨基酸序列。在某些实施方式中，与天然序列Fc区或亲代多肽的Fc区相比，变体Fc区在天然序列Fc区中或者在亲代多肽的Fc区中具有至少一个氨基酸替换，例如，约1至约10个氨基酸替换，或者约1至约5个氨基酸替换。在本文中，变体Fc区可以与天然序列Fc区和/或亲代多肽的Fc区具有至少约80％的同源性，或者与之具有至少约90％的同源性，例如，与之具有至少约95％的同源性。

[0055] 术语“载体”是指为了将核酸序列引入宿主细胞，用于携带或包括核酸序列，包括(例如)编码本文所提供的肽或其亲代肽的核酸序列的物质。适合使用的载体包括(例如)表达载体、质粒、噬菌体载体、病毒载体、附加体和人造染色体，其可以包括对于向宿主细胞的染色体中稳定整合可操作的选择序列或标志物。另外，所述载体可以包括一个或多个可选择标志物基因和适当的表达控制序列。可以被包括的可选择标志物基因(例如)提供了抗生素或毒素抗性、补充营养缺陷或者提供培养基中不存在的关键营养物。表达控制序列可以包括在本领域中熟知的组成型和诱导型启动子、转录增强子、转录终止子等。当共表达两种或更多种核酸分子时，两种核酸分子可以插入(例如)到单一表达载体或者不同的表达载体中。对于单一载体表达，所述编码核酸可以操作性地连接至一个公共表达控制序列或者连接至不同的表达控制序列，如一个诱导型启动子和一个组成型启动子。可以使用本领域中熟知的方法确认核酸分子向宿主细胞的引入。这些方法包括(例如)核酸分析，如mRNA的RNA印迹或聚合酶链反应(PCR)扩增，用于基因产物表达的免疫印迹法，或者其它适合的分析方法以测试所引入的核酸序列或其相应基因产物的表达。本领域技术人员应理解以足够的量表达所述核酸分子以产生所期望的产物，并且还应理解可以使用本领域中熟知的方法优化表达水平以获得足够的表达。

[0056] 如本文所使用的术语“宿主”是指动物，如哺乳动物(例如，人)。

[0057] 如本文所使用的术语“宿主细胞”是指可以用核酸分子转染的特定受试者细胞和这种细胞的子代或潜在子代。由于可能在核酸分子向宿主细胞基因组的成功产生或整合中发生的突变或环境影响，这种细胞的子代可以与用核酸分子转染的亲代细胞不相同。

[0058] “分离的核酸”是与其他基因组DNA序列以及蛋白或复合体如核糖体和聚合酶分离基本上分离的核酸，例如，RNA、DNA或混合的核酸，其天然伴随原生序列。“分离的”核酸分子是与存在于所述核酸分子的天然来源的其它核酸分子分离的核酸分子。此外，“分离的”核酸分子，如cDNA分子当通过重组技术产生时可以基本不含其它细胞材料或者培养基，或者当化学合成时，可以基本不含化学前体或其它化学品。该术语涵盖了已从它们的天然存在

的环境除去的核酸序列，并且包括重组或克隆的DNA分离物和化学合成的类似物或通过异源系统生物合成的类似物。基本纯的分子可以包括所述分子的分离形式。

[0059] 如在本文中可互换使用的“多核苷酸”或“核酸”是指具有任何长度的核苷酸的聚合物并且包括DNA和RNA。所述核苷酸可以是脱氧核糖核苷酸、核糖核苷酸、修饰的核苷酸或碱基和/或它们的类似物，或者可以通过DNA或RNA聚合酶或者通过合成反应引入聚合物的任何底物。多核苷酸可以包括修饰的核苷酸，如甲基化核苷酸和它们的类似物。如本文所使用的，“寡核苷酸”是指短的，通常单链的，合成多核苷酸，其长度通常，但不必需少于约200个核苷酸。术语“寡核苷酸”和“多核苷酸”不互相排斥。以上对于多核苷酸的描述等同且完全适用于寡核苷酸。除非另外具体说明，否则本文所公开的任何单链多核苷酸序列的左端是5’端；双-链多核苷酸序列的左手方向称为5’方向。新生RNA转录本的5’至3’添加方向被称为转录方向；在具有与所述RNA转录本相同的序列的DNA链上并且位于所述RNA转录本的5’端的5’方向的序列区域被称为“上游序列”；在具有与所述RNA转录本相同的序列的DNA链上并且位于所述RNA转录本的3’端的3’方向的序列区域被称为“下游序列”。“

[0060] 如本文所使用的，术语“药物可用的”表示联邦或州政府管理机构批准的或者美国药典、欧洲药典或其它通常承认的药典中所列的在动物，并且更具体地在人中使用的。

[0061] “赋形剂”是指药学上可接受的材料、组合物或媒介物，如液体或固体填充剂、稀释剂、溶剂或包封材料。赋形剂包括(例如)包封材料或添加剂，如吸收加速剂、抗氧化剂、粘结剂、缓冲剂、载体、涂层剂、着色剂、稀释剂、崩解剂、乳化剂、补充剂、填充剂、调味剂、稀释剂、润滑剂、香味剂、防腐剂、抛射剂、释放剂、灭菌剂、甜味剂、增溶剂、润湿剂及其混合物。术语“赋形剂”还可以表示稀释剂、佐剂(例如，弗氏佐剂(完全或不完全)或媒介物)。

[0062] 在一些实施方式中，赋形剂是药学上可接受的赋形剂。药学上可接受的赋形剂的实例包括缓冲剂，如磷酸盐、柠檬酸盐和其它有机酸；抗氧化剂，包括抗坏血酸；低分子量(例如，小于约10个氨基酸残基)多肽；蛋白，如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白；亲水聚合物，如聚乙烯吡咯烷酮；氨基酸，如甘氨酸、谷氨酰胺、天门冬酰胺、精氨酸或赖氨酸；单糖、二糖和其它碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合剂，如EDTA；糖醇，如甘露糖醇或山梨糖醇；成盐反离子，如钠；和/或非离子型表面活性剂，如TWEEN™、聚乙二醇(PEG)和PLURONICS™。药学上可接受的赋形剂的其它实例描述于Remington and Gennaro, Remington’s Pharmaceutical Sciences(第18版1990)。

[0063] 在一个实施方式中，在与药物制剂的其它成分相容的意义上，每个组分是“药学上可接受的”并且适合于与人和动物的组织或器官接触使用，而无过量的毒性、刺激、过敏反应、免疫原性或其它问题或并发症，其与合理的效益/风险比相称(参见Williams&Wilkins主编，2005，Handbook of Pharmaceutical Excipients，第6版；Rowe等人主编，2009，Handbook of Pharmaceutical Additives，第3版；Ash and Ash主编，2007，Pharmaceutical Preformulation and Formulation，第2版)。在一些实施方式中，药学上可接受的赋形剂在所使用的剂量和浓度对向其暴露的细胞或哺乳动物无毒。在一些实施方式中，药物可用的赋形剂是pH缓冲的水溶液。

[0064] 在一些实施方式中，赋形剂是无菌液体，如水和油剂，包括石油、动物、植物或合成来源的那些，如花生油、豆油、矿物油、芝麻油等。当静脉内施用组合物(例如，药物组合物)时，水是示例性赋形剂。盐溶液以及葡萄糖和甘油的水溶液也可以用作液体赋形剂，具体地

用于可注射溶液。赋形剂还可以包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、水稻、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石、氯化钠、脱脂奶粉、甘油、丙烯、乙二醇、水、乙醇等。如果需要，所述组合物还可以含有少量润湿剂或乳化剂，或者pH缓冲剂。组合物可以采取溶液、混悬液、乳液、片剂、丸剂、胶囊剂、粉剂、缓释制剂等的形式。口服组合物，包括制剂可以包括标准赋形剂，如药品级甘露糖醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、纤维素、碳酸镁等。

[0065] 组合物，包括药物肽，可以与适合的量的赋形剂一起含有(例如)处于分离或纯化形式的肽。

[0066] 如本文所使用的术语“有效量”或“治疗有效量”是指足以导致产生所期望的结局的本文所提供的肽或药物组合物的量。

[0067] 可以可互换地使用术语“受试者”和“患者”。如本文所使用的，在某些实施方式中，受试者是动物，如非灵长类动物(例如，牛、猪、马、猫、狗、大鼠等)或者灵长类动物(例如，猴和人)。在具体的实施方式中，受试者是人。在一个实施方式中，所述受试者是诊断患有病况或病症的哺乳动物，例如，人。在另一个实施方式中，所述受试者是处于发生病况或病症的风险的哺乳动物，例如，人。

[0068] “施用(Administer)”或“施用(administration)”是指将存在于体外的物质注射或另外物理递送到患者中的操作，如通过粘膜、皮内、静脉内、肌内递送和/或本文所描述的或者本领域中已知的任何其它物理递送方法。

[0069] 如本文所使用的，术语“治疗(treat)”、“治疗(treatment)”和“治疗(treating)”表示由于一种或多种疗法的施用所造成的疾病或病况的发展、严重程度和/或持续时间的减少或改善。可以通过评价是否存在与潜在病症有关的一种或多种症状的减少、减轻和/或缓解，从而对所述患者观察到改善来确定治疗，尽管所述患者仍可能受潜在病症所困。术语“治疗”包括控制和改善疾病两者。术语“控制(manage)”、“控制(managing)”和“控制(management)”是指受试者从疗法获得的有益影响，该有益影响不一定导致所述疾病治愈。

[0070] 术语“预防(prevent)”、“预防(preventing)”和“预防(prevention)”是指降低疾病、病症、病况或相关症状的发病(或复发)的可能性。

[0071] 术语“减轻(alleviate)”和“减轻(alleviating)”是指缓解或减少病症、疾病或病况的一种或多种症状(例如，疼痛)。该术语还可以表示减少与活性成分有关的不利影响。有时，受试者从预防或治疗剂所获得的有益影响不导致病症、疾病或病况的治愈。

[0072] 术语“接触(contacting)”或“接触(contact)”表示使治疗剂和细胞或组织在一起，从而由于这种接触而发生生理学和/或化学效果。接触可以体外、离体或体内发生。在一个实施方式中，治疗剂与细胞在细胞培养物(体外)中接触以确定所述治疗剂对所述细胞的影响。在另一个实施方式中，治疗剂与细胞或组织的接触包括向具有要接触的细胞或组织的受试者施用治疗剂。

[0073] 在某些实施方式中，本文所描述的肽减弱(例如，部分减弱)了淀粉样蛋白β的活性。在一些实施方式中，本文所提供的肽使淀粉样蛋白β的活性减弱至少约10％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使淀粉样蛋白β的活性减弱至少约20％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使淀粉样蛋白β的活性减弱至少约30％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使淀粉样蛋白β的活性减弱至少约40％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使淀粉样蛋白

β的活性减弱至少约50％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使淀粉样蛋白β的活性减弱至少约60％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使淀粉样蛋白β的活性减弱至少约70％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使淀粉样蛋白β的活性减弱至少约80％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使淀粉样蛋白β的活性减弱至少约90％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使淀粉样蛋白β的活性减弱至少约95％。在某些实施方式中，本文所描述的化合物可以使淀粉样蛋白β的活性减弱(例如，部分减弱)至少约15％至约65％。在某些实施方式中，本文所描述的化合物可以使淀粉样蛋白β的活性减弱(例如，部分减弱)至少约30％至约65％。

[0074] 在具体的实施方式中，通过本领域技术人员已知的方法评价淀粉样蛋白β的活性的减弱。在某些实施方式中，淀粉样蛋白β的活性的减弱是相对于在没有本文所描述的任何化合物，在存在刺激的情况下的淀粉样蛋白β的活性。

[0075] 淀粉样蛋白β的活性的非限制性实例是淀粉样蛋白β引起或介导的信号转导。因此，在某些实施方式中，本文所提供的化合物减弱(例如，部分减弱)了淀粉样蛋白β引起的信号转导。淀粉样蛋白β-引起的信号转导的另一个非限制性实例为与受体(包括(但不限于)葡萄糖运输蛋白、NMDAR、AMPAR和乙酰胆碱受体)的相互作用(包括阻断)、炎性信号通路的激活和一种或多种激酶(包括(但不限于)GSK-3、CDK5、PKC、PKA和Erk1/2)的激活。活性可以包括阻断离子通道、钙体内平衡破坏、线粒体氧化应激、能量代谢受损、异常葡萄糖调控和/或神经元细胞死亡。

[0076] 在某些实施方式中，本文所描述的肽减弱(例如，部分减弱)了τ蛋白的活性。在一些实施方式中，本文所提供的肽使τ蛋白的活性减弱了至少约10％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使τ蛋白的活性减弱了至少约20％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使τ蛋白的活性减弱了至少约30％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使τ蛋白的活性减弱了至少约40％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使τ蛋白的活性减弱了至少约50％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使τ蛋白的活性减弱了至少约60％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使τ蛋白的活性减弱了至少约70％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使τ蛋白的活性减弱了至少约80％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使τ蛋白的活性减弱了至少约90％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使τ蛋白的活性减弱了至少约95％。在某些实施方式中，本文所描述的化合物可以使τ蛋白减弱(例如，部分减弱)至少约15％至约65％。在某些实施方式中，本文所描述的化合物可以使τ蛋白减弱(例如，部分减弱)至少约30％至约65％。

[0077] 在具体的实施方式中，通过本领域技术人员已知的方法评价τ蛋白活性的减弱。在某些实施方式中，τ蛋白活性的减弱是相对于没有本文所描述的任何化合物的情况下的τ蛋白的活性的。

[0078] τ蛋白活性的非限制性实例是τ蛋白引起或介导的信号转导。因此，在某些实施方式中，本文所提供的化合物减弱(例如，部分减弱)了τ蛋白引起的信号转导。τ蛋白活性的非限制性实例包括与微管蛋白的相互作用以稳定微管、螺旋和/或直细丝的形成、炎性信号通路的激活和脑中胰岛素信号转导受损。

[0079] 术语“约”或“大约”表示如本领域的技术人员所确定的，对于特定值的可接受的误差，其部分取决于如何测量或确定该值。在某些实施方式中，术语“约”或“大约”表示在1、2、

3或4个标准偏差内。在某些实施方式中，术语“约”和“大约”表示在给定值或范围的20％之内，15％之内，10％之内，9％之内，8％之内，7％之内，6％之内，5％之内，4％之内，3％之内，2％之内，1％之内或以下。

[0080] 如本文所使用的术语“与淀粉样蛋白(或淀粉样蛋白β)有关的疾病或病症”、“淀粉样蛋白(或淀粉样蛋白β)相关疾病或病症”、“淀粉样蛋白(或淀粉样蛋白β)相关联的疾病或病症”或者类似术语是指其临床病理学特征包括异常量的淀粉样蛋白β(Aβ)或Aβ的不同同工型，包括单体、可溶性低聚物、不溶性原纤维和较大的不溶性聚集体，如Aβ斑块的任何疾病或病症。术语“Aβ”或“淀粉样蛋白β”在本文中是可互换使用的并且表示除APP(AICD)的胞内域以外，通过γ-分泌酶从β-APP切割的不同长度的任何产物。

[0081] 除非上下文明确规定，否则如在本发明公开和权利要求中所使用的，单数形式的“一个”和“所述”包括复数形式。

[0082] 应理解无论在本文中何处用术语“包含”描述了实施方式，另外还提供了通过“由其组成”和/或“基本由其组成”描述的类似实施方式。还应理解无论在本文中何处用短语“基本由其组成”描述了实施方式，另外还提供了通过“由其组成”描述的类似实施方式。

[0083] 如在短语如“在A与B之间”或“A-B之间”中所使用的术语“之间”是指包括A与B两者的范围。

[0084] 在本文中，如在短语如“A和/或B”中所使用的术语“和/或”旨在包括A和B两者；A或B；(单独的)A；和(单独的)B。同样地，如在短语如“A、B和/或C”中所使用的术语“和/或”旨在涵盖以下实施方式中的每一个：A、B和C；A、B或C；A或C；A或B；B或C；A和C；A和B；B和C；(单独的)A；(单独的)B；和(单独的)C。

[0085] 5.2肽

[0086] 我们先前已公开了包含DEEEDEEL序列(SEQ ID NO:1)的肽(“P8”)，它与具有β-APP结合活性的早老素-1的第66-73位氨基酸节段相同(参见PCT专利公开No.WO10/132609中的SEQ ID NO:5)。通过结合至β-APP，所述肽防止全长天然早老素-1结合至β-APP，因此以显性失活方式起作用以抑制通过早老素-1与β-APP的结合所介导的生物活性，借此防止Aβ形成。

[0087] 本文提供了作为P8的变体并且显示出意外的优良稳定性和/或高Aβ水平降低效率的新型肽。本文所提供的肽包括(但不限于)具有C末端酰胺化、N末端乙酰化和/或被D-氨基酸的部分替换的合成肽。

[0088] 更具体地，本文所提供的一种肽(名称8M1)包含含有对SEQ ID NO:1的C末端酰胺化(即C末端氨基酸Leu的酰胺化)的序列，并且所述肽包含序列Asp^{L}-Glu^{L}-Glu^{L}-Glu^{L}-Asp^{L}-Glu^{L}-Glu^{L}-Leu^{L}-$CONH_2$或DEEEDEEL-NH_2(SEQ ID NO:2)。

[0089] 本文所提供的另一种肽(名称8M2)包含其中将乙酰基添加至SEQ ID NO:2的N末端(即N末端氨基酸Asp的乙酰化)的序列，并且所述肽包含序列CH_3CO-NH-Asp^{L}-Glu^{L}-Glu^{L}-Glu^{L}-Asp^{L}-Glu^{L}-Glu^{L}-Leu^{L}-$CONH_2$或Ac-DEEEDEEL-NH_2(SEQ ID NO:3)。

[0090] 本文所提供的另一种肽(名称8M1D)包含用其D-氨基酸(L-氨基酸的对映异构体)替换SEQ ID NO:2的N末端的第一氨基酸的序列，并且所述肽包含序列Asp^{D}-Glu^{L}-Glu^{L}-Glu^{L}-Asp^{L}-Glu^{L}-Glu^{L}-Leu^{L}-$CONH_2$或dEEEDEEL-NH_2(SEQ ID NO:4)。

[0091] 本文所提供的另一种肽(名称8M2D)包含向SEQ ID NO:4的N末端添加乙酰基(即N末端氨基酸Asp^{D}的乙酰化)的序列，并且所述肽包含序列CH_3CO-NH-Asp^{D}-Glu^{L}-Glu^{L}-Glu^{L}-

Asp^{L}-Glu^{L}-Glu^{L}-Leu^{L}-$CONH_2$或Ac-dEEEDEEL-NH_2(SEQ ID NO:5)。

[0092] 在某些实施方式中,本文所提供的肽减弱了β-淀粉样前体蛋白(β-APP)与细胞中的早老素-1(PS-1)和/或早老素-2(PS-2)的结合。

[0093] 在一些实施方式中,本文所提供的肽将β-淀粉样前体蛋白(β-APP)与细胞中的早老素-1(PS-1)和/或早老素-2(PS-2)的结合减弱(例如,部分减弱)了至少约10%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将β-淀粉样前体蛋白(β-APP)与细胞中的早老素-1(PS-1)和/或早老素-2(PS-2)的结合减弱了至少约20%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将β-淀粉样前体蛋白(β-APP)与细胞中的早老素-1(PS-1)和/或早老素-2(PS-2)的结合减弱了至少约30%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将β-淀粉样前体蛋白(β-APP)与细胞中的早老素-1(PS-1)和/或早老素-2(PS-2)的结合减弱了至少约40%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将β-淀粉样前体蛋白(β-APP)与细胞中的早老素-1(PS-1)和/或早老素-2(PS-2)的结合减弱了至少约50%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将β-淀粉样前体蛋白(β-APP)与细胞中的早老素-1(PS-1)和/或早老素-2(PS-2)的结合减弱了至少约60%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将β-淀粉样前体蛋白(β-APP)与细胞中的早老素-1(PS-1)和/或早老素-2(PS-2)的结合减弱了至少约70%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将β-淀粉样前体蛋白(β-APP)与细胞中的早老素-1(PS-1)和/或早老素-2(PS-2)的结合减弱了至少约80%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将β-淀粉样前体蛋白(β-APP)与细胞中的早老素-1(PS-1)和/或早老素-2(PS-2)的结合减弱了至少约90%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将β-淀粉样前体蛋白(β-APP)与细胞中的早老素-1(PS-1)和/或早老素-2(PS-2)的结合减弱了至少约95%。

[0094] 在某些实施方式中,本文所提供的肽减弱(例如,部分减弱)了细胞中淀粉样蛋白β(Aβ)的产生。在一些实施方式中,本文所提供的肽将细胞中Aβ的产生减弱了至少约10%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将细胞中Aβ的产生减弱了至少约20%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将细胞中Aβ的产生减弱了至少约30%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将细胞中Aβ的产生减弱了至少约40%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将细胞中Aβ的产生减弱了至少约50%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将细胞中Aβ的产生减弱了至少约60%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将细胞中Aβ的产生减弱了至少约70%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将细胞中Aβ的产生减弱了至少约80%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将细胞中Aβ的产生减弱了至少约90%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将细胞中Aβ的产生减弱了至少约95%。

[0095] 在某些实施方式中,本文所提供的肽减弱(例如,部分减弱)了受试者中淀粉样蛋白β(Aβ)的产生。在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者血浆中Aβ的量减少了至少约10%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者血浆中Aβ的量减少了至少约20%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者血浆中Aβ的量减少了至少约30%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者血浆中Aβ的量减少了至少约40%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者血浆中Aβ的量减少了至少约50%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者血浆中Aβ的量减少了至少约60%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者血浆中Aβ的量减少了至少约70%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者血浆中Aβ的量减少了至少约80%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者血浆中Aβ的量减少

了至少约90％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者血浆中Aβ的量减少了至少约95％。

[0096] 在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者CSF中Aβ的量减少了至少约10％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者CSF中Aβ的量减少了至少约20％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者CSF中Aβ的量减少了至少约30％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者CSF中Aβ的量减少了至少约40％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者CSF中Aβ的量减少了至少约50％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者CSF中Aβ的量减少了至少约60％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者CSF中Aβ的量减少了至少约70％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者CSF中Aβ的量减少了至少约80％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者CSF中Aβ的量减少了至少约90％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者CSF中Aβ的量减少了至少约95％。

[0097] 在某些实施方式中，本文所描述的肽减弱(例如，部分减弱)了淀粉样蛋白β的活性。淀粉样蛋白β的活性的非限制性实例是淀粉样蛋白β引起或介导的信号转导。因此，在某些实施方式中，本文所提供的肽减弱(例如，部分减弱)了淀粉样蛋白β引起的信号转导。淀粉样蛋白β引起的信号转导的另一个非限制性实例为与受体(包括(但不限于)葡萄糖运输蛋白、NMDAR、AMPAR和乙酰胆碱受体)的相互作用(包括阻断)、炎性信号通路的激活和一种或多种激酶(包括(但不限于)GSK-3、CDK5、PKC、PKA和Erk1/2)的激活。活性可以包括阻断离子通道、钙体内平衡破坏、线粒体氧化应激、能量代谢受损、异常葡萄糖调控和/或神经元细胞死亡。

[0098] 在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约10％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约20％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约30％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约40％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约50％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约60％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约70％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约80％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约90％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约95％。

[0099] 在一些实施方式中，本文所提供的肽将受试者中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约10％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将受试者中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约20％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将受试者中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约30％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将受试者中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约40％。在一些实施方式中，本文

所提供的肽将受试者中淀粉样蛋白β的活性(例如,淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约50%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将受试者中淀粉样蛋白β的活性(例如,淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约60%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将受试者中淀粉样蛋白β的活性(例如,淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约70%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将受试者中淀粉样蛋白β的活性(例如,淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约80%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将受试者中淀粉样蛋白β的活性(例如,淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约90%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将受试者中淀粉样蛋白β的活性(例如,淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约95%。

[0100] 在某些实施方式中,本文所提供的肽减弱(例如,部分减弱)了细胞中τ蛋白的产生。在一些实施方式中,本文所提供的肽将细胞中Tau的产生减弱了至少约10%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将细胞中Tau的产生减弱了至少约20%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将细胞中Tau的产生减弱了至少约30%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将细胞中Tau的产生减弱了至少约40%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将细胞中Tau的产生减弱了至少约50%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将细胞中Tau的产生减弱了至少约60%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将细胞中Tau的产生减弱了至少约70%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将细胞中Tau的产生减弱了至少约80%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将细胞中Tau的产生减弱了至少约90%。在一些实施方式中,本文所提供的肽将细胞中Tau的产生减弱了至少约95%。

[0101] 在某些实施方式中,本文所提供的肽减弱(例如,部分减弱)了受试者中τ的产生。在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者血浆中Tau的量减少了至少约10%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者血浆中Tau的量减少了至少约20%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者血浆中Tau的量减少了至少约30%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者血浆中Tau的量减少了至少约40%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者血浆中Tau的量减少了至少约50%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者血浆中Tau的量减少了至少约60%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者血浆中Tau的量减少了至少约70%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者血浆中Tau的量减少了至少约80%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者血浆中Tau的量减少了至少约90%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者血浆中Tau的量减少了至少约95%。

[0102] 在某些实施方式中,本文所描述的肽减弱(例如,部分减弱)了τ蛋白的活性。τ蛋白活性的非限制性实例是τ蛋白引起或介导的信号转导。因此,在某些实施方式中,本文所提供的肽减弱(例如,部分减弱)了τ蛋白引起的信号转导。τ蛋白活性的非限制性实例包括与微管蛋白的相互作用以稳定微管、螺旋和/或直细丝的形成、炎性信号通路的激活和脑中胰岛素信号转导受损。

[0103] 在一些实施方式中,本文所提供的肽使细胞中τ蛋白活性(例如,τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约10%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使细胞中τ蛋白活性(例如,τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约20%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使细胞中τ蛋白活性(例如,τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约30%。在一些实施方式中,本文所提

供的肽使细胞中τ蛋白活性(例如,τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约40%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使细胞中τ蛋白活性(例如,τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约50%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使细胞中τ蛋白活性(例如,τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约60%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使细胞中τ蛋白活性(例如,τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约70%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使细胞中τ蛋白活性(例如,τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约80%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使细胞中τ蛋白活性(例如,τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约90%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使细胞中τ蛋白活性(例如,τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约95%。

[0104] 在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者中τ蛋白活性(例如,τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约10%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者中τ蛋白活性(例如,τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约20%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者中τ蛋白活性(例如,τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约30%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者中τ蛋白活性(例如,τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约40%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者中τ蛋白活性(例如,τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约50%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者中τ蛋白活性(例如,τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约60%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者中τ蛋白活性(例如,τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约70%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者中τ蛋白活性(例如,τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约80%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者中τ蛋白活性(例如,τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约90%。在一些实施方式中,本文所提供的肽使受试者中τ蛋白活性(例如,τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约95%。

[0105] 在一些实施方式中,本文所提供的肽包括上述肽的变体。

[0106] 在一些实施方式中,考虑了本文所提供的肽的氨基酸序列修饰。例如,可以期望改变或改善所述肽的某些生物性质,包括(但不限于)热稳定性、表达水平、糖基化和/或降低的免疫原性。因此,除本文所描述的肽之外,考虑可以制备肽变体。例如,可以通过将适当的核苷酸变化引入母体肽的编码DNA和/或通过所期望的肽的合成制备肽变体。

[0107] 变化可以是导致氨基酸序列变化的编码母体肽的一个或多个密码子的替换、缺失或插入。氨基酸替换可以是由于一个氨基酸被具有类似结构和/或化学性质的另一个氨基酸替换,如亮氨酸被丝氨酸替换,例如,保守氨基酸替换。本领域技术人员已知的标准技术可以用于在编码本文所提供的分子的核苷酸序列中引入突变,包括(例如)导致氨基酸替换的定点突变和PCR介导的突变。替换、插入或缺失可以任选地在约1至5个氨基酸的范围内。在某些实施方式中,替换、缺失或插入包括相对于原始分子,少于10个氨基酸的替换、少于5个氨基酸的替换、少于4个氨基酸的替换、少于3个氨基酸的替换或者少于2个氨基酸的替换。在具体的实施方式中,所述替换是在一个或多个预测的非必需氨基酸残基处做出的保守氨基酸替换。可以通过对序列中的氨基酸系统地进行插入、缺失或替换并对所产生的变体测试全长或成熟天然序列所显示出的活性来确定允许的变化。

[0108] “保守氨基酸替换”是其中氨基酸残基被具有带类似电荷的侧链的氨基酸残基替换的替换。在本领域中定义了具有带类似电荷的侧链的氨基酸残基家族。这些家族包括具

有碱性侧链(例如,赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、酸性侧链(例如,天门冬氨酸、谷氨酸)、不带电的极性侧链(例如,甘氨酸、天门冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸)、非极性侧链(例如,丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸、色氨酸)、β-支链侧链(例如,苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和芳烃侧链(例如,酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)的氨基酸。作为另外一种选择,可以沿全部编码序列或其一部分随机引入突变,如通过饱和突变,并且可以对所得突变体筛选生物活性以鉴别保留活性的突变体。在突变后,可以表达编码蛋白,并且可以确定蛋白活性。

[0109] 可以根据它们的侧链的性质的相似性对氨基酸分组(参见Lehninger,Biochemistry73-75(第2版,1975)):(1)非极性:Ala(A)、Val(V)、Leu(L)、Ile(I)、Pro(P)、Phe(F)、Trp(W)、Met(M);(2)不带电荷的极性:Gly(G)、Ser(S)、Thr(T)、Cys(C)、Tyr(Y)、Asn(N)、Gln(Q);(3)酸性:Asp(D)、Glu(E);和(4)碱性:Lys(K)、Arg(R)、His(H)。作为另外一种选择,可以基于常见的侧链性质对天然存在的残基分组:(1)疏水性:正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile;(2)中性亲水性:Cys、Ser、Thr、Asn、Gln;(3)酸性:Asp、Glu;(4)碱性:His、Lys、Arg;(5)影响链取向的残基:Gly、Pro;和(6)芳香族:Trp、Tyr、Phe。

[0110] 在一个实施方式中,本文所提供的肽包括与以下实施例节中所描述的肽的氨基酸序列具有至少70%,至少75%,至少80%,至少85%,至少90%,至少95%或者至少99%的同一性的氨基酸序列。

[0111] 可以使用本领域中已知的方法做出变化,如寡核苷酸介导的(定点)突变、丙氨酸扫描和PCR突变。定点突变(参见Carter,1986,Biochem J.237:1-7;和Zoller等人,1982,Nucl.Acids Res.10:6487-500)、盒式诱变(参见Wells等人,1985,Gene 34:315-23)或者其它已知的技术可以实施于克隆的DNA以产生母体肽的变体DNA。

[0112] 本发明公开涵盖了包括本文所提供的肽的低聚物或融合多肽。在一些实施方式中,所述低聚物包括本文所提供的肽。低聚物可以处于共价连接或非共价连接的多聚体的形式,包括二聚体、三聚体或更高的低聚物。在一些实施方式中,所述低聚物维持了多肽组分的结合能力并因此提供了二价、三价等结合位点。在一些实施方式中,本发明公开涉及包括通过融合至多肽(这些肽具有促进寡聚的性质)的肽部分之间的共价或非共价相互作用连接的多个本文所提供的肽的低聚物。

[0113] 本发明公开还提供了包含通过合成接头共价结合至一种或多种试剂的本发明公开所述的肽中的任一种的缀合物。

[0114] 在一些实施方式中,本文所提供的肽缀合或重组融合(例如)至另一种治疗剂(例如,细胞毒性剂)或者诊断或可检测分子。所述缀合或重组融合的肽可以对于(例如)疾病或病症的治疗或预防是有用的。所述缀合或重组融合的肽可以对于(例如)疾病或病症的发病、发展、进展和/或严重程度的监测或预后是有用的。

[0115] 可以(例如)通过将所述肽偶联至可检测物质来完成这种诊断和检测,所述可检测物质包括(但不限于)多种酶,如(但不限于)辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、β-半乳糖苷酶或乙酰胆碱酯酶;辅基,如(但不限于)抗生蛋白链菌素/生物素或抗生物素蛋白/生物素;荧光材料,如(但不限于)伞形酮、荧光素、异硫氰酸荧光素、罗丹明、二氯三嗪胺荧光素、丹磺酰氯或藻红蛋白;发光材料,如(但不限于)鲁米诺;生物发光材料,如(但不限于)荧光素酶、萤光素或水母发光蛋白;化学发光材料,如(但不限于)吖啶鎓基化合物或HALOTAG;放射性材

料，如(但不限于)碘(131I、125I、123I和121I)、碳(14C)、硫(35S)、氚(3H)、铟(115In、113In、112In和111In)、锝(99Tc)、铊(201Ti)、镓(68Ga和67Ga)、钯(103Pd)、钼(99Mo)、氙(133Xe)、氟(18F)、153Sm、177Lu、159Gd、149Pm、140La、175Yb、166Ho、90Y、47Sc、186Re、188Re、142Pr、105Rh、97Ru、68Ge、57Co、65Zn、85Sr、32P、153Gd、169Yb、51Cr、54Mn、75Se、113Sn或117Sn;使用多种正电子发射断层术的正电子发射金属;和非放射性顺磁金属离子。

[0116] 本文还提供了重组融合或化学缀合(共价或非共价缀合)至异源蛋白质或多肽(或其片段，例如，至具有约10、约20、约30、约40、约50、约60、约70、约80、约90或约100个氨基酸的多肽)以产生融合蛋白的肽及其用途。具体地，本文提供了包含本文所提供的肽和异源蛋白质、多肽或肽的融合蛋白。在一个实施方式中，本文所提供的肽所融合至的异源蛋白质、多肽或肽对于将所述肽靶向特定细胞类型是有用的。

[0117] 本发明公开涵盖了基于免疫球蛋白的低聚物。出于多种目的，包括提高多肽结合位点的价，本文所提供的肽可以融合至分子，如免疫球蛋白。例如，本文所提供的肽可以直接或通过接头肽融合至免疫球蛋白的Fc部分，其中所述免疫球蛋白可以是IgG分子或者其它同种型，如IgM分子。如本文所使用的术语“Fc多肽”包括由包括Fc区的任何或全部CH域的抗体的Fc区所组成的多肽的天然和突变形式。

[0118] 此外，本文所提供的肽可以融合至标志物或“标签”序列，如肽，以帮助纯化。在具体的实施方式中，所述标志物或标签氨基酸序列是六组氨酸肽，如pQE载体(参见，例如，QIAGEN,Inc.)中所提供的标签等，它们中的多个是可商购的。例如，如Gentz等人,1989,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 86:821-24中所述，六组氨酸提供了方便的融合蛋白的纯化。用于纯化的其它肽标签包括(但不限于)血球凝集素(“HA”)标签，其对应于来源于流感血球凝集素蛋白的表位(参见Wilson等人,1984,Cell 37:767-78)和“FLAG”标签。

[0119] 用于将部分(包括多肽)融合或缀合至肽的方法在本领域中是已知的。可以(例如)通过基因改组、基序改组、外显子改组和/或密码子改组(统称为“DNA改组”)的技术产生融合蛋白。可以在重组之前通过经由易错PCR、随机核苷酸插入或其它方法所进行的随机突变来改变本文所提供的肽。编码本文所提供的肽的多核苷酸可以与一种或多种异源分子的一种或多种组分、基序、部分(section)、部分(part)、域、片段等重组。

[0120] 如本文所提供的肽还可以附接至固体载体，所述固体载体对于免疫测定或结合配偶体的纯化是特别有用的。这些固体载体包括(但不限于)玻璃、纤维素、聚丙烯酰胺、尼龙、聚苯乙烯、聚氯乙烯或聚丙烯。

[0121] 所述接头可以是“可切割接头”，其有助于缀合试剂在细胞中的释放，但是在本文中也考虑了不可切割接头。用于在本发明公开的缀合物中使用的接头包括但不限于酸不稳定接头(例如，腙接头)、含有二硫键的接头、肽酶敏感性接头(例如，包含氨基酸，例如，缬氨酸和/或瓜氨酸的肽接头，如瓜氨酸-缬氨酸或苯丙氨酸-赖氨酸)、光不稳定接头、二甲基接头(参见Chari等人,1992,Cancer Res.52:127-31;和美国专利No.5,208,020)、硫醚接头或设计以逃避多药转运蛋白-介导的耐受性的亲水性接头(参见Kovtun等人,2010,Cancer Res.70:2528-37)。

[0122] 可以使用多种双官能蛋白偶联剂制备肽和试剂的缀合物，如BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、磺基-EMCS、磺基-GMBS、磺基-KMUS、磺基-MBS、磺基-SIAB、磺基-SMCC、磺基-SMPB和SVSB(琥珀酰亚胺基-(4-乙烯基砜)苯

甲酸酯)。本发明公开还考虑可以使用如本领域中所公开的任何适合的方法制备肽和试剂的缀合物(参见Hermanson主编,2008,Bioconjugate Techniques第2版)。

[0123] 5.3药物组合物

[0124] 在一个方面,本发明公开还提供了包含本发明公开所述的至少一种肽的药物组合物。在一些实施方式中,药物组合物包含治疗有效量的本文所提供的肽和药学上可接受的赋形剂。

[0125] 通过将具有所期望的纯度的融合蛋白与任选的生理学可用的赋形剂(参见Remington,1980,Remington's Pharmaceutical Sciences,第18版)以水溶液或冻干形式或其它干燥形式混合,制备了用于储存的包含肽的药物组合物。

[0126] 可以以用于递送至靶细胞/组织的任何适合形式,例如,作为微胶囊或粗乳液(Remington,如上;参见Park等人,2005,Molecules 10:146-61;Malik等人,2007,Curr.Drug.Deliv.4:141-51),作为缓释制剂(参见Putney and Burke,1998,Nature Biotechnol.16:153-57)或者以脂质体(参见Maclean等人,1997,Int.J.Oncol.11:325-32;Kontermann,2006,Curr.Opin.Mol.Ther.8:39-45)配制本发明公开所述的肽。

[0127] 本文所提供的肽还可以被包埋在(例如)通过凝聚技术或通过界面聚合所制备的微胶囊中,例如,分别在胶体药物递送系统中的羟甲基纤维素或明胶-微胶囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊,(例如,脂质体、白蛋白微球体、微乳液、纳米颗粒和纳米胶囊)或者粗乳液中。例如,在Remington,如上中公开了这些技术。

[0128] 多种组合物和递送系统是已知的并且可以与本文所描述的肽一起使用,其包括(但不限于)在脂质体中的包封、微颗粒、微胶囊、能够表达所述肽的重组细胞、受体介导的内吞(参见Wu and Wu,1987,J.Biol.Chem.262:4429-32)、作为反转录病毒或其它载体的一部分的核酸的构建等。在另一个实施方式中,可以作为控释或缓释系统提供组合物。在一个实施方式中,可以使用泵来实现控释或缓释(参见Langer,如上;Sefton,1987,Crit.Ref.Biomed.Eng.14:201-40;Buchwald等人,1980,Surgery 88:507-16;和Saudek等人,1989,N.Engl.J.Med.321:569-74)。在另一个实施方式中,可以使用聚合物材料来实现预防或治疗剂(例如,本文所描述的肽)或者本文提供的组合物的控释或缓释(参见Langer and Wise主编,1974,Medical Applications of Controlled Release;Smolen and Ball主编,1984,Controlled Drug Bioavailability,Drug Product Design and Performance;Ranger and Peppas,1983,J.Macromol.Sci.Rev.Macromol.Chem.23:61-126;Levy等人,1985,Science 228:190-92;During等人,1989,Ann.Neurol.25:351-56;Howard等人,1989,J.Neurosurg.71:105-12;美国专利No.5,679,377;5,916,597;5,912,015;5,989,463;和5,128,326;PCT专利公开No.WO 99/15154和WO 99/20253)。在缓释制剂中使用的聚合物的实例包括(但不限于)聚(2-羟基甲基丙烯酸乙酯)、聚(甲基丙烯酸甲酯)、聚(丙烯酸)、聚(亚乙基-共-醋酸乙烯酯)、聚(甲基丙烯酸)、聚乙交酯(PLG)、聚酐、聚(N-乙烯基吡咯烷酮)、聚(乙烯醇)、聚丙烯酰胺、聚(乙二醇)、聚交酯(PLA)、聚(丙交酯-共-乙交酯)(PLGA)和聚原酸酯。在一个实施方式中,在缓释制剂中使用的聚合物是惰性的,不含可浸出杂质,储存稳定,无菌且生物可降解。

[0129] 在另一个实施方式中,可以将控释或缓释系统置于特定靶组织附近,例如,鼻部通道或肺,因此仅需要全身剂量的一部分(参见Goodson,1984,Medical Applications of

Controlled Release第2卷,115-38)。例如,Langer,1990,Science 249:1527-33讨论了控释系统。本领域技术人员已知的任何技术可以用于生产包含一种或多种如本文所描述的肽的缓释制剂(参见美国专利No.4,526,938,PCT专利公开No.WO 91/05548和WO96/20698,Ning等人,1996,Radiotherapy&Oncology 39:179-89;Song等人,1995,PDA J.of Pharma.Sci.&Tech.50:372-97;Cleek等人,1997,Pro.Int'l.Symp.Control.Rel.Bioact.Mater.24:853-54;和Lam等人,1997,Proc.Int'l.Symp.Control Rel.Bioact.Mater.24:759-60)。

[0130] 5.4制备肽的方法

[0131] 在另一个方面,本文提供了制备多种本文所提供的肽的方法。可以通过多种化学合成方法、重组方法或其组合制备本文所提供的肽。

[0132] 可以通过已知的常规化学合成生产本文所提供的肽。用于通过合成方式构建本发明公开的肽的方法是本领域技术人员已知的。通过与天然肽共有一级、二级或三级结构和/或构象特征,合成构建的肽可以具有与之共同的生物性质,包括肽活性。

[0133] 在一些实施方式中,可以使用常规的逐步方案或者固相合成制备本文所提供的肽(参见Merrifield,R.B.,1963,J.Am.Chem.Soc.85:2149-2154;Williams等人主编,1997,Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins和其中引用的参考文献;Atherton&Sheppard主编,1989,Solid Phase Peptide Synthesis:A Practical Approach和其中引用的参考文献)。

[0134] 作为另外一种选择,可以通过节段缩合(segment condensation)制备本文所提供的肽,如(例如)Liu等人,1996,Tetrahedron Lett.37(7):933-936;Baca,等人,1995,J.Am.Chem.Soc.117:1881-1887;Tam等人,1995,Int.J.Peptide Protein Res.45:209-216;Schnolzer and Kent,1992,Science 256:221-225;Liu and Tam,1994,J.Am.Chem.Soc.116(10):4149-4153;Liu and Tam,1994,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 91:6584-6588;Yamashiro and Li,1988,Int.J.Peptide Protein Res.31:322-334中所述。具体地,对于含有Gly(G)的肽,情况就是这样。在Nakagawa等人,1985,J.Am.Chem.Soc.107:7087-7092中描述了对于合成本发明所述的肽和肽类似物有用的其它方法。

[0135] 可以用一种或多种(D)-氨基酸合成本文所提供的肽。在肽中包含(L)-或(D)-氨基酸的选择部分取决于所述肽所期望的特征。用对映体(D)-氨基酸的相应序列对所有或部分具有(L)-氨基酸的序列的替换使得肽链的相应部分具有光学异构结构。将所有或部分具有(L)-氨基酸的序列的序列倒转(inversion)提供了肽的逆向-类似物(retro-analogue)。对映体(L至D或D至L)替换和序列倒转的组合提供了肽的逆向-倒转-类似物(retro-inverso-analogue)。本领域技术人员已知对映体肽、它们的逆向-类似物和它们的逆向-倒转-类似物可以维持与母体肽的显著拓扑关系,并且对于母体及其逆向-倒转-类似物经常获得特别高的相似程度。这种关系和相似性可以反映在肽的生物化学性质中,特别是相应肽和类似物与受体蛋白的高结合程度中。肽的逆向-倒转-类似物的性质的合成已在(例如)Methods of Organic Chemistry(Houben-Weyl),Synthesis of Peptides and Peptidomimetics-Workbench Edition第E22c卷(主编Goodman M.)2004(George Thieme Verlag Stuttgart,New York)以及其中所引用的参考文献中进行了讨论,所有文献以其全部内容作为参考并入本文。

[0136] 氨基酸修饰包括天然存在的氨基酸的改变以产生非天然存在的氨基酸。可以通过化学合成或者通过在生物合成期间向肽中位点特异性掺入非天然氨基酸来产生具有非天然存在的氨基酸的本发明所述的肽的衍生物，如Christopher J.Noren,Spencer J.Anthony-Cahill,Michael C.Griffith,Peter G.Schultz,1989Science,244:182-188中所述，该文献以其全部内容作为参考并入本文。

[0137] 与治疗有用的肽结构类似的肽模拟物可以用于产生等价的治疗或预防作用。通常，拟肽与范例多肽(即具有生物化学性质或药理学活性的多肽)结构类似，但具有一个或多个任选地被选自下列的键替代的肽键：-CH2-NH-、-CH2S-、-CH2-CH2-、-CH＝CH-(顺式和反式)、-COCH2-、-CH(OH)CH2-和-CH2SO-，所述替代是通过本领域中已知的并且在以下参考文献中进一步描述的方法进行的：Spatola,1983,Peptide Backbone Modifications;Morely,1098,Trends Pharma Sci,第463-468页;Hudson等人,1979,Int JPept Prot Re 14:177-185(--CH2—NH--、--CH2—CH2--);Spatola等人,1986,Life Sci38:1243-1249(--CH2—S--);Hann,1982,J.Chem.Soc.Perkin.Trans.I 307-314(--CH＝CH--，顺式和反式);Almquist等人,1980,J.Med.Chem.23:1392(--COCH2--);Jennings-White等人,1982,Tetrahedron Lett 23:2533(--COCH2--);Szelke等人,1982,European Appln.EP 45665CA:97:39405(--CH(OH)CH2--);Holladay等人,1983,Tetrahedron Lett 24:4401-4404(--C(OH)CH2--);和Hruby,1982,Life Sci 31:189-199(--CH2—S--);以上每篇文献作为参考并入本文。

[0138] 在另一个实施方式中，特别优选的非肽键为-CH2NH-。与肽实施方式相比，这些肽模拟物可以具有显著的优势，包括(例如)更经济的生产、更好的化学稳定性、提高的药理学性质(半衰期、吸收、效力、功效等)、改变的特异性(例如，生物活性的广谱性)、降低的抗原性等。

[0139] 多种肽模拟物的设计是可能的。例如，具体地考虑了其中通过非肽稳定必要的构象的环肽，美国专利No.5,192,746至美国专利No.5,576,423至美国专利No.5,051,448和美国专利No.5,559,103(所有专利作为参考并入本文)描述了多种用于产生这些肽的方法。模拟肽序列的非肽的肽的合成在本领域中也是已知的。(参见Eldred等人,1994,J.Med.Chem.37:3882，该文献以其全部内容作为参考并入本文)描述了模拟肽序列的非肽拮抗剂。同样地，它进一步阐明了一系列这类肽的合成(参见Ku等人,1995,J.Med.Chem 38:9，该文献以其全部内容作为参考并入本文)。

[0140] 合成后可以进行进一步的修饰。根据20030072737-A1(2003年4月17日公开)公开了化学修饰的EPO的美国专利申请No.10/188,905并且根据2003年7月1日提交的美国专利申请No.10/612,665和2000年12月29日提交的美国专利申请No.09/753,132(以上专利以其全部内容作为参考并入本文)，可以进一步化学修饰肽，即氨甲酰化、乙酰化、琥珀酰化、胍基化、硝化、三硝基苯基化、酰胺化(amidinated)等。

[0141] 另外，所述肽可以由重组肽—突变蛋白组成。所公开的突变可以包括氨基酸序列内和/或附近的氨基酸残基的替换、缺失(包括内部缺失)、添加(包括获得融合蛋白的添加)或保守替换，但是这些突变不会导致“沉默”变化和非保守氨基酸变化以及更大的插入和缺失，如先前在标题为“Recombinant Tissue Protective Cytokines and Encoding Nucleic Acids Thereof for Protection,Restoration,and Enhancement of

Responsive Cells,Tissues,and Organs”的PCT/US03/20964中所公开的(该专利以其全部内容作为参考并入本文)。

[0142] 可以在一个或多个氨基酸残基处发生保守或非保守氨基酸替换。可以进行保守和非保守替换两者。保守替换是在它们的侧链相关的氨基酸家族内发生的那些替换。遗传编码的氨基酸可以分成4个家族:(1)酸性=Asp(D)、Glu(G);(2)碱性=Lys(K)、Arg(R)、His(H);(3)非极性(疏水性)=Cys(C)、Ala(A)、Val(V)、Leu(L)、Ile(I)、Pro(P)、Phe(F)、Met(M)、Trp(W)、Gly(G)、Tyr(Y);和(4)不带电且极性=Asn(N)、Gln(Q)、Ser(S)、Thr(T)。非极性可以再分成:强疏水性=Ala(A)、Val(V)、Leu(L)、Ile(I)、Met(M)、Phe(F);和中等疏水性=Gly(G)、Pro(P)、Cys(C)、Tyr(Y)、Trp(W)。以替代方式,所述氨基酸组库可以分为:(1)酸性=Asp(D)、Glu(G);(2)碱性=Lys(K)、Arg(R)、His(H);(3)脂肪族=Gly(G)、Ala(A)、Val(V)、Leu(L)、Ile(I)、Ser(S)、Thr(T),其中丝氨酸(S)和苏氨酸(T)任选地被单独分为脂肪族-羟基;(4)芳族=Phe(F)、Tyr(Y)、Trp(W);(5)酰胺=Asn(N)、Glu(Q);和(6)含硫=Cys(C)和Met(M)。(参见Stryer and Freeman主编,1995,Biochemistry,第4版,该文献以其全部内容作为参考并入本文)。

[0143] 作为另外一种选择,可以沿肽的全部或部分编码序列随机引入突变,如通过饱和突变,并且可以对所得突变体筛选生物活性以鉴别保留活性的突变体。在突变后,可以重组表达所编码的肽,并且可以确定重组肽的活性。

[0144] 在另一个实施方式中,可以通过添加聚合物(如聚乙二醇)、糖或其它蛋白质(如融合构建体)对肽进行进一步修饰以力求延长肽的半衰期或增强肽的组织保护作用。在WO/04022577A3和WO/05025606A1中公开了这些修饰的实例,以上专利作为参考并入本文。

[0145] 基于所选择的缀合化学和肽上已存在或产生出的反应位点数目,可以以可重复的方式添加一个、两个或所选数目的聚合物。PEG及其衍生物与肽连接的主要模式是通过肽氨基酸残基的非特异性键合(参见美国专利No.4,088,538、美国专利No.4,496,689、美国专利No.4,414,147、美国专利No.4,055,635和PCT WO 87/00056)。PEG与肽连接的另一种模式是通过糖肽上的糖基残基的非特异性氧化(参见WO 94/05332)。在这些非特异性方法中,PEG以随机、非特异性的方式添加到肽主链上的反应性残基上。

[0146] 在某些实施方式中,可以通过重组产生母体肽,然后化学修饰所述母体肽来制备本文所提供的肽。例如,可以通过化学修饰以下实施例节中所述的重组产生的P8肽来产生某些本文所提供的肽。

[0147] 通过重组方法的肽的产生在本领域中是已知的。更具体地,可以以几种方式鉴别多核苷酸,包括从适合的来源分离基因组或cDNA分子。可以通过从氨基酸序列“回译(back-translation)”或者通过与已鉴别其编码DNA序列的肽具有氨基酸同一性的区域的鉴别来获得将用作用于多核苷酸分离的探针或引物或者用作数据库搜索的待询序列的本文所描述的对应于所述氨基酸序列的核苷酸序列。可以使用熟知的聚合酶链反应(PCR)程序来分离和扩增编码人早老素-1的DNA序列。将定义DNA片段组合的所期望的末端的寡核苷酸用作5’和3’引物。寡核苷酸可以另外含有限制性核酸内切酶的识别位点以帮助扩增的DNA片段组合向表达载体中的插入。PCR技术描述于Saiki等人,1988,Science 239:487;Wu等人主编,1989,Recombinant DNA Methodology第189-196页;和Innis等人主编,1990,PCR Protocols:A Guide to Methods and Applications。

[0148] 本发明公开的多核苷酸分子(例如,P8的多核苷酸)包括处于单链和双链形式两者的DNA和RNA以及相应互补序列。DNA包括(例如)cDNA、基因组DNA、化学合成的DNA、通过PCR扩增的DNA及其组合。本发明公开的多核苷酸分子包括全长基因或cDNA分子及其片段的组合。本发明公开的多核苷酸可以来源于人,但是本发明公开还包括来源于非人物质的那些多核苷酸。

[0149] 就分离自天然存在的来源的多核苷酸来说,“分离的多核苷酸”是已从存在于所述多核苷酸所分离自的生物的基因组中的相邻基因序列分离的多核苷酸。例如,就从模板酶促合成或化学合成的多核苷酸,如PCR产物、cDNA分子或寡核苷酸来说,应理解从这些方法所产生的多核苷酸是分离的多核苷酸。分离的多核苷酸是指处于分离的片段的形式或者作为较大的多核苷酸构建体的组分的多核苷酸。在一个实施方式中,本发明公开涉及基本不含污染的内源材料的某些分离的多核苷酸。优选地,所述多核苷酸来源于至少分离一次的已处于基本纯的形式并且处于使其组分核苷酸序列能够通过标准生物化学方法鉴别、操作和回收的量或浓度的DNA或RNA(参见Sambrook等人,1989,Molecular Cloning.A Laboratory Manual,第2版)。这些序列通常以未被内部非翻译序列中断的开放阅读框的形式或者以通常存在于真核基因中的反式的形式提供和/或构建。非翻译DNA序列可以存在于开放阅读框的5’或3’端,其中所述序列不防碍编码区的操作或表达。

[0150] 可以通过任何适合的技术,包括(但不限于)以下方法来实现母体肽的表达、分离和纯化。本发明公开的分离的核酸可以可操作性地连接至表达控制序列,如pDC409载体(Giri等人,1990,EMBO J.13:2821)或衍生的pDC412载体(Wiley等人,1995,Immunity3:673)。pDC400系列载体对于瞬时哺乳动物表达系统,如CV-1或293细胞是有用的。作为另外一种选择,本发明公开的分离的核酸可以连接至表达载体,如pDC312、pDC316或pDC317载体。pDC300系列载体均含有SV40复制起点、CMV启动子、腺病毒三联前导序列以及SV40 polyA和终止信号,并且对于稳定的哺乳动物表达系统,如CHO细胞或它们的衍生物是有用的。其它表达控制序列和克隆技术也可以用于重组产生肽,如pMT2或pED表达载体(Kaufman等人,1991,Nucleic Acids Res 19:4485-4490;和Pouwels等人,1985,Cloning Vectors.A Laboratory Manual)和GATEWAY载体(Life Technologies;Rockville,Md.)。侧接attB序列的本发明公开的分离的核酸可以通过与GATEWAY载体,如含有attP序列的pDONR201的整合酶反应重组,从而提供含有本发明公开的分离的核酸的GATEWAY系统的进入载体(entry vector)。该进入载体可以与其它适当制备的表达控制序列,如上述的pDC400和pDC300系列的那些进一步重组。多种适合的表达控制序列在本领域中是已知的。表达重组肽的一般方法也描述于Kaufman,1990,Methods in Enzymology 185,537-566。如本文所使用的,“可操作性地连接的”表示本发明公开的多核苷酸和表达控制序列以这样的方式位于构建体、载体或细胞内,所述方式使得当存在适当的分子(如聚合酶)时,表达由多核苷酸所编码的肽。作为本发明公开的一个实施方式,在重组宿主细胞或其子代中,将至少一个表达控制序列可操作性地连接至本发明公开的多核苷酸,其中所述多核苷酸和/或表达控制序列已(例如)通过转化或转染,或者通过任何其它合适的方法引入到宿主细胞中。作为本发明公开的另一个实施方式,将至少一个表达控制序列整合到重组宿主细胞的基因组中,从而使其可操作性地连接至编码本发明公开的肽的多核苷酸序列。在本发明公开的其它实施方式中,体外或在重组宿主细胞中,将至少一个表达控制序列通过反式作用因子,如转录因子的作

用可操作性地连接至本发明公开的多核苷酸。

[0151] 另外,可以将编码适当的信号肽(天然或异源)的序列引入表达载体。信号肽或前导序列的选择可以取决于多种因素,如其中要产生重组肽的宿主细胞的类型。为了进行说明,在哺乳动物宿主细胞中具有功能性的异源信号肽的实例包括美国专利No.4,965,195中所描述的白介素-7(IL-7)的信号序列;Cosman等人,1984,Nature 312:768中所描述的白介素-2受体的信号序列;EP 367,566中所描述的白介素-4受体信号肽;美国专利No.4,968,607中所描述的I型白介素-1受体信号肽;和EP 460,846中所描述的II型白介素-1受体信号肽。信号肽(分泌性前导序列)的DNA序列可以框内融合至本发明公开的多核苷酸,从而一开始转录所述DNA,并将mRNA翻译成包含所述信号肽的融合肽。在预期的宿主细胞中具有功能性的信号肽促进所述肽的胞外分泌。当从细胞分泌肽时,将信号肽从所述肽上切下。技术人员还将认识到切割信号肽的位置可以不同于计算机程序所预测的位置,并且可以根据诸如用于表达重组肽的宿主细胞的类型的因素而改变。肽制剂可以包括具有不同N-末端氨基酸的肽分子的混合物,这些分子是通过信号肽在不止一个位点的切割所产生的。

[0152] 已描述了用于将DNA引入至哺乳动物细胞中的所建立的方法(Kaufman,1990,Large Scale Mammalian Cell Culture,第15-69页)。使用可商购的试剂,如Lipofectamine脂质试剂(Gibco/BRL)或者Lipofectamine-Plus脂质试剂的其它规程可以用于转染细胞(参见Felgner等人,1987,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 84:7413-7417)。另外,使用常规程序,电穿孔可以用于转染哺乳动物细胞,所述常规程序如Sambrook等人1989,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,第2版中的那些规程。可以使用本领域中已知的方法,如(例如)对细胞毒性药物的耐受性进行稳定转化体的选择。Kaufman等人,1990,Meth.in Enzymology 185:487-511描述了几种选择方案,如二氢叶酸还原酶(DHFR)耐受性。适合于DHFR选择的株可以是DHFR缺陷的CHO DX-B11株(Urlaub and Chasin,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4216-4220,1980)。表达DHFR cDNA的质粒可以引入至DX-B11株中,并且仅包含所述质粒的细胞可以在适合的选择培养基中生长。可以掺入表达载体的可选择标志物的其它实例包括赋予抗生素,如G418和潮霉素B的耐受性的cDNA。可以基于对这些化合物的耐受性来选择具有所述载体的细胞。

[0153] 作为另外一种选择,可以通过同源重组或“基因靶向”技术获得基因产物。这些技术采用外源转录控制元件(如CMV启动子等)向基因组上的具体预定位点的引入来诱导所关心的内源多核苷酸序列的表达。考虑到基因的已知位置和序列,本领域技术人员可以容易地确定整合到宿主染色体或基因组中的位置。在一个实施方式中,本发明公开还考虑了与可扩增基因结合的外源转录控制元件的引入,以产生增加量的基因产物,另外不需要将基因本身从宿主细胞中分离。Schimke等人,1987,Methods in Enzymology151:85-104以及Capecchi,等人,1989,TIG 5:70-76解释了同源重组或基因靶向的实践。

[0154] 一些类型的细胞可以起到用于肽表达的适合的宿主细胞的作用。哺乳动物宿主细胞包括(例如)猴肾细胞COS-7系(ATCC CRL 1651;参见Gluzman等人,1981,Cell 23:175)、L细胞、C127细胞、3T3细胞(ATCC CCL 163)、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞、HeLa细胞、BHK(ATCC CRL 10)细胞系,如McMahan等人,1991,EMBO J.10:2821所述的来源于非洲绿猴肾细胞系CV1的CV1/EBNA细胞系(ATCC CCL 70)、人肾293细胞、人表皮A431细胞、人Colo205细胞、其它转化的灵长类细胞系、正常的二倍体细胞、来源于体外原代组织培养的细胞株、原代外植

体、HL-60、U937、HaK或Jurkat细胞。作为另外一种选择，有可能可以在低等真核生物，如酵母或原核生物，如细菌中产生肽。潜在适合的酵母株包括酿酒酵母(Saccharomyces cerevisiae)、粟酒裂殖酵母(Schizosaccharomyces pombe)、克鲁维酵母(Kluyveromyces)株、念珠菌属(Candida)或者能够表达异源肽的任何酵母株。潜在适合的细菌菌株包括大肠杆菌(Escherichia coli)、枯草芽孢杆菌(Bacillus subtilis)、鼠伤寒沙门氏菌(Salmonella typhimurium)或者能够表达异源肽的任何细菌菌株。如果所述肽在酵母或细菌中产生，则可能必须修饰其中所产生的肽，例如，通过适当位点的磷酸化或糖基化，以获得功能性肽。这些共价连接可以使用已知的化学或酶促方法实现。还可以通过在一个或多个昆虫表达载体中将本发明公开的分离的多核苷酸可操作性地连接至适合的控制序列并采用昆虫表达系统来产生所述肽。用于杆状病毒/昆虫细胞表达系统的材料和方法以试剂盒的形式可商购自，例如，Invitrogen,San Diego,Calif.,U.S.A.(the MaxBac.RTM.试剂盒)，并且这些方法在本领域中是熟知的，如Summers and Smith,Texas Agricultural Experiment Station Bulletin No.1555(1987)和Luckow and Summers,Bio/Technology 6:47(1988)中所述，这些文献作为参考并入本文。如本文所使用的，“转化”能够表达本发明公开的多核苷酸的昆虫细胞。还可以使用无细胞翻译系统，使用来源于本文所公开的多核苷酸构建体的RNA来产生肽。包含通常可操作性地连接至至少一个表达控制序列的本发明公开的分离的多核苷酸的宿主细胞是“重组宿主细胞”。

[0155] 可以通过在适合于表达所述重组肽的培养条件下培养转化的宿主细胞来制备肽。然后，可以使用已知的纯化方法，如凝胶过滤和离子交换色谱法从这种培养物(例如，从培养基或细胞提取物)纯化所产生的表达的肽。肽的纯化还可以包括含有将结合至所述肽的试剂的亲和柱；通过如伴刀豆凝集素A-琼脂糖、肝素-toyopearl®或者Cibacrom blue3GA Sepharose®的亲合树脂的一步或多步色谱柱；包括使用如苯基醚、丁基醚或丙醚的树脂的疏水相互作用色谱的一个或多个步骤；或者免疫亲和色谱。作为另外一种选择，本发明公开的肽还可以以将有利于纯化的形式表达。例如，它可以作为融合肽表达，如麦芽糖结合肽(MBP)、谷胱甘肽-S-转移酶(GST)或硫氧还蛋白(TRX)的那些形式。用于这些融合肽的表达和纯化的试剂盒分别可商购自New England BioLab(Beverly,Mass.)、Pharmacia(Piscataway,N.J.)和InVitrogen。还可以用表位对肽加标签，并且随后通过使用针对该表位的特异性抗体纯化。一个这种表位(“Flag”)可商购自Kodak(New Haven,Conn.)。最终，使用疏水性RP-HPLC介质，例如，具有甲基或其它脂族基团侧基的硅胶的一个或多个反相高效液相色谱法(RP-HPLC)步骤可以用于进一步纯化所述肽。处于不同组合的一些或全部上述纯化步骤也可以用于提供基本均一的分离的重组肽。因此纯化的肽基本不含其它哺乳动物肽并且根据本发明公开，将其定义为“纯化的肽”；本发明公开的这些纯化的肽包括结合至本发明公开的早老素肽、片段、变体、结合配偶体等的纯化的抗体。本发明公开的肽还可以作为转基因动物的产物，例如，作为转基因牛、山羊、猪或绵羊的乳汁的组分表达，这些动物的特征在于体细胞或生殖细胞含有编码所述肽的多核苷酸。

[0156] 还有可能使用包含本发明公开的肽-结合肽的亲和柱，如对本发明公开的肽所产生的单克隆抗体来亲合-纯化所表达的肽。可以使用常规技术从亲和柱除去这些肽，例如，在高盐洗脱缓冲液中，然后透析至用于使用的低盐缓冲液中，或者基于所使用的亲合基质，通过改变pH或其它组分，或者使用所述亲合部分的天然存在的底物，如来源于本发明公开

的肽竞争性除去这些肽。在本发明公开的这个方面，肽-结合肽，如本发明公开的抗-肽抗体或可以与本发明公开的肽相互作用的其它肽，可以结合至固相载体，如柱色谱基质或适合于鉴别、分离或纯化在它们的表面上表达本发明公开的肽的细胞的类似基底。

[0157] 可以通过多种技术实现肽-结合肽与固相接触面的粘附，例如，可以用这些肽-结合肽涂覆磁性微球并通过磁场将所述微球保持在培育容器中。将细胞混合物的混悬液与在其上具有这些肽-结合肽的固相接触。在它们的表面上具有本发明公开的肽的细胞结合至固定的肽-结合肽，然后冲洗掉未结合的细胞。这种亲合-结合法对于从溶液中纯化、筛选或分离这些表达肽的细胞是有用的。从固相中释放正向选择的细胞的方法在本领域中是已知的并且涵盖了(例如)酶的使用。这些酶优选地对细胞无毒且无害，并且涉及切割细胞表面结合配偶体。作为另外一种选择，可以首先将怀疑含有本发明公开的表达肽的细胞的细胞混合物与本发明公开的生物素化的肽-结合肽培育。培育期通常是持续至少一小时以确保充分结合至本发明公开的肽。然后，将所产生的混合物通过装填了抗生物素蛋白涂覆的珠的柱，借此生物素对抗生物素蛋白的高亲合力提供了肽-结合细胞与所述珠的结合。抗生物素蛋白涂覆的珠的使用在本领域中是已知的(参见Berenson等人，1986，J.Cell.Biochem.，10D:239)。使用常规方法进行未结合的材料的清洗和结合的细胞的释放。

[0158] 所期望的纯度取决于肽的预期用途。例如，当体内施用肽时，相对高的纯度是所期望的。在这种情况下，纯化肽，从而当通过SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分析时，检测不到其它肽对应的肽条带。相关领域中的技术人员将认识到由于糖基化的差异、翻译后处理的差异等，可以通过SDS-PAGE使对应于所述肽的多个条带显像。在一些实施方式中，将本发明公开的肽纯化至基本均一，如通过SDS-PAGE分析的单一肽条带所指示的。可以通过银染、考马斯亮蓝染色或者(如果所述肽是放射性标记的)通过放射自显影使所述肽条带显像。

[0159] 5.5使用肽和药物组合物的方法

[0160] 在一个方面，本文提供了减弱细胞中β-淀粉样前体蛋白(β-APP)与早老素-1(PS-1)和/或早老素-2(PS-2)的结合的方法，其包括将所述细胞与本文所提供的肽接触。在一些实施方式中，本文所提供的肽将β-淀粉样前体蛋白(β-APP)与细胞中的早老素-1(PS-1)和/或早老素-2(PS-2)的结合减弱(例如，部分减弱)了至少约10％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将β-淀粉样前体蛋白(β-APP)与细胞中的早老素-1(PS-1)和/或早老素-2(PS-2)的结合减弱了至少约20％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将β-淀粉样前体蛋白(β-APP)与细胞中的早老素-1(PS-1)和/或早老素-2(PS-2)的结合减弱了至少约30％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将β-淀粉样前体蛋白(β-APP)与细胞中的早老素-1(PS-1)和/或早老素-2(PS-2)的结合减弱了至少约40％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将β-淀粉样前体蛋白(β-APP)与细胞中的早老素-1(PS-1)和/或早老素-2(PS-2)的结合减弱了至少约50％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将β-淀粉样前体蛋白(β-APP)与细胞中的早老素-1(PS-1)和/或早老素-2(PS-2)的结合减弱了至少约60％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将β-淀粉样前体蛋白(β-APP)与细胞中的早老素-1(PS-1)和/或早老素-2(PS-2)的结合减弱了至少约70％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将β-淀粉样前体蛋白(β-APP)与细胞中的早老素-1(PS-1)和/或早老素-2(PS-2)的结合减弱了至少约80％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将β-淀粉样前体蛋白(β-APP)与细胞中的早老素-1(PS-1)和/

或早老素-2(PS-2)的结合减弱了至少约90％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将β-淀粉样前体蛋白(β-APP)与细胞中的早老素-1(PS-1)和/或早老素-2(PS-2)的结合减弱了至少约95％。

[0161] 在一个方面，本文提供了减弱细胞中淀粉样蛋白β(Aβ)的产生的方法，其包括将所述细胞与本文所提供的肽接触。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中Aβ的产生减弱了至少约10％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中Aβ的产生减弱了至少约20％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中Aβ的产生减弱了至少约30％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中Aβ的产生减弱了至少约40％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中Aβ的产生减弱了至少约50％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中Aβ的产生减弱了至少约60％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中Aβ的产生减弱了至少约70％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中Aβ的产生减弱了至少约80％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中Aβ的产生减弱了至少约90％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中Aβ的产生减弱了至少约95％。在具体的实施方式中，所述细胞是视网膜细胞。

[0162] 在另一个方面，本文提供了减少受试者中淀粉样蛋白β(Aβ)的产生的方法，其包括向所述受试者施用有效量的本文所提供的肽或者包含所述肽的药物组合物。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者血浆中Aβ的产生减少了至少约10％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者血浆中Aβ的产生减少了至少约20％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者血浆中Aβ的产生减少了至少约30％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者血浆中Aβ的产生减少了至少约40％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者血浆中Aβ的产生减少了至少约50％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者血浆中Aβ的产生减少了至少约60％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者血浆中Aβ的产生减少了至少约70％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者血浆中Aβ的产生减少了至少约80％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者血浆中Aβ的产生减少了至少约90％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者血浆中Aβ的产生减少了至少约95％。

[0163] 在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者的CSF中Aβ的产生减少了至少约10％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者的CSF中Aβ的产生减少了至少约20％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者的CSF中Aβ的产生减少了至少约30％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者的CSF中Aβ的产生减少了至少约40％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者的CSF中Aβ的产生减少了至少约50％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者的CSF中Aβ的产生减少了至少约60％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者的CSF中Aβ的产生减少了至少约70％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者的CSF中Aβ的产生减少了至少约80％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者的CSF中Aβ的产生减少了至少约90％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者的CSF中Aβ的产生减少了至少约95％。

[0164] 在另一个方面，本文提供了减弱细胞中淀粉样蛋白β活性的方法，其包括将所述细胞与本文所提供的肽接触。在另一个方面，本文提供了减弱受试者中淀粉样蛋白β活性的方法，其包括向所述受试者施用有效量的本文所提供的肽或者包含所述肽的药物组合物。淀

粉样蛋白β的活性的非限制性实例是淀粉样蛋白β引起或介导的信号转导。因此，在某些实施方式中，本文所提供的肽减弱(例如，部分减弱)了淀粉样蛋白β-引起的信号转导。淀粉样蛋白β引起的信号转导的另一个非限制性实例为与受体(包括(但不限于)葡萄糖运输蛋白、NMDAR、AMPAR和乙酰胆碱受体)的相互作用(包括阻断)、炎性信号通路的激活和一种或多种激酶(包括(但不限于)GSK-3、CDK5、PKC、PKA和Erk1/2)的激活。活性可以包括阻断离子通道、钙体内平衡破坏、线粒体氧化应激、能量代谢受损、异常葡萄糖调控和/或神经元细胞死亡。

[0165] 在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约10％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约20％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约30％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约40％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约50％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约60％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约70％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约80％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约90％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约95％。在具体的实施方式中，所述细胞是视网膜细胞。

[0166] 在一些实施方式中，本文所提供的肽将受试者中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约10％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将受试者中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约20％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将受试者中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约30％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将受试者中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约40％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将受试者中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约50％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将受试者中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约60％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将受试者中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约70％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将受试者中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约80％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将受试者中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约90％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将受试者中淀粉样蛋白β的活性(例如，淀粉样蛋白β引起的信号转导)减弱了至少约95％。

[0167] 在一个实施方式中，淀粉样蛋白β为淀粉样蛋白β36、淀粉样蛋白β37、淀粉样蛋白β38、淀粉样蛋白β39、淀粉样蛋白β40、淀粉样蛋白β41、淀粉样蛋白β42、淀粉样蛋白β43、淀粉

样蛋白β44、淀粉样蛋白β45、淀粉样蛋白β46、淀粉样蛋白β47、淀粉样蛋白β48、淀粉样蛋白β49、淀粉样蛋白β50、淀粉样蛋白β51或淀粉样蛋白β52或它们的组合。在另一个实施方式中，所述淀粉样蛋白β为淀粉样蛋白β40。在另一个实施方式中，所述淀粉样蛋白β为淀粉样蛋白β42。

[0168] 在另一个方面，本文提供了减弱细胞中τ蛋白的产生的方法，其包括将所述细胞与本文所提供的肽接触。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中Tau的产生减弱了至少约10％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中Tau的产生减弱了至少约20％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中Tau的产生减弱了至少约30％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中Tau的产生减弱了至少约40％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中Tau的产生减弱了至少约50％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中Tau的产生减弱了至少约60％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中Tau的产生减弱了至少约70％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中Tau的产生减弱了至少约80％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中Tau的产生减弱了至少约90％。在一些实施方式中，本文所提供的肽将细胞中Tau的产生减弱了至少约95％。在具体的实施方式中，所述细胞是视网膜细胞。

[0169] 在另一个方面，本文提供了减少受试者中τ蛋白的产生的方法，其包括向所述受试者施用本文所提供的肽或者包含所述肽的药物组合物。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者血浆中Tau的量减少了至少约10％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者血浆中Tau的量减少了至少约20％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者血浆中Tau的量减少了至少约30％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者血浆中Tau的量减少了至少约40％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者血浆中Tau的量减少了至少约50％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者血浆中Tau的量减少了至少约60％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者血浆中Tau的量减少了至少约70％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者血浆中Tau的量减少了至少约80％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者血浆中Tau的量减少了至少约90％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者血浆中Tau的量减少了至少约95％。

[0170] 在另一个方面，本文提供了减弱细胞中τ蛋白活性的方法，其包括将所述细胞与本文所提供的肽接触。在另一个方面，本文提供了减弱受试者中τ蛋白活性的方法，其包括向所述受试者施用有效量的本文所提供的肽或者包含所述肽的药物组合物。τ蛋白活性的非限制性实例是τ蛋白引起或介导的信号转导。因此，在某些实施方式中，本文所提供的肽减弱(例如，部分减弱)了τ蛋白引起的信号转导。τ蛋白活性的非限制性实例包括与微管蛋白的相互作用以稳定微管、螺旋和/或直细丝的形成、炎性信号通路的激活和脑中胰岛素信号转导受损。

[0171] 在一些实施方式中，本文所提供的肽使细胞中τ蛋白活性(例如，τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约10％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使细胞中τ蛋白活性(例如，τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约20％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使细胞中τ蛋白活性(例如，τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约30％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使细胞中τ蛋白活性(例如，τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约40％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使细胞中τ蛋白活性(例如，τ蛋白-引起的信号转导)减弱了至少约

50％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使细胞中τ蛋白活性(例如，τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约60％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使细胞中τ蛋白活性(例如，τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约70％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使细胞中τ蛋白活性(例如，τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约80％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使细胞中τ蛋白活性(例如，τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约90％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使细胞中τ蛋白活性(例如，τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约95％。在具体的实施方式中，所述细胞是视网膜细胞。

[0172] 在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者中τ蛋白活性(例如，τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约10％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者中τ蛋白活性(例如，τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约20％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者中τ蛋白活性(例如，τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约30％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者中τ蛋白活性(例如，τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约40％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者中τ蛋白活性(例如，τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约50％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者中τ蛋白活性(例如，τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约60％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者中τ蛋白活性(例如，τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约70％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者中τ蛋白活性(例如，τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约80％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者中τ蛋白活性(例如，τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约90％。在一些实施方式中，本文所提供的肽使受试者中τ蛋白活性(例如，τ蛋白引起的信号转导)减弱了至少约95％。

[0173] 在另一个方面，本文提供了治疗或预防受试者中疾病或病症的方法，其包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所提供的肽或者包含所述肽的药物组合物。如本文所使用的，疾病或病症还包括所述疾病或病症的一种或多种症状。

[0174] 在某些实施方式中，所述疾病或病症是淀粉样蛋白(或淀粉样蛋白β)相关疾病或病症。在某些实施方式中，所述疾病或病症是与淀粉样蛋白原纤维形成、聚集或沉积有关的疾病或病症。在某些实施方式中，所述疾病或病症是神经系统疾病。在某些实施方式中，所述疾病或病症是神经退行性疾病。

[0175] 在一些实施方式中，所述疾病或病症是眼部病症。在一些实施方式中，所述眼部病症与淀粉样蛋白β的积累有关。在一些实施方式中，所述眼部病症是黄斑变性。在一些实施方式中，所述眼部病症是年龄相关性黄斑变性。

[0176] 在一些实施方式中，不考虑临床环境，可以治疗或预防性地施用本发明公开所述的肽以治疗与淀粉样蛋白原纤维形成、聚集或沉积有关的疾病。本发明公开所述的肽可以使用任何以下机制起作用以调节淀粉样蛋白β相关疾病的过程，所述机制如(例如，但不限于)减缓淀粉样蛋白原纤维形成或沉积的速率；减轻淀粉样蛋白沉积程度；抑制、降低或防止淀粉样蛋白原纤维形成；抑制淀粉样蛋白引起的炎症；提高淀粉样蛋白从(例如)脑中的清除；或者保护细胞避免淀粉样蛋白引起的(低聚物或原纤维)毒性。淀粉样蛋白沉积的调节旨在涵盖预防或停止淀粉样蛋白的形成或积累，抑制或减缓具有进行性淀粉样变性(例如，已具有淀粉样蛋白聚集体)的受试者中进一步的淀粉样蛋白聚集，和减少或逆转具有进行性淀粉样变性的受试者中的淀粉样蛋白聚集体。相对于未治疗的受试者或者相对于治疗

前的治疗的受试者确定淀粉样蛋白聚集的调节，例如，通过临床可测量的改善确定，或者就具有脑淀粉样变性的受试者，例如，阿尔茨海默或大脑淀粉样血管病受试者来说，认知功能的稳定或者认知功能进一步降低的预防(即防止、减缓或终止疾病发展)或者参数，如CSF中的Aβ或τ的浓度的改善。

[0177] 尽管家族型或偶发型阿尔茨海默氏病是老年人口中存在的主要痴呆病，但是也存在其它类型的痴呆病。这些包括(但不限于)：与皮克病有关的额颞叶变性、血管性痴呆、路易体型老年性痴呆、伴有额叶萎缩的帕金森病痴呆、进行性核上麻痹和皮质基底核退化症以及阿尔茨海默氏病相关的唐氏综合症。在海绵状脑病，如CJD、绵羊疯痒病和BSE中还观察到斑块形成。本发明公开涉及这些神经退行性疾病，具体地涉及神经毒蛋白斑块，例如，淀粉样蛋白斑块的那些疾病的治疗。

[0178] 唐氏综合症是严重的人类病症，其发病率为800个活产婴中发生1例。它与受影响的个体中21号染色体的额外拷贝(21三体)的存在有关。β-淀粉样前体蛋白(β-APP)基因在21号染色体上编码，其非常接近唐氏综合症的基因座。如果患有唐氏综合症的患者存活超过40岁，则他们全部会出现阿尔茨海默样痴呆和脑中的Aβ沉积。因此，这是提出Aβ的过量产生与AD和唐氏综合症两者中痴呆病的发生直接相关的充分理由。因此，用于改善AD症状的治疗剂的鉴别的性质也将对于唐氏综合症症状的改善是有用的。

[0179] “痴呆病”是指由于机体或心理因素所引起的总体精神衰退；其特征为定向障碍、记忆力、判断力和智力受损以及浅度情绪不稳定。在本文中，痴呆病包括血管性痴呆、缺血性血管性痴呆(IVD)、额颞叶痴呆(FTD)、路易体痴呆症、阿尔茨海默氏痴呆病等。老年人中最常见的痴呆病的类型是阿尔茨海默氏病(AD)。

[0180] 本文所提供的肽可以用于治疗轻度认知障碍。轻度认知障碍(“MCI”)是以思考能力轻度损害但可检测的状态为特征的病况，其不一定与痴呆病的存在相关。MCI经常，但不必然在阿尔茨海默氏病之前。

[0181] 另外，APP和淀粉样蛋白-β蛋白在肌纤维中的异常积累已涉及散发性包涵体肌炎(IBM)病变(参见Askanas等人，1996，Proc.Natl.Acad.Sci.USA 93:1314-1319；Askanas，V.等人，1995，Current Opinion in Rheumatology 7:486-496)。因此，可以在其中淀粉样蛋白-β蛋白异常沉积在非神经学位置上的病症的治疗中预防或治疗性地使用本文所提供的肽，如通过将所述肽递送至肌纤维的EBM的治疗。

[0182] 另外，已表明Aβ与患有年龄相关性黄斑变性(ARMD)的个体中沿视网膜色素上皮细胞的基底面积累的异常胞外沉积(称为脉络膜疣)有关。ARMD是造成老年个体中不可逆的视力丧失的原因。据信Aβ沉积可以是导致视网膜色素上皮细胞萎缩、脉络膜疣生物发生和ARMD病理发生的局部炎性事件的重要组成部分(Johnson等人，2002，Proc.Natl.Acad.Sci.USA 99(18)，11830-5)。

[0183] 因此，本发明公开一般地涉及治疗或预防受试者(优选人为受试者)中淀粉样蛋白相关的疾病或病症的方法，其包括向所述受试者施用治疗量的本文所提供的肽，从而降低或抑制淀粉样蛋白原纤维形成或沉积、神经变性或细胞毒性。在另一个实施方式中，本发明公开涉及治疗或预防受试者(优选人为受试者)中淀粉样蛋白相关疾病的方法，其包括向所述受试者施用治疗量的本文所提供的肽，从而改善或稳定了患有脑淀粉样变性，例如，阿尔茨海默氏病、唐氏综合症或大脑淀粉样血管病的患者中的认知功能或者防止、减缓或终止

了认知功能的进一步恶化。

[0184] 在某些实施方式中,所述疾病或病症选自帕金森氏症(PD)、阿尔茨海默氏病(AD)、创伤性脑损伤(TBI)、肌萎缩性侧索硬化(ALS)、多发性硬化(MS)或者痴呆病。在某些实施方式中,所述疾病或病症是帕金森氏症。在某些实施方式中,所述疾病或病症是创伤性脑损伤。在某些实施方式中,所述疾病或病症是肌萎缩性侧索硬化。在某些实施方式中,所述疾病或病症是多发性硬化。在某些实施方式中,所述疾病或病症是痴呆病。

[0185] 在某些实施方式中,所述疾病或病症是痴呆病或者痴呆病相关疾病或病症,其选自额颞叶痴呆、与皮克病有关的额颞叶变性、血管性痴呆、皮质基底核退化症、缺血性血管性痴呆(IVD)、路易体痴呆症和阿尔茨海默氏痴呆病。

[0186] 在某些实施方式中,所述疾病或病症是眼部病症。在某些实施方式中,所述病症、疾病或病况是唐氏综合症。

[0187] 在某些实施方式中,所述疾病或病症选自传染性海绵状脑病(如绵羊中的绵羊疯痒病、人的克劳伊登病(Creutzfeldt-Jakob disease)(CJD)、牛的海绵状脑病(BSE))、大脑淀粉样血管病、遗传性脑出血伴淀粉样变性、轻度认知障碍、散发性包涵体肌炎和年龄相关性黄斑变性。

[0188] 在某些实施方式中,所述疾病或病症是阿尔茨海默氏病。在某些实施方式中,所述阿尔茨海默氏病是1期AD(无损伤)。在某些实施方式中,所述阿尔茨海默氏病是2期AD(极轻度衰退)。在某些实施方式中,所述阿尔茨海默氏病是3期AD(轻度衰退)。在某些实施方式中,所述阿尔茨海默氏病是4期AD(中度衰退)。在某些实施方式中,所述阿尔茨海默氏病是5期AD(中度严重衰退)。在某些实施方式中,所述阿尔茨海默氏病是6期AD(严重衰退)。在某些实施方式中,所述阿尔茨海默氏病是7期AD(极严重衰退)。

[0189] 在某些实施方式中,所述病症、疾病或病况是通过τ蛋白介导的病症、疾病或病况。在某些实施方式中,通过τ蛋白介导的病症、疾病或病况是τ病变。在某些实施方式中,通过τ蛋白介导的病症、疾病或病况是阿尔茨海默氏病。

[0190] 本文所提供的方法涵盖了不考虑患者年龄对受试者的治疗,尽管一些疾病或病症在特定年龄组中更常见。

[0191] 基于要治疗的疾病和受试者的状况,可以通过口服、肠胃外(例如,肌内、腹膜内、静脉内、CIV、脑池内注射或输注、皮下注射或植入)、吸入、鼻、阴道、直肠、舌下或局部(例如,透皮或局部)施用途径施用本文所提供的肽或者包含所述肽的药物组合物。可以单独或以适合的剂量单位与药物可用的赋形剂、载体、佐剂和媒介物一起配制适合于每种施用途径的本文所提供的肽或包含所述肽的药物组合物。以下5.6节中提供了对施用和剂量施用的进一步描述。

[0192] 然而,将理解对于任何具体的受试者,具体的剂量水平和剂量频率可以是不同的并且将取决于多种因素,包括所使用的具体的肽的活性,所述肽的代谢稳定性和作用时间长度、年龄、体重、一般健康情况、性别、饮食、给药方式和时间、排泄速率、药物组合、具体病况的严重程度和接受治疗的宿主。

[0193] 在某些实施方式中,受试者是哺乳动物。在某些实施方式中,受试者是人。

[0194] 本文所提供的肽或包含所述肽的药物组合物还可以与在本文所描述的病症、疾病或病况的治疗和/或预防中有用的其它治疗剂合并或组合使用。

[0195] 如本文所使用的，术语“组合”包括不止一种疗法(例如，一种或多种预防和/或治疗剂)的使用。然而，术语“组合”的使用不限制其中向患有疾病或病症的受试者施用疗法(例如，预防和/或治疗剂)的顺序。可以在向受试者施用第二疗法(例如，预防或治疗剂)之前(例如，5分钟、15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1周、2周、3周、4周、5周、6周、8周或12周之前)、与之一起或者之后(例如，5分钟、15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1周、2周、3周、4周、5周、6周、8周或12周之后)施用第一疗法(例如，预防或治疗剂，如本文所提供的肽)。在本文中还考虑了三重疗法。

[0196] 在一些实施方式中，本文所提供的肽或包含所述肽的药物组合物的施用途径不依赖于第二疗法的施用途径。在一个实施方式中，口服施用本文所提供的肽或包含所述肽的药物组合物。在另一个实施方式中，静脉内施用本文所提供的肽或包含所述肽的药物组合物。因此，根据这些实施方式，口服或静脉内施用本文所提供的肽或包含所述肽的药物组合物，并且可以口服、肠胃外、腹膜内、静脉内、动脉内、经皮、舌下、肌内、直肠、经口含化、鼻内、脂质体、通过吸入、阴道、眼内、通过经由导管或支架的局部递送、皮下、脂肪内、关节内、鞘内或以缓释剂量形式施用第二疗法。在一个实施方式中，通过相同施用形式，口服或通过IV施用本文所提供的肽或包含所述肽的药物组合物和第二疗法。在另一个实施方式中，通过一种施用形式，例如，通过IV施用本文所提供的肽或包含所述肽的药物组合物，然而通过另一种施用形式，例如，口服施用第二试剂。

[0197] 在某些实施方式中，本文所提供的每种方法可以独立地进一步包括施用第二治疗剂的步骤。

[0198] 5.6施用和剂量施用方法

[0199] 在具体的实施方式中，本文提供了包含本文所提供的肽的用于在疾病或病况的预防和/或治疗中使用的组合物。在一个实施方式中，本文提供了用于在疾病或病况的预防中使用的组合物，其中所述组合物包含本文所提供的肽。在一个实施方式中，本文提供了用于在疾病或病况的治疗中使用的组合物，其中所述组合物包含本文所提供的肽。在某些实施方式中，所述疾病或病症是淀粉样蛋白(或淀粉样蛋白β)相关疾病或病症。在某些实施方式中，所述疾病或病症是与淀粉样蛋白原纤维形成、聚集或沉积有关的疾病或病症。在某些实施方式中，所述疾病或病症是神经系统疾病。在某些实施方式中，所述疾病或病症是神经退行性疾病。在某些实施方式中，所述疾病或病症选自帕金森氏病(PD)、阿尔茨海默氏病(AD)、创伤性脑损伤(TBI)、肌萎缩性侧索硬化(ALS)、多发性硬化(MS)或者痴呆病。在某些实施方式中，所述疾病或病症是痴呆病或痴呆病相关疾病或病症，其选自额颞叶痴呆、与皮克氏病有关的额颞叶变性、血管性痴呆、皮质基底核退化症、缺血性血管性痴呆(IVD)、路易体痴呆症和阿尔茨海默氏痴呆病。在某些实施方式中，所述疾病或病症是眼部病症。在某些实施方式中，所述眼部病症是黄斑变性。在某些实施方式中，所述眼部病症是年龄相关性黄斑变性。在某些实施方式中，所述病症、疾病或病况是唐氏综合症。在某些实施方式中，所述疾病或病症选自传染性海绵状脑病(如绵羊的疯痒病、人的克劳伊登病(Creutzfeldt-Jakob disease)(CJD)、牛的海绵状脑病(BSE))、大脑淀粉样血管病、遗传性脑出血伴淀粉样变性、轻度认知障碍、散发性包涵体肌炎和年龄相关性黄斑变性。

[0200] 在某些实施方式中，所述受试者是对其有需要的受试者。在一些实施方式中，所述

受试者患有所述疾病或病况。在其它实施方式中，所述受试者具有患所述疾病或病况的风险。在一些实施方式中，所述施用导致了所述疾病或病况的预防、控制、治疗或改善。

[0201] 在一个实施方式中，本文提供了用于在疾病或病况的症状的预防和/或治疗中使用的组合物，其中所述组合物包含本文所提供的肽。在一个实施方式中，本文提供了用于在疾病或病况的症状的预防中使用的组合物，其中所述组合物包含本文所提供的肽。在一个实施方式中，本文提供了用于在疾病或病况的症状的治疗中使用的组合物，其中所述组合物包含本文所提供的肽。在某些实施方式中，所述疾病或病症是淀粉样蛋白(或淀粉样蛋白β)相关疾病或病症。在某些实施方式中，所述疾病或病症是与淀粉样蛋白原纤维形成、聚集或沉积有关的疾病或病症。在某些实施方式中，所述疾病或病症是神经系统疾病。在某些实施方式中，所述疾病或病症是神经退行性疾病。在某些实施方式中，所述疾病或病症选自帕金森氏病(PD)、阿尔茨海默氏病(AD)、创伤性脑损伤(TBI)、肌萎缩性侧索硬化(ALS)、多发性硬化(MS)或者痴呆病。在某些实施方式中，所述疾病或病症是痴呆病或痴呆病相关疾病或病症，其选自额颞叶痴呆、与皮克氏病有关的额颞叶变性、血管性痴呆、皮质基底核退化症、缺血性血管性痴呆(IVD)、路易体痴呆症和阿尔茨海默氏痴呆病。在某些实施方式中，所述疾病或病症是眼部病症。在某些实施方式中，所述眼部病症是黄斑变性。在某些实施方式中，所述眼部病症是年龄相关性黄斑变性。在某些实施方式中，所述病症、疾病或病况是唐氏综合症。在某些实施方式中，所述疾病或病症选自传染性海绵状脑病(如绵羊中的绵羊疯痒病、人中的克劳伊登病(Creutzfeldt-Jakob disease)(CJD)、牛中的牛海绵状脑病(BSE))、大脑淀粉样血管病、遗传性脑出血伴淀粉样变性、轻度认知障碍、散发性包涵体肌炎和年龄相关性黄斑变性。

[0202] 在某些实施方式中，所述受试者是对其有需要的受试者。在一些实施方式中，所述受试者患有所述疾病或病况。在其它实施方式中，所述受试者具有患所述疾病或病况的风险。在一些实施方式中，所述施用导致了所述疾病或病况的症状的预防或治疗。

[0203] 在另一个实施方式中，本文提供了预防和/或治疗受试者中的疾病或病况的方法，其包括施用有效量的本文所提供的肽。在一个实施方式中，本文提供了预防受试者中的疾病或病况的方法，其包括施用有效量的本文所提供的肽。在一个实施方式中，本文提供了治疗受试者中的疾病或病况的方法，其包括施用有效量的本文所提供的肽。在某些实施方式中，所述疾病或病症是淀粉样蛋白(或淀粉样蛋白β)相关疾病或病症。在某些实施方式中，所述疾病或病症是与淀粉样蛋白原纤维形成、聚集或沉积有关的疾病或病症。在某些实施方式中，所述疾病或病症是神经系统疾病。在某些实施方式中，所述疾病或病症是神经退行性疾病。在某些实施方式中，所述疾病或病症选自帕金森氏病(PD)、阿尔茨海默氏病(AD)、创伤性脑损伤(TBI)、肌萎缩性侧索硬化(ALS)、多发性硬化(MS)或者痴呆病。在某些实施方式中，所述疾病或病症是痴呆病或痴呆病相关疾病或病症，其选自额颞叶痴呆、与皮克氏病有关的额颞叶变性、血管性痴呆、皮质基底核退化症、缺血性血管性痴呆(IVD)、路易体痴呆症和阿尔茨海默氏痴呆病。在某些实施方式中，所述疾病或病症是眼部病症。在某些实施方式中，所述眼部病症是黄斑变性。在某些实施方式中，所述眼部病症是年龄相关性黄斑变性。在某些实施方式中，所述病症、疾病或病况是唐氏综合症。在某些实施方式中，所述疾病或病症选自传染性海绵状脑病(如绵羊的疯痒病、人的克劳伊登病(Creutzfeldt-Jakob disease)(CJD)、牛的海绵状脑病(BSE))、大脑淀粉样血管病、遗传性脑出血伴淀粉样变性、

轻度认知障碍、散发性包涵体肌炎和年龄相关性黄斑变性。

[0204] 在某些实施方式中，所述受试者是对其有需要的受试者。在一些实施方式中，所述受试者患有所述疾病或病况。在其它实施方式中，所述受试者具有患所述疾病或病况的风险。在一些实施方式中，所述施用导致了所述疾病或病况的预防或治疗。

[0205] 在另一个实施方式中，本文提供了预防和/或治疗受试者中的疾病或病况的症状的方法，其包括施用有效量的本文所提供的肽。在一个实施方式中，本文提供了预防受试者中的疾病或病况的症状的方法，其包括施用有效量的本文所提供的肽。在一个实施方式中，本文提供了治疗受试者中的疾病或病况的症状的方法，其包括施用有效量的本文所提供的肽。在某些实施方式中，所述疾病或病症是淀粉样蛋白(或淀粉样蛋白β)相关疾病或病症。在某些实施方式中，所述疾病或病症是与淀粉样蛋白原纤维形成、聚集或沉积有关的疾病或病症。在某些实施方式中，所述疾病或病症是神经系统疾病。在某些实施方式中，所述疾病或病症是神经退行性疾病。在某些实施方式中，所述疾病或病症选自帕金森氏病(PD)、阿尔茨海默氏病(AD)、创伤性脑损伤(TBI)、肌萎缩性侧索硬化(ALS)、多发性硬化(MS)或者痴呆病。在某些实施方式中，所述疾病或病症是痴呆病或痴呆病相关疾病或病症，其选自额颞叶痴呆、与皮克氏病有关的额颞叶变性、血管性痴呆、皮质基底核退化症、缺血性血管性痴呆(IVD)、路易体痴呆症和阿尔茨海默氏痴呆病。在某些实施方式中，所述疾病或病症是眼部病症。在某些实施方式中，所述眼部病症是黄斑变性。在某些实施方式中，所述眼部病症是年龄相关性黄斑变性。在某些实施方式中，所述病症、疾病或病况是唐氏综合症。在某些实施方式中，所述疾病或病症选自传染性海绵状脑病(如绵羊的疯痒病、人的克劳伊登病(Creutzfeldt-Jakob disease)(CJD)、牛的海绵状脑病(BSE))、大脑淀粉样血管病、遗传性脑出血伴淀粉样变性、轻度认知障碍、散发性包涵体肌炎和年龄相关性黄斑变性。

[0206] 在某些实施方式中，所述受试者是对其有需要的受试者。在一些实施方式中，所述受试者患有所述疾病或病况。在其它实施方式中，所述受试者具有患所述疾病或病况的风险。在一些实施方式中，所述施用导致了所述疾病或病况的症状的预防或治疗。

[0207] 本文还提供了通过向受试者施用有效量的本文所提供的肽或者包含本文所提供的肽的药物组合物来预防和/或治疗疾病或病况的方法。在一个方面，所述肽是基本纯化的(即基本不含限制其效果或产生不希望的副作用的物质)。施用了疗法的受试者可以是哺乳动物，如非灵长类(例如，牛、猪、马、猫、狗、大鼠等)或者灵长类(例如，猴，如食蟹猴或人)。在一个实施方式中，所述受试者是人。在另一个实施方式中，所述受试者是患有疾病或病况的人。

[0208] 多种递送系统是已知的并且可以用于施用预防或治疗剂(例如，本文所提供的肽)，其包括(但不限于)在脂质体中的包封、微颗粒、微胶囊、能够表达所述肽的重组细胞、受体介导的内吞(参见Wu and Wu,1987,J.Biol.Chem.262:4429-4432)、作为反转录病毒或其它载体的一部分的核酸的构建等。施用预防或治疗剂(例如，本文所提供的肽)或药物组合物的方法包括(但不限于)肠胃外施用(例如，皮内、肌内、腹膜内、静脉内和皮下)、硬膜外和粘膜(例如，鼻内和口服途径)施用。在具体的实施方式中，鼻内、肌内、静脉内或皮下施用预防或治疗剂(例如，本文所提供的肽)或药物组合物。可以通过任何方便的途径，例如，通过输注或弹丸注射，通过经上皮细胞或皮肤粘膜内层(例如，口腔粘膜、鼻内粘膜、直肠和肠粘膜等)的吸收来施用预防或治疗剂或者组合物并且其可以与其它生物活性剂一起施用。

施用可以是全身性的或局部的。另外，还可以使用肺部施用，例如，通过使用吸入器或喷雾器，以及具有雾化剂的制剂。参见，例如，美国专利No.6,019,968、5,985,320、5,985,309、5,934,272、5,874,064、5,855,913、5,290,540和4,880,078；和PCT专利公开No.WO 92/19244、WO 97/32572、WO 97/44013、WO 98/31346和WO 99/66903，以上每篇专利以其全部内容作为参考并入本文。

[0209] 在具体的实施方式中，可以期望将预防或治疗剂或者本文所提供的药物组合物局部施用至需要治疗的区域。这可以通过(例如，但非限制)局部输注，通过局部施用(例如，通过鼻内喷雾)，通过注射或通过植入物实现，所述植入物是多孔、无孔或凝胶状材料，包括膜，如硅橡胶(sialastic)膜或纤维。在一些实施方式中，当施用本文所提供的肽时，必须小心操作以使用所述肽不能吸收的材料。

[0210] 在另一个实施方式中，可以在囊泡，具体地脂质体中递送预防或治疗剂或者本文提供的组合物(参见Langer,1990,Science 249:1527-1533;Treat等人,1989,in Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer,第353-365页;Lopez-Berestein,同前,第317-327页;一般地参见同前)。

[0211] 在另一个实施方式中，可以在控释或缓释系统中递送预防或治疗剂或者本文提供的组合物。在一个实施方式中，可以使用泵来实现控释或缓释(参见Langer，如上;Sefton,1987,CRC Crit.Ref.Biomed.Eng.14:20;Buchwald等人,1980,Surgery 88:507;Saudek等人,1989,N.Engl.J.Med.321:574)。在另一个实施方式中，可以使用聚合物材料来实现预防或治疗剂(例如，本文所提供的肽)或者本文提供的组合物的控释或缓释(参见Langer and Wise主编,1974,Medical Applications of Controlled Release;Smolen and Ball主编,1984,Controlled Drug Bioavailability,Drug Product Design and Performance;Ranger and Peppas,1983,J.,Macromol.Sci.Rev.Macromol.Chem.23:61;Levy等人,1985,Science 228:190;During等人,1989,Ann.Neurol.25:351;Howard等人,1989,J.Neurosurg.7 1:105;美国专利No.5,679,377;美国专利No.5,916,597;美国专利No.5,912,015;美国专利No.5,989,463;美国专利No.5,128,326;PCT专利公开No.WO 99/15154;和PCT专利公开No.WO 99/20253)。在缓释制剂中使用的聚合物的实例包括(但不限于)聚(2-羟基甲基丙烯酸乙酯)、聚(甲基丙烯酸甲酯)、聚(丙烯酸)、聚(亚乙基-共-醋酸乙烯酯)、聚(甲基丙烯酸)、聚乙交酯(PLG)、聚酐、聚(N-乙烯基吡咯烷酮)、聚(乙烯醇)、聚丙烯酰胺、聚(乙二醇)、聚交酯(PLA)、聚(丙交酯-共-乙交酯)(PLGA)和聚原酸酯。在一个实施方式中，在缓释制剂中使用的聚合物是惰性的，不含可浸出杂质，储存稳定，无菌且生物可降解。在另一个实施方式中，可以将控释或缓释系统置于治疗靶标附近，即鼻部通道或肺，因此仅需要全身剂量的一部分(参见Goodson,Medical Applications of Controlled Release,如上,第2卷,第115-138页(1984)中)。在Langer的综述(1990,Science 249:1527-1533)中讨论了控释系统。本领域技术人员已知的任何技术可以用于生产包含一种或多种本文所提供的肽的缓释制剂(参见美国专利No.4,526,938,PCT专利公开WO 91/05548,PCT专利公开WO 96/20698;Ning等人,1996,Radiotherapy&Oncology 39:179-189;Song等人,1995,PDA Journal of Pharmaceutical Science&Technology 50:372-397;Cleek等人,1997,Pro.Int'l.Symp.Control.Rel.Bioact.Mater.24:853-854和Lam等人,1997,Proc.Int'l.Symp.Control Rel.Bioact.Mater.24:759-760，以上每篇文献以其全部内容

作为参考并入本文)。

[0212] 在具体的实施方式中,当本文提供的组合物是编码预防或治疗剂(例如,本文所提供的肽或其母体肽)的核酸时,可以体内施用所述核酸以促进其编码的预防或治疗剂的表达,通过将其构建为适当的核酸表达载体的一部分并施用它,从而使其成为胞内的,例如,通过利用反转录病毒载体(参见美国专利No.4,980,286),或者通过直接注射,或者通过利用微颗粒轰击(例如,基因枪;Biolistic,Dupont)或者用脂质或细胞表面受体或转染试剂涂覆,或者通过键合至已知进入核的同源框-样肽来施用它(参见Joliot等人,1991,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 88:1864-1868)等。作为另外一种选择,可以胞内引入核酸并引入到宿主细胞DNA内以用于通过同源重组进行表达。

[0213] 在具体的实施方式中,本文提供的组合物包含一种、两种或更多种本文所提供的肽。在另一个实施方式中,本文提供的组合物包含一种、两种或更多种本文所提供的肽和除本文所提供的肽以外的预防或治疗剂。在一个实施方式中,所述试剂已知对于疾病或病况的预防、控制、治疗和/或改善是有用的或者已用于或者目前用于疾病或病况的预防、控制、治疗和/或改善。除预防或治疗剂之外,本文提供的组合物还可以包含赋形剂。

[0214] 本文提供的组合物包括在可以在单位剂量形式的制备中使用的药物组合物(例如,适合于施用于受试者或患者的组合物)的生产中有用的原料药物组合物。在一个实施方式中,本文提供的组合物是药物组合物。这些组合物包含预防或治疗有效量的一种或多种预防或治疗剂(例如,本文所提供的肽或其它预防或治疗剂)和药学上可接受的赋形剂。可以将药物组合物配制以适合于受试者的施用途径。

[0215] 在具体的实施方式中,术语“赋形剂”还可以表示稀释剂、佐剂(例如,弗氏佐剂(完全或不完全)或媒介物)。药物赋形剂可以是无菌液体,如水和油剂,包括石油、动物、植物或合成来源的那些,如花生油、豆油、矿物油、芝麻油等。当静脉内施用所述药物组合物时,水是示例性的赋形剂。盐溶液以及葡萄糖和甘油的水溶液也可以用作液体赋形剂,具体地用于可注射溶液。适合的药物赋形剂包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、水稻、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石粉、氯化钠、脱脂奶粉、甘油、丙烯、乙二醇、水、乙醇等。如果需要,所述组合物还可以含有少量润湿剂或乳化剂,或者pH缓冲剂。这些组合物可以采取溶液、混悬液、乳液、片剂、丸剂、胶囊剂、粉剂、缓释制剂等的形式。口服制剂可以包括标准赋形剂,如药品级甘露糖醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、纤维素、碳酸镁等。适合的药物赋形剂的实例描述于Remington’s Pharmaceutical Sciences(1990)Mack Publishing Co.,Easton,PA。这些组合物将含有预防或治疗有效量的本文所提供的肽,如处于纯化形式,以及适合的量的赋形剂以提供用于向患者适当施用的形式。制剂应适合施用形式。

[0216] 在一个实施方式中,根据常规程序将所述组合物配制为适合于向人类静脉内施用的药物组合物。通常,用于静脉内施用的组合物是无菌等渗水性缓冲液中的溶液。必要时,所述组合物还可以包含增溶剂和局部麻醉剂(如利多卡因(lignocamne))以缓解注射位点的疼痛。然而,可以通过除静脉内以外的途径施用这些组合物。

[0217] 通常,单独提供本文提供的组合物的成分或者将其在指明活性剂的量的密闭容器(如安瓿瓶或袋(sachette))中以单位剂量形式混合在一起,例如,作为干燥的冷冻干燥粉末或者无水浓缩物。当通过输注施用所述组合物时,可以通过含有无菌药物级水或盐水的

输液瓶进行分配。当通过注射施用所述组合物时，可以提供无菌注射用水或盐水的安瓿瓶，从而可以在施用前混合所述成分。

[0218] 可以将本文所提供的肽包装在指明肽的量的密闭容器，如安瓿瓶或袋(sachette)中。在一个实施方式中，作为干燥的无菌冷冻干燥粉末或无水浓缩物在密闭容器中提供所述肽，并且所述肽可以通过(例如)水或盐水复原为适合于施用于受试者的浓度。所述冷冻干燥的肽可以在其原始容器中在2至8℃之间储存，并且可以在复原后12小时内，如6小时内、5小时内、3小时内或1小时内施用所述肽。在替代实施方式中，以液体形式在指明所述肽的量和浓度的密闭容器中提供了本文所提供的肽。

[0219] 可以将本文提供的组合物配制为中性或盐形式。药学上可接受的盐包括与阴离子所形成的那些盐，所述阴离子如来源于盐酸、磷酸、乙酸、草酸、酒石酸等的那些阴离子，和与阳离子形成的那些盐，所述阳离子如来源于钠、钾、铵、钙、氢氧化铁、异丙胺、三乙胺、2-乙基氨基乙醇、组氨酸、普鲁卡因等的那些阳离子。

[0220] 可以通过标准临床技术确定将在疾病或病况的预防和/或治疗中有效的预防或治疗剂(例如，本文所提供的肽)或本文提供的组合物的量。另外，可以任选地使用体外测定以帮助标识最优剂量范围。要在制剂中使用的准确剂量还将取决于施用途径以及疾病或病况的严重程度，并且应根据执业医生的判断和每位患者的情况来决定。

[0221] 可以根据来源于体外或动物模型测试系统的剂量反应曲线来外推有效剂量。

[0222] 在某些实施方式中，用于一个剂量的本文所提供的肽的患者施用途径为鼻内、肌内、静脉内或它们的组合，但是本文所描述的其它途径也是可接受的。可以或可以不通过相同施用途径来施用每个剂量。在一些实施方式中，可以通过多个施用途径同时或在本文所提供的相同或不同的肽的其它剂量之后施用本文所提供的肽。

[0223] 在某些实施方式中，将本文所提供的肽预防或治疗性施用至受试者。可以将本文所提供的肽预防或治疗性地施用于受试者以预防、减轻或改善疾病或其症状。

[0224] 5.7试剂盒

[0225] 还可以使用本领域技术人员熟知的包装材料，作为生产制品提供本文所提供的肽。参见美国专利No.5,323,907;5,052,558;和5,033,252。药物包装材料的实例包括(但不限于)泡罩包装、瓶、管、吸入器、泵、袋、小瓶、容器、注射器和适合于所选制剂以及预期施用形式和治疗的任何包装材料。

[0226] 在某些实施方式中，本文还提供了试剂盒，当由执业医生使用时，所述试剂盒可以简化向受试者的施用适当量的活性成分。在某些实施方式中，本文所提供的试剂盒包括容器和本文所提供的肽或者包含所述肽的药物组合物的剂量形式。

[0227] 在某些实施方式中，所述试剂盒包括包含本文所提供的肽的剂量形式的容器或者处于包含一种或多种本文所描述的其它治疗剂的容器中的包含所述肽的药物组合物。

[0228] 本文所提供的试剂盒还可以包括用于施用所述活性成分的装置。这些装置的实例包括(但不限于)注射器、无针注射器滴注袋、贴片和吸入器。本文所提供的试剂盒还可以包括用于施用活性成分的避孕套。

[0229] 本文所提供的试剂盒还可以包括可以用于施用一种或多种活性成分的药学上可接受的媒介物。例如，如果以对于肠胃外施用必须复原的固体形式提供活性成分，则所述试剂盒可以包含适合的媒介物的密封容器，其中所述活性成分可以溶解以形成适合于肠胃外

施用的无颗粒无菌溶液。药学上可接受的媒介物的实例包括(但不限于):水媒介物,其包括(但不限于)注射用水USP、氯化钠注射液、林格氏注射液、葡萄糖注射液、葡萄糖和氯化钠注射液和乳酸林格氏注射液;水可混溶的媒介物,其包括(但不限于)乙醇、聚乙二醇和聚丙二醇;和非水媒介物,其包括(但不限于)玉米油、棉籽油、花生油、芝麻油、油酸乙酯、豆蔻酸异丙酯和苯甲酸苄酯。

[0230] 为了简明起见,在本文中使用了某些缩写。一个实例是表示氨基酸残基的单字母缩写。氨基酸以及它们相应的3字母和单字母缩写如下所示:

[0231]	丙氨酸	Ala	(A)
[0232]	精氨酸	Arg	(R)
[0233]	天门冬酰胺	Asn	(N)
[0234]	天门冬氨酸	Asp	(D)
[0235]	半胱氨酸	Cys	(C)
[0236]	谷氨酸	Glu	(E)
[0237]	谷氨酰胺	Gln	(Q)
[0238]	甘氨酸	Gly	(G)
[0239]	组氨酸	His	(H)
[0240]	异亮氨酸	Ile	(I)
[0241]	亮氨酸	Leu	(L)
[0242]	赖氨酸	Lys	(K)
[0243]	蛋氨酸	Met	(M)
[0244]	苯丙氨酸	Phe	(F)
[0245]	脯氨酸	Pro	(P)
[0246]	丝氨酸	Ser	(S)
[0247]	苏氨酸	Thr	(T)
[0248]	色氨酸	Trp	(W)
[0249]	酪氨酸	Tyr	(Y)
[0250]	缬氨酸	Val	(V)

[0251] 一般地,在本文中使用肯定性语言公开了本发明以描述多种实施方式。本发明还具体地包括其中完全或部分排除特定主题,如物质或材料、方法步骤和条件、规程、程序、测定或分析的实施方式。因此,尽管通常在本文中未就本发明不包括的内容来表达本发明,但是尽管如此本文公开了未明确包括在本发明中的方面。

6.实施例

[0252] 以下是对研究中所使用的多种方法和材料的描述,并且描述以下内容以向本领域技术人员提供如何实施和使用本发明的完整公开内容和描述,并且其不意欲限制本发明人所认为的他们的发明的范围,也不意欲表示实施了以下实验并且以下实施是可以实施的全部实验。应理解以现在时书写的示例性描述不必需是实施的,而是可以实施该描述以产生与本发明的教导有关的数据等。已进行了工作以确保相对于所使用数值的准确度(例如,量、百分比等),但是应说明一些实验误差和偏差。

[0253] 6.1实施例1—P8肽的变体的产生

[0254] 通过固相肽合成，合成了P8肽及其变体。通过使用p-苄氧基-苯甲醇树脂(Wang树脂)制备了肽。作为9-芴甲氧羰基(Fmoc)-衍生物(Nova Biochem)偶联所有氨基酸。将叔丁基基团用作侧链的保护基。对于8M2和8M2D，通过将20％的乙酸酐溶液添加至所述树脂来进行乙酰化修饰。对于8M1、8M2、8M1D和8M2D，通过添加六氟磷酸氮杂苯并三唑四甲基铀(HATU)和二异丙基乙胺(DIPEA)，然后使其通过氨气来进行酰胺化。在合成完成后，从树脂切下所述肽。在使用前，通过高效液相色谱法在反相柱(RP-HPLC)上将粗产物纯化至大于约98％的程度。

[0255] 表1.P8及其变体肽的肽序列

[0256]

肽名称	序列	分子量 (g/mol)	注释	SEQ ID NO.
P8	DEEEDEEL	1,007	母体肽	1
8M1	DEEEDEEL-NH_2	1,006	P8 的修饰	2
8M2	Ac-DEEEDEEL-NH_2		P8 的修饰	3

[0257]

8M1D	dEEEDEEL-NH_2	1,006	P8 的修饰	4
8M2D	Ac-dEEEDEEL-NH_2		P8 的修饰	5

[0258] 注：-NH_2表示C末端酰胺化(-$CONH_2$)；Ac表示N末端乙酰化；d表示D-氨基酸

[0259] 6.2实施例2—肽在新鲜人血浆中的代谢稳定性

[0260] 根据实施例1，产生了纯度在98.0％至99.0％的范围内的P8、8M1和8M1D。对于每种肽，在乙腈或乙腈:水(1:1，v/v)中制备了基础1.00mM储液。从在乙腈:水(1:1，v/v)中的基础储液制备了0.200mM的工作储液，将该储液用于反应。当不使用时，在-20℃储存基础和工作储液，并且在使用时，将它们在室温下保持尽可能短的时间。通过添加肝素钠作为抗凝血剂来维持新鲜的人血浆。

[0261] 当将5.00μL 0.2mM(工作储液)的不同的肽添加至1.7-mL有盖试管中的0.995mL新鲜人血浆时，开始培育程序。在培育3、8和24小时后，取出一式两份的50.0μL血浆等分试样并将其置于含有150μL甲醇的提取管中，甲醇用于使任何反应淬灭并因此培育终止。对于每个时间点，立即通过涡旋混合和离心萃取所述等份。在提取所有样品后，将所产生的上清液保存在高效液相色谱(HPLC)小瓶中并通过LC/MS/MS分析。将伐昔洛韦用作阳性对照。

[0262] 通过在通过质谱仪检测前使用色谱法初始分离测试制品峰来实施培育溶液的LC/MS/MS分析。LC/MS系统由偶联TQS-Micro或者Quattro Premier的HPLC(Waters，Milford，MA)组成。对于所述肽，使用在设置为以正电离模式电喷雾的Z喷雾源/接口中的加热氮气使流动相喷雾。使用串联四极杆质谱(Tandem Quadropole Mass Spectrometry)(MS/MS)检测电离的肽。使用MassLynx(Waters，Milford，MA)采集数据。

[0263] 在无保护柱的情况下进行所述肽和伐昔洛韦对照的HPLC，流速为0.3mL/min，柱温40℃并且自动进样器温度为10℃。肽的柱为MacMod ACE 2Excel C18PFP，100×2.1-mm，2.0μm，并且对照的柱为Waters Atlantis T3，150×2.1-mm，5.0μm。进样圈和肽的体积分别为50.0μL和20.0μL，并且对照的分别为20.0μL和2.00μL。对于所述肽和伐昔洛韦对照的质谱仪，离子源温度设置为150℃，去溶剂温度设置为350℃，并且极性设置为电喷雾电离的正模式。HPLC和质谱仪中的其它参数如下表2.1、表2.2和表3所示。

[0264] 表2.1.肽的HPLC线性梯度程序

[0265]

时间（min）	溶剂 A	溶剂 B	曲线
0.00–0.50	80%	20%	6
0.50–2.00	降低至 5%	升高至 95%	6
2.00–3.00	5%	95%	6
3.00–3.10	升高至 80%	降低至 20%	6
3.10–6.00	80%	20%	6

[0266] 表2.2.伐昔洛韦的HPLC线性梯度程序

[0267]

时间（min）	溶剂 A	溶剂 B	曲线
0.00	90%	10%	6
0.00–1.50	降低至 40%	升高至 60%	6
1.50–1.60	降低至 5%	升高至 95%	6
1.60–2.00	5%	95%	6
2.00–2.10	升高至 90%	降低至 10%	6
2.10–4.00	90%	10%	6

[0268]

[0269] 注:溶剂A是0.1％甲酸的水溶液;溶剂B是0.1％甲酸的甲醇溶液

[0270] 表3.肽和伐昔洛韦的质谱条件

[0271]

分析物	质量转换	锥孔电压（V）	碰撞能（eV））
P8	1,007.5>876.4	10	25
8M1	1,006.6>876.4	10	30
8M1D	1,006.5>876.4	25	35
伐昔洛韦	325.1>152.0	5	15

[0272] 下表4总结了LC/MS/MS分析结果,其显示不同的肽在新鲜人血浆中以不同的速率代谢,其中8M1D最慢,8M1最快。具体地,肽P8和8M1D在新鲜人血浆中相对稳定,其中8M1D优于P8。

[0273] 表4.P8、8M1和8M1D的代谢稳定性测定结果

肽	时间(h)	峰高	平均峰高	剩余%
8M1	0	12,282 11,904	12,093	100
	3	12,038 9,040	10,539	87.1
	8	8,129 7,618	7,874	65.1
	24	5,047 6,339	5,693	47.1
8M1D	0	15,325 16,760	16,043	100
	3	17,259 19,688	18,474	115.2
	8	17,405 14,817	16,111	100.4
	24	15,683 13,051	14,367	89.6
P8	0	10,793 9,293	10,043	100
	3	10,026 13,054	11,540	115
	8	7,629 12,392	10,011	99.7
	24	7,948 6,533	7,241	72

[0274]

[0275] 6.3实施例3—大鼠中的药物动力学研究

[0276] 在大鼠中进行体内研究以确定P8、8M1D和8M2D在血浆和CSF中的药物动力学(PK)。通过两个剂量途径,静脉内(IV)和皮下(SC)评价每种肽。对每种肽的每个剂量组分配3只大鼠。每种肽总计使用12只大鼠。研究设计如表5所示。

[0277] 表5.对于每种肽在大鼠中的药物动力学研究设计

[0278]

剂量组	剂量施用途径	N=	剂量（mg/kg）	血液采样时间点	CSF 采样时间点
1	IV	3	10mg/kg	剂量前、10、30min、1、2、4、6、8、12 和 24hr	剂量前、1、4 和 12hr
2	IV	3	10mg/kg	剂量前、10、30min、1、2、4、6、8、12 和 24hr	30mins、2、8 和 24hr
3	SC	3	10mg/kg	剂量前、10、30min、1、2、4、6、8、12 和 24hr	剂量前、1、4 和 12hr
4	SC	3	10mg/kg	剂量前、10、30min、1、2、4、6、8、12 和 24hr	30mins、2、8 和 24hr

[0279] 通过颈静脉插管采集血液，并且将样品采集到具有K_2EDTA的管中。在2至8℃的温度下，以4,000xg离心5分钟后，将所得血浆分成相等份，冷冻并储存在-60至-80℃。将一个等份用于PK分析并且将另一个用于Aβ分析(参见实施例4)。

[0280] 通过首先在指定时间点用80mg/kg氯胺酮和8mg/kg甲苯噻嗪的混合物使动物麻醉(参见表5)来进行CSF采集。通过夹趾法监测麻醉深度。通过小脑延髓池(～0.05mL)采集CSF，并将其分成相等等份，冷冻并储存在-60至-80℃。

[0281] 在Cmax和大部分后续时间点，8M1D和8M2D两者在血浆中的暴露优于P8(参见下表6、7和8)。使用8M1D的暴露稍高于8M2D。8M1D和8M2D在血浆中可检测的时间长度也比P8更长。具体地，8M1D和8M2D在剂量施用后4h和6h仍可检测，而P8在2h后不可检测。

[0282] 表6.P8在大鼠中的PK研究结果

[0283]

时间(hr)	大鼠 I.D.					
	组 1-P8；10mg/kg IV			组 3-P8；10mg/kg SC		
	821	822	823	827	828	829
0	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
0.167	9,770	12,800[a]	11,800[a]	5,610	14,400[a]	11,900[a]
0.5	2,340	2,080	2,710	3,030	7,010	7,250
1	257	219	189	670	1,300	1,970
2	26.3	22.7	18.9	105	191	245
4	3.23[b]	3.18[b]	2.89[b]	5.44[b]	9.41[b]	20.7
6	1.07[b]	-	0.794[b]	1.18[b]	4.35[b]	9.33[b]
8	BQL	-	BQL	BQL	1.32[b]	1.51[b]
12	BQL	-	BQL	BQL	BQL	0.900[b]
24	BQL	-	BQL	BQL	-	BQL

[0284] 表7. 8M1D在大鼠中的PK研究结果

[0285]

时间 (hr)	大鼠 I.D.					
	组 1-8M1D；10mg/kg IV			组 3-8M1D；10mg/kg SC		
	833	834	835	839	840	841
0	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
0.167	25,600	23,000	20,200	20,500[a]	19,100	25,900
0.500	7,140	8,630	6,650	12,300[a]	10,900	11,800
1	1,680	2,160	1,580	5,440	4,310	3,410
2	215	360	290	1,330	1,570	642
4	25.6	16.0	17.0	49.8	75.3	43.9
6	2.93[b]	0.805[b]	1.48[b]	11.4	8.83[b]	4.66[b]
8	BQL	BQL	BQL	1.29[b]	BQL	BQL
12	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
24	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL

[0286] 表8. 8M2D在大鼠中的PK研究结果

[0287]

时间 (hr)	大鼠 I.D.					
	组 1-8M2D；10mg/kg IV			组 3-8M2D；10mg/kg SC		
	884	885	886	890	891	892
0	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
0.167	20,900	21,000	23,400	16,200	13,500	13,800[a]
0.500	5,620	5,680	5,940	9,030	9,010	7,190
1	1,450	1,040	1,190	3,250	4,160	3,110
2	417	114	136	609	987	1,040
4	10.2	7.54[b]	8.29[b]	59.2	82.8	125
6	2.09[b]	1.81[b]	BQL	3.77[b]	9.84[b]	21.6
8	BQL	BQL	BQL	1.61[b]	4.37[b]	5.19[b]
12	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
24	BQL	BQL	BQL	-	BQL	BQL

[0288] 如表9、10和11所示，在Cmax和大部分后续时间点，8M1D和8M2D两者在CSF中的暴露优于P8。使用8M2D在CSF中的暴露高于8M1D。8M1D和8M2D在CSF中可检测的时间长度也比P8更长。具体地，8M1D在剂量施用后8h仍可检测，8M2D在剂量施用后12h仍可检测，而P8在2h后不可检测。

[0289] 表9.P8在大鼠中的PK研究结果

[0290]

时间 (hr)	平均 IV	平均 SC
0	0	0
0.5	42.4	79.4
1	14.2	19.3
2	4.89	23.3
4	0	0

[0291]

8	0	0
12	0	0
24	0	0

[0292] 表10. 8M1D在大鼠中的PK研究结果

[0293]

时间(hr)	平均IV	平均SC
0	0	0
0.5	67.8	50.9
1	80.8	66.1
2	65	62.9
4	23.4	18.9
8	0.913	3.85
12	0	0
24	0.261	0

[0294] 表11. 8M2D在大鼠中的PK研究结果

[0295]

时间(hr)	平均IV	平均SC
0	0	0
0.5	104	59
1	55.6	53.4
2	68	172
4	11.5	13.3
8	1.75	15.3
12	0.378	0.113
24	1.2	0

[0296] 具体地,比较了血浆和CSF中的肽P8和8M2D的药物动力学(PK)。类似地,通过两个剂量途径,IV和SC评价了每个测试制品。每个测试制品,每个剂量组,N＝3。图1A-1D中显示了结果。如所示的,在Cmax和大部分后续时间点,血浆中的8M2D的暴露优于P8。8M2D在血浆中可检测的时间长度也比P8更长(与P8相比,剂量施用后4h和6h,P8在剂量施用后2h不再可检测)。类似地,在Cmax和大部分后续时间点,CSF中的8M2D的暴露高于P8。8M2D在CSF中可检测的时间长度也比P8长得多(与P8相比,剂量施用后长达12h,P8在剂量施用后2h不再可检测)。

[0297] 在转基因小鼠(APPSWE(B6;SJL 2576Kha;Taconic))中,在第1和13天以不同的剂量进一步分析了8M2D的药物动力学(PK)。参见Hsiao等人,Correlative memory deficits, Aβelevation,and amyloid plaques in transgenic mice.Science 274:99-102(1996);和Haugabook等人,Reduction of Abeta accumulation in the Tg2576 animal model of Alzheimer's disease after oral administration of the phosphatidyl-inositol kinase inhibitor wortmannin.Faseb J 15:16-18(2001)。结果如表12和图2所示。

[0298] 表12. 8M2D在转基因小鼠中的PK分析

[0299]

天数	剂量 (mg/kg)	T_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{last} (h*ng/mL)	Vz/F (L/kg)	Cl/F (mL/min/kg)	$t_{1/2}$ (h)
1	10	0.17	14400	12800	8.84	13.0	7.9
	50	0.17	111000	70500	7.59	11.8	7.4
	250	0.17	207000	176000	5.84	23.6	2.9
	N	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**
	平均值	**0.167**	**111000**	**86400**	**7.42**	**16.1**	**6.06**
	SD	**0.00**	**96400**	**82800**	**1.50**	**6.52**	**2.78**
	CV%	**0.00**	**87.0**	**95.8**	**20.3**	**40.5**	**45.9**
13	10	0.17	12400	11600	10.2	14.1	8.4
	50	0.17	73000	49700	148	12.9	130
	250	0.17	278000	290000	33.4	13.5	29
	N	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**
	平均值	**0.167**	**121000**	**117000**	**63.8**	**13.5**	**56.5**
	SD	**0.00**	**139000**	**151000**	**73.6**	**0.610**	**66.6**
	CV%	**0.00**	**115**	**129**	**115**	**4.52**	**118**

[0300] 6.4实施例4—P8、8M1D和8M2D在降低大鼠血浆中Aβ40中的效力

[0301] 对大鼠(每种肽n＝3)皮下施用P8、8M1D或8M2D(10mg/kg)，并且在剂量施用后0、6、12和24h采集血浆，并通过ELISA(Invitrogen)进行Aβ40分析。

[0302] 结果(参见图3)显示8M2D比P8和8M1D更有效，其中它降低的Aβ40的量的程度更大。具体地，在剂量施用后12hr，8M2D使Aβ40降低约35％；而P8使Aβ40降低约22％并且8M1D使Aβ40降低约27％。在剂量施用后24h，8M2D仍显示出约27％的持久Aβ40降低效果，当与P8相比时，这大于它的两倍，P8使Aβ40降低约13％。8M2D也优于8M1D，8M1D在24小时使Aβ40降低约19％。

[0303] 表13.用P8、8M1D和8M2D处理的大鼠血浆中Aβ40的减少百分比(结果显示了每种肽的3只大鼠的平均值)

[0304]

样品ID	0h	6h	12h	24h
P8	0.00	-18.13	-22.70	-13.22
8M1D	0.00	-23.61	-27.34	-19.13
8M2D	0.00	-26.62	-35.27	-27.36

[0305] 实施了类似的研究以分析所述肽降低Aβ42的效率。

[0306] 6.5实施例5—对脑的递送以及P8和8M2D在降低转基因小鼠中的Aβ中的效力

[0307] 对于疾病，如AD的任何治疗剂的开发，可以将它递送至脑的要求是至关重要的。在以上6.3节中所述的转基因小鼠中分析了对脑的递送以及P8和8M2D降低Aβ的效力。

[0308] 如以下图4A-4B和表14所示，SC施用将P8和8M2D递送至APPTg小鼠的脑并且它以足以降低脑中Aβ的量进行。具体地，在P8(图4A)和8M2D(图4B)施用后，APP转基因小鼠的CSF中的Aβ分析显示了靶向接合(target engagement)、脑渗透和使用SC剂量施用的效力(CSF和脑中的分析)。过表达Aβ的Tg小鼠中的8M2D的最大有效剂量为刚超过50mg/kg。这提供了65％的Aβ42的降低。剂量5X的提高仅提供了微小的效力增加。实施实验以在Tg小鼠中建立最小有效剂量。

[0309] 表14.脑浓度

[0310]

动物	按计量（mg/kg）的脑浓度（ng/g）		
ID	10	50	250
11	BQL		
12	BQL		
13	BQL		
14	BQL		
15		9.38	
16		8.73	
17		BQL	
18		BQL	
19		BQL	
20			5.10
21			14.6
22			16.9
23			19.9
24			20.3
N	0	2	5
平均值		9.06	15.4
SD		0.460	6.19
CV%		5.08	40.3

[0311] 6.6实施例6—视网膜中Aβ的减少

[0312] 在本实施例中研究了Aβ在视网膜中的积累。从来源于阿尔茨海默氏病患者的诱导多能干(iPSC)细胞分化视网膜细胞。结果表明这些视网膜细胞显示出Aβ产生的增加，其可以在存在P8或8M2D的情况下降低。

[0313] 实施类似的实验以测试P8和8M2D在降低来自患有年龄相关性黄斑变性的患者的视网膜细胞中的Aβ中的功能。

SEQUENCE LISTING
<110> 森纳生物科学公司
<120> 新型肽及其用途
<130> 14461-003-228
<140> TBA
<141>
<150> 62/789,114
<151> 2019-01-07
<160> 5
<170> PatentIn version 3.5
<210> 1
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> P8母体肽
<400> 1
Asp Glu Glu Glu Asp Glu Glu Leu
1 5
<210> 2
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 肽P8 - 8M1的修饰
<220>
<221> MOD_RES
<222> (8)..(8)
<223> AMIDATION
<400> 2
Asp Glu Glu Glu Asp Glu Glu Leu
1 5
<210> 3
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 肽P8 - 8M2的修饰

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> ACETYLATION
<220>
<221> MOD_RES
<222> (8)..(8)
<223> AMIDATION
<400> 3
Asp Glu Glu Glu Asp Glu Glu Leu
1 5
<210> 4
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 肽P8 - 8M1D的修饰
<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> Xaa = D-Asp
<220>
<221> MOD_RES
<222> (8)..(8)
<223> AMIDATION
<400> 4
Xaa Glu Glu Glu Asp Glu Glu Leu
1 5
<210> 5
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 肽P8 - 8M2D的修饰
<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> ACETYLATION
<220>

<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> Xaa = D-Asp
<220>
<221> MOD_RES
<222> (8)..(8)
<223> AMIDATION
<400> 5
Xaa Glu Glu Glu Asp Glu Glu Leu
1 5

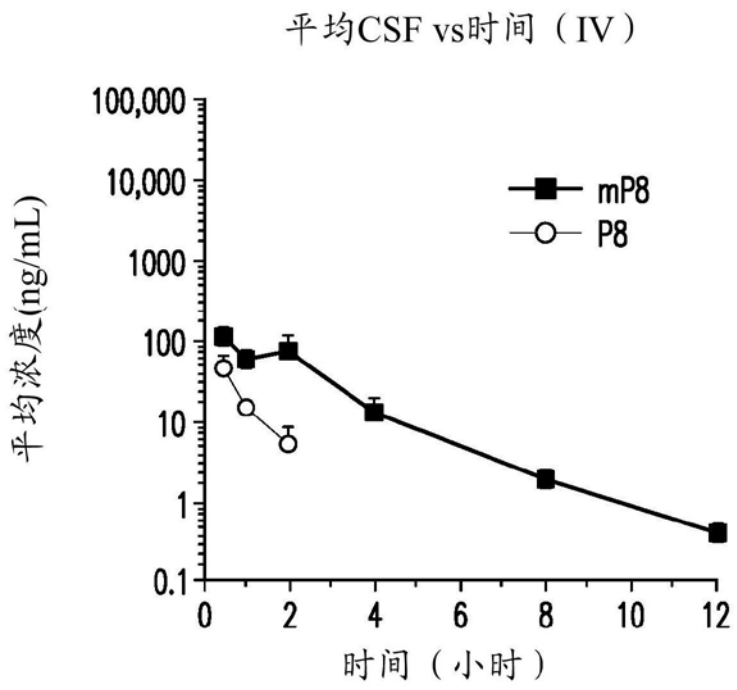

平均CSF vs时间（IV）
平均浓度(ng/mL)
100,000
10,000
1000
100
10
1
0.1
0
2
4
6
8
10
12
时间（小时）
mP8
P8

图1A

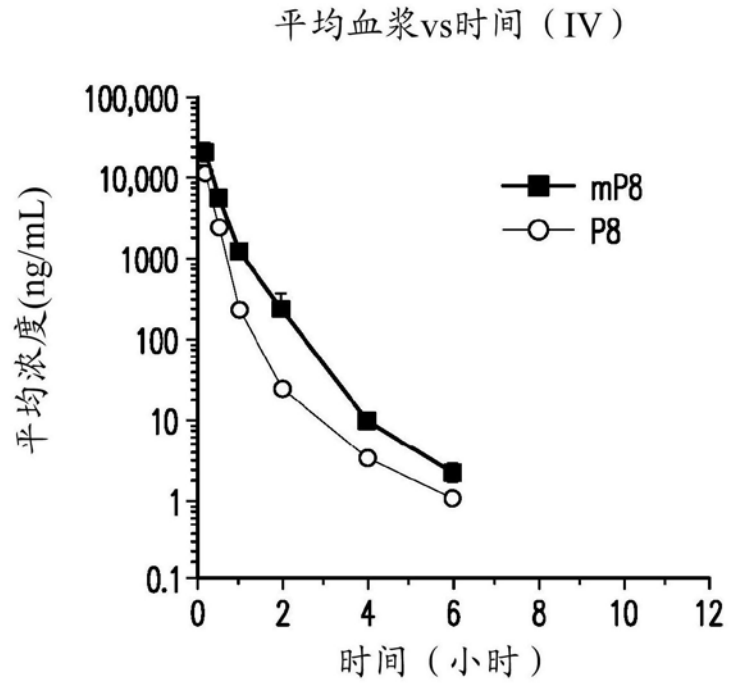

平均血浆vs时间（IV）
平均浓度(ng/mL)
100,000
10,000
1000
100
10
1
0.1
0
2
4
6
8
10
12
时间（小时）
mP8
P8

图1B

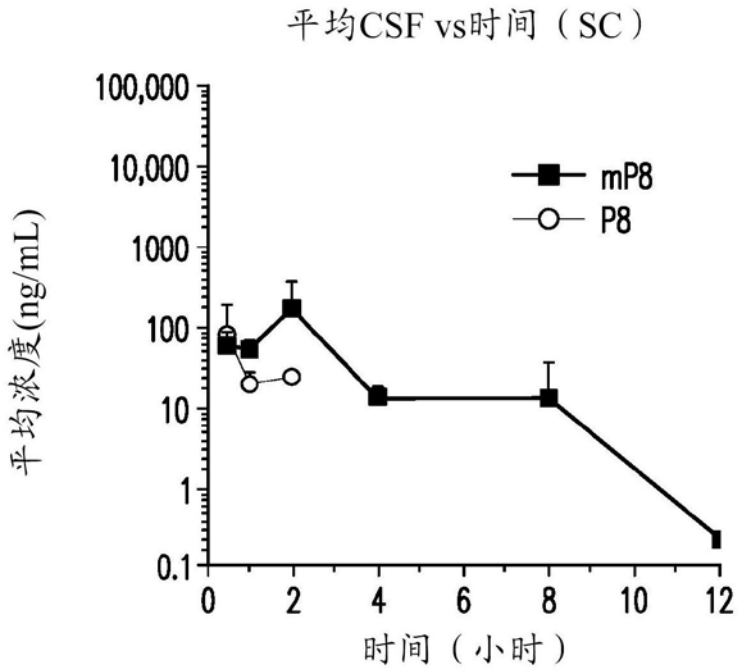

平均CSF vs时间（SC）
平均浓度(ng/mL)
100,000
10,000
1000
100
10
1
0.1
0
2
4
6
8
10
12
时间（小时）
mP8
P8

图1C

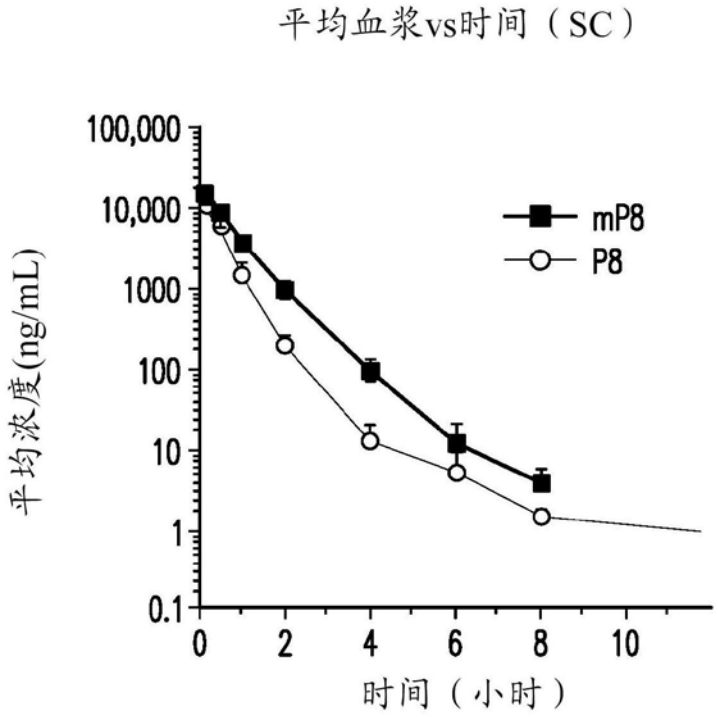

平均血浆vs时间（SC）
平均浓度(ng/mL)
100,000
10,000
1000
100
10
1
0.1
0
2
4
6
8
10
时间（小时）
mP8
P8

图1D

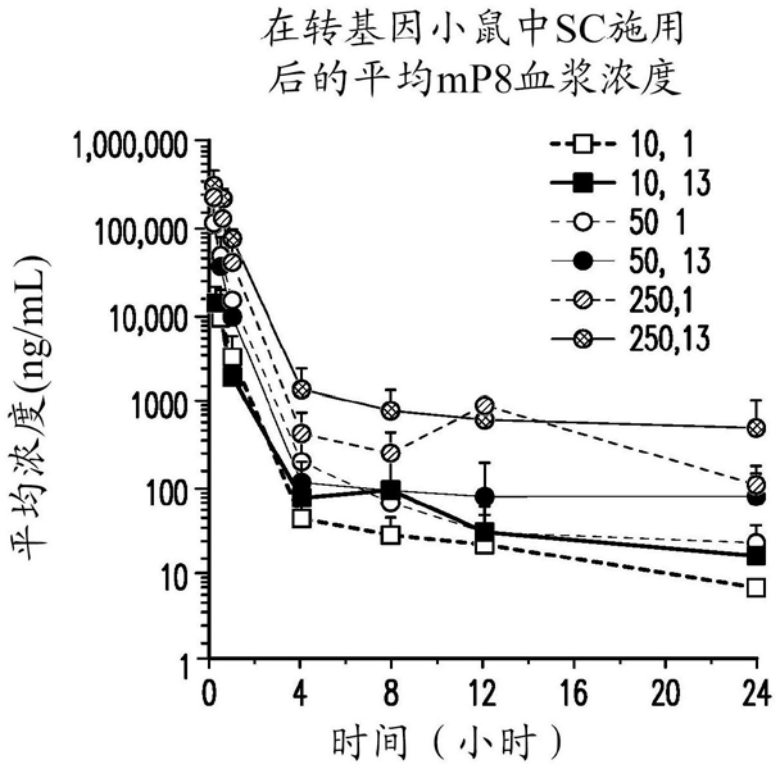

在转基因小鼠中SC施用
后的平均mP8血浆浓度
1,000,000
100,000
10,000
1000
100
10
1
平均浓度(ng/mL)
0
4
8
12
16
20
24
时间（小时）
10, 1
10, 13
50 1
50, 13
250,1
250,13

图2

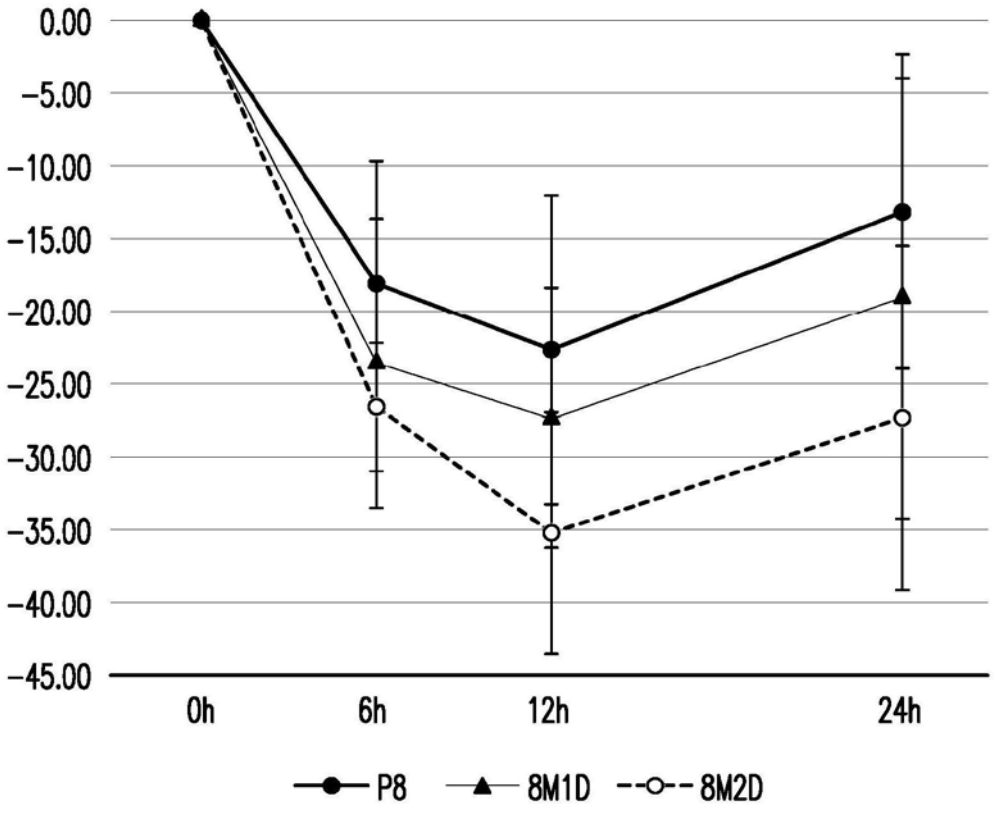

0.00
-5.00
-10.00
-15.00
-20.00
-25.00
-30.00
-35.00
-40.00
-45.00
0h
6h
12h
24h
P8
8M1D
8M2D

图3

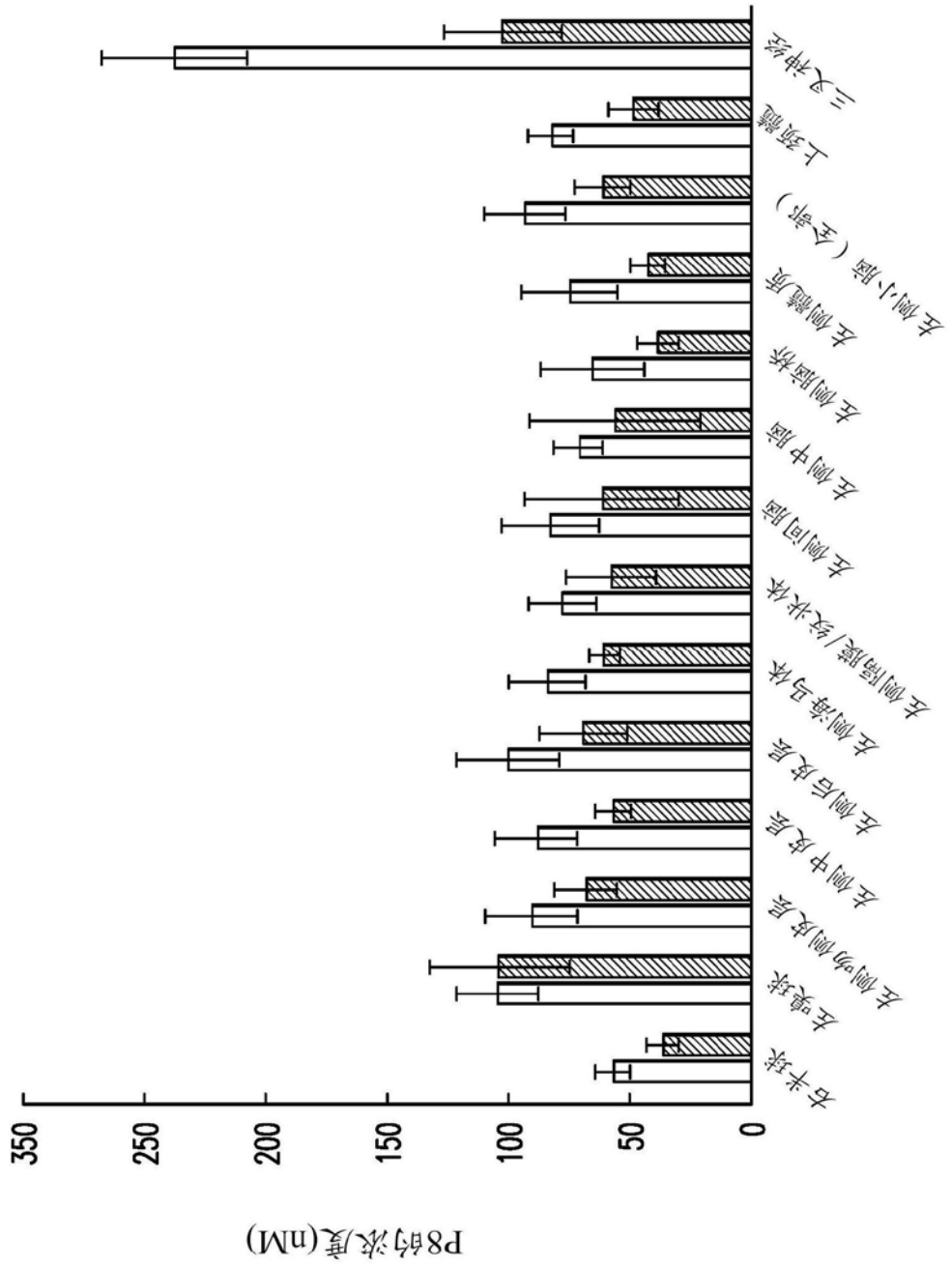

P8的浓度(nM)
350
250
200
150
100
50
0
右半球
左嗅球
左侧吻侧皮层
左侧中皮层
左侧后皮层
左侧海马体
左侧隔膜/纹状体
左侧间脑
左侧中脑
左侧脑桥
左侧髓质
左侧小脑（全部）
上颈髓
三叉神经

图4A

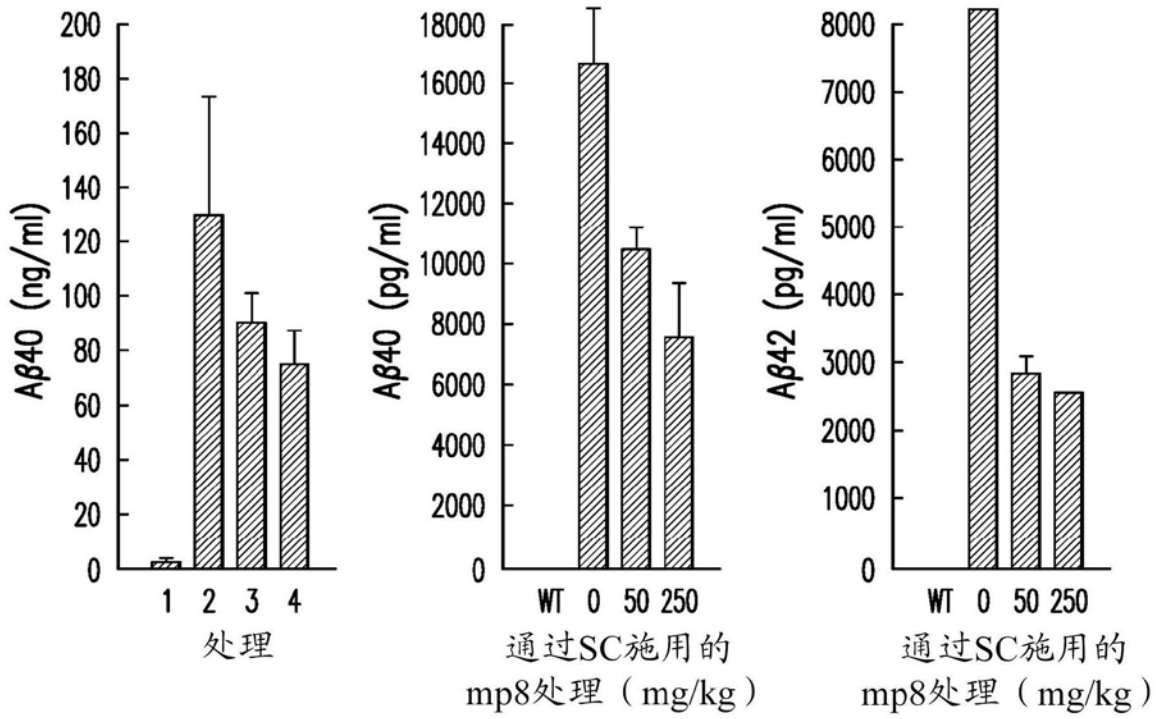

Aβ40 (ng/ml)
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
1 2 3 4
处理
Aβ40 (pg/ml)
18000
16000
14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
WT 0 50 250
通过SC施用的
mp8处理（mg/kg）
Aβ42 (pg/ml)
8000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
WT 0 50 250
通过SC施用的
mp8处理（mg/kg）

图4B