



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116438191 A

(43) 申请公布日 2023. 07. 14

(21) 申请号 202180064030.7

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

(22) 申请日 2021.08.06

11105

专利代理师 张文辉

(30) 优先权数据

63/080,619 2020.09.18 US

(51) Int.Cl.

C07K 7/06 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

A61K 38/08 (2019.01)

2023.03.17

A61K 39/00 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

A61K 39/39 (2006.01)

PCT/US2021/045058 2021.08.06

A61P 25/28 (2006.01)

(87) PCT国际申请的公布数据

C07K 14/01 (2006.01)

W02022/060488 EN 2022.03.24

C07K 14/47 (2006.01)

(71) 申请人 欧萨尔普罗席纳有限公司

C12N 15/85 (2006.01)

地址 爱尔兰都柏林

(72) 发明人 R·巴伯 G·金尼 W·扎戈

权利要求书12页 说明书32页

序列表43页 附图3页

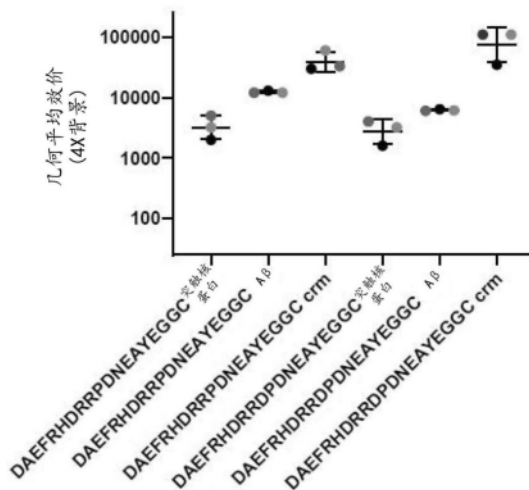
(54) 发明名称

治疗阿尔茨海默病之多表位疫苗

(57) 摘要

本公开提供肽组合物及免疫疗法组合物,其包含淀粉样蛋白-β (Aβ) 肽及α-突触核蛋白肽。本公开亦提供治疗或实现防治受试者之阿尔茨海默病(Alzheimer's disease)或其他具有β-淀粉样蛋白沉积之疾病的方法,包括在患有阿尔茨海默病或其他含有α-突触核蛋白和/或淀粉样蛋白-β 积累之疾病或具有发展此类疾病之风险之受试者中清除沉积物、抑制或减少Aβ和/或α-突触核蛋白之聚集、阻断由神经元摄取、清除淀粉样蛋白以及抑制α-突触核蛋白种子之传播的方法。该方法包括向此类患者施用包含淀粉样蛋白-β (Aβ) 肽及α-突触核蛋白肽之组合物。

在第3次注射后的突触核蛋白、Aβ和CRM效价



1. 一种多肽,其包含连接至第二肽的第一肽,所述第一肽包含来自SEQ ID NO:01之残基1至10或12至25的3至10个氨基酸,所述第二肽包含来自SEQ ID NO:02之残基81至140的3至10个氨基酸。

2. 如权利要求1的多肽,其中所述第二肽来自 $\alpha$ -突触核蛋白之C端区(SEQ ID NO:02之残基111至131)。

3. 如权利要求1的多肽,其中所述第一肽位于所述第二肽之N端。

4. 如权利要求1的多肽,其中所述第一肽位于所述第二肽之C端。

5. 如权利要求1至4中任一项的多肽,其中:

(a) 所述第一肽包含选自由以下组成的组的氨基酸序列:

DAEFRHDSGY (SEQ ID NO:03),

DAEFRHDSG (SEQ ID NO:04),

DAEFRHDS (SEQ ID NO:05),

DAEFRHD (SEQ ID NO:06),

DAEFRH (SEQ ID NO:07),

DAEFR (SEQ ID NO:08),

DAEF (SEQ ID NO:09),

DAE (SEQ ID NO:10),

AEFRHDSGY (SEQ ID NO:11),

AEFRHDSG (SEQ ID NO:12),

AEFRHDS (SEQ ID NO:13),

AEFRHD (SEQ ID NO:14),

AEFRH (SEQ ID NO:15),

AEFR (SEQ ID NO:16),

AEF (SEQ ID NO:17),

EFRHDSGY (SEQ ID NO:18),

EFRHDSG (SEQ ID NO:19),

EFRHDS (SEQ ID NO:20),

EFRHD (SEQ ID NO:21),

EFRH (SEQ ID NO:22),

EFR (SEQ ID NO:23),

FRHDSGY (SEQ ID NO:24),

FRHDSG (SEQ ID NO:25),

FRHDS (SEQ ID NO:26),

FRHD (SEQ ID NO:27),

FRH (SEQ ID NO:28),

RHDSGY (SEQ ID NO:29),

RHDSG (SEQ ID NO:30),

RHDS (SEQ ID NO:31),

RHD (SEQ ID NO:32),

HDSGY (SEQ ID NO:33) ,  
HDSG (SEQ ID NO:34) ,  
HDS (SEQ ID NO:35) ,  
DSGY (SEQ ID NO:36) ,  
DSG (SEQ ID NO:37) ,  
SGY (SEQ ID NO:38) ,  
VHHQKLVFFA (SEQ ID NO:121) ,  
VHHQKLVFF (SEQ ID NO:122) ,  
VHHQKLVF (SEQ ID NO:123) ,  
VHHQKLV (SEQ ID NO:124) ,  
VHHQKL (SEQ ID NO:125) ,  
HHQKLVFFAE (SEQ ID NO:126) ,  
HHQKLVFFA (SEQ ID NO:127) ,  
HHQKLVFF (SEQ ID NO:128) ,  
HHQKLVF (SEQ ID NO:129) ,  
HHQKLV (SEQ ID NO:130) ,  
HHQKL (SEQ ID NO:131) ,  
HQKLVFFAED (SEQ ID NO:132) ,  
HQKLVFFAE (SEQ ID NO:133) ,  
HQKLVFFA (SEQ ID NO:134) ,  
HQKLVFF (SEQ ID NO:135) ,  
HQKLVF (SEQ ID NO:136) ,  
HQKLV (SEQ ID NO:137) ,  
HQKL (SEQ ID NO:138) ,  
QKLVFFAEDV (SEQ ID NO:139) ,  
QKLVFFAED (SEQ ID NO:140) ,  
QKLVFFAE (SEQ ID NO:141) ,  
QKLVFFA (SEQ ID NO:142) ,  
QKLVFF (SEQ ID NO:143) ,  
QKLVF (SEQ ID NO:144) ,  
QKLV (SEQ ID NO:145) ,  
QKL (SEQ ID NO:146) ,  
KLVFFAEDVG (SEQ ID NO:147) ,  
KLVFFAEDV (SEQ ID NO:148) ,  
KLVFFAED (SEQ ID NO:149) ,  
KLVFFAE (SEQ ID NO:150) ,  
KLVFFA (SEQ ID NO:151) ,  
KLVFF (SEQ ID NO:152) ,  
KLVF (SEQ ID NO:153) ,

KLV (SEQ ID NO:154) ,  
LVFFAEDVG (SEQ ID NO:155) ,  
LVFFAEDV (SEQ ID NO:156) ,  
LVFFAED (SEQ ID NO:157) ,  
LVFFAE (SEQ ID NO:158) ,  
LVFFA (SEQ ID NO:159) ,  
LVFF (SEQ ID NO:160) ,  
LVF (SEQ ID NO:161) ,  
VFFAEDVG (SEQ ID NO:162) ,  
VFFAEDV (SEQ ID NO:163) ,  
VFFAED (SEQ ID NO:164) ,  
VFFAE (SEQ ID NO:165) ,  
VFFA (SEQ ID NO:166) ,  
VFF (SEQ ID NO:167) ,  
FFAEDVG (SEQ ID NO:168) ,  
FFAEDV (SEQ ID NO:169) ,  
FFAED (SEQ ID NO:170) ,  
FFAE (SEQ ID NO:171) ,  
FFA (SEQ ID NO:172) ,  
FAEDVG (SEQ ID NO:173) ,  
FAEDV (SEQ ID NO:174) ,  
FAED (SEQ ID NO:175) ,  
FAE (SEQ ID NO:176) ; 并且

(b) 所述第二肽包含选自以下组成的组的氨基酸序列:

VDPDNEAYEM (SEQ ID NO:39) ,  
VDPDNEAYE (SEQ ID NO:40) ,  
VDPDNEAY (SEQ ID NO:41) ,  
VDPDNEA (SEQ ID NO:42) ,  
VDPDNE (SEQ ID NO:43) ,  
VDPDN (SEQ ID NO:44) ,  
VDPD (SEQ ID NO:45) ,  
VDP (SEQ ID NO:46) ,  
DPDNEAYEM (SEQ ID NO:47) ,  
DPDNEAYE (SEQ ID NO:48) ,  
DPDNEAY (SEQ ID NO:49) ,  
DPDNEA (SEQ ID NO:50) ,  
DPDNE (SEQ ID NO:51) ,  
DPDN (SEQ ID NO:52) ,  
DPD (SEQ ID NO:53) ,

PDNEAYEM(SEQ ID NO:54) ,  
PDNEAYE(SEQ ID NO:55) ,  
PDNEAY(SEQ ID NO:56) ,  
PDNEA(SEQ ID NO:57) ,  
PDNE(SEQ ID NO:58) ,  
PDN(SEQ ID NO:59) ,  
DNEAYEM(SEQ ID NO:60) ,  
DNEAYE(SEQ ID NO:61) ,  
DNEAY(SEQ ID NO:62) ,  
DNEA(SEQ ID NO:63) ,  
DNE(SEQ ID NO:64) ,  
NEAYEM(SEQ ID NO:65) ,  
NEAYE(SEQ ID NO:66) ,  
NEAY(SEQ ID NO:67) ,  
NEA(SEQ ID NO:68) ,  
EAYEM(SEQ ID NO:69) ,  
EAYE(SEQ ID NO:70) ,  
EAY(SEQ ID NO:71) ,  
AYEM(SEQ ID NO:72) ,  
AYE(SEQ ID NO:73) ,  
YEM(SEQ ID NO:74) ,  
ATGFVKKDQL(SEQ ID NO:75) ,  
ATGFVKKDQ(SEQ ID NO:76) ,  
ATGFVKKD(SEQ ID NO:77) ,  
ATGFVKK(SEQ ID NO:78) ,  
ATGFVK(SEQ ID NO:79) ,  
ATGFV(SEQ ID NO:80) ,  
ATGF(SEQ ID NO:81) ,  
ATG(SEQ ID NO:82) ,  
TGFVKKDQL(SEQ ID NO:83) ,  
TGFVKKDQ(SEQ ID NO:84) ,  
TGFVKKD(SEQ ID NO:85) ,  
TGFVKK(SEQ ID NO:86) ,  
TGFVK(SEQ ID NO:87) ,  
TGFV(SEQ ID NO:88) ,  
TGF(SEQ ID NO:89) ,  
GFVKKDQL(SEQ ID NO:90) ,  
GFVKKDQ(SEQ ID NO:91) ,  
GFVKKD(SEQ ID NO:92) ,

GFVKK (SEQ ID NO:93),  
GFVK (SEQ ID NO:94),  
GFV (SEQ ID NO:95),  
FVKKDQL (SEQ ID NO:96),  
FVKKDQ (SEQ ID NO:97),  
FVKKD (SEQ ID NO:98)  
FVKK (SEQ ID NO:99),  
FVK (SEQ ID NO:100),  
VKKDQL (SEQ ID NO:101),  
VKKDQ (SEQ ID NO:102),  
VKKD (SEQ ID NO:103),  
VKK (SEQ ID NO:104),  
KKDQL (SEQ ID NO:105),  
KKDQ (SEQ ID NO:106),  
KKD (SEQ ID NO:107),  
KDQL (SEQ ID NO:108), 和  
KDQ (SEQ ID NO:109)。

6. 如权利要求1至5中任一项的多肽,其中所述第一肽和所述第二肽通过可裂解接头连接。

7. 如权利要求6的多肽,其中所述可裂解接头包含氨基酸序列。

8. 如权利要求7的多肽,其中所述氨基酸序列包含精氨酸-精氨酸(Arg-Arg)、精氨酸-缬氨酸-精氨酸-精氨酸(Arg-Val-Arg-Arg (SEQ ID NO:113))、缬氨酸-瓜氨酸(Val-Cit)、缬氨酸-精氨酸(Val-Arg)、缬氨酸-赖氨酸(Val-Lys)、缬氨酸-丙氨酸(Val-Ala)、苯丙氨酸-赖氨酸(Phe-Lys)、甘氨酸-丙氨酸-甘氨酸-丙氨酸(Gly-Ala-Gly-Ala;SEQ ID NO:114)、丙氨酸-甘氨酸-丙氨酸-甘氨酸(Ala-Gly-Ala-Gly;SEQ ID NO:115)或赖氨酸-甘氨酸-赖氨酸-甘氨酸(Lys-Gly-Lys-Gly;SEQ ID NO:116)。

9. 如权利要求1至8中任一项的多肽,其进一步包含于所述多肽之C端部分或所述多肽之N端部分连接至载剂的接头。

10. 如权利要求9的多肽,其中所述接头包含选自由以下组成的组的氨基酸序列:GG、GGG、AA、AAA、KK、KKK、SS、SSS、GAGA (SEQ ID NO:114)、AGAG (SEQ ID NO:115) 和KGKG (SEQ ID NO:116)。

11. 如权利要求1至10中任一项的多肽,其中所述多肽或若存在的话所述连接至载剂之接头进一步包含C端半胱氨酸(C)。

12. 如权利要求1至11中任一项的多肽,其中所述第一肽为DAEFRHD (SEQ ID NO:06)。

13. 如权利要求1至11中任一项的多肽,其中所述第一肽为DAEFR (SEQ ID NO:08)。

14. 如权利要求1至11中任一项的多肽,其中所述第一肽为EFRHD (SEQ ID NO:21)。

15. 如权利要求1至11中任一项的多肽,其中所述第二肽包含5至10个氨基酸。

16. 如权利要求1至11中任一项的多肽,其中所述第二肽包含氨基酸序列PDNEAYE (SEQ ID NO:55)。

17. 如权利要求1至11中任一项的多肽,其中所述第二肽包含氨基酸序列DPDNEAYE (SEQ ID NO:48)。

18. 如权利要求1至11中任一项的多肽,其中所述第二肽包含氨基酸序列ATGFVKK (SEQ ID NO:78)、TGFVKKD (SEQ ID NO:85)或GFVKKDQ (SEQ ID NO:91)。

19. 如权利要求1的多肽,其包含DAEFRHRRPDNEAYEGGC (SEQ ID NO:110)的氨基酸序列。

20. 如权利要求1的多肽,其包含DAEFRHRRDPDNEAYEGGC (SEQ ID NO:111)的氨基酸序列。

21. 如权利要求1的多肽,其包含DAEFRHRRX<sub>1</sub>PDNEAYEXXC (SEQ ID NO:112)的氨基酸序列,其中X<sub>1</sub>为任选的,且若存在则X<sub>1</sub>为D,且其中XX及C独立地为任选的,且若存在,则XX可为GG、AA、KK、SS、GAGA (SEQ ID NO:114)、AGAG (SEQ ID NO:115)或KGKG (SEQ ID NO:116)。

22. 一种免疫疗法组合物,其包含如权利要求1至21中任一项的多肽,其中所述多肽连接至载剂。

23. 如权利要求22的免疫疗法组合物,其中所述载剂包含血清白蛋白、免疫球蛋白分子、甲状腺球蛋白、卵白蛋白、破伤风类毒素(TT)、白喉类毒素(DT)、白喉毒素的经遗传修饰的交叉反应物质(CRM)、CRM197、脑膜炎球菌外膜蛋白复合物(OMPC)及流感嗜血杆菌(*H. influenzae*)蛋白D(HiD)、rEPA(铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)外毒素A)、KLH(钥孔血蓝蛋白)及鞭毛蛋白。

24. 如权利要求23的免疫疗法组合物,其中所述载剂为CRM197。

25. 如权利要求23的免疫疗法组合物,其中所述载剂为白喉类毒素。

26. 一种药物配制剂,其包含(a)如权利要求1至21中任一项的多肽或如权利要求22至25中任一项的免疫疗法组合物,及(b)至少一种佐剂。

27. 如权利要求26的药物配制剂,其中所述佐剂选自由以下组成的组:氢氧化铝、磷酸铝、硫酸铝、3-脱-0-酰化单磷酰基脂质A(MPL)、QS-21、TQL1055、QS-18、QS-17、QS-7、完全弗氏佐剂(CFA)、不完全弗氏佐剂(IFA)、水包油乳液(诸如角鲨烯或花生油)、CpG、聚谷氨酸、聚赖氨酸、AddaVax™、MF59®及其组合。

28. 如权利要求27的药物配制剂,其中所述佐剂为QS-21或TQL1055。

29. 如权利要求27的药物配制剂,其中所述佐剂为MPL。

30. 如权利要求27的药物配制剂,其中所述佐剂为MPL与QS-21之组合,或MPL与TQL1055之组合。

31. 如权利要求26至30中任一项的药物配制剂,其中所述佐剂包含脂质体制剂。

32. 如权利要求26至31中任一项的药物配制剂,其中所述组合物包含至少一种药学上可接受的稀释剂。

33. 如权利要求26至32中任一项的药物配制剂,其包含多重抗原呈递系统(MAP)。

34. 如权利要求33的药物配制剂,其中所述MAP包含基于Lys之树突状架构、辅助型T细胞表位、免疫刺激亲脂性部分、细胞穿透肽、自由基诱导之聚合、作为抗原呈递平台之自组装纳米粒子及金纳米粒子中之一者或多者。

35. 一种免疫疗法组合物,其包含第一肽序列和第二肽序列,所述第一肽序列包含来自SEQ ID NO:01之前十个N端残基或残基12至25的3至10个氨基酸残基,所述第二肽序列包含

来自SEQ ID NO:02之残基81至140的3至8个氨基酸。

36. 如权利要求35的免疫疗法组合物,其中:

(a)所述第一肽序列包含选自由以下组成的组的氨基酸序列:

DAEFRHDSGY (SEQ ID NO:03),  
DAEFRHDSG (SEQ ID NO:04),  
DAEFRHDS (SEQ ID NO:05),  
DAEFRHD (SEQ ID NO:06),  
DAEFRH (SEQ ID NO:07),  
DAEFR (SEQ ID NO:08),  
DAEF (SEQ ID NO:09),  
DAE (SEQ ID NO:10),  
AEFRHDSGY (SEQ ID NO:11),  
AEFRHDSG (SEQ ID NO:12),  
AEFRHDS (SEQ ID NO:13),  
AEFRHD (SEQ ID NO:14),  
AEFRH (SEQ ID NO:15),  
AEFR (SEQ ID NO:16),  
AEF (SEQ ID NO:17),  
EFRHDSGY (SEQ ID NO:18),  
EFRHDSG (SEQ ID NO:19),  
EFRHDS (SEQ ID NO:20),  
EFRHD (SEQ ID NO:21),  
EFRH (SEQ ID NO:22),  
EFR (SEQ ID NO:23),  
FRHDSGY (SEQ ID NO:24),  
FRHDSG (SEQ ID NO:25),  
FRHDS (SEQ ID NO:26),  
FRHD (SEQ ID NO:27),  
FRH (SEQ ID NO:28),  
RHDSGY (SEQ ID NO:29),  
RHDSG (SEQ ID NO:30),  
RHDS (SEQ ID NO:31),  
RHD (SEQ ID NO:32),  
HDSGY (SEQ ID NO:33),  
HDSG (SEQ ID NO:34),  
HDS (SEQ ID NO:35),  
DSGY (SEQ ID NO:36),  
DSG (SEQ ID NO:37),  
SGY (SEQ ID NO:38),

VHHQKLVFFA (SEQ ID NO:121) ,  
VHHQKLVFF (SEQ ID NO:122) ,  
VHHQKLVF (SEQ ID NO:123) ,  
VHHQKLV (SEQ ID NO:124) ,  
VHHQKL (SEQ ID NO:125) ,  
HHQKLVFFAE (SEQ ID NO:126) ,  
HHQKLVFFA (SEQ ID NO:127) ,  
HHQKLVFF (SEQ ID NO:128) ,  
HHQKLVF (SEQ ID NO:129) ,  
HHQKLV (SEQ ID NO:130) ,  
HHQKL (SEQ ID NO:131) ,  
HQKLVFFAED (SEQ ID NO:132) ,  
HQKLVFFAE (SEQ ID NO:133) ,  
HQKLVFFA (SEQ ID NO:134) ,  
HQKLVFF (SEQ ID NO:135) ,  
HQKLVF (SEQ ID NO:136) ,  
HQKLV (SEQ ID NO:137) ,  
HQKL (SEQ ID NO:138) ,  
QKLVFFAEDV (SEQ ID NO:139) ,  
QKLVFFAED (SEQ ID NO:140) ,  
QKLVFFAE (SEQ ID NO:141) ,  
QKLVFFA (SEQ ID NO:142) ,  
QKLVFF (SEQ ID NO:143) ,  
QKLVF (SEQ ID NO:144) ,  
QKLV (SEQ ID NO:145) ,  
QKL (SEQ ID NO:146) ,  
KLVFFAEDVG (SEQ ID NO:147) ,  
KLVFFAEDV (SEQ ID NO:148) ,  
KLVFFAED (SEQ ID NO:149) ,  
KLVFFAE (SEQ ID NO:150) ,  
KLVFFA (SEQ ID NO:151) ,  
KLVFF (SEQ ID NO:152) ,  
KLVF (SEQ ID NO:153) ,  
KLV (SEQ ID NO:154) ,  
LVFFAEDVG (SEQ ID NO:155) ,  
LVFFAEDV (SEQ ID NO:156) ,  
LVFFAED (SEQ ID NO:157) ,  
LVFFAE (SEQ ID NO:158) ,  
LVFFA (SEQ ID NO:159) ,

LVFF (SEQ ID NO:160) ,  
LVF (SEQ ID NO:161) ,  
VFFAEDVG (SEQ ID NO:162) ,  
VFFAEDV (SEQ ID NO:163) ,  
VFFAED (SEQ ID NO:164) ,  
VFFAE (SEQ ID NO:165) ,  
VFFA (SEQ ID NO:166) ,  
VFF (SEQ ID NO:167) ,  
FFAEDVG (SEQ ID NO:168) ,  
FFAEDV (SEQ ID NO:169) ,  
FFAED (SEQ ID NO:170) ,  
FFAE (SEQ ID NO:171) ,  
FFA (SEQ ID NO:172) ,  
FAEDVG (SEQ ID NO:173) ,  
FAEDV (SEQ ID NO:174) ,  
FAED (SEQ ID NO:175) ,  
FAE (SEQ ID NO:176) ; 并且

(b) 所述第二肽序列包含选自由以下组成的组的氨基酸序列:

VDPDNEAYEM (SEQ ID NO:39) ,  
VDPDNEAYE (SEQ ID NO:40) ,  
VDPDNEAY (SEQ ID NO:41) ,  
VDPDNEA (SEQ ID NO:42) ,  
VDPDNE (SEQ ID NO:43) ,  
VDPDN (SEQ ID NO:44) ,  
VDPD (SEQ ID NO:45) ,  
VDP (SEQ ID NO:46) ,  
DPDNEAYEM (SEQ ID NO:47) ,  
DPDNEAYE (SEQ ID NO:48) ,  
DPDNEAY (SEQ ID NO:49) ,  
DPDNEA (SEQ ID NO:50) ,  
DPDNE (SEQ ID NO:51) ,  
DPDN (SEQ ID NO:52) ,  
DPD (SEQ ID NO:53) ,  
PDNEAYEM (SEQ ID NO:54) ,  
PDNEAYE (SEQ ID NO:55) ,  
PDNEAY (SEQ ID NO:56) ,  
PDNEA (SEQ ID NO:57) ,  
PDNE (SEQ ID NO:58) ,  
PDN (SEQ ID NO:59) ,

DNEYEM(SEQ ID NO:60) ,  
DNEAYE(SEQ ID NO:61) ,  
DNEAY(SEQ ID NO:62) ,  
DNEA(SEQ ID NO:63) ,  
DNE(SEQ ID NO:64) ,  
NEAYEM(SEQ ID NO:65) ,  
NEAYE(SEQ ID NO:66) ,  
NEAY(SEQ ID NO:67) ,  
NEA(SEQ ID NO:68) ,  
EAYEM(SEQ ID NO:69) ,  
EAYE(SEQ ID NO:70) ,  
EAY(SEQ ID NO:71) ,  
AYEM(SEQ ID NO:72) ,  
AYE(SEQ ID NO:73) ,  
YEM(SEQ ID NO:74) ,  
ATGFVKKDQL(SEQ ID NO:75) ,ATGFVKKDQ(SEQ ID NO:76) ,ATGFVKKD(SEQ ID NO:77) ,  
ATGFVKK(SEQ ID NO:78) ,  
ATGFVK(SEQ ID NO:79) ,  
ATGFV(SEQ ID NO:80) ,  
ATGF(SEQ ID NO:81) ,  
ATG(SEQ ID NO:82) ,  
TGFVKKDQL(SEQ ID NO:83) ,TGFVKKDQ(SEQ ID NO:84) ,TGFVKKD(SEQ ID NO:85) ,  
TGFVKK(SEQ ID NO:86) ,  
TGFVK(SEQ ID NO:87) ,  
TGFV(SEQ ID NO:88) ,  
TGF(SEQ ID NO:89) ,  
GFVKKDQL(SEQ ID NO:90) ,GFVKKDQ(SEQ ID NO:91) ,GFVKKD(SEQ ID NO:92) ,  
GFVKK(SEQ ID NO:93) ,  
GFVK(SEQ ID NO:94) ,  
GFV(SEQ ID NO:95) ,  
FVKKDQL(SEQ ID NO:96) ,  
FVKKDQ(SEQ ID NO:97) ,  
FVKKD(SEQ ID NO:98) ,  
FVKK(SEQ ID NO:99) ,  
FVK(SEQ ID NO:100) ,  
VKKDQL(SEQ ID NO:101) ,  
VKKDQ(SEQ ID NO:102) ,  
VKKD(SEQ ID NO:103) ,  
VKK(SEQ ID NO:104) ,

KKDQL (SEQ ID NO:105),  
KKDQ (SEQ ID NO:106),  
KKD (SEQ ID NO:107),  
KDQL (SEQ ID NO:108), 和  
KDQ (SEQ ID NO:109);

其中所述第一肽序列和所述第二肽序列中之每一者可任选地包含C端半胱氨酸。

37. 如权利要求35至36中任一项的免疫疗法组合物, 其中所述第一肽和所述第二肽中之至少一者进一步包含于所述多肽之C端部分或所述多肽之N端部分连接至载剂之接头。

38. 如权利要求37的免疫疗法组合物, 其中所述接头包含选自以下组成的组的氨基酸序列: GG、GGG、AA、AAA、KK、KKK、SS、SSS、GAGA (SEQ ID NO:114)、AGAG (SEQ ID NO:115) 和 KGKG (SEQ ID NO:116)。

39. 如权利要求38的免疫疗法组合物, 其中所述连接至载剂之接头可任选地包含C端半胱氨酸(C)。

40. 如权利要求38至39中任一项的免疫疗法组合物, 其中所述载剂包含血清白蛋白、免疫球蛋白分子、甲状腺球蛋白、卵白蛋白、破伤风类毒素(TT)、白喉类毒素(DT)、白喉毒素的经遗传修饰的交叉反应物质(CRM)、CRM197、脑膜炎球菌外膜蛋白复合物(OMPC)及流感嗜血杆菌蛋白D(HiD)、rEPA(铜绿假单胞菌外毒素A)、KLH(钥孔血蓝蛋白)及鞭毛蛋白。

41. 如权利要求40的免疫疗法组合物, 其中所述载剂为CRM197。

42. 如权利要求40的免疫疗法组合物, 其中所述载剂为白喉类毒素。

43. 如权利要求35至42中任一项的免疫疗法组合物, 其进一步包含至少一种药学上可接受的稀释剂。

44. 如权利要求35至43中任一项的免疫疗法组合物, 其进一步包含多重抗原呈递系统(MAP)。

45. 如权利要求44的免疫疗法组合物, 其中所述MAP包含基于Lys之树突状架构、辅助型T细胞表位、免疫刺激亲脂性部分、细胞穿透肽、自由基诱导之聚合、作为抗原呈递平台之自组装纳米粒子及金纳米粒子中之一者或多者。

46. 一种药物组合物, 其包含如权利要求35至45中任一项之免疫疗法组合物和至少一种佐剂。

47. 如权利要求46的药物组合物, 其中所述佐剂选自以下组成的组: 氢氧化铝、磷酸铝、硫酸铝、3-脱-0-酰化单磷酸基脂质A(MPL)、QS-21、TQL1055、QS-18、QS17、QS-7、完全弗氏佐剂(CFA)、不完全弗氏佐剂(IFA)、水包油乳液(诸如角鲨烯或花生油)、CpG、聚谷氨酸、聚赖氨酸、AddaVax™、MF59®及其组合。

48. 如权利要求47的药物组合物, 其中所述佐剂为QS-21或TQL1055。

49. 如权利要求47的药物组合物, 其中所述佐剂为MPL。

50. 如权利要求47的药物组合物, 其中所述佐剂为MPL与QS-21之组合, 或MPL与TQL1055之组合。

51. 一种核酸, 其包含编码如权利要求35至39的免疫疗法组合物中的如权利要求1至21中任一项的多肽的核酸序列。

52. 一种核酸免疫疗法组合物, 其包含如权利要求51的核酸和至少一种佐剂。

53. 一种治疗或实现防治受试者的阿尔茨海默病的方法,其包括向所述受试者施用如权利要求22至25及35至45中任一项的免疫疗法组合物或如权利要求26至34及46至50中任一项的药物配制剂。

54. 一种在患有阿尔茨海默病或具有发展阿尔茨海默病之风险之受试者中抑制或减少A $\beta$ 及 $\alpha$ -突触核蛋白中之至少一者之聚集的方法,其包括向所述受试者施用如权利要求22至25及35至45中任一项的免疫疗法组合物或如权利要求26至34及46至50中任一项的药物配制剂。

55. 一种治疗或实现防治受试者的阿尔茨海默病的方法,其包括向所述受试者施用如权利要求52的核酸免疫疗法组合物。

56. 一种在患有阿尔茨海默病或具有发展阿尔茨海默病之风险之受试者中抑制或减少A $\beta$ 及 $\alpha$ -突触核蛋白中之至少一者之聚集的方法,其包括向所述受试者施用如权利要求52的核酸免疫疗法组合物。

57. 如权利要求53至56中任一项的方法,其进一步包括至少两次、至少三次、至少四次、至少五次或至少六次重复所述施用。

58. 如权利要求57的方法,其进一步包括以约21至约28天之间隔重复所述施用。

59. 一种在动物中诱导免疫应答的方法,其包括以有效生成免疫应答之方案向所述动物施用以下中之任一者:如权利要求1至21的多肽、如权利要求22至25及35至45的免疫疗法组合物、如权利要求26至34及46至50的药物配制剂或如权利要求52的核酸免疫疗法组合物,所述免疫应答包含特异性结合至A $\beta$ 、 $\alpha$ -突触核蛋白或A $\beta$ 及 $\alpha$ -突触核蛋白两者的抗体。

60. 如权利要求59的方法,其中所述免疫应答包含特异性结合至A $\beta$ 之抗体及特异性结合至 $\alpha$ -突触核蛋白之抗体。

61. 如权利要求59至60中任一项的方法,其中所述诱导免疫应答包括特异性结合至A $\beta$ 之N端区和/或 $\alpha$ -突触核蛋白之C端区的抗体。

62. 一种免疫接种试剂盒,其包含如权利要求22至25及35至45中任一项的免疫疗法组合物。

63. 如权利要求62的试剂盒,其进一步包含佐剂。

64. 如权利要求63的试剂盒,其中所述免疫疗法组合物在第一容器中且所述佐剂在第二容器中。

65. 一种试剂盒,其包含如权利要求52的核酸免疫疗法组合物。

66. 如权利要求65的试剂盒,其进一步包含佐剂。

67. 如权利要求66的试剂盒,其中所述核酸在第一容器中且所述佐剂在第二容器中。

## 治疗阿尔茨海默病之多表位疫苗

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求2020年9月18日申请之美国临时申请第63/080,619号之权益,该申请以全文引用之方式并入本文中。

[0003] 序列表声明

[0004] 序列表的计算机可读形式通过电子提交方式与本申请一起提交,并通过引用其整体并入本申请。序列表包含在2021年8月3日创建的ASCII文本文件中,具有文件名“20-1084-WO\_Sequence-Listing\_ST25.txt”,并且大小为31kb。

### 技术领域

[0005] 本发明涉及免疫学及医学之技术领域,且尤其涉及阿尔茨海默病(Alzheimer's disease)及蛋白错误折叠之其他疾病之治疗。

### 背景技术

[0006] 阿尔茨海默病(AD)为引起老年痴呆症之进行性疾病。一般而言,该疾病分为两种类别:晚发型疾病,其在老年期(65岁以上)发生;及早发型疾病,其在老年期之前,即在35岁与60岁之间已发展至某种程度。在两种类型之疾病中,病理是相同的,但在较年轻时开始之情况下倾向于产生更严重及更广泛之异常。该疾病之特征在于脑部中之至少两种类型的病变,即神经原纤维缠结及老化斑块。老化斑块(即,淀粉样蛋白斑块)为在中心交叉有细胞外淀粉样蛋白沉积物之长达150 $\mu$ m的混乱神经纤维网之区域,其可由脑部组织切片之显微镜分析发现。中枢神经系统内之淀粉样蛋白斑块之积累亦与唐氏综合征(Down's syndrome)及其他认知病症(大脑淀粉样血管病(CAA))及眼部疾病(年龄相关之黄斑部变性)相关。

[0007] 斑块之主要成分是称为A $\beta$ 或 $\beta$ -淀粉样蛋白肽之肽。A $\beta$ 肽为称为淀粉样前体蛋白(APP)之大型跨膜糖蛋白之38至43个氨基酸的4-kDa内部片段。作为由不同分泌酶进行之APP之蛋白水解处理之结果,A $\beta$ 主要以短形式(长度为40个氨基酸)及长形式(长度范围为42至43个氨基酸)存在。APP之疏水性跨膜域之一部分存在于A $\beta$ 之羧基端,且可解释A $\beta$ 聚集成斑块之能力(尤其在长形式之情况下)。脑部中淀粉样蛋白斑块之积累最终引起神经元细胞死亡。与此类型之神经退化相关之认知及身体症状表征阿尔茨海默病。

[0008]  $\alpha$ -突触核蛋白为存在于神经元及其他细胞中之蛋白,其为表征若干种神经变性病之病理学主要组分,共同被称为突触核蛋白病之该等病症包括帕金森病(Parkinson's disease)、路易氏体痴呆症(dementia with Lewy body)及多系统萎缩症。对 $\alpha$ -突触核蛋白之正常生理功能之了解有限,但有证据表明蛋白之可溶性形式可与其他蛋白及某些细胞内膜相互作用。在突触核蛋白病中, $\alpha$ -突触核蛋白似乎异常聚集于细胞内,此为疾病之病理。越来越多证据表明,某些聚集形式之 $\alpha$ -突触核蛋白可自神经元传输至神经元,引起使得神经元功能异常及损失之病理扩散。在一些神经变性疾病中, $\alpha$ -突触核蛋白(SNCA)之错误折叠及聚集通常可伴随有 $\beta$ -淀粉样蛋白沉积,且 $\alpha$ -突触核蛋白及A $\beta$ 聚集物共存于若干神经变

性病中,包括阿尔茨海默病及帕金森病。

[0009] 因此,需要用于预防或治疗阿尔茨海默病之新颖疗法及试剂,尤其能够引起针对患者中存在之A $\beta$ 及 $\alpha$ -突触核蛋白之免疫应答的疗法及试剂。

### 发明内容

[0010] 在一些实施例中,本发明涉及包括连接至第二肽之第一肽的多肽,该第一肽包含来自SEQ ID NO:01之残基1至10的3至10个氨基酸,该第二肽包括来自SEQ ID NO:02之残基81至140的3至10个氨基酸。举例而言,第二肽可来自 $\alpha$ -突触核蛋白之C端(SEQ ID NO:02之残基111至140)。第一肽可位于第二肽之N端,或第一肽可位于第二肽之C端。此外,第一肽可包括SEQ ID NO:3至38或121至176中之一者的氨基酸序列,及第二肽可包括SEQ ID NO:39至109中之一者的氨基酸序列。举例而言,第一多肽可为DAEFRHD(SEQ ID NO:06)、DAEFR(SEQ ID NO:08)或EFRHD(SEQ ID NO:21),及第二多肽可为5至10个氨基酸,例如PDNEAYE(SEQ ID NO:55)或DPDNEAYE(SEQ ID NO:48)。

[0011] 在其他实施例中,第一肽及第二肽可通过可裂解接头连接,该可裂解接头可为氨基酸序列。可裂解肽接头(若存在)之长度可为1至10个氨基酸。在一些实施例中,接头包含约1至10个氨基酸、约1至9个氨基酸、约1至8个氨基酸、约1至7个氨基酸、约1至6个氨基酸、约1至5个氨基酸、约1至4个氨基酸、约1至3个氨基酸、约2个氨基酸或一个(1个)氨基酸。在一些实施例中,可裂解肽接头为1个氨基酸、2个氨基酸、3个氨基酸、4个氨基酸、5个氨基酸、6个氨基酸、7个氨基酸、8个氨基酸、9个氨基酸或10个氨基酸。举例而言,接头可为精氨酸-精氨酸(Arg-Arg)、精氨酸-缬氨酸-精氨酸-精氨酸(Arg-Val-Arg-Arg(SEQ ID NO:113))、缬氨酸-瓜氨酸(Val-Cit)、缬氨酸-精氨酸(Val-Arg)、缬氨酸-赖氨酸(Val-Lys)、缬氨酸-丙氨酸(Val-Ala)、苯丙氨酸-赖氨酸(Phe-Lys)、甘氨酸-丙氨酸-甘氨酸-丙氨酸(Gly-Ala-Gly-Ala;SEQ ID NO:114)、Ala-Gly-Ala-Gly(SEQ ID NO:115)或Lys-Gly-Lys-Gly(SEQ ID NO:116)。在特定实施例中,多肽可为DAEFRHRRPDNEAYEGGC(SEQ ID NO:110)或DAEFRHRRDPDNEAYEGGC(SEQ ID NO:111)。

[0012] 在其他实施例中,多肽可包括于多肽之C端部分或多肽之N端部分连接至载剂的接头。接头(若存在)之长度可为1至10个氨基酸。在一些实施例中,接头包含约1至10个氨基酸、约1至9个氨基酸、约1至8个氨基酸、约1至7个氨基酸、约1至6个氨基酸、约1至5个氨基酸、约1至4个氨基酸、约1至3个氨基酸、约2个氨基酸或一个(1个)氨基酸。在一些实施例中,接头为1个氨基酸、2个氨基酸、3个氨基酸、4个氨基酸、5个氨基酸、6个氨基酸、7个氨基酸、8个氨基酸、9个氨基酸或10个氨基酸。举例而言,接头可包括GG、GGG、AA、AAA、KK、KKK、SS及SSS之氨基酸序列。此外,若存在于C端,则连接至载剂之接头可包括C端半胱氨酸(C)。或者,若存在于N端,则连接至载剂之接头可包括N端半胱氨酸(C)。举例而言,多肽可包括DAEFRHRRX<sub>1</sub>PDNEAYEXXC(SEQ ID NO:112)之氨基酸序列,其中X<sub>1</sub>为任选的,且若存在,则X<sub>1</sub>为D,且其中XX及C独立地为任选的,且若存在,则XX可为GG、AA、KK、SS、GAGA(SEQ ID NO:114)、AGAG(SEQ ID NO:115)或KGKG(SEQ ID NO:116)。

[0013] 在其他实施例中,本发明涉及一种包括本发明的多肽的免疫疗法组合物,其中该多肽可连接至载剂。载剂可包括血清白蛋白、免疫球蛋白分子、甲状腺球蛋白、卵白蛋白、破伤风类毒素(TT)、白喉类毒素(DT)、白喉毒素的经遗传修饰的交叉反应物质(CRM)、CRM197、

脑膜炎球菌外膜蛋白复合物 (OMPC) 及流感嗜血杆菌蛋白 D (H. influenzae protein D; HiD)、rEPA (铜绿假单胞菌外毒素 A (Pseudomonas aeruginosa exotoxin A))、KLH (钥孔 (keyhole limpet) 血蓝蛋白) 及鞭毛蛋白。

[0014] 此外, 本发明之实施例涉及一种包括本发明的多肽或免疫疗法组合物且包括至少一种佐剂的药物配制剂。佐剂可为氢氧化铝、磷酸铝、硫酸铝、3-脱-0-酰化单磷酸基脂质 A (MPL)、QS-21、QS-18、QS-17、QS-7、TQL1055、完全弗氏佐剂 (Complete Freund's Adjuvant; CFA)、不完全弗氏佐剂 (IFA)、水包油乳液 (诸如角鲨烯或花生油)、CpG、聚谷氨酸、聚赖氨酸、AddaVax™、MF59® 及其组合。此外, 配制剂可包括脂质体制剂、稀释剂或多种抗原呈递系统 (MAP)。MAP 可包括基于 Lys 之树突状架构、辅助型 T 细胞表位、免疫刺激亲脂性部分、细胞穿透肽、自由基诱导之聚合、自组装纳米粒子 (作为抗原呈递平台) 及金纳米粒子中之一者或多者。

[0015] 此外, 本发明之实施例涉及包括第一肽序列及第二肽序列之免疫疗法组合物, 该第一肽序列包含来自 SEQ ID NO:01 之前十个 N 端残基的 3 至 10 个氨基酸残基, 及该第二肽序列包含来自 SEQ ID NO:02 之残基 81 至 140 的 3-8 个氨基酸。第一肽可包括 SEQ ID NO:3 至 38 或 121 至 176 中之一者的氨基酸序列, 及第二肽可包括 SEQ ID NO:39-109 中之一者的氨基酸序列。第一肽及第二肽中之每一者可包括于多肽之 C 端部分连接至载剂之接头。接头 (若存在) 可包括选自以下之氨基酸序列: GG、AA、KK、SS、GAGA (SEQ ID NO:114)、AGAG (SEQ ID NO:115) 及 KGKG (SEQ ID NO:116), 且可包括 C 端半胱氨酸 (C)。载剂可包括血清白蛋白、免疫球蛋白分子、甲状腺球蛋白、卵白蛋白、破伤风类毒素 (TT)、白喉类毒素 (DT)、白喉毒素的经遗传修饰的交叉反应物质 (CRM)、CRM197、脑膜炎球菌外膜蛋白复合物 (OMPC) 及流感嗜血杆菌蛋白 D (HiD)、rEPA (铜绿假单胞菌外毒素 A)、KLH (钥孔血蓝蛋白) 及鞭毛蛋白。

[0016] 此外, 免疫疗法组合物可包括至少一种药学上可接受的稀释剂和/或多种抗原呈递系统 (MAP)。MAP 可包括基于 Lys 之树突状架构、辅助型 T 细胞表位、免疫刺激亲脂性部分、细胞穿透肽、自由基诱导之聚合、自组装纳米粒子 (作为抗原呈递平台) 及金纳米粒子中之一者或多者。

[0017] 免疫疗法组合物可包括于药物组合物中, 该药物组合物包括免疫疗法组合物及至少一种佐剂, 诸如氢氧化铝、磷酸铝、硫酸铝、3-脱-0-酰化单磷酸基脂质 A (MPL)、QS-21、TQL1055、QS-18、QS-17、QS-7、完全弗氏佐剂 (CFA)、不完全弗氏佐剂 (IFA)、水包油乳液 (诸如角鲨烯或花生油)、CpG、聚谷氨酸、聚赖氨酸、AddaVax™、MF59® 及其组合。

[0018] 本发明之实施例还涉及编码本发明的多肽及免疫疗法组合物之核酸序列。核酸可包括于包括核酸及至少一种佐剂之核酸免疫疗法组合物中。

[0019] 此外, 本发明之实施例涉及治疗或实现防治受试者之阿尔茨海默病的方法, 及在患有阿尔茨海默病或具有发展阿尔茨海默病之风险之受试者中抑制或减少 Aβ 及 α-突触核蛋白中之至少一者之聚集的方法。方法包括向受试者施用本发明之免疫疗法组合物、核酸免疫疗法组合物或药物配制剂。

[0020] 本发明的方法可包括至少两次、至少三次、至少四次、至少五次或至少六次重复施用, 且可包括以约 21 至约 28 天之间隔重复施用。

[0021] 此外, 本发明的方法涉及在动物中诱导免疫应答。方法包括以有效产生免疫应答之方案向动物施用本发明的多肽、免疫疗法组合物、药物配制剂或核酸免疫疗法组合物, 该

免疫应答包括特异性结合于A $\beta$ 、 $\alpha$ -突触核蛋白或A $\beta$ 及 $\alpha$ -突触核蛋白两者之抗体。免疫应答可包括特异性结合于A $\beta$ 之N端区和/或 $\alpha$ -突触核蛋白之C端区的抗体。

[0022] 在其他实施例中,本发明涉及一种免疫接种试剂盒,其包括本发明之免疫疗法组合物且可包括佐剂,其中免疫疗法组合物可在第一容器中且佐剂可在第二容器中。

[0023] 此外,本发明涉及一种试剂盒,其包括本发明之核酸免疫疗法组合物且可包括佐剂。核酸可在第一容器中且佐剂可在第二容器中。

## 附图说明

[0024] 图1显示比较天竺鼠血清针对免疫原DAEFRHRRPDNEAYEGGC (SEQ ID NO:110) 及DAEFRHRRDPDNEAYEGGC (SEQ ID NO:111) 之效价的实验结果。所有免疫原均包含用于与经顺丁烯二酰亚胺活化之CRM197载剂偶联的C端GG接头及半胱氨酸。使用含QS21之AddaVax基于角鲨烯之水包油纳米乳液作为佐剂。

[0025] 图2显示测量鼠类血清针对免疫原DAEFRHRRPDNEAYEGGC (SEQ ID NO:110) 及DAEFRHRRDPDNEAYEGGC (SEQ ID NO:111) 之效价的实验结果。肽经由N端半胱氨酸与经顺丁烯二酰亚胺活化之CRM197载剂偶联。使用含QS21之PBS作为佐剂。

[0026] 图3显示测量天竺鼠血清针对免疫原DAEFRHRRPDNEAYEGGC (SEQ ID NO:110) 及DAEFRHRRDPDNEAYEGGC (SEQ ID NO:111) 之效价的实验结果。肽经由N端半胱氨酸与经顺丁烯二酰亚胺活化之CRM197载剂偶联。使用含QS21之PBS作为佐剂。

## [0027] 发明详述

[0028] 本发明提供肽组合物及免疫疗法组合物,其包含淀粉样蛋白- $\beta$  (A $\beta$ ) 肽及 $\alpha$ -突触核蛋白肽。本发明亦提供治疗或实现防治受试者之阿尔茨海默病或其他具有 $\beta$ -淀粉样蛋白沉积之疾病的方法,包括在患有阿尔茨海默病或其他含有 $\alpha$ -突触核蛋白和/或淀粉样蛋白- $\beta$  积累之疾病或具有发展此类疾病之风险之受试者中清除及防止沉积物形成、抑制或减少A $\beta$  和/或 $\alpha$ -突触核蛋白之聚集、阻断由神经元结合和/或摄取A $\beta$  和/或 $\alpha$ -突触核蛋白、抑制细胞间之 $\alpha$ -突触核蛋白种类之传输以及抑制脑部区域之间的病理扩散的方法。方法包括向此类患者施用包含淀粉样蛋白- $\beta$  (A $\beta$ ) 肽及 $\alpha$ -突触核蛋白肽之组合物。

[0029] 以下为多个术语之定义。除非上下文另外明确规定,否则如本文所用之单数形式“一(a/an)”及“该(the)”包括复数个参照物。举例而言,术语“化合物”或“至少一种化合物”可包括复数种化合物,包括其混合物。

[0030] 除非另外自上下文显而易见,否则术语“约”涵盖非实质性变化,诸如在所陈述之值之标准测量误差边际(例如SEM)内的值。举例而言,在提及诸如参数、量、持续时间之可测量值时,如本文所用之术语“约”可涵盖与指定值相差 $\pm 10\%$ 或更少、 $\pm 5\%$ 或更少,或 $\pm 1\%$ 或更少或更小之变化。对值之范围的指定包括该范围内或界定该范围之所有整数,及由该范围内之整数界定的所有子范围。如本文所用,统计显著性意谓 $p \leq 0.05$ 。

[0031] “包含”或“包括”一个或多个所叙述要素之组合物或方法可包括未具体叙述之其他要素。举例而言,“包含”或“包括”多肽序列之组合物可含有单独的或与其他序列或成分组合之序列。

[0032] 若受试者具有至少一种已知风险因子(例如,年龄、遗传、生化、家族史及情境暴露),则个体罹患疾病之风险增加,使具有该风险因子之个体的发展该疾病之风险在统计学

上显著比不具有该风险因子之个体更大。

[0033] 术语“患者”包括接受防治性或治疗性治疗之人类及其他哺乳动物受试者,包括未经治疗之受试者。如本文所用,术语“受试者”或“患者”是指需要治疗之任何单一受试者,包括其他哺乳动物受试者,诸如人类、牛、狗、天竺鼠、兔等。受试者亦意欲包括任何参与临床研究试验之未显示疾病之任何临床病征之受试者,或参与流行病学研究之受试者,或用作对照之受试者。

[0034] 术语“疾病”是指损害生理功能之任何异常病状。该术语广泛地用于涵盖任何使生理功能受损之病症、疾患、异常、病变、病、病状或综合征,与病因之性质无关。

[0035] 术语“症状”是指如受试者所感知之疾病的主观证据,诸如步态改变。“病征”是指如医师所观测之疾病的客观证据。

[0036] 如本文所用,术语“治疗(treat/treatment)”是指缓解或缓和与疾病相关之一种或多种症状或影响;预防、抑制或推迟疾病之一种或多种症状或影响的发作;降低疾病之一种或多种症状或影响之严重性或发生率;和/或增加或引起如本文所描述之所需结果。

[0037] 如本文所用,术语“预防(prevention/prevent/preventing)”是指在疾病发作之前,在已存在或不存在A $\beta$ 和/或 $\alpha$ -突触核蛋白病理之情况下(初级预防及次级预防),使本发明之肽或免疫疗法组合物与受试者接触(例如施用),藉此推迟临床症状之发作和/或在疾病发作之后缓解疾病之症状(与受试者未与肽或免疫疗法组合物接触时相比),且并非指完全抑止疾病之发作。在一些情况下,可在施用本发明之肽或免疫疗法组合物之后的有限时间保持预防作用。在其他情况下,可在包含施用本发明之肽或免疫疗法组合物的治疗方案之持续时间内保持预防作用。

[0038] 如本文所用,术语“减少(reduction/reduce/reducing)”是指减少或抑止在受试者或受试者之组织中存在之A $\beta$ 和/或 $\alpha$ -突触核蛋白之量的增加,其涵盖减少或抑止在受试者或受试者之组织中存在、积累、聚集或沉积之A $\beta$ 和/或 $\alpha$ -突触核蛋白之量的增加(例如使增加速率降低)。在某些实施例中,减少或抑止在受试者中存在、积累、聚集或沉积之A $\beta$ 和/或 $\alpha$ -突触核蛋白之量的增加(例如,使增加速率降低)是指在受试者之中枢神经系统(CNS)中存在、积累、聚集或沉积之A $\beta$ 和/或 $\alpha$ -突触核蛋白之量。在某些实施例中,减少或抑止在受试者中存在、积累、聚集或沉积之A $\beta$ 和/或 $\alpha$ -突触核蛋白之量的增加(例如,使增加速率降低)是指在受试者之外周(例如外周循环系统)中存在、积累、聚集或沉积之A $\beta$ 和/或 $\alpha$ -突触核蛋白之量。在某些实施例中,减少或抑止在受试者中存在、积累、聚集或沉积之A $\beta$ 和/或 $\alpha$ -突触核蛋白之量的增加(例如,使增加速率降低)是指在受试者之脑部中存在、积累、聚集或沉积之A $\beta$ 和/或 $\alpha$ -突触核蛋白之量。在一些实施例中,减少之A $\beta$ 和/或 $\alpha$ -突触核蛋白为以下之病理形式:A $\beta$ (例如 $\beta$ -淀粉样肽(A $\beta$ )之细胞外斑块沉积物、神经炎性淀粉样蛋白斑块)和/或 $\alpha$ -突触核蛋白(例如,腓骨状 $\alpha$ -突触核蛋白夹杂物、寡聚或原纤维 $\alpha$ -突触核蛋白聚结及 $\alpha$ -突触核蛋白寡聚物之前原纤维中间体)。在其他实施例中,神经变性疾病和/或突触核蛋白病之病理性指示物减少。

[0039] 术语“表位”或“抗原决定簇”是指抗原上之可使B细胞和/或T细胞对其起反应之位点,或抗原上之与抗体结合之位点。表位可由相邻的氨基酸或非相邻的氨基酸形成,该等氨基酸通过蛋白之三级折叠而并列。由相邻的氨基酸形成之表位通常在暴露于变性溶剂后保留,而通过三级折叠形成之表位通常在变性溶剂处理后消失。表位通常以独特的空间构形

包括至少3个、至少4个、至少5个、至少6个、至少7个、至少8个、至少9个、至少10个、至少11个、至少12个或至少13个氨基酸。测定表位之空间构形的方法包括例如x射线结晶学及2维核磁共振。参见例如Epitope Mapping Protocols, Methods in Molecular Biology, 第66卷, Glenn E. Morris编(1996)。

[0040] “免疫原性剂”或“免疫原”或“抗原”能够在向动物施用后诱导针对自身或针对自身之经修饰/处理之加工之免疫应答, 该施用任选地与佐剂结合。术语“免疫原性剂”或“免疫原”或“抗原”是指包含肽、多肽或蛋白之化合物或组合物, 当以适当量(“免疫原性有效量”)施用时, 该肽、多肽或蛋白为“抗原性”或“免疫原性”, 即能够诱导、引发、增加或增强细胞和/或体液免疫应答且由该反应之产物(T细胞、抗体)识别。免疫原可为肽或两个或更多个相同或不同肽之组合, 其包括至少3个、至少4个、至少5个、至少6个、至少7个、至少8个、至少9个、至少10个、至少11个、至少12个或至少13个呈线性或空间构形之氨基酸。

[0041] 免疫原在单独或以组合形式提供, 或与另一物质(其可一次性或以若干间隔施用)连接或融合时可为有效的。免疫原性剂或免疫原可包括连接至如本文中所描述之载体的抗原肽或多肽。

[0042] 编码抗原肽或多肽之核酸(诸如DNA或RNA)称为“DNA[或RNA]免疫原”, 因为经编码之肽或多肽在施用该DNA或RNA之后在体内表达。肽或多肽可由疫苗载体以重组方式表达, 该疫苗载体可为裸DNA或RNA, 其包含可操作地连接于启动子(例如, 如本文所描述之表达载体或盒)之肽或多肽编码序列。

[0043] 术语“佐剂”是指当与抗原结合施用时增强对抗原之免疫应答, 但当单独施用时不产生针对抗原之免疫应答的化合物。佐剂可通过若干机制来增强免疫应答, 该等机制包括淋巴细胞募集、B细胞和/或T细胞之刺激及巨噬细胞之刺激。佐剂可为天然化合物、天然化合物之修饰版本或衍生物, 或合成化合物。

[0044] 术语“肽”及“多肽”在本文中可互换使用且是指两个或更多个连续氨基酸之链。若进行区分及当进行区分时, 上下文应使其含义为清楚明晰的。举例而言, 若使本文中所描述之两个或更多个肽接合以制备二聚肽或多聚肽, 则可使用多肽指示“多”或“超过一个”肽。

[0045] 术语“药学上可接受”意谓载剂、稀释剂、赋形剂、佐剂或助剂与药物配制剂之其他成分兼容且对其受体基本上无害。

[0046] 术语“免疫疗法”或“免疫应答”是指产生针对受体中之AB和/或 $\alpha$ -突触核蛋白肽的有益的体液(抗体介导之)和/或细胞(由抗原特异性T细胞或其分泌产物介导之)应答。此类应答可为通过施用免疫原(例如AB和/或 $\alpha$ -突触核蛋白肽)诱导之活性应答。细胞免疫应答由多肽表位结合I类或II类MHC分子之呈现以活化抗原特异性CD4<sup>+</sup>T辅助细胞和/或CD8<sup>+</sup>细胞毒性T细胞来引发。应答亦可涉及单核细胞、巨噬细胞、NK细胞、嗜碱性粒细胞、树突状细胞、星形胶质细胞、小胶质细胞、嗜酸性粒细胞或先天性免疫之其他组分的活化。细胞介导之免疫应答的存在可通过增殖分析法(CD4<sup>+</sup>T细胞)或CTL(细胞毒性T淋巴细胞)分析法来测定。体液及细胞应答对免疫原之保护或治疗作用的相关贡献可通过自经免疫接种之同基因型动物单独地分离抗体及T细胞且在第二受试者中测量保护或治疗作用来区分。

[0047]  $\beta$ 淀粉样蛋白(AB或Abeta)

[0048] AB(在本文中亦称为 $\beta$ 淀粉样蛋白肽或Abeta)肽为APP之38至43个氨基酸的约4-kDa内部片段(AB39、AB40、AB41、AB42及AB43)。举例而言, AB40由APP之残基672至711组成且

Aβ<sub>42</sub>由APP之残基673至713组成。作为在体内或在原位由不同分泌酶进行之APP之蛋白水解处理之结果,Aβ主要以“短形式”(长度为40个氨基酸)及“长形式”(长度范围为42至43个氨基酸)存在。如本文中所描述,表位或抗原决定簇位于Aβ肽之N端内,且包括Aβ之氨基酸1至10及12至25内,例如来自Aβ之残基1至3、1至4、1至5、1至6、1至7,或3至7,或Aβ之2至4、2至5、2至6、2至7或2至8,Aβ之残基3至5、3至6、3至7、3至8或3至9,或Aβ之残基4至7、4至8、4至9或4至10,Aβ之残基12至24、12至23、12至22、13至25、13至24、13至23、13至22、14至25、14至24、14至23、14至22、15至25、15至24、15至23或15至22。举例而言,来自Aβ<sub>42</sub>之残基12至17、12至18、12至19、12至20、12至21、13至17、13至18、13至19、13至20、13至21、13至22、14至17、14至18、14至19、14至20、14至21、14至22、14至23、15至17、15至18、15至19、15至20、15至21、15至22、15至23或15至24。表位或抗原决定簇之其他实例包括Aβ<sub>42</sub>之残基16至18、16至19、16至20、16至21、16至22、16至23、16至24、16至25、17至19、17至20、17至21、17至22、17至23、17至24或17至25。表位或抗原决定簇之其他实例包括Aβ<sub>42</sub>之残基18至20、18至21、18至22、18至23、18至24、18至25、19至21、19至22、19至23、19至24、19至25、20至22、20至23、20至24、20至25、21至23、21至24或21至25。

[0049] Aβ (Abeta) 为阿尔茨海默病之特征斑块之主要组分。Aβ由两种酶(称为β及γ分泌酶)处理较大型蛋白APP而产生。APP中已知与阿尔茨海默病相关之突变发生在靠近β分泌酶或γ分泌酶之位点处或在Aβ内。APP之疏水性跨膜域之一部分存在于Aβ之羧基端,且可解释Aβ聚集成斑块之能力(尤其在呈长形之情况下)。脑部中淀粉样蛋白斑块之积累最终引起神经元细胞死亡。阿尔茨海默病之特征在于与此类型之神经退化相关之身体症状。

[0050] α-突触核蛋白

[0051] α-突触核蛋白为高度保守的蛋白,其在神经元中,尤其在突触前端含量丰富。聚集的α-突触核蛋白形成为神经变性突触核蛋白病之标志之脑部病变。此外,在一些神经变性疾病中,错误折叠及聚集通常可伴随有β-淀粉样蛋白沉积,且α-突触核蛋白共同存于若干神经变性病症中,包括阿尔茨海默病及帕金森病。

[0052] 免疫原之Aβ/α-突触核蛋白多肽

[0053] 用于主动免疫接种之药剂可在患者中诱导免疫应答且可充当免疫疗法。用于主动免疫接种之药剂可为例如用于在实验动物中产生单克隆抗体之相同类型之免疫原,且可包括来自Aβ和/或α-突触核蛋白肽之一区域之3、4、5、6、7、8、9、10、11或12或更多个相邻的氨基酸。

[0054] 在本发明之一些实施例中,Aβ/α-突触核蛋白免疫原可包括连接至α-突触核蛋白肽之Aβ肽,该Aβ肽包含来自Aβ之N端序列(SEQ ID NO:01)之残基1至10的3至10个氨基酸,该α-突触核蛋白肽包含来自α-突触核蛋白(SEQ ID NO:02)之残基81至140的3至10个氨基酸。举例而言,α-突触核蛋白肽可包含来自α-突触核蛋白之C端区(SEQ ID NO:02之残基111至140)的3至10个氨基酸。在一些实施例中,肽为未磷酸化。在一些实施例中,肽在丝氨酸(S)、苏氨酸(T)和/或酪氨酸(Y)磷酸化位点处磷酸化。

[0055] 在本发明之一些实施例中,Aβ肽可包括来自DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAI IGLMVGGVVIA(SEQ ID NO:01)之残基1至10或12至25的3至10个氨基酸。举例而言,Aβ肽选自以下:

[0056] DAEFRHDSGY(SEQ ID NO:03),

[0057] DAEFRHDSG(SEQ ID NO:04) ,  
[0058] DAEFRHDS(SEQ ID NO:05) ,  
[0059] DAEFRHD(SEQ ID NO:06) ,  
[0060] DAEFRH(SEQ ID NO:07) ,  
[0061] DAEFR(SEQ ID NO:08) ,  
[0062] DAEF(SEQ ID NO:09) ,  
[0063] DAE(SEQ ID NO:10) ,  
[0064] AEFRHDSGY(SEQ ID NO:11) ,  
[0065] AEFRHDSG(SEQ ID NO:12) ,  
[0066] AEFRHDS(SEQ ID NO:13) ,  
[0067] AEFRHD(SEQ ID NO:14) ,  
[0068] AEFRH(SEQ ID NO:15) ,  
[0069] AEFR(SEQ ID NO:16) ,  
[0070] AEF(SEQ ID NO:17) ,  
[0071] EFRHDSGY(SEQ ID NO:18) ,  
[0072] EFRHDSG(SEQ ID NO:19) ,  
[0073] EFRHDS(SEQ ID NO:20) ,  
[0074] EFRHD(SEQ ID NO:21) ,  
[0075] EFRH(SEQ ID NO:22) ,  
[0076] EFR(SEQ ID NO:23) ,  
[0077] FRHDSGY(SEQ ID NO:24) ,  
[0078] FRHDSG(SEQ ID NO:25) ,  
[0079] FRHDS(SEQ ID NO:26) ,  
[0080] FRHD(SEQ ID NO:27) ,  
[0081] FRH(SEQ ID NO:28) ,  
[0082] RHDSGY(SEQ ID NO:29) ,  
[0083] RHDSG(SEQ ID NO:30) ,  
[0084] RHDS(SEQ ID NO:31) ,  
[0085] RHD(SEQ ID NO:32) ,  
[0086] HDSGY(SEQ ID NO:33) ,  
[0087] HDSG(SEQ ID NO:34) ,  
[0088] HDS(SEQ ID NO:35) ,  
[0089] DSGY(SEQ ID NO:36) ,  
[0090] DSG(SEQ ID NO:37) ,  
[0091] SGY(SEQ ID NO:38) ,  
[0092] VHHQKLVFFA(SEQ ID NO:121) ,  
[0093] VHHQKLVFF(SEQ ID NO:122) ,  
[0094] VHHQKLVF(SEQ ID NO:123) ,  
[0095] VHHQKLV(SEQ ID NO:124) ,

[0096] VHHQKL(SEQ ID NO:125) ,  
[0097] HHQKLVFFAE(SEQ ID NO:126) ,  
[0098] HHQKLVFFA(SEQ ID NO:127) ,  
[0099] HHQKLVFF(SEQ ID NO:128) ,  
[0100] HHQKLVF(SEQ ID NO:129) ,  
[0101] HHQKLV(SEQ ID NO:130) ,  
[0102] HHQKL(SEQ ID NO:131) ,  
[0103] HQKLVFFAED(SEQ ID NO:132) ,  
[0104] HQKLVFFAE(SEQ ID NO:133) ,  
[0105] HQKLVFFA(SEQ ID NO:134) ,  
[0106] HQKLVFF(SEQ ID NO:135) ,  
[0107] HQKLVF(SEQ ID NO:136) ,  
[0108] HQKLV(SEQ ID NO:137) ,  
[0109] HQKL(SEQ ID NO:138) ,  
[0110] QKLVFFAEDV(SEQ ID NO:139) ,  
[0111] QKLVFFAED(SEQ ID NO:140) ,  
[0112] QKLVFFAE(SEQ ID NO:141) ,  
[0113] QKLVFFA(SEQ ID NO:142) ,  
[0114] QKLVFF(SEQ ID NO:143) ,  
[0115] QKLVF(SEQ ID NO:144) ,  
[0116] QKLV(SEQ ID NO:145) ,  
[0117] QKL(SEQ ID NO:146) ,  
[0118] KLVFFAEDVG(SEQ ID NO:147) ,  
[0119] KLVFFAEDV(SEQ ID NO:148) ,  
[0120] KLVFFAED(SEQ ID NO:149) ,  
[0121] KLVFFAE(SEQ ID NO:150) ,  
[0122] KLVFFA(SEQ ID NO:151) ,  
[0123] KLVFF(SEQ ID NO:152) ,  
[0124] KLVF(SEQ ID NO:153) ,  
[0125] KLV(SEQ ID NO:154) ,  
[0126] LVFFAEDVG(SEQ ID NO:155) ,  
[0127] LVFFAEDV(SEQ ID NO:156) ,  
[0128] LVFFAED(SEQ ID NO:157) ,  
[0129] LVFFAE(SEQ ID NO:158) ,  
[0130] LVFFA(SEQ ID NO:159) ,  
[0131] LVFF(SEQ ID NO:160) ,  
[0132] LVF(SEQ ID NO:161) ,  
[0133] VFFAEDVG(SEQ ID NO:162) ,  
[0134] VFFAEDV(SEQ ID NO:163) ,

- [0135] VFFAED (SEQ ID NO:164) ,
- [0136] VFFAE (SEQ ID NO:165) ,
- [0137] VFFA (SEQ ID NO:166) ,
- [0138] VFF (SEQ ID NO:167) ,
- [0139] FFAEDVG (SEQ ID NO:168) ,
- [0140] FFAEDV (SEQ ID NO:169) ,
- [0141] FFAED (SEQ ID NO:170) ,
- [0142] FFAE (SEQ ID NO:171) ,
- [0143] FFA (SEQ ID NO:172) ,
- [0144] FAEDVG (SEQ ID NO:173) ,
- [0145] FAEDV (SEQ ID NO:174) ,
- [0146] FAED (SEQ ID NO:175) , 和
- [0147] FAE (SEQ ID NO:176) 。
- [0148] 在某些实施例中,  $\alpha$ B肽为DAEFRHD (SEQ ID NO:06) 、DAEFR (SEQ ID NO:08) 或EFRHD (SEQ ID NO:21) 。
- [0149]  $\alpha$ -突触核蛋白肽可对应于包含来自SEQ ID NO:02之残基81至140的3至10个氨基酸之肽。在一些实施例中, $\alpha$ -突触核蛋白为未磷酸化的。在一些实施例中, $\alpha$ -突触核蛋白为经磷酸化的。在一些组合物中, $\alpha$ -突触核蛋白肽选自以下:
- [0150] VDPDNEAYEM (SEQ ID NO:39) ,
- [0151] VDPDNEAYE (SEQ ID NO:40) ,
- [0152] VDPDNEAY (SEQ ID NO:41) ,
- [0153] VDPDNEA (SEQ ID NO:42) ,
- [0154] VDPDNE (SEQ ID NO:43) ,
- [0155] VDPDN (SEQ ID NO:44) ,
- [0156] VDPD (SEQ ID NO:45) ,
- [0157] VDP (SEQ ID NO:46) ,
- [0158] DPDNEAYEM (SEQ ID NO:47) ,
- [0159] DPDNEAYE (SEQ ID NO:48) ,
- [0160] DPDNEAY (SEQ ID NO:49) ,
- [0161] DPDNEA (SEQ ID NO:50) ,
- [0162] DPDNE (SEQ ID NO:51) ,
- [0163] DPDN (SEQ ID NO:52) ,
- [0164] DPD (SEQ ID NO:53) ,
- [0165] PDNEAYEM (SEQ ID NO:54) ,
- [0166] PDNEAYE (SEQ ID NO:55) ,
- [0167] PDNEAY (SEQ ID NO:56) ,
- [0168] PDNEA (SEQ ID NO:57) ,
- [0169] PDNE (SEQ ID NO:58) ,
- [0170] PDN (SEQ ID NO:59) ,

[0171] DNEAYEM(SEQ ID NO:60) ,  
[0172] DNEAYE(SEQ ID NO:61) ,  
[0173] DNEAY(SEQ ID NO:62) ,  
[0174] DNEA(SEQ ID NO:63) ,  
[0175] DNE(SEQ ID NO:64) ,  
[0176] NEAYEM(SEQ ID NO:65) ,  
[0177] NEAYE(SEQ ID NO:66) ,  
[0178] NEAY(SEQ ID NO:67) ,  
[0179] NEA(SEQ ID NO:68) ,  
[0180] EAYEM(SEQ ID NO:69) ,  
[0181] EAYE(SEQ ID NO:70) ,  
[0182] EAY(SEQ ID NO:71) ,  
[0183] AYEM(SEQ ID NO:72) ,  
[0184] AYE(SEQ ID NO:73) ,  
[0185] YEM(SEQ ID NO:74) ,  
[0186] ATGFVKKDQL(SEQ ID NO:75) ,  
[0187] ATGFVKKDQ(SEQ ID NO:76) ,  
[0188] ATGFVKKD(SEQ ID NO:77) ,  
[0189] ATGFVKK(SEQ ID NO:78) ,  
[0190] ATGFVK(SEQ ID NO:79) ,  
[0191] ATGFV(SEQ ID NO:80) ,  
[0192] ATGF(SEQ ID NO:81) ,  
[0193] ATG(SEQ ID NO:82) ,  
[0194] TGFVKKDQL(SEQ ID NO:83) ,  
[0195] TGFVKKDQ(SEQ ID NO:84) ,  
[0196] TGFVKKD(SEQ ID NO:85) ,  
[0197] TGFVKK(SEQ ID NO:86) ,  
[0198] TGFVK(SEQ ID NO:87) ,  
[0199] TGFV(SEQ ID NO:88) ,  
[0200] TGF(SEQ ID NO:89) ,  
[0201] GFVKKDQL(SEQ ID NO:90) ,  
[0202] GFVKKDQ(SEQ ID NO:91) ,  
[0203] GFVKKD(SEQ ID NO:92) ,  
[0204] GFVKK(SEQ ID NO:93) ,  
[0205] GFVK(SEQ ID NO:94) ,  
[0206] GFV(SEQ ID NO:95) ,  
[0207] FVKKDQL(SEQ ID NO:96) ,  
[0208] FVKKDQ(SEQ ID NO:97) ,  
[0209] FVKKD(SEQ ID NO:98)

- [0210] FVKK(SEQ ID NO:99),  
[0211] FVK(SEQ ID NO:100),  
[0212] VKKDQL(SEQ ID NO:101),  
[0213] VKKDQ(SEQ ID NO:102),  
[0214] VKKD(SEQ ID NO:103),  
[0215] VKK(SEQ ID NO:104),  
[0216] KKDQL(SEQ ID NO:105),  
[0217] KKDQ(SEQ ID NO:106),  
[0218] KKD(SEQ ID NO:107),  
[0219] KDQL(SEQ ID NO:108),和  
[0220] KDQ(SEQ ID NO:109)。

[0221] 在一些实施例中,AB和/或 $\alpha$ -突触核蛋白肽连接以形成双重AB/ $\alpha$ -突触核蛋白多肽。AB及 $\alpha$ -突触核蛋白肽可通过肽内接头连接。举例而言,多肽接头位于第一肽之C端与第二肽之N端之间。在存在或不存在肽内接头之情况下,AB肽和/或 $\alpha$ -突触核蛋白肽可以任何次序位于双重AB/ $\alpha$ -突触核蛋白多肽中。举例而言,AB肽可位于双重多肽之N端部分,且 $\alpha$ -突触核蛋白肽可位于双重多肽之C端部分。或者, $\alpha$ -突触核蛋白肽可位于双重多肽之N端部分,且AB肽可位于 $\alpha$ -突触核蛋白肽之双重多肽侧的C端部分。本文中所提及之第一肽或第二肽不意欲表明免疫原的多肽中的AB和/或 $\alpha$ -突触核蛋白肽之次序。

[0222] 此外,AB肽、 $\alpha$ -突触核蛋白或双重AB- $\alpha$ -突触核蛋白多肽之C端部分可包括用于使肽或多肽与载剂缀合之接头。使肽或双重多肽偶联至载剂之接头可包括例如在肽或双重多肽与载剂之间的GG、GGG、KK、KKK、AA、AAA、SS、SSS、GAGA(SEQ ID NO:114)、AGAG(SEQ ID NO:115)、KGKG(SEQ ID NO:116)及其类似物,且可进一步包括C端或N端半胱氨酸以提供短肽接头(例如G-G-C-、K-K-C-、A-A-C-或S-S-C-)。在一些实施例中,接头包含AA、AAA、KK、KKK、SS、SSS、AGAG(SEQ ID NO:115)、GG、GGG、GAGA(SEQ ID NO:114)及KGKG(SEQ ID NO:116)中之任一者的氨基酸序列。在一些实施例中,AB肽、 $\alpha$ -突触核蛋白肽及双重AB/ $\alpha$ -突触核蛋白多肽中之任一者可包括不存在间隔基之C端半胱氨酸,例如AEFRHDSGC(SEQ ID NO:117)及DAEFRHDC(SEQ ID NO:118)。在一些实施例中,AB肽、 $\alpha$ -突触核蛋白肽及双重AB/ $\alpha$ -突触核蛋白多肽中之任一者可包括不存在间隔基之N端半胱氨酸。

[0223] 当AB及 $\alpha$ -突触核蛋白多肽连接以形成双重AB/ $\alpha$ -突触核蛋白多肽时,接头可为可裂解接头。如本文所用,术语“可裂解接头”是指在抗原性肽之间的任何接头,其促进或以其他方式使得AB肽及 $\alpha$ -突触核蛋白肽比不具有此类可裂解接头之等效肽更易于通过裂解(例如,通过肽链内切酶、蛋白酶、低pH值或可在抗原呈递细胞内或周围进行的任何其他方法)来彼此分离且藉此更易于由抗原呈递细胞处理。在一些组合物中,可裂解接头为蛋白酶敏感性二肽或寡肽可裂解接头。在某些实施例中,可裂解接头对由蛋白酶之胰蛋白酶家族中之蛋白酶进行之裂解敏感。在一些组合物中,可裂解接头包含选自以下组成的组的氨基酸序列:精氨酸-精氨酸(Arg-Arg)、精氨酸-缬氨酸-精氨酸-精氨酸(Arg-Val-Arg-Arg;SEQ ID NO:113)、缬氨酸-瓜氨酸(Val-Cit)、缬氨酸-精氨酸(Val-Arg)、缬氨酸-赖氨酸(Val-Lys)、缬氨酸-丙氨酸(Val-Ala)、苯丙氨酸-赖氨酸(Phe-Lys)、甘氨酸-丙氨酸-甘氨酸-丙氨酸(Gly-Ala-Gly-Ala;GAGA(SEQ ID NO:114))、丙氨酸-甘氨酸-丙氨酸-甘氨酸(Ala-

Gly-Ala-Gly;AGAG (SEQ ID NO:115)) 及赖氨酸-甘氨酸-赖氨酸-甘氨酸 (Lys-Gly-Lys-Gly;KGKG (SEQ ID NO:116))。在一些组合中,可裂解接头为精氨酸(Arg-Arg)。

[0224] 在本发明之一些实施例中,双重 $\text{A}\beta/\alpha$ -突触核蛋白多肽包含选自 DAEFRHRRPDNEAYEGGC (SEQ ID NO:110) 或 DAEFRHRRPDNEAYEGGC (SEQ ID NO:111) 或 DAEFRHRRX<sub>1</sub>PDNEAYEXXC (SEQ ID NO:112) 之氨基酸序列,其中X<sub>1</sub>为任选的,且若存在,则其为D,且其中XX及C独立地为任选的,且若存在,则XX可为GG、AA、KK、SS、GAGA (SEQ ID NO:114)、AGAG (SEQ ID NO:115) 或KGKG (SEQ ID NO:116)。

[0225] 在一些实施例中,双重 $\text{A}\beta/\alpha$ -突触核蛋白多肽如下:

[0226] [第一肽]-[接头1]-[第二肽]-[接头2]-[Cys],

[0227] 其中,若[第一肽]为 $\text{A}\beta$ 肽,则[第二肽]为 $\alpha$ -突触核蛋白肽,且若[第一肽]为 $\alpha$ -突触核蛋白肽,则[第二肽]为 $\text{A}\beta$ 肽,[接头1]、[接头2]及[Cys]中之每一者为任选的,且[接头1]及[接头2]为相同或不同的接头。

[0228] 在某些实施例中,双重 $\alpha$ -突触核蛋白多肽如下:

[0229] [Cys]-[接头2]-[第一肽]-[接头1]-[第二肽]

[0230] 其中,若[第一肽]为 $\text{A}\beta$ 肽,则[第二肽]为 $\alpha$ -突触核蛋白肽,且若[第一肽]为 $\alpha$ -突触核蛋白肽,则[第二肽]为 $\text{A}\beta$ 肽,且[接头1]、[接头2]及[Cys]中之每一者为任选的,且[接头1]及[接头2]为相同或不同的接头。

[0231]  $\text{A}\beta$ 肽之实例包括SEQ ID NO 3-38或121至176中之任一者。

[0232]  $\alpha$ -突触核蛋白肽之实例包括SEQ ID NO:39-109中之任一者。

[0233] [接头1]为任选的,且当存在时,其可为可裂解接头。可裂解接头(若存在)之长度可为1至10个氨基酸。在一些实施例中,接头包含约1至10个氨基酸、约1至9个氨基酸、约1至8个氨基酸、约1至7个氨基酸、约1至6个氨基酸、约1至5个氨基酸、约1至4个氨基酸、约1至3个氨基酸、约2个氨基酸或一个(1个)氨基酸。在一些实施例中,可裂解接头为1个氨基酸、2个氨基酸、3个氨基酸、4个氨基酸、5个氨基酸、6个氨基酸、7个氨基酸、8个氨基酸、9个氨基酸或10个氨基酸。在一些实施例中,接头可为具有选自由以下组成的组之氨基酸序列的可裂解接头:精氨酸-精氨酸(Arg-Arg)、精氨酸-缬氨酸-精氨酸-精氨酸(Arg-Val-Arg-Arg; SEQ ID NO:113)、缬氨酸-瓜氨酸(Val-Cit)、缬氨酸-精氨酸(Val-Arg)、缬氨酸-赖氨酸(Val-Lys)、缬氨酸-丙氨酸(Val-Ala)、苯丙氨酸-赖氨酸(Phe-Lys)、甘氨酸-丙氨酸-甘氨酸-丙氨酸(Gly-Ala-Gly-Ala;SEQ ID NO:114)、丙氨酸-甘氨酸-丙氨酸-甘氨酸(Ala-Gly-Ala-Gly;SEQ ID NO:115)或赖氨酸-甘氨酸-赖氨酸-甘氨酸(Lys-Gly-Lys-Gly;SEQ ID NO:116)。

[0234] [接头2]为任选的,且当存在时,其为使多肽偶联至载剂之接头。接头(若存在)之长度可为1至10个氨基酸。在一些实施例中,接头包含约1至10个氨基酸、约1至9个氨基酸、约1至8个氨基酸、约1至7个氨基酸、约1至6个氨基酸、约1至5个氨基酸、约1至4个氨基酸、约1至3个氨基酸、约2个氨基酸或一个(1个)氨基酸。在一些实施例中,接头为1个氨基酸、2个氨基酸、3个氨基酸、4个氨基酸、5个氨基酸、6个氨基酸、7个氨基酸、8个氨基酸、9个氨基酸或10个氨基酸。在一些实施例中,接头之氨基酸组成可模拟在天然多域蛋白质中发现之接头的组成,其中某些氨基酸与其在完整蛋白质中之丰度相比,在天然接头中过度呈现、呈现不足或相同地呈现。举例而言,苏氨酸(Thr)、丝氨酸(Ser)、脯氨酸(Pro)、甘氨酸(Gly)、天

冬氨酸 (Asp)、赖氨酸 (Lys)、谷氨酰胺 (Gln)、天冬酰胺 (Asn)、精氨酸 (Arg)、苯丙氨酸 (Phe)、谷氨酸 (Glu) 及丙氨酸 (Ala) 在天然接头中过度呈现。相比之下, 异亮氨酸 (Ile)、酪氨酸 (Tyr)、色氨酸 (Trp) 及半胱氨酸 (Cys) 呈现不足。通常, 过度呈现之氨基酸为极性不带电或带电残基, 其构成约 50% 之天然编码之氨基酸, 且 Pro、Thr 及 Gln 为用于天然接头之最优氨基酸。在一些实施例中, 接头之氨基酸组成可模拟通常在重组蛋白中发现之接头 (其通常可归类为柔性或刚性接头) 之组成。举例而言, 在重组蛋白中发现的柔性接头通常由小型、非极性 (例如 Gly) 或极性 (例如 Ser 或 Thr) 氨基酸构成, 其小型尺寸提供柔性且允许连接功能域之移动。例如 Ser 或 Thr 之并入可通过与水分子形成氢键来维持接头在水性溶液中之稳定性, 且因此可减少接头与免疫原之间的相互作用。在一些实施例中, 接头包含 Gly 及 Ser 残基之延伸子 (“GS” 接头)。广泛使用之柔性接头之实例为 (Gly-Gly-Ser)<sub>n</sub>、(Gly-Gly-Gly-Ser)<sub>n</sub> (SEQ ID NO:177) 或 (Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)<sub>n</sub> (SEQ ID NO:178), 其中 n=1-3。调整拷贝数 “n” 可使接头优化以实现功能性免疫原域之充分分离, 以便例如使免疫原性应答最大化。已设计许多其他柔性接头以用于可在本文中使用的重组融合蛋白。在一些实施例中, 接头可富含诸如 Gly 及 Ser 之小型或极性氨基酸, 但亦含有诸如 Thr 及 Ala 之其他氨基酸以维持柔性, 以及诸如 Lys 及 Glu 之极性氨基酸以改良溶解性。参见例如 Chen, X. 等人, “Fusion Protein Linkers: Property, Design and Functionality” *Adv Drug Deliv Rev.*, 15:65 (10):1357-1369 (203)。在某些实施例中, 当存在时, 接头可为选自由以下组成的组的氨基酸序列: GG、GGG、KK、KKK、AA、AAA、SS、SSS、G-A-G-A (SEQ ID NO:114)、A-G-A-G (SEQ ID NO:115) 及 K-G-K-G (SEQ ID NO:116)。

[0235] [Cys] 为任选的且可有助于使多肽与载剂结合。当存在时, Cys 可在多肽之 C 端部分, 或在多肽之 N 端部分。

[0236] 本发明之 [第一肽]-[接头1]-[第二肽]-[接头2]-[Cys] 双重 AB/ $\alpha$ -突触核蛋白多肽之实例包括以下:

[0237] 表 1

免疫原实验 ID	A $\beta$ 序列	A $\beta$ SEQ ID NO.	肽链内切酶接头	$\alpha$ -突触核蛋白序列	$\alpha$ -突触核蛋白 SEQ ID NO.	C 端接头	Cys	免疫原 SEQ ID NO
11	DAEFRHD	06	RR	PDNEAYE	55	GG	C	110
12	DAEFRHD	06	RR	DPDNEAYE	48	GG	C	111

[0239] 多肽免疫原

[0240] A $\beta$ 肽、 $\alpha$ -突触核蛋白肽及双重 AB/ $\alpha$ -突触核蛋白多肽为根据本发明之免疫原。在一些实施例中, 肽及双重 AB/ $\alpha$ -突触核蛋白多肽可连接至适合的载剂以帮助引发免疫应答。因此, 本发明之一种或多种肽及双重 AB/ $\alpha$ -突触核蛋白多肽可连接至载剂。举例而言, A $\beta$ 肽、 $\alpha$ -突触核蛋白肽及 AB/ $\alpha$ -突触核蛋白多肽中之每一者可在存在或不存在间隔氨基酸 (例如: Gly-Gly、Ala-Ala、Lys-Lys、Ser-Ser、Gly-Ala-Gly-Ala (SEQ ID NO:114)、Ala-Gly-Ala-Gly (SEQ ID NO:115) 或 Lys-Gly-Lys-Gly (SEQ ID NO:116)) 之情况下连接至载剂。在某些实施例中, 双重 AB- $\alpha$ -突触核蛋白多肽可使用 C 端半胱氨酸连接至适合的载剂, 以在肽与载

剂或双重AB/α-突触核蛋白多肽与载剂之间提供接头。在某些实施例中，双重AB-α-突触核蛋白多肽可使用N端半胱氨酸连接至适合的载剂以在肽与载剂之间提供接头。

[0241] 适合的载剂包括(但不限于)血清白蛋白、钥孔血蓝蛋白、免疫球蛋白分子、甲状腺球蛋白、卵白蛋白、破伤风类毒素或来自其他病原性细菌之类毒素,诸如白喉类毒素(例如CRM197)、大肠杆菌(*E. coli*)、霍乱或幽门螺旋杆菌(*H. pylori*),或经灭毒之毒素衍生物。T细胞表位亦为适合的载剂分子。一些缀合物可通过使本发明之肽免疫原连接至免疫刺激性聚合物分子(例如三棕榈酰基-S-甘油半胱氨酸(Pam3Cys)、甘露聚糖(甘露糖聚合物)或葡聚糖(β1-2聚合物))、细胞因子(例如IL-1、IL-1α肽及β肽、IL-2、γ-INF、IL-10、GM-CSF)及趋化因子(例如MIP1-α及MIP1-β以及RANTES)来形成。其他载剂包括类病毒颗粒。在一些组合物中,免疫原性肽亦可通过化学交联来连接至载剂。用于将免疫原连接至载剂之技术包括使用3-(2-吡啶基硫基)丙酸N-丁二酰亚胺酯(SPDP)及4-(N-顺丁烯二酰亚胺基甲基)环己烷-1-甲酸丁二酰亚胺酯(SMCC)形成二硫键(若肽不具有巯基,则此可通过添加半胱氨酸残基来提供)。此等试剂产生其自身与一个蛋白上之肽半胱氨酸残基之间的二硫键,且经由赖氨酸上之ε-氨基或其他氨基酸中之其他游离氨基产生酰胺键。在一些实施例中,化学交联可包含使用SBAP(3-(溴乙酰氨基)丙酸丁二酰亚胺酯),其为用于经由N-羟基丁二酰亚胺(NHS)酯及溴乙酰基反应性基团进行之胺-巯基结合的短(6.2埃)交联剂。各种此类二硫化物/酰胺形成剂描述于Jansen等人,“Immunotoxins:Hybrid Molecules Combining High Specificity and Potent Cytotoxicity”*Immunological Reviews* 62:185-216(1982年2月)中。其他双功能偶联剂形成硫醚而非二硫键。许多此等硫醚形成剂是可商购的,且包括6-顺丁烯二酰亚胺基己酸、2-溴乙酸及2-碘乙酸、4-(N-顺丁烯二酰亚胺基-甲基)环己烷-1-甲酸之反应性酯。羧基可通过将其与丁二酰亚胺或1-羟基-2-硝基-4-磺酸、钠盐合并来活化。类病毒颗粒(VLP),亦称为假病毒颗粒或病毒衍生之颗粒,表示由能够在体内自行组装成具有所定义之球面对称性之VLP的病毒衣壳和/或包膜蛋白之多个拷贝构成的亚基结构(Powilleit等人,(2007)PLoS ONE 2(5):e415)。或者,肽免疫原可连接至至少一个能够结合MHC II类分子之大部分的人工T细胞表位,诸如泛DR表位(“PADRE”)。泛DR结合肽(PADRE)描述于US 5,736,142、WO 95/07707及Alexander等人,*Immunity*,1:751-761(1994)中。

[0242] 活性免疫原可以多聚形式呈现,其中免疫原之多个拷贝(多肽的肽)以单一共价分子形式在载剂上呈现。在一些实施例中,载剂包括各种形式之双重AB/α-突触核蛋白多肽。举例而言,免疫原之双重AB/α-突触核蛋白多肽可包括具有不同次序之AB抗原及α-突触核蛋白的多肽,或可在存在或不存在肽内接头和/或连接至载剂之接头的情况下存在。

[0243] 在一些组合物中,免疫原性肽亦可表达为与载剂之融合蛋白。在某些组合物中,免疫原性肽可在氨基端、羧基端或在内部连接至载剂。在一些组合物中,载剂为CRM197。在一些组合物中,载剂为白喉类毒素。

[0244] 核酸

[0245] 本发明亦提供编码如本文中所揭示之任何淀粉样蛋白-β(AB)肽及α-突触核蛋白肽的核酸。如本文中所揭示之核酸免疫疗法组合物包含以下、由以下组成或基本上由以下组成:如本文中所揭示之编码淀粉样蛋白-β(AB)肽之第一核酸序列及编码α-突触核蛋白肽之第二核酸序列。举例而言,AB肽为长度为3至10个氨基酸残基且来自SEQ ID NO:01之前十

个N端残基之序列,及 $\alpha$ -突触核蛋白肽为长度为3至8个氨基酸且来自SEQ ID NO:02之残基81至140之序列。因此,编码SEQ ID NO:3-38中之任一者之核酸可与编码SEQ ID NO:39至109中之任一者之核酸组合,以提供免疫原及本发明的药物组合物之组分。同样地,编码A $\beta$ 及 $\alpha$ -突触核蛋白序列中之任一者的一种或多种核酸可包括RR-N端或-RR C端二肽之密码子。在某些实施例中,A $\beta$ 及 $\alpha$ -突触核蛋白肽序列可由同一核酸序列或由不同的核酸序列编码。在一些实施例中,如本文中所描述,核酸序列亦可编码连接至载剂的接头和/或C端半胱氨酸。另外,当单个核酸序列编码两种肽时,该序列亦可编码如本文中所描述之肽内接头。本文所描述之核酸组合物(药物组合物)可用于治疗或实现防治和/或预防阿尔茨海默病的方法中。在另一实施例中,如本文中所揭示之核酸免疫疗法组合物提供用于减少受试者和/或受试者之组织中之A $\beta$ 及 $\alpha$ -突触核蛋白之病原形式的组合物。在一些实施例中,由免疫疗法组合物减少之A $\beta$ 和/或 $\alpha$ -突触核蛋白为以下之病理形式:A $\beta$ (例如 $\beta$ -淀粉样肽(A $\beta$ )之细胞外斑块沉积物;神经炎性淀粉样蛋白斑块)和/或 $\alpha$ -突触核蛋白(例如, $\alpha$ -突触核蛋白寡聚物之火焰状神经原纤维缠结)。在其他实施例中,由核酸免疫疗法组合物减少神经变性疾病和/或突触核蛋白病之病理学指示物。在另一实施例中,如本文中所揭示之核酸免疫疗法组合物提供用于减少脑部A $\beta$ 及脑部 $\alpha$ -突触核蛋白之组合物。

[0246] 诸如编码免疫原且用作疫苗之DNA之核酸可称为“DNA免疫原”或“DNA疫苗”,因为经编码的多肽在施用该DNA之后在体内表达。DNA疫苗意欲通过以下方式在受试者中诱导针对其编码之感兴趣的蛋白的抗体:将编码感兴趣的蛋白之DNA整合至载体(质体或病毒)中;向受试者施用载体;及在已施用载体之受试者中表达感兴趣的蛋白以刺激受试者之免疫系统。DNA疫苗在施用之后长时间留存于受试者之体内,且继续缓慢产生经编码之蛋白。因此,可避免过度免疫应答。DNA疫苗亦可使用基因工程改造技术来修饰。任选地,此类核酸进一步编码信号肽且可与连接至肽之信号肽一起表达。核酸之编码序列可与调节序列可操作地连接以确保编码序列之表达,诸如启动子、增强子、核糖体结合位点、转录终止信号及其类似物。编码A $\beta$ 及 $\alpha$ -突触核蛋白之核酸可以经分离之形式存在或可克隆至一个或多个载体中。核酸可通过例如固态合成或重叠寡核苷酸之PCR来合成。在存在及不存在接头或可裂解接头之情况下,及在存在或不存在基于蛋白之载剂的情况下,可将编码A $\beta$ 及 $\alpha$ -突触核蛋白肽及多肽的核酸接合为一个相邻核酸,例如在表达载体内。

[0247] DNA比RNA更稳定,但涉及一些诸如诱导抗DNA抗体之潜在安全风险,因此在一些实施例中,核酸可为RNA。编码免疫原且用作疫苗之RNA核酸可称为“RNA免疫原”或“RNA疫苗”或“mRNA疫苗”,因为经编码的多肽在施用RNA之后在体内表达。核糖核酸(RNA)疫苗可安全地引导受试者之细胞机制产生一种或多种感兴趣的多肽。在一些实施例中,RNA疫苗可为非复制mRNA(信使RNA)或病毒衍生之自扩增RNA。基于mRNA之疫苗编码感兴趣的抗原且含有5'非翻译区及3'非翻译区(UTR),而自扩增RNA不仅编码抗原,且亦编码实现细胞内RNA扩增及大量蛋白表达之病毒复制机制。经体外转录之mRNA可使用T7、T3或Sp6噬菌体RNA聚合酶自线性DNA模板产生。所得产物可含有编码如本文所揭示之感兴趣的肽的开放阅读框架、侧接的5'-UTR及3'-UTR序列、5'帽及poly(A)尾部。在一些实施例中,RNA疫苗可包含反式扩增RNA(例如,参见Beissert等人,Molecular Therapy 2020年1月28日(1):119-128)。在某些实施例中,RNA疫苗编码如本文中所揭示之A $\beta$ 肽及 $\alpha$ -突触核蛋白肽,且能够表达A $\beta$ 及 $\alpha$ -突触核蛋白肽,尤其在转移至诸如不成熟的抗原呈递细胞之细胞中的情况下。RNA亦可含有编码

诸如免疫刺激元件之其他多肽序列的序列。在一些实施例中，RNA疫苗之RNA可为经修饰之RNA。在RNA之情况下，术语“经修饰”可包括RNA之任何非天然存在于RNA中之修饰。举例而言，经修饰之RNA可指具有5'帽之RNA；然而，RNA可包含其他修饰。5'帽可经修饰以具有在附接至RNA时使其稳定的能力。在某些实施例中，另一修饰可为天然存在之poly(A)尾部之延伸或截短或5'非翻译区(UTR)或3'非翻译区之变化。在一些实施例中，RNA疫苗或例如mRNA疫苗以有效量配制以在受试者中产生抗原特异性免疫应答。举例而言，向受试者施用RNA疫苗配制剂以刺激受试者之体液和/或细胞免疫系统对抗AB及 $\alpha$ 突触核蛋白抗原，且因此可进一步包含一种或多种佐剂、稀释剂、载剂和/或赋形剂，且以任何适合的途径施用于受试者以引发针对AB及 $\alpha$ 突触核蛋白抗原之保护性和/或治疗性免疫应答。

[0248] 揭示分子生物学之通用方法的基础文献，其中所有通过引用并入，包括：Sambrook, J等人, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 第2版, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989; Ausubel, F M等人, *Current Protocols in Molecular Biology*, 第2卷, Wiley-Interscience, New York, (当前版本); Kriegler, *Gene Transfer and Expression: A Laboratory Manual* (1990); Glover, D M编, *DNACloning: A Practical Approach*, 第I卷及第II卷, IRL Press, 1985; Albers, B.等人, *Molecular Biology of the Cell*, 第2版, Garland Publishing, Inc., New York, N.Y. (1989); Watson, J D等人, *Recombinant DNA*, 第2版, Scientific American Books, New York, 1992; 及 Old, R W等人, *Principles of Gene Manipulation: An Introduction to Genetic Engineering*, 第2版, University of California Press, Berkeley, Calif. (1981)。

[0249] 用于操作核酸之技术(诸如在序列中产生突变、亚克隆、标记探针、测序、杂交及其类似技术)充分描述于科学及专利文献中。参见例如Sambrook编, *MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL* (第2版), 第1卷至第3卷, Cold Spring Harbor Laboratory, (1989); *CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY*, Ausubel编, John Wiley & Sons, Inc., New York (1997); *LABORATORY TECHNIQUES IN BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY: HYBRIDIZATION WITH NUCLEIC ACID PROBES*, 第I部分, Tijssen编, Elsevier, N.Y. (1993)。

[0250] 核酸、载体、衣壳、多肽及其类似物可通过本领域技术人员所熟知之多种通用方法中之任一者来分析及定量。此等方法包括例如分析性生化方法, 诸如NMR、分光光度法、放射照像术、电泳法、毛细管电泳法、高效液相层析法(HPLC)、薄层层析法(TLC)及超扩散层析法; 各种免疫方法, 例如液体或凝胶沉淀素反应、免疫扩散法、免疫电泳法、放射免疫分析法(RIA)、酶联免疫吸附分析法(ELISA)、免疫荧光分析法、南方分析法(Southern analysis)、北方分析法(Northern analysis)、斑点印迹分析法、凝胶电泳法(例如SDS-PAGE)、RT-PCR、定量PCR; 其他核酸或目标或信号放大方法、放射性标记、闪烁计数及亲和层析法。

[0251] 药物组合物

[0252] 本文中所述之肽及免疫原中之每一者可以与药学上可接受的佐剂及药学上可接受的赋形剂一起施用的药物组合物形式呈现。与单独使用肽之情况相比，佐剂使所诱导之抗体之效价和/或所诱导之抗体之结合亲和力增加。多种佐剂可与本发明之免疫原组合使用以引发免疫应答。一些佐剂增强针对免疫原之固有应答，而不会引起影响反应之定性形式的免疫原之构形改变。佐剂可为天然化合物、天然化合物之修饰版本或衍生物，或合成化合物。

[0253] 一些佐剂包括铝盐(诸如氢氧化铝及磷酸铝)、3-脱-0-酰化单磷酰基脂质A(MPL<sup>TM</sup>) (参见GB 2220211(RIBI ImmunoChem Research Inc.,Hamilton,Montana,现属于Corixa)。如本文所用,MPL是指MPL之天然及合成版本。合成版本之实例包括PHAD<sup>®</sup>、3D-PHAD<sup>®</sup>及3D(6A)-PHAD<sup>®</sup> (Avanti Polar Lipids,Alabaster,Alabama)。

[0254] QS-21为自在南美洲发现之莫利纳皂皮树(Quillaja saponaria Molina tree)之树皮中分离的三萜糖苷或皂素(参见Kensil等人,Vaccine Design:The Subunit and Adjuvant Approach (Powell及Newman编,Plenum Press,NY,1995))。QS-21产品包括Stimulon<sup>®</sup> (Antigenics,Inc.,New York,NY;现为Agenus,Inc.Lexington,MA)及QS-21疫苗佐剂(Desert King,San Diego,CA)。已于US5,057,540及US 8,034,348中揭示、表征及评估QS-21,其揭示内容以引用之方式并入本文中。另外,已在多种临床试验中以多种剂量评估QS-21。参见NCT00960531([clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT00960531](http://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT00960531)),Hüll等人,Curr Alzheimer Res.2017年7月;14(7):696-708(评估50mcg QS-21与不同剂量之疫苗ACC-001);Gilman等人,“Clinical effects of Abeta immunization (AN1792) in patients with AD in an interrupted trial”Neurology.2005年5月10日;64(9):1553-62;Wald等人,“Safety and immunogenicity of long HSV-2peptides complexed with rhHsc70 in HSV-2seropositive persons Vaccine”2011;29(47):8520-8529;及Cunningham等人,“Efficacy of the Herpes Zoster Subunit Vaccine in Adults 70Years of Age or Older”.NEJM.2016年9月15日;375(11):1019-32。QS-21用于FDA批准之疫苗,包括SHINGRIX。SHINGRIX含有50mcg QS-21。在某些实施例中,QS-21之量为约10μg至约500μg。

[0255] TQL1055为QS-21之类似物(Adjuvance Technologies,Lincoln,NE)。与QS-21相比,半合成TQL1055之特征在于具有高纯度、提高之稳定性、降低之局部耐受性、降低之全身耐受性。已于US20180327436 A1、W02018191598A1、W02018200656 A1及W02019079160 A1中揭示、表征及评估TQL1055,其揭示内容以引用之方式并入本文中。US20180327436 A1教示,与20μg QS-21相比,多2.5倍之TQ1055更优异,但超过50μg之TQ1055未显示改良。然而,与QS-21不同,随着TQL1055剂量增加,不会使体重减轻或RBC之溶血增加。W02018200656 A1教示,在最佳量之TQ1055下,可降低抗原量且达成优良的效价。在某些实施例中,TQL1055之量为约10μg至约500μg。

[0256] 其他佐剂为水包油乳液(诸如角鲨烯或花生油),任选地与免疫刺激剂组合,该等免疫刺激剂诸如单磷酰基脂质A(参见Stoute等人,N.Engl.J.Med.336,86-91(1997))、普洛尼克聚合物(pluronic polymer)及灭毒分枝杆菌(killed mycobacteria)。Ribi佐剂为水包油乳液。Ribi含有用含Tween 80之盐水乳化之可代谢油(角鲨烯)。Ribi亦含有改进之分支杆菌产物,其充当免疫刺激剂及细菌单磷酰基脂质A。其他佐剂可为CpG寡核苷酸(参见W098/40100)、细胞因子(例如IL-1、IL-1α肽及β肽、IL-2、γ-INF、IL-10、GM-CSF)、趋化因子(例如MIP1-α及MIP1-β以及RANTES)、皂素、RNA和/或TLR激动剂(例如TLR4激动剂,诸如MPL及合成MPL分子)、氨基烷基氨基葡萄糖苷磷酸及其他TLR激动剂。佐剂可作为治疗组合物之组分与活性剂一起施用或可在施用治疗剂之前、同时或之后单独施用。

[0257] 在本发明之各种实施例中,佐剂为QS-21 (Stimulon<sup>TM</sup>)。在一些组合物中,佐剂为

MPL。在某些实施例中，MPL之量为约10 $\mu$ g至约500 $\mu$ g。在一些组合物中，佐剂为TQL1055。在某些实施例中，TQL1055之量为约10 $\mu$ g至约500 $\mu$ g。在一些组合物中，佐剂为QS21。在某些实施例中，QS21之量为约10 $\mu$ g至约500 $\mu$ g。在一些组合物中，佐剂为MPL与QS-21之组合。在一些组合物中，佐剂为MPL与TQL1055之组合。在一些组合物中，佐剂可在脂质体制剂中。

[0258] 另外，本发明之一些实施例可包含多重抗原呈递系统(MAP)。已研发出多重抗原呈递肽疫苗系统，以避免与常规疫苗(即，活灭毒、死毒或灭活病原体)、载体蛋白及细胞毒性佐剂相关之不良作用。已使用两种主要方法来研发多重抗原呈递肽疫苗系统：(1)添加功能组分，例如T细胞表位、细胞穿透肽及亲脂性部分；及(2)使用具有既定尺寸之纳米材料，例如自组装肽、非肽树突状聚合物及金纳米粒子作为抗原呈递平台之合成方法。使用多重抗原肽(MAP)系统可改良亚单位肽疫苗之有时存在之不良免疫原性。在MAP系统中，抗原肽之多个拷贝同时结合于非免疫原性基于Lys之树突状架构的 $\alpha$ -氨基及 $\epsilon$ -氨基，帮助赋予稳定性以避免降解，由此增强免疫细胞之分子识别，且与单独的小型抗原肽相比诱导更强的免疫应答。在一些组合物中，MAP包含基于Lys之树突状架构、辅助型T细胞表位、免疫刺激性亲脂性部分、细胞穿透肽、自由基诱导之聚合、自组装纳米粒子(作为抗原呈递平台)及金纳米粒子中之一者或多者。

[0259] 用于胃肠外施用的药物组合物优选为无菌且实质上等张的，且在GMP条件下制造。药物组合物可以单位剂型(即，用于单次施用之剂量)提供。药物组合物可使用一种或多种生理学上可接受之载体、稀释剂、赋形剂或助剂来配制。配制剂视所选择之施用途径而定。对于注射，本发明之肽可在水性溶液中，优选在生理学上相容之缓冲液中配制，诸如汉克氏溶液(Hank's solution)、林格氏溶液(Ringer's solution)或生理盐水或乙酸盐缓冲液(以减少注射部位之不适)。溶液可含有配制剂，诸如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。或者，肽组合物可呈冷冻干燥形式，以用于在使用之前用适合的媒介物(例如无菌无热原水)复原。

[0260] 肽(及任选地与肽融合之载体)亦可以编码肽且在受试者中原位表达之核酸形式施用。编码免疫原之核酸区段通常连接至调节元件，诸如实现DNA区段在受试者中之预期靶细胞中之表达的启动子及增强子。对于血细胞中之表达，如诱导免疫应答所需，来自例如轻链或重链免疫球蛋白基因之启动子及增强子元件或CMV主要中间物早期启动子及增强子适用于引导表达。通常将所连接之调节元件及编码序列克隆至载体中。

[0261] DNA及RNA可以裸形式(即，不存在胶体或囊封材料)递送。或者，可使用多种病毒载体系统，包括反转录病毒系统(参见例如Boris-Lawrie及Teumin, Cur.Opin.Genet.Develop.3(1):102-109(1993))；腺病毒载体(参见例如Bett等人, J.Virol.67(10):5911-21(1993))；腺相关病毒载体(参见例如Zhou等人, J.Exp.Med.179(6):1867-75(1994))；来自痘科之病毒载体，包括牛痘病毒及禽痘病毒；来自 $\alpha$ 病毒属之病毒载体，诸如来源于辛得比斯(Sindbis)及塞姆利基森林病毒(Semliki Forest Virus)之病毒载体(参见例如Dubensky等人, J.Virol.70(1):508-519(1996))；委内瑞拉马脑炎病毒(Venezuelan equine encephalitis virus)(参见US 5,643,576)及棒状病毒，诸如水泡性口炎病毒(参见W0 96/34625)及乳突状瘤病毒(W0 94/12629;Ohe等人, Human Gene Therapy 6(3):325-333(1995)；及Xiao及Brandsma, Nucleic Acids.Res.24(13):2620-2622(1996))。

[0262] 编码免疫原之DNA及RNA或含有其之载体可封装于脂质体、纳米粒子或脂蛋白复合

物中。适合的其他聚合物包括例如鱼精蛋白脂质体、多糖粒子、阳离子纳米乳液、阳离子聚合物、阳离子聚合物脂质体、阳离子脂质纳米粒子、阳离子脂质、胆固醇纳米粒子、阳离子脂质-胆固醇、PEG纳米粒子或树突状聚合物纳米粒子。其他适合的脂质及相关类似物由US 5,208,036、US5,264,618、US 5,279,833及US 5,283,185描述,其各自以全文引用之方式并入本文中。编码免疫原之载体及DNA亦可吸附至微粒载剂或与微粒载剂结合,微粒载剂之实例包括聚甲基丙烯酸甲酯聚合物及聚乳酸及聚(乳酸交酯-共-乙交酯)(参见例如McGee等人, J. Micro Encap. 1997年三月-四月;14(2):197-210)。

[0263] 药学上可接受的载剂组合物亦可包括添加剂,包括(但不限于)水、药学上可接受的有机溶剂、胶原蛋白、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯啉酮、羧基乙烯基聚合物、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸钠、海藻酸钠、水溶性聚葡萄糖、羧甲基淀粉钠、果胶、甲基纤维素、乙基纤维素、黄原胶(xanthan gum)、阿拉伯胶(gum arabic)、酪蛋白、琼脂、聚乙二醇、二甘油、丙三醇、丙二醇、矿脂、石蜡、脂、硬酯醇、硬脂酸、人类血清白蛋白、甘露醇、山梨醇、乳糖及可接受作为药物添加剂之界面活性剂。

[0264] 可接受治疗之受试者

[0265] 已在若干疾病中发现A $\beta$ 斑块和/或神经原纤维缠结之存在,该等疾病包括阿尔茨海默病、唐氏综合征、轻度认知障碍、大脑淀粉样血管病、脑炎后帕金森病(postencephalitic parkinsonism)、创伤后痴呆症或拳击手型痴呆症(dementia pugilistica)、匹克症(Pick's disease)、C型尼曼匹克症(Niemann-Pick disease)、核上神经麻痹症、额颞叶型痴呆症、额颞叶变性、嗜银颗粒性认知症、肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症/关岛型复合型帕金森病痴呆症(parkinsonism dementia complex of Guam)、皮质基底退化症(CBD)、路易氏体痴呆症、阿尔茨海默病之路易氏体变异形式(LBVD)、慢性创伤性脑病(CTE)、帕金森病、进行性核上麻痹(PSP)、干性年龄相关之黄斑部变性(AMD)及包涵体肌炎。

[0266] 本发明之组合物及方法可用于治疗或防治此等疾病中之任一者。由于神经性疾病与A $\beta$ 和/或 $\alpha$ -突触核蛋白之间的广泛相关性,因此本发明之组合物及方法可用于治疗或防治与未患有神经性疾病之个体之平均值相比,显示升高之A $\beta$ 和/或 $\alpha$ -突触核蛋白水平(例如在CSF中)的任何受试者。本发明之组合物及方法亦可用于治疗或防治个体中之神经性疾病,该等个体具有A $\beta$ 和/或 $\alpha$ -突触核蛋白中之与神经性疾病相关之突变。方法尤其适用于治疗或防治阿尔茨海默病。

[0267] 可接受治疗之受试者包括具有罹患疾病之风险但未显示症状之个体,以及当前显示症状之患者,包括先前尚未接受针对疾病之治疗之未经治疗的受试者。具有罹患疾病之风险之受试者包括年老群体中之受试者,患有A $\beta$ 和/或 $\alpha$ -突触核蛋白病之无症状受试者及具有已知之遗传疾病风险之受试者。此类个体包括具有已经历此疾病之亲属之个体,及通过基因或生化标记物之分析测定具有此风险之个体。风险之基因标志物包括A $\beta$ 和/或 $\alpha$ -突触核蛋白中之突变,以及与神经性疾病相关之其他基因中的突变。举例而言,杂合及甚至更多呈纯合形式之ApoE4等位基因与阿尔茨海默病(AD)之风险相关。阿尔茨海默病之风险之其他标志物包括APP基因中之突变,尤其分别在称为哈迪型(Hardy)及瑞典型(Swedish)突变之位置717及位置670及位置671处之突变,在早老素基因、PS1及PS2中之突变,AD之家族病史、高胆固醇症或动脉粥样硬化。当前患有阿尔茨海默病之个体可通过PET成像、由特征

性痴呆症以及存在上文所描述之风险因子来识别。另外,存在许多可用于鉴别患有AD之个体之诊断测试。此等测试包括CSF或血液 $\alpha$ -突触核蛋白及A $\beta$ 42水平之测量。升高之 $\alpha$ -突触核蛋白及降低之A $\beta$ 42水平表示AD之存在。一些突变与帕金森病相关,例如Ala30Pro或Ala53Thr,或其他基因之突变与帕金森病相关,诸如富含亮氨酸之重复激酶(LRRK2或PARK8)。亦可通过DSM IV TR之标准来诊断受试者是否患有上文所提及之任何神经性疾病。

[0268] 在无症状受试者中,可在任何年龄开始治疗(例如,10岁、20岁、30岁或更大)。然而,通常直至受试者达到20、30、40、50、60、70、80或90岁才需要开始治疗。治疗通常在一个时段内需要多个剂量。可通过随时间推移而分析抗体水平来监测治疗。若反应下降,则指示加强剂量。对于潜在的唐氏综合征患者,可通过向母亲施用治疗剂而在产前开始或在出生后不久开始治疗。

[0269] 治疗方法及用途

[0270] 本发明提供在患有神经变性疾病(例如阿尔茨海默病)或具有发展神经变性疾病之风险之受试者中抑制或减少A $\beta$ 或 $\alpha$ -突触核蛋白之聚集的方法。方法包括向受试者施用如本文中所揭示之组合物。治疗有效量为在有效时段内提供时可实现所需免疫学或临床效果的剂量。可调节剂量方案以提供最佳治疗反应。举例而言,若干分次剂量可以所设定之间隔(例如,一周、一个月)施用,或可视治疗情况所需而按比例减少剂量。

[0271] 在防治性应用中,可以有效降低疾病之至少一种病征或症状之风险、减轻其严重性或推迟其发作的方案(施用之剂量、频率及途径)向易患疾病(例如阿尔茨海默病)或具有罹患疾病之风险的受试者施用本文中所描述之组合物。特定言之,方案可在脑部中有效抑制或推迟A $\beta$ 斑块之形成,和/或抑制或推迟 $\alpha$ -突触核蛋白病,和/或抑制或推迟其毒性作用,和/或抑制或推迟行为缺陷之发展。在治疗性应用中,以可有效改善疾病之至少一种病征或症状或至少抑制其进一步恶化的方案(施用之剂量、频率及途径)向疑似患有疾病(例如阿尔茨海默病)之受试者或已患有疾病之患者施用本文中所描述之组合物。特定言之,方案优选地有效减少A $\beta$ 斑块和/或突触核蛋白病相关毒性和/或行为缺陷之水平或至少抑制其进一步增加。

[0272] 若经治疗之个体所达成的结果比未通过本发明的方法治疗之可比较的受试者之对照群体中的平均结果更有利,或若在对照性临床试验(例如,II期、II/III期或III期试验)中,在 $p < 0.05$ 或 $0.01$ 或甚至 $0.001$ 水平下在经治疗之受试者中显示比对照性受试者更有利的结果,则方案可视为防治性或预防性有效。

[0273] 有效剂量视许多不同因素而变化,诸如施用方式、目标部位、患者之生理学状态、患者是否为ApoE携带者、患者是否为人类或动物、所施用之其他药物及治疗是否为防治性或治疗性。

[0274] 在一些实施例中,有效量为 $25\mu\text{g}$ 至 $1000\mu\text{g}$ 或 $50\mu\text{g}$ 至 $1000\mu\text{g}$ 之总剂量。在一些实施例中,有效量为 $100\mu\text{g}$ 之总剂量。在一些实施例中,有效量为总计两次向受试者施用 $25\mu\text{g}$ 之剂量。在一些实施例中,有效量为总计两次向受试者施用 $100\mu\text{g}$ 之剂量。在一些实施例中,有效量为总计两次向受试者施用 $400\mu\text{g}$ 之剂量。在一些实施例中,有效量为总计两次向受试者施用 $500\mu\text{g}$ 之剂量。在一些实施例中,RNA(例如mRNA)疫苗通过皮内、肌肉内注射或通过鼻内施用来施用受试者。

[0275] 在一些实施例中,用于主动免疫疗法之药剂的量在每名患者1至1,000微克( $\mu\text{g}$ ),

或0.1至500 $\mu\text{g}$ ,或10至500 $\mu\text{g}$ ,或50至250 $\mu\text{g}$ 之范围内且对于人类施用,可为每次注射1至100或1至10 $\mu\text{g}$ 。注射时机可在一天一次至一周一次、一个月一次、一年一次、十年一次之间显著变化。典型方案由免疫接种及随后按时间间隔(诸如6周间隔或两个月)进行之加强注射组成。另一方案由免疫接种及在1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个月后进行一次或多次加强注射组成。另一方案需要每两个月注射一次保持终身。或者,可如免疫应答之监测所指示进行不定期的加强注射。施用频率可为一次或多次,只要副作用在临床上可接受之范围内即可。

[0276] 在一些实施例中,如本文中所揭示之组合物或方法包含向受试者施用核酸疫苗,该核酸疫苗包含一个或多个具有编码第一肽及第二肽之开放阅读框的DNA或RNA多核苷酸,其中向受试者施用介于10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 与400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间的剂量之核酸疫苗。在一些实施例中,RNA多核苷酸之剂量为每剂量1至5 $\mu\text{g}$ 、5至10 $\mu\text{g}$ 、10至15 $\mu\text{g}$ 、15至20 $\mu\text{g}$ 、10至25 $\mu\text{g}$ 、20至25 $\mu\text{g}$ 、20至50 $\mu\text{g}$ 、30至50 $\mu\text{g}$ 、40至50 $\mu\text{g}$ 、40至60 $\mu\text{g}$ 、60至80 $\mu\text{g}$ 、60至100 $\mu\text{g}$ 、50至100 $\mu\text{g}$ 、80至120 $\mu\text{g}$ 、40至120 $\mu\text{g}$ 、40至150 $\mu\text{g}$ 、50至150 $\mu\text{g}$ 、50至200 $\mu\text{g}$ 、80至200 $\mu\text{g}$ 、100至200 $\mu\text{g}$ 、120至250 $\mu\text{g}$ 、150至250 $\mu\text{g}$ 、180至280 $\mu\text{g}$ 、200至300 $\mu\text{g}$ 、50至300 $\mu\text{g}$ 、80至300 $\mu\text{g}$ 、100至300 $\mu\text{g}$ 、40至300 $\mu\text{g}$ 、50至350 $\mu\text{g}$ 、100至350 $\mu\text{g}$ 、200至350 $\mu\text{g}$ 、300至350 $\mu\text{g}$ 、320至400 $\mu\text{g}$ 、40至380 $\mu\text{g}$ 、40至100 $\mu\text{g}$ 、100至400 $\mu\text{g}$ 、200至400 $\mu\text{g}$ 或300至400 $\mu\text{g}$ 。在一些实施例中,通过皮内或肌肉内注射向受试者施用核酸。在一些实施例中,在第零天向受试者施用核酸。在一些实施例中,在第七天,或第十四天,或第二十天向受试者施用第二剂量之核酸。

[0277] 本文中所描述之组合物优选经由外周途径施用(即,使所施用之组合物引起稳定免疫应答和/或所诱导之抗体群穿过血脑屏障以到达脑部、脊髓或眼睛中之预期部位的途径)。对于外周疾病,所诱导之抗体离开血管系统以到达预期外周器官。施用途径包括经口、皮下、鼻内、皮内或肌肉内。主动免疫接种之一些途径为皮下及肌肉内。肌肉内施用及皮下施用可在单一部位或多个部位进行。肌肉内注射最通常在手臂或腿部肌肉中进行。在一些方法中,将药剂直接注射至其中已积累有沉积物之特定组织中。

[0278] 可调节所施用之剂量之数量以产生更稳健的免疫应答(例如,更高效价)。对于急性病症或慢性病症之急性恶化而言,1个至10个剂量通常为足够的。有时候,任选地呈分开形式的单一弹丸注射剂量对于急性病症或慢性病症之急性恶化而言为足够的。对于慢性病症,如本文中所揭示之疫苗/免疫疗法可以规则间隔施用,例如每周一次、每两周一次、每月一次、每季一次、每六个月一次,持续至少1、5或10年,或持续患者终生。

[0279] 经DNA或RNA编码之免疫原的有效量可在每公斤受体体重约1纳克与约1公克之间,或约0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 与约10 $\text{mg}/\text{kg}$ 之间,或约1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 与约1 $\text{mg}/\text{kg}$ 之间。适合于内部施用之剂型优选含有(对于后一剂量范围)每单元约0.1 $\mu\text{g}$ 至100 $\mu\text{g}$ 之活性成分。以组合物之总重量计,活性成分可在0.5至95重量%之范围内。或者,负载有抗原之树突状细胞的有效剂量在约 $10^4$ 个与 $10^8$ 个细胞之间。熟习免疫疗法技术者应能够在不进行不当实验的情况下调节此等剂量。

[0280] 可以便利的方式施用核酸组合物,例如通过便利且有效之途径注射。途径可包括(但不限于)皮内“基因枪”递送或肌肉内注射。通过皮下、静脉内或肌肉内途径施用经修饰之树突状细胞。其他可能的途径包括经口施用、鞘内腔、吸入、经皮施用或直肠施用。

[0281] 视施用途径而定,可使组合物包覆于材料中以保护化合物免受酶、酸及其他可能使化合物失活之天然条件的作用。因此,可能需要用材料包覆组合物或将组合物与材料共

同施用以防止组合物失活。举例而言,核酸酶或蛋白酶(例如,胰蛋白酶抑制剂、二异丙基氟磷酸酯及抑肽酶)之酶抑制剂或在诸如脂质体(包括水包油包水乳液)以及常规脂质体(Strejan等人,J.Neuroimmunol7(1):27-41,1984)之适当载剂中。

[0282] 本文中所示之免疫治疗组合物亦可与其他针对与A $\beta$ 或 $\alpha$ -突触核蛋白之积累相关之疾病的治疗组合使用,该等治疗例如抗A $\beta$ 抗体,诸如特异性结合于本文中所揭示之A $\beta$ 表位中之任一者的抗体。举例而言,阿杜卡努单抗(aducanumab)或例如美国专利公开第2010/0202968号及美国专利第8,906,367号中所揭示之任何抗体,和/或抗 $\alpha$ -突触核蛋白抗体(诸如特异性结合于本文中所揭示之任何 $\alpha$ -突触核蛋白表位之抗体)、ABBV-8E12、高苏拉内单抗(gosuranemab)、泽格特奈单抗(zagotenemab)、RG-6100、BIIB076,或W02014/165271、US10,501,531、W02017/191560、US2019/0330314、W02017/191561、US2019/0330316、W02017/191559及W02018/204546中所揭示之任何抗体;和/或抗 $\alpha$ -突触核蛋白抗体,诸如特异性结合于本文中所揭示之任何 $\alpha$ -突触核蛋白表位之抗体,或结合于化合物之抗体和/或其他 $\alpha$ -突触核蛋白,该等抗体诸如PRX002/R07046015、PRX002/RG7935(普拉森单抗(Prasinezumab))、NPT200-11/UCB0599、NPT088、BIIB054(辛帕奈单抗(Cinpanemab))、ABBV-0805、MEDI-1341、NPT088、Lu AF82422。在一些组合疗法方法中,患者在本文中所揭示之主动免疫疗法方法之前接受被动免疫疗法。在其他方法中,患者在相同的治疗时段期间接受被动及主动免疫疗法。或者,患者可在被动免疫疗法之前接受主动免疫疗法。组合亦可包括小型分子疗法及非免疫原性疗法,诸如RAZADYNE<sup>®</sup>(加兰他敏(galantamine))、EXELON<sup>®</sup>(雷司替明(rivastigmine))及ARICEPT<sup>®</sup>(多奈派齐(donepezil))以及改良脑部中之神经细胞功能之其他组合物。

[0283] 本发明之组合物可用于制造供本文中所描述之治疗方案用之药剂。

[0284] 治疗方案

[0285] 如本文中所揭示之治疗方法的所需结果根据疾病及患者概况而变化,且可由本领域技术人员测定。所需结果包括患者健康状况之改良。通常,所需结果包括可测量之指数,诸如病理性淀粉样蛋白原纤维之减少或清除、淀粉样蛋白聚集和/或淀粉样蛋白原纤维沉积之减少或抑制以及对病理性和/或聚集之淀粉样蛋白原纤维之免疫应答增加。所需结果亦包括改善淀粉样蛋白疾病特异性症状。如本文所用,诸如“改良”、“增加”或“减少”之相对术语指示相对于对照物(诸如在开始本文中所描述之治疗之前在同一体中之测量值,或在对照性个体或组中之测量值)之值。对照性个体为罹患与经治疗之个体相同的淀粉样蛋白疾病之个体,其年龄与经治疗之个体大致相同(以保证经治疗之个体及对照性个体之疾病阶段类似),但尚未接受使用所揭示之免疫疗法/疫苗配制剂进行之治疗。或者,对照性个体为健康个体,其年龄与经治疗之个体大致相同。治疗反应之变化或改良通常为统计显著的,且在由小于或等于0.1、小于0.05、小于0.01、小于0.005或小于0.001之p值描述时可视为显著的。

[0286] 用于治疗受试者之如本文所揭示之组合物的有效剂量视许多不同因素而变化,包括施用方式、目标部位、患者之生理状态、患者是否为人类或动物、所施用之其他药物(若存在)及治疗是否为防治性或治疗性。可以滴定方式分析治疗剂量以使安全性及功效优化。免疫原之量亦可视为是否亦施用佐剂而定,其中在不存在佐剂之情况下需要较高剂量。用于施用之免疫原之量有时在每名患者1至500 $\mu$ g之范围内且对于人类施用,更通常在每次注射5

至500 $\mu$ g范围内。偶尔,使用每剂量1至2mg之较高剂量。通常,每个体类剂量使用约10、20、50或100 $\mu$ g。剂量之时机可在一日一次至一年一次、十年一次之间显著变化。在任何提供免疫原之剂量的既定日,若亦施用佐剂,则剂量大于1微克/患者且通常大于10微克/患者,且在不存在佐剂之情况下大于10微克/患者且通常大于100微克/患者。典型方案由免疫接种及随后以6周间隔施用之加强剂量组成。另一方案由免疫接种及在1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个月后施用加强剂量组成。另一方案需要每两个月施用剂量,保持终身。或者,可如由免疫应答监测所指示不定期地施用加强剂量。

[0287] 当与用于阿尔茨海默病之第二治疗,诸如Razadyne®(加兰他敏)、Exelon®(雷司替明)及Aricept®(多奈派齐)组合施用时,可根据产品标记或视需要根据用本发明之组合物之治疗来施用第二治疗。

[0288] 试剂盒

[0289] 本发明亦提供试剂盒(例如容器),其包含本文中所揭示之组合物及相关材料,诸如使用说明书(例如药品说明书)。使用说明书可含有例如组合物及任选地之一或多种其他药剂之施用之说明书。肽和/或核酸组合物之容器可为单位剂量、散装封装(例如多剂量封装)或亚单位剂量。

[0290] 药品说明书是指市售治疗产品封装中通常所包括之说明,其含有关于适应症、用法、剂量、施用、与此类治疗产品之使用有关之禁忌和/或警告之信息。试剂盒亦可包括第二容器,其包含药学上可接受的缓冲液,诸如抑菌注射用水(BWFI)、磷酸盐缓冲生理盐水、林格氏溶液及右旋糖溶液。其亦可包括就商业及使用者观点而言所需之其他材料,包括其他缓冲剂、稀释剂、过滤器、针及注射器。

[0291] 用途

[0292] 本文中所描述之肽、多肽、免疫原及药物组合物中之每一者可用于治疗一种或多种如本文中所描述之疾病。另外,本文中所描述之肽、多肽、免疫原及药物组合物中之每一者可用于用以治疗一种或多种如本文中所描述之疾病的方法中。本文中所描述之肽、多肽、免疫原及药物组合物中之每一者可用于用以制造药剂的方法中,该药剂治疗或用于治疗一种或多种如本文中所描述之疾病。

[0293] 以下仅出于例示目的而提供,且不意欲限制上文以广义含义描述之本发明之范畴。

[0294] 本文中识别之所有美国及国际专利申请均以全文引用之方式并入本文中。

[0295] 实例

[0296] 实例1:动物免疫接种

[0297] 在第0天、第14天、第42天及第70天,用100 $\mu$ l测试免疫原对瑞士韦伯斯特小鼠(Swiss Webster mouse)之两个部位进行皮下注射(总计200 $\mu$ l)。通过在200 $\mu$ l磷酸盐缓冲盐水(PBS)中合并25 $\mu$ g测试免疫原及25 $\mu$ g QS21佐剂来制备测试免疫原。在第21天、第49天及第77天,通过切尾对小鼠进行放血且收集50 $\mu$ l血液,随后处理成血清。所测试之免疫原包括DAEFRHRRPDNEAYEGGC(SEQ ID NO:110)及DAEFRHRRPDNEAYEGGC(SEQ ID NO:111)。免疫原含有AB肽、 $\alpha$ -突触核蛋白肽、C端接头及C端半胱氨酸(即,-Gly-Gly-Cys-)且经由C端半胱氨酸与具有顺丁烯二酰亚胺键之CRM-197偶联。

[0298] 在第0天、第21天、第49天及第77天,向天竺鼠肌肉内注射50 $\mu$ g测试免疫原、含25 $\mu$ g QS 21之200 $\mu$ l Addavax。在免疫接种后7天进行放血。所测试之免疫原包括 DAEFRHRRPDNEAYEGGC (SEQ ID NO:110) 及 DAEFRHRRPDNEAYEGGC (SEQ ID NO:111)。免疫原含有A $\beta$ 肽、 $\alpha$ -突触核蛋白肽、C端接头及C端半胱氨酸(即,-Gly-Gly-Cys-)且经由C端半胱氨酸与具有顺丁烯二酰亚胺键之CRM-197偶联。

[0299] 在研究开始时,雌性天竺鼠为至少5周龄,其体重为约350至500g。根据美国农业部(U.S.Department of Agriculture's) (USDA) 及国际实验室动物护理评估及认证(Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care) (AAALAC) 的指南,在经认可之设施中进行适用于动物饲养及护理之动物圈养及研究程序。

[0300] 免疫原浓度为0.5mg/ml。在每次施用测试免疫原之前,对各后肢上之约3cm<sup>2</sup>区域进行刮毛且用乙醇清洗以观测注射部位。各动物接受之测试免疫原剂量为200微升(0.25毫克/微升),分为两个单独的部位,每个部位每次注射100微升(即,动物接受含50 $\mu$ g免疫原之100 $\mu$ l PBS+含25 $\mu$ g QS-21之100 $\mu$ l Addavax)。将25G-27G针肌肉内插入后肢中达到约0.25至0.5cm之深度,且以每个部位100微升进行注射。对于每次施用,注射部位在每条后肢上之四个独立部位之间轮换且相隔至少2cm。

[0301] 实例2:抗体效价之测量

[0302] 在第1周、第4周、第8周及第12周经由颈静脉每次收集250-350微升的天竺鼠全血样品且在第1周、第3周、第7周及第11周通过对小鼠进行切尾每次收集50微升全血样品至血块活化剂试管中。在最终收集周结束时经由心脏穿刺将最大体积之全血收集至血块活化剂试管中。使所有血液样品在室温下凝结超过30分钟,在环境温度(约20至25 $^{\circ}$ C)下以3,000RPM离心10至15分钟,且将血清上清液单独转移至干净的冷冻小瓶中。将血清上清液在-80 $^{\circ}$ C ( $\pm$ 12 $^{\circ}$ C) 下冷冻储存。

[0303] AB效价(小鼠)

[0304] 在PBS中将2 $\mu$ g/ml之AB1-28单体以每孔100 $\mu$ l涂布于板上,且在室温下温育隔夜。用含1% BSA之PBS阻断板1小时。对板进行抽吸且向A列中添加200 $\mu$ l含0.1% BSA之PBS Tween。在第1行中,以1/100添加阴性小鼠血清,而该列之其余部分含有1/100之测试血清。将板中之各列连续稀释1/2,得到1/100至1/12800之稀释度。在室温下温育各孔2小时,接着洗涤,且制备抗小鼠IgG HRP于含0.1% BSA之PBS Tween中之1/5000稀释物,且随后向经洗涤之孔中添加100 $\mu$ l。将其温育1小时且洗涤。使用Thermo-Fisher OPD试剂以每10毫升1个试剂来制备OPD底物。以1/10添加Thermo-fisher底物缓冲液,且向各孔中添加100 $\mu$ l且温育15分钟。添加50 $\mu$ l 2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>以停止反应,且用Molecular Devices Spectromax在490nm下读取板。效价定义为提供50%最大OD之稀释度,且若其介于各稀释度之间,则进行外推。

[0305]  $\alpha$ -突触核蛋白效价(小鼠)

[0306] 在PBS中将2 $\mu$ g/ml之重组型人类 $\alpha$ -突触核蛋白以每孔100 $\mu$ l涂布于板上,且在室温下温育隔夜。用含1% BSA之PBS阻断板1小时。对板进行抽吸且向A列中添加200 $\mu$ l含0.1% BSA之PBS Tween。在第1行中,以1/100添加阴性小鼠血清,而该列之其余部分含有1/100之测试血清。将板中之各列连续稀释1/2,得到1/100至1/12800之稀释度。在室温下温育各孔2小时,且接着洗涤,且制备抗小鼠IgG HRP于含0.1% BSA之PBS Tween中之1/5000稀释物,且随后向经洗涤之孔中添加100 $\mu$ l。将其温育1小时且洗涤。使用Thermo-Fisher OPD试剂以

每10毫升1个锭剂来制备OPD底物。以1/10添加Thermo-fisher底物缓冲液,且向各孔中添加100 $\mu$ l且温育15分钟。添加50 $\mu$ l 2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>以停止反应,且用Molecular Devices Spectromax在490nm下读取板。效价定义为提供50%最大OD之稀释度,且若其介于各稀释度之间,则进行外推。

[0307] AB效价(天竺鼠)

[0308] 在PBS中将2 $\mu$ g/ml之AB1-28单体以每孔100 $\mu$ l涂布于板上,且在室温下温育隔夜。用含1% BSA之PBS阻断板1小时。对板进行抽吸且向A列中添加200 $\mu$ l含0.1% BSA之PBS Tween。在第1行中,以1/100添加阴性天竺鼠血清,而该等列之其余部分含有1/100之测试血清。将板中之各列连续稀释1/2,得到1/100至1/12800之稀释度。在室温下温育各孔2小时,接着洗涤,且制备抗天竺鼠IgG HRP于含0.1% BSA之PBS Tween中之1/5000稀释物,且随后向经洗涤之孔中添加100 $\mu$ l。将其温育1小时且洗涤。使用Thermo-Fisher OPD锭剂以每10毫升1个锭剂来制备OPD底物。以1/10添加Thermo-fisher底物缓冲液,且向各孔中添加100 $\mu$ l且温育15分钟。添加50 $\mu$ l 2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>以停止反应,且用Molecular Devices Spectromax在490nm下读取板。效价定义为提供50%最大OD之稀释度,且若其介于各稀释度之间,则进行外推。

[0309]  $\alpha$ -突触核蛋白效价(天竺鼠)

[0310] 在PBS中将2 $\mu$ g/ml之重组型人类 $\alpha$ 突触核蛋白以每孔100 $\mu$ l涂布于板上,且在室温下温育隔夜。用含1% BSA之PBS阻断板1小时。对板进行抽吸且向A列中添加200 $\mu$ l含0.1% BSA之PBS Tween。在第1行中,以1/100添加阴性天竺鼠血清,而该等列之其余部分含有1/100之测试血清。将板中之各列连续稀释1/2,得到1/100至1/12800之稀释度。在室温下温育各孔2小时,接着洗涤,且制备抗天竺鼠IgG HRP于含0.1% BSA之PBS Tween中之1/5000稀释物,且随后向经洗涤之孔中添加100 $\mu$ l。将其温育1小时且洗涤。使用Thermo-Fisher OPD锭剂以每10毫升1个锭剂来制备OPD底物。以1/10添加Thermo-fisher底物缓冲液(向各孔中添加100 $\mu$ l)且将混合物温育15分钟。添加50 $\mu$ l 2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>以停止反应,且用Molecular Devices Spectromax在490nm下读取板。效价定义为提供50%最大OD之稀释度,且若其介于各稀释度之间,则进行外推。

[0311] 在如上文所描述之经免疫接种之天竺鼠中观测到的抗体效价显示于表1中。用含QS21之Addavax进行免疫接种。所报导之效价涉及第二次注射后之血液。此等结果呈现于图1中。

[0312] 表1. 经AB及 $\alpha$ -突触核蛋白免疫原免疫接种之天竺鼠(GP)中之抗体效价。

免疫原	GP 1 A $\beta$ 效价	GP 2 A $\beta$ 效价	GP 3 A $\beta$ 效价
DAEFRHRRPDNEAYEGGC (SEQ ID No:110)	700	300	500
DAEFRHRRDPDNEAYEGGC (SEQ ID No:111)	400	600	500
[0313] 免疫原	GP 1 $\alpha$ -突触核蛋白效价	GP 2 $\alpha$ -突触核蛋白效价	GP 3 $\alpha$ -突触核蛋白效价
DAEFRHRRPDNEAYEGGC (SEQ ID No:110)	100	300	300
DAEFRHRRDPDNEAYEGGC (SEQ ID No:111)	400	300	350

[0314] 在如上文所描述经免疫接种之小鼠中观测到的抗体效价展示于表2中。用QS21进行免疫接种。所报导之效价涉及第三次注射后之血液。此等结果呈现于图2中。

[0315] 表2. 经A $\beta$ 及 $\alpha$ -突触核蛋白免疫原免疫接种之小鼠中之抗体效价。

免疫原	小鼠 1 A $\beta$ 效价	小鼠 2 A $\beta$ 效价	小鼠 3 A $\beta$ 效价	小鼠 4 A $\beta$ 效价
DAEFRHRRPDNEAYEGGC (SEQ ID No:110)	3000	10000	-	-
DAEFRHRRDPDNEAYEGGC (SEQ ID No:111)	2000	700	10000	2400
[0316] 免疫原	小鼠 1 $\alpha$ -突触核蛋白效价	小鼠 2 $\alpha$ -突触核蛋白效价	小鼠 3 $\alpha$ -突触核蛋白效价	小鼠 4 $\alpha$ -突触核蛋白效价
DAEFRHRRPDNEAYEGGC (SEQ ID No:110)	700	1000	-	-
DAEFRHRRDPDNEAYEGGC (SEQ ID No:111)	12500	9000	6000	15000

[0317] 实例3:用来自经如本文所揭示之疫苗免疫接种之动物的血清对阿尔茨海默病脑部组织进行染色。

[0318] 在存在叠氮化钠之情况下,将组织切片置于葡萄糖氧化酶及BD-葡萄糖之溶液中以阻断内源性过氧化酶。在制备组织切片后,根据制造商之说明,使用适当的动物物种二级

抗体及DAKO DAB侦测试剂盒,以两种稀释度(1:300及1:1500)用来自经如本文中所揭示之疫苗免疫接种之动物之指定血清进行染色。使用自动Leica Bond Stainer进行染色。结果指示,来自经如本文中所揭示之疫苗免疫接种之动物的血清是否包含对阿尔茨海默病患者之人类脑部组织中之A $\beta$ 和/或 $\alpha$ -突触核蛋白具有特异性的抗体。

[0319] 结论

[0320] 研发出双重免疫原A $\beta$ - $\alpha$ -突触核蛋白疫苗构建体,且显示此等构建体提高小鼠、天竺鼠及食蟹猕猴中之A $\beta$ 及 $\alpha$ -突触核蛋白之平衡效价。该等抗体对人类AD脑切片中之A $\beta$ 斑块及神经原纤维 $\alpha$ -突触核蛋白两者均有免疫应答,且阻断可溶性A $\beta$ 聚集物(寡聚物)与神经元之结合,而不引发针对A $\beta$ 或 $\alpha$ -突触核蛋白之T细胞反应。此等结果为研发能够靶向A $\beta$ 及 $\alpha$ -突触核蛋白之病原形式的单剂式双重免疫原疫苗提供支撑。此等结果为研发能够靶向病原性A $\beta$ 及 $\alpha$ -突触核蛋白的双重A $\beta$ - $\alpha$ -突触核蛋白疫苗以预防和/或治疗AD提供支撑。

[0321] 尽管已在本文中描述本发明之各种特定实施例,但应理解,本发明不限于彼等明确实施例且在不偏离本发明之范畴及精神的情况下,本领域技术人员可实现各种改变或修改。

[0322] 本文中所描述之肽的各实施例中,肽可包含所叙述序列、由其组成或基本上由其组成。因此,并入本发明中(参见表3)之以下序列可作为包含如本文中所揭示之淀粉样蛋白- $\beta$ (A $\beta$ )肽及 $\alpha$ -突触核蛋白(多)肽之组合物的一部分。

[0323] 表3. 序列

[0324] SEQ ID NO:01-A $\beta$ 1-42

[0325] DAEFRHDSGYEVHHQKVLFFAEDVGSNKGAI IGLMVGGVVIA

[0326] SEQ ID NO:02-

[0327]  $\alpha$ -突触核蛋白同等型NACP140[智人]

[0328] NCBI参考序列:NP\_000336.1

[0329] 1 MDVFMKGLSK AKEGVVAAAE KTKQGVAAEA GKTKEGVLYV GSKTKEGVVH GVATVAEKT  
61 EQVTNVGGAV VTGVTAVAQK TVEGAGSIAA ATGFVKKDQL GKNEEGAPQE GILEDMPVDP  
121 DNEAYEMPSE EGYQDYEPEA

[0330] A $\beta$ 免疫原:

	DAEFRHDSGY	(SEQ ID NO:03)
	DAEFRHDSG	(SEQ ID NO:04)
	DAEFRHDS	(SEQ ID NO:05)
	DAEFRHD	(SEQ ID NO:06)
	DAEFRH	(SEQ ID NO:07)
	DAEFR	(SEQ ID NO:08)
	DAEF	(SEQ ID NO:09)
	DAE	(SEQ ID NO:10)
	AEFRHDSGY	(SEQ ID NO:11)
	AEFRHDSG	(SEQ ID NO:12)
	AEFRHDS	(SEQ ID NO:13)
	AEFRHD	(SEQ ID NO:14)
	AEFRH	(SEQ ID NO:15)
	AEFR	(SEQ ID NO:16)
	AEF	(SEQ ID NO:17)
	EFRHDSGY	(SEQ ID NO:18)
	EFRHDSG	(SEQ ID NO:19)
[0331]	EFRHDS	(SEQ ID NO:20)
	EFRHD	(SEQ ID NO:21)
	EFRH	(SEQ ID NO:22)
	EFR	(SEQ ID NO:23)
	FRHDSGY	(SEQ ID NO:24)
	FRHDSG	(SEQ ID NO:25)
	FRHDS	(SEQ ID NO:26)
	FRHD	(SEQ ID NO:27)
	FRH	(SEQ ID NO:28)
	RHDSGY	(SEQ ID NO:29)
	RHDSG	(SEQ ID NO:30)
	RHDS	(SEQ ID NO:31)
	RHD	(SEQ ID NO:32)
	HDSGY	(SEQ ID NO:33)
	HDSG	(SEQ ID NO:34)
	HDS	(SEQ ID NO:35)
	DSGY	(SEQ ID NO:36)
	DSG	(SEQ ID NO:37)
	SGY	(SEQ ID NO:38)

	VHHQKLVFFA	(SEQ ID NO:121)
	VHHQKLVFF	(SEQ ID NO:122)
	VHHQKLVF	(SEQ ID NO:123)
	VHHQKLV	(SEQ ID NO:124)
	VHHQKL	(SEQ ID NO:125)
	HHQKLVFFAE	(SEQ ID NO:126)
	HHQKLVFFA	(SEQ ID NO:127)
	HHQKLVFF	(SEQ ID NO:128)
	HHQKLVF	(SEQ ID NO:129)
	HHQKLV	(SEQ ID NO:130)
	HHQKL	(SEQ ID NO:131)
	HQKLVFFAED	(SEQ ID NO:132)
	HQKLVFFAE	(SEQ ID NO:133)
	HQKLVFFA	(SEQ ID NO:134)
	HQKLVFF	(SEQ ID NO:135)
	HQKLVF	(SEQ ID NO:136)
	HQKLV	(SEQ ID NO:137)
	HQKL	(SEQ ID NO:138)
	QKLVFFAEDV	(SEQ ID NO:139)
	QKLVFFAED	(SEQ ID NO:140)
	QKLVFFAE	(SEQ ID NO:141)
	QKLVFFA	(SEQ ID NO:142)
	QKLVFF	(SEQ ID NO:143)
	QKLVF	(SEQ ID NO:144)
	QKLV	(SEQ ID NO:145)
[0332]	QKL	(SEQ ID NO:146)
	KLVFFAEDVG	(SEQ ID NO:147)
	KLVFFAEDV	(SEQ ID NO:148)
	KLVFFAED	(SEQ ID NO:149)
	KLVFFAE	(SEQ ID NO:150)
	KLVFFA	(SEQ ID NO:151)
	KLVFF	(SEQ ID NO:152)
	KLVF	(SEQ ID NO:153)
	KLV	(SEQ ID NO:154)
	LVFFAEDVG	(SEQ ID NO:155)
	LVFFAEDV	(SEQ ID NO:156)
	LVFFAED	(SEQ ID NO:157)
	LVFFAE	(SEQ ID NO:158)
	LVFFA	(SEQ ID NO:159)
	LVFF	(SEQ ID NO:160)
	LVF	(SEQ ID NO:161)
	VFFAEDVG	(SEQ ID NO:162)
	VFFAEDV	(SEQ ID NO:163)
	VFFAED	(SEQ ID NO:164)
	VFFAE	(SEQ ID NO:165)
	VFFA	(SEQ ID NO:166)
	VFF	(SEQ ID NO:167)
	FFAEDVG	(SEQ ID NO:168)
	FFAEDV	(SEQ ID NO:169)
	FFAED	(SEQ ID NO:170)
	FFAE	(SEQ ID NO:171)

	FFA	(SEQ ID NO:172)
	FAEDVG	(SEQ ID NO:173)
[0333]	FAEDV	(SEQ ID NO:174)
	FAED	(SEQ ID NO:175)
	FAE	(SEQ ID NO:176)
[0334]	$\alpha$ -突触核蛋白免疫原	
	VDPDNEAYEM	(SEQ ID NO:39)
	VDPDNEAYE	(SEQ ID NO:40)
	VDPDNEAY	(SEQ ID NO:41)
	VDPDNEA	(SEQ ID NO:42)
	VDPDNE	(SEQ ID NO:43)
	VDPDN	(SEQ ID NO:44)
	VDPD	(SEQ ID NO:45)
	VDP	(SEQ ID NO:46)
	DPDNEAYEM	(SEQ ID NO:47)
	DPDNEAYE	(SEQ ID NO:48)
	DPDNEAY	(SEQ ID NO:49)
	DPDNEA	(SEQ ID NO:50)
	DPDNE	(SEQ ID NO:51)
	DPDN	(SEQ ID NO:52)
	DPD	(SEQ ID NO:53)
	PDNEAYEM	(SEQ ID NO:54)
	PDNEAYE	(SEQ ID NO:55)
	PDNEAY	(SEQ ID NO:56)
	PDNEA	(SEQ ID NO:57)
	PDNE	(SEQ ID NO:58)
	PDN	(SEQ ID NO:59)
	DNEAYEM	(SEQ ID NO:60)
	DNEAYE	(SEQ ID NO:61)
	DNEAY	(SEQ ID NO:62)
	DNEA	(SEQ ID NO:63)
	DNE	(SEQ ID NO:64)
	NEAYEM	(SEQ ID NO:65)
	NEAYE	(SEQ ID NO:66)
	NEAY	(SEQ ID NO:67)
	NEA	(SEQ ID NO:68)
	EAYEM	(SEQ ID NO:69)
	EAYE	(SEQ ID NO:70)
	EAY	(SEQ ID NO:71)
	AYEM	(SEQ ID NO:72)
	AYE	(SEQ ID NO:73)
	YEM	(SEQ ID NO:74)
	ATGFVKKDQL	(SEQ ID NO:75)
	ATGFVKKDQ	(SEQ ID NO:76)
	ATGFVKKD	(SEQ ID NO:77)
	ATGFVKK	(SEQ ID NO:78)
	ATGFVK	(SEQ ID NO:79)
	ATGFV	(SEQ ID NO:80)
	ATGF	(SEQ ID NO:81)

	ATG	(SEQ ID NO:82)
	TGFVKKDQL	(SEQ ID NO:83)
	TGFVKKDQ	(SEQ ID NO:84)
	TGFVKKD	(SEQ ID NO:85)
	TGFVKK	(SEQ ID NO:86)
	TGFVK	(SEQ ID NO:87)
	TGFV	(SEQ ID NO:88)
	TGF	(SEQ ID NO:89)
	GFVKKDQL	(SEQ ID NO:90)
	GFVKKDQ	(SEQ ID NO:91)
	GFVKKD	(SEQ ID NO:92)
	GFVKK	(SEQ ID NO:93)
	GFVK	(SEQ ID NO:94)
	GFV	(SEQ ID NO:95)
	FVKKDQL	(SEQ ID NO:96)
[0335]	FVKKDQ	(SEQ ID NO:97)
	FVKKD	(SEQ ID NO:98)
	FVKK	(SEQ ID NO:99)
	FVK	(SEQ ID NO:100)
	VKKDQL	(SEQ ID NO:101)
	VKKDQ	(SEQ ID NO:102)
	VKKD	(SEQ ID NO:103)
	VKK	(SEQ ID NO:104)
	KKDQL	(SEQ ID NO:105)
	KKDQ	(SEQ ID NO:106)
	KKD	(SEQ ID NO:107)
	KDQL	(SEQ ID NO:108)
	KDQ	(SEQ ID NO:109)

DAEFRHRRPDNEAYEGGC (SEQ ID NO:110)  
 DAEFRHRRDPDNEAYEGGC (SEQ ID NO:111)

[0336] DAEFRHRRX<sub>1</sub>PDNEAYEXXC (SEQ ID NO:112), 其中X<sub>1</sub>为任选的, 且若存在, 则X<sub>1</sub>为D, 且其中XX及C独立地为任选的, 且若存在, 则XX可为GG、AA、KK、SS、GAGA、AGAG或KGKG。

Arg-Val-Arg-Arg (RVRR; SEQ ID NO:113)  
 Gly-Ala-Gly-Ala (GAGA; SEQ ID NO:114)  
 Ala-Gly-Ala-Gly (AGAG; SEQ ID NO:115)  
 Lys-Gly-Lys-Gly (KGKG; SEQ ID NO:116)

[0337] AEFRHDSGC (SEQ ID NO:117)  
 DAEFRHDC (SEQ ID NO:118)  
 CPDNEAYE (SEQ ID NO:119)  
 DPDNEAYC (SEQ ID NO:120)

## 序列表

<110> 欧萨尔普罗席纳有限公司

<120> 治疗阿尔茨海默病之多表位疫苗

<130> 20-1084-W0 (768-W0)

<150> US 63/080,619

<151> 2020-09-18

<160> 178

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 42

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 1

Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys  
1                   5                   10                   15

Val Leu Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys Gly Ala Ile Ile  
                  20                   25                   30

Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala  
                  35                   40

<210> 2

<211> 140

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 2

Met Asp Val Phe Met Lys Gly Leu Ser Lys Ala Lys Glu Gly Val Val  
1                   5                   10                   15

Ala Ala Ala Glu Lys Thr Lys Gln Gly Val Ala Glu Ala Ala Gly Lys  
                  20                   25                   30

Thr Lys Glu Gly Val Leu Tyr Val Gly Ser Lys Thr Lys Glu Gly Val  
                  35                   40                   45

Val His Gly Val Ala Thr Val Ala Glu Lys Thr Lys Glu Gln Val Thr  
                  50                   55                   60

Asn Val Gly Gly Ala Val Val Thr Gly Val Thr Ala Val Ala Gln Lys  
65                   70                   75                   80



<220>  
<223> 合成肽  
<400> 6  
Asp Ala Glu Phe Arg His Asp  
1                    5  
<210> 7  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 7  
Asp Ala Glu Phe Arg His  
1                    5  
<210> 8  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 8  
Asp Ala Glu Phe Arg  
1                    5  
<210> 9  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 9  
Asp Ala Glu Phe  
1  
<210> 10  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 10

Asp Ala Glu

1

<210> 11

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 11

Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr

1

5

<210> 12

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 12

Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly

1

5

<210> 13

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 13

Ala Glu Phe Arg His Asp Ser

1

5

<210> 14

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 14

Ala Glu Phe Arg His Asp

1

5

<210> 15





Glu Phe Arg

1

<210> 24

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 24

Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr

1

5

<210> 25

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 25

Phe Arg His Asp Ser Gly

1

5

<210> 26

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 26

Phe Arg His Asp Ser

1

5

<210> 27

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 27

Phe Arg His Asp

1

<210> 28

<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 28  
Phe Arg His  
1  
<210> 29  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 29  
Arg His Asp Ser Gly Tyr  
1                   5  
<210> 30  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 30  
Arg His Asp Ser Gly  
1                   5  
<210> 31  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 31  
Arg His Asp Ser  
1  
<210> 32  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成肽  
<400> 32  
Arg His Asp  
1  
<210> 33  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 33  
His Asp Ser Gly Tyr  
1                    5  
<210> 34  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 34  
His Asp Ser Gly  
1  
<210> 35  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 35  
His Asp Ser  
1  
<210> 36  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 36

Asp Ser Gly Tyr

1

<210> 37

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 37

Asp Ser Gly

1

<210> 38

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 38

Ser Gly Tyr

1

<210> 39

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 39

Val Asp Pro Asp Asn Glu Ala Tyr Glu Met

1

5

10

<210> 40

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 40

Val Asp Pro Asp Asn Glu Ala Tyr Glu

1

5

<210> 41





Asp Pro Asp Asn Glu Ala Tyr

1 5

<210> 50

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 50

Asp Pro Asp Asn Glu Ala

1 5

<210> 51

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 51

Asp Pro Asp Asn Glu

1 5

<210> 52

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 52

Asp Pro Asp Asn

1

<210> 53

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 53

Asp Pro Asp

1

<210> 54



<220>  
<223> 合成肽  
<400> 58  
Pro Asp Asn Glu  
1  
<210> 59  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 59  
Pro Asp Asn  
1  
<210> 60  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 60  
Asp Asn Glu Ala Tyr Glu Met  
1                   5  
<210> 61  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 61  
Asp Asn Glu Ala Tyr Glu  
1                   5  
<210> 62  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 62

Asp Asn Glu Ala Tyr

1 5

<210> 63

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 63

Asp Asn Glu Ala

1

<210> 64

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 64

Asp Asn Glu

1

<210> 65

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 65

Asn Glu Ala Tyr Glu Met

1

5

<210> 66

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 66

Asn Glu Ala Tyr Glu

1

5

<210> 67

<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 67  
Asn Glu Ala Tyr  
1  
<210> 68  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 68  
Asn Glu Ala  
1  
<210> 69  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 69  
Glu Ala Tyr Glu Met  
1                    5  
<210> 70  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 70  
Glu Ala Tyr Glu  
1  
<210> 71  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成肽  
<400> 71  
Glu Ala Tyr  
1  
<210> 72  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 72  
Ala Tyr Glu Met  
1  
<210> 73  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 73  
Ala Tyr Glu  
1  
<210> 74  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 74  
Tyr Glu Met  
1  
<210> 75  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 75

Ala Thr Gly Phe Val Lys Lys Asp Gln Leu

1                   5                   10

<210> 76

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 76

Ala Thr Gly Phe Val Lys Lys Asp Gln

1                   5

<210> 77

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 77

Ala Thr Gly Phe Val Lys Lys Asp

1                   5

<210> 78

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 78

Ala Thr Gly Phe Val Lys Lys

1                   5

<210> 79

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 79

Ala Thr Gly Phe Val Lys

1                   5

<210> 80

<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 80  
Ala Thr Gly Phe Val  
1 5  
<210> 81  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 81  
Ala Thr Gly Phe  
1  
<210> 82  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 82  
Ala Thr Gly  
1  
<210> 83  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 83  
Thr Gly Phe Val Lys Lys Asp Gln Leu  
1 5  
<210> 84  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列



Thr Gly Phe Val

1

<210> 89

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 89

Thr Gly Phe

1

<210> 90

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 90

Gly Phe Val Lys Lys Asp Gln Leu

1

5

<210> 91

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 91

Gly Phe Val Lys Lys Asp Gln

1

5

<210> 92

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 92

Gly Phe Val Lys Lys Asp

1

5

<210> 93





Val Lys Lys Asp Gln Leu

1 5

<210> 102

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 102

Val Lys Lys Asp Gln

1 5

<210> 103

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 103

Val Lys Lys Asp

1

<210> 104

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 104

Val Lys Lys

1

<210> 105

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 105

Lys Lys Asp Gln Leu

1 5

<210> 106

<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 106  
Lys Lys Asp Gln  
1  
<210> 107  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 107  
Lys Lys Asp  
1  
<210> 108  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 108  
Lys Asp Gln Leu  
1  
<210> 109  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 109  
Lys Asp Gln  
1  
<210> 110  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 110

Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Arg Arg Pro Asp Asn Glu Ala Tyr Glu  
1                    5                    10                    15

Gly Gly Cys

<210> 111

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 111

Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Arg Arg Asp Pro Asp Asn Glu Ala Tyr  
1                    5                    10                    15

Glu Gly Gly Cys

20

<210> 112

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (10) .. (10)

<223> 任选地,若存在则为D

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (18) .. (19)

<223> 任选地,若存在则可以为G, A, K或S

<400> 112

Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Arg Arg Xaa Pro Asp Asn Glu Ala Tyr  
1                    5                    10                    15

Glu Xaa Xaa Cys

20

<210> 113

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 113  
Arg Val Arg Arg  
1  
<210> 114  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 114  
Gly Ala Gly Ala  
1  
<210> 115  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 115  
Ala Gly Ala Gly  
1  
<210> 116  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 116  
Lys Gly Lys Gly  
1  
<210> 117  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽

<400> 117

Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Cys

1 5

<210> 118

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 118

Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Cys

1 5

<210> 119

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 119

Cys Pro Asp Asn Glu Ala Tyr Glu

1 5

<210> 120

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 120

Asp Pro Asp Asn Glu Ala Tyr Cys

1 5

<210> 121

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 121

Val His His Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala

1 5 10

<210> 122  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 122  
Val His His Gln Lys Leu Val Phe Phe  
1                   5  
<210> 123  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 123  
Val His His Gln Lys Leu Val Phe  
1                   5  
<210> 124  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 124  
Val His His Gln Lys Leu Val  
1                   5  
<210> 125  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 125  
Val His His Gln Lys Leu  
1                   5  
<210> 126  
<211> 10  
<212> PRT

<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 126  
His His Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala Glu  
1                   5                   10  
<210> 127  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 127  
His His Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala  
1                   5  
<210> 128  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 128  
His His Gln Lys Leu Val Phe Phe  
1                   5  
<210> 129  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 129  
His His Gln Lys Leu Val Phe  
1                   5  
<210> 130  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽

<400> 130  
His His Gln Lys Leu Val  
1 5

<210> 131  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽

<400> 131  
His His Gln Lys Leu  
1 5

<210> 132  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽

<400> 132  
His Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp  
1 5 10

<210> 133  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽

<400> 133  
His Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala Glu  
1 5

<210> 134  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽

<400> 134  
His Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala  
1 5

<210> 135  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 135  
His Gln Lys Leu Val Phe Phe  
1                   5  
<210> 136  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 136  
His Gln Lys Leu Val Phe  
1                   5  
<210> 137  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 137  
His Gln Lys Leu Val  
1                   5  
<210> 138  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 138  
His Gln Lys Leu  
1  
<210> 139  
<211> 10  
<212> PRT

<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 139  
Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp Val  
1                   5                   10  
<210> 140  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 140  
Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp  
1                   5  
<210> 141  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 141  
Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala Glu  
1                   5  
<210> 142  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 142  
Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala  
1                   5  
<210> 143  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽

<400> 143  
 Gln Lys Leu Val Phe Phe  
 1                    5  
 <210> 144  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成肽  
 <400> 144  
 Gln Lys Leu Val Phe  
 1                    5  
 <210> 145  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成肽  
 <400> 145  
 Gln Lys Leu Val  
 1  
 <210> 146  
 <211> 3  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成肽  
 <400> 146  
 Gln Lys Leu  
 1  
 <210> 147  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成肽  
 <400> 147  
 Lys Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly  
 1                    5                    10

<210> 148  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 148  
Lys Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp Val  
1                   5  
<210> 149  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 149  
Lys Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp  
1                   5  
<210> 150  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 150  
Lys Leu Val Phe Phe Ala Glu  
1                   5  
<210> 151  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成肽  
<400> 151  
Lys Leu Val Phe Phe Ala  
1                   5  
<210> 152  
<211> 5  
<212> PRT



<400> 156

Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp Val

1                    5

<210> 157

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 157

Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp

1                    5

<210> 158

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 158

Leu Val Phe Phe Ala Glu

1                    5

<210> 159

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 159

Leu Val Phe Phe Ala

1                    5

<210> 160

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 160

Leu Val Phe Phe

1

<210> 161

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 161

Leu Val Phe

1

<210> 162

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 162

Val Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly

1

5

<210> 163

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 163

Val Phe Phe Ala Glu Asp Val

1

5

<210> 164

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 164

Val Phe Phe Ala Glu Asp

1

5

<210> 165

<211> 5

<212> PRT







<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 178

Gly Gly Gly Gly Ser

1

5

在3次注射之后小鼠对Aβ 1-28和全长的两种Aβ /突触核蛋白构建体的效价

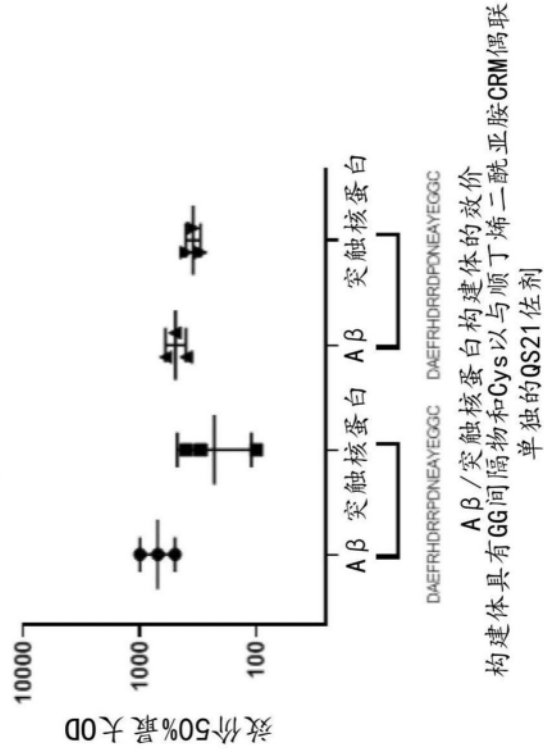
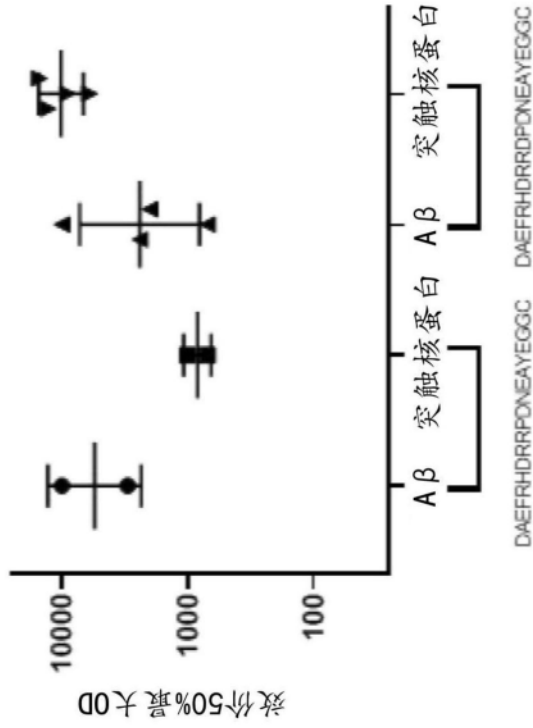


图1

在4次注射之后对Aβ 1-28和全长的两种Aβ /突触核蛋白构建体的效价



Aβ /突触核蛋白构建体的效价  
 构建体具有GG间隔物和Cys与顺丁烯二酰亚胺CRM偶联  
 单独的QS21佐剂

图2

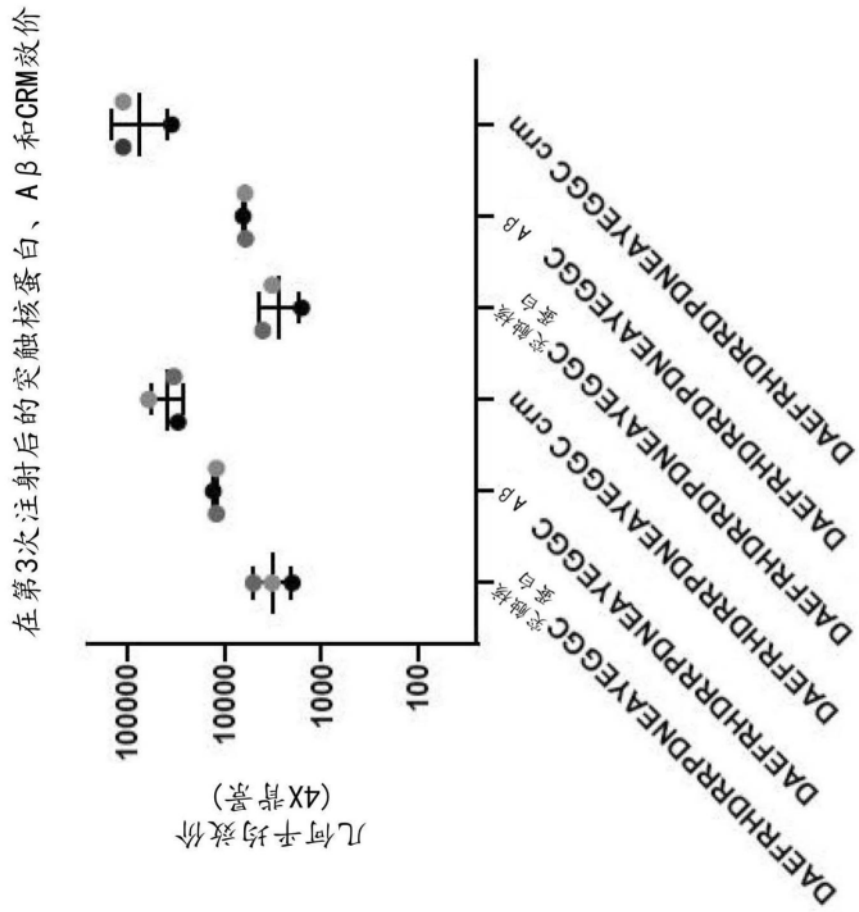


图3