

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202392026** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2023.11.01

(51) Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
C07K 16/18 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.02.11

(54) **СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ АНТИТЕЛ, РАСПОЗНАЮЩИХ ТАУ**

(31) **63/149,359**

(72) Изобретатель:

(32) **2021.02.14**

Долан Филип Джеймс III (US)

(33) **US**

(74) Представитель:

(86) **PCT/US2022/016105**

Харин А.В., Стойко Г.В., Буре Н.Н.,

(87) **WO 2022/174026 2022.08.18**

Галухина Д.В., Алексеев В.В. (RU)

(71) Заявитель:

**ПРОТЕНА БИОСАЙЕНСИС
ЛИМИТЕД (IE)**

(57) В данном изобретении представлены способы лечения таупатий, таких как болезнь Альцгеймера, антителами, которые связываются с тау человека. Данные антитела ингибируют или задерживают начало проявления патологий, связанных с тау, и связанного с ними симптоматического ухудшения.

202392026
A1

202392026

A1

СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ АНТИТЕЛ, РАСПОЗНАЮЩИХ ТАУ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Данная заявка испрашивает приоритет относительно предварительной заявки на патент США № 63/149359, поданной 14 февраля 2021 года, которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте и для всех целей. Данная заявка родственна заявке на патент США № 16/808209, поданной 3 марта 2020 года, которая испрашивает приоритет относительно предварительной заявки на патент США № 62/813126, поданной 3 марта 2019 года, предварительной заявки на патент США № 62/813137, поданной 3 марта 2019 года, и предварительной заявки на патент США № 62/838159, поданной 24 апреля 2019 года, каждая из которых включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте и для всех целей.

ССЫЛКА НА ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0002] Данная заявка включает в себя перечень последовательностей в электронном виде в файле, имеющем название «574677SEQLST.TXT», созданном 11 февраля 2022 года, размером 168698 байт, который настоящим включен в данный документ посредством ссылки во всей полноте для всех целей.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0003] Тау представляет собой хорошо известный белок человека, который может существовать в фосфорилированных формах (см., например, работы Goedert, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85:4051-4055(1988); Goedert, EMBO J. 8:393-399(1989); Lee, Neuron 2:1615-1624(1989); Goedert, Neuron 3:519-526(1989); Andreadis, Biochemistry 31:10626-10633(1992). Сообщалось, что тау играет роль в стабилизации микротрубочек, особенно в центральной нервной системе. Общий тау (t-тау, т. е. фосфорилированные и нефосфорилированные формы) и фосфо-тау (p-тау, т. е. фосфорилированный тау) высвобождаются головным мозгом в ответ на повреждение нейронов и нейродегенерацию, и, как сообщается, его высокие уровни встречаются в спинномозговой жидкости пациентов с болезнью Альцгеймера по сравнению с общей популяцией (Jack et al., Lancet Neurol 9: 119–28 (2010)).

[0004] Тау – это основная составляющая нейрофибриллярных клубков, которые вместе с бляшками являются отличительным признаком болезни Альцгеймера. Клубки представляют собой аномальные фибриллы диаметром 10 нм, встречающиеся парами, намотанными по спирали с регулярной периодичностью в 80 нм. Тау внутри нейрофибриллярных клубков аномально фосфорилирован (гиперфосфорилирован) фосфатными группами, прикрепленными к определенным участкам молекулы. Тяжелое

вовлечение нейрофибриллярных клубков наблюдается в нейронах слоя II энторинальной коры, CA1 и субикулярных областей гиппокампа, миндалина и более глубоких слоев (слои III, V и поверхностный VI) неокортекса при болезни Альцгеймера. Сообщалось также, что гиперфосфорилированный тау мешает сборке микротрубочек, что может способствовать разрушению нейрональной сети.

[0005] Включения тау являются частью определяющей нейропатологии нескольких нейродегенеративных заболеваний, включительно с болезнью Альцгеймера, лобно-височной лобарной дегенерацией, прогрессирующим надъядерным параличом и болезнью Пика.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0006] В одном аспекте данного изобретения представлен способ снижения интернализации тау клетками у субъекта, включающий в себя введение субъекту, нуждающемуся в этом, количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое снижает интернализацию тау клетками, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий CDR-H1, содержащую SEQ ID NO:8, CDR-H2, содержащую SEQ ID NO:9, и CDR-H3, содержащую LDF, и переменный домен легкой цепи, содержащий CDR-L1, содержащую SEQ ID NO:12, CDR-L2, содержащую SEQ ID NO:13 или SEQ ID NO:168, и CDR-L3, содержащую SEQ ID NO:14.

[0007] В другом аспекте данного изобретения представлен способ снижения тау-индуцированной токсичности у субъекта, включающий в себя введение субъекту, нуждающемуся в этом, количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое снижает тау-индуцированную токсичность, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий CDR-H1, содержащую SEQ ID NO:8, CDR-H2, содержащую SEQ ID NO:9, и CDR-H3, содержащую LDF, и переменный домен легкой цепи, содержащий CDR-L1, содержащую SEQ ID NO:12, CDR-L2, содержащую SEQ ID NO:13 или SEQ ID NO:168, и CDR-L3, содержащую SEQ ID NO:14.

[0008] В другом аспекте данного изобретения представлен способ снижения или задержки начала проявления поведенческого дефицита у субъекта, включающий в себя введение субъекту, нуждающемуся в этом, количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое снижает или задерживает начало проявления поведенческого дефицита, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий CDR-H1, содержащую SEQ ID NO:8, CDR-H2, содержащую SEQ ID NO:9, и CDR-H3, содержащую LDF, и переменный

домен легкой цепи, содержащий CDR-L1, содержащую SEQ ID NO:12, CDR-L2, содержащую SEQ ID NO:13 или SEQ ID NO:168, и CDR-L3, содержащую SEQ ID NO:14.

[0009] В другом аспекте данного изобретения представлен способ снижения уровней маркеров тау-патологии у субъекта, включающий в себя введение субъекту, нуждающемуся в этом, количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое снижает маркеры тау-патологии, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий CDR-H1, содержащую SEQ ID NO:8, CDR-H2, содержащую SEQ ID NO:9, и CDR-H3, содержащую LDF, и переменный домен легкой цепи, содержащий CDR-L1, содержащую SEQ ID NO:12, CDR-L2, содержащую SEQ ID NO:13 или SEQ ID NO:168, и CDR-L3, содержащую SEQ ID NO:14.

[0010] В другом аспекте данного изобретения представлен способ снижения развития тау-патологии у субъекта, включающий в себя введение субъекту, нуждающемуся в этом, количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое снижает развитие тау-патологии, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий CDR-H1, содержащую SEQ ID NO:8, CDR-H2, содержащую SEQ ID NO:9, и CDR-H3, содержащую LDF, и переменный домен легкой цепи, содержащий CDR-L1, содержащую SEQ ID NO:12, CDR-L2, содержащую SEQ ID NO:13 или SEQ ID NO:168, и CDR-L3, содержащую SEQ ID NO:14.

[0011] В некоторых способах субъект имеет патологические признаки болезни Альцгеймера. В некоторых способах субъект имеет болезнь Альцгеймера.

[0012] В некоторых способах CDR-L2 антитела или антигенсвязывающего фрагмента содержит SEQ ID NO:13. В некоторых способах CDR-L2 антитела антигенсвязывающего фрагмента содержит SEQ ID NO:168.

[0013] В некоторых способах переменная область тяжелой цепи антитела или антигенсвязывающего фрагмента содержат зрелую переменную область тяжелой цепи согласно SEQ ID NO:18 и переменная область легкой цепи антитела или антигенсвязывающего фрагмента содержат зрелую переменную область легкой цепи согласно SEQ ID NO:122. В некоторых способах антитело или антигенсвязывающий фрагмент представляют собой гуманизованную версию антитела мыши, характеризующуюся зрелой переменной областью тяжелой цепи согласно SEQ ID NO: 7 и переменной областью легкой цепи согласно SEQ ID NO:11.

[0014] В некоторых способах антитело содержит легкую цепь, содержащую зрелую переменную область легкой цепи, слитую с константной областью легкой цепи, и

тяжелую цепь, содержащую зрелую переменную область тяжелой цепи, слитую с константной областью тяжелой цепи.

[0015] В некоторых способах константная область тяжелой цепи антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:176 с С-концевым лизином или без него. В некоторых способах зрелая переменная область тяжелой цепи, слитая с константной областью тяжелой цепи, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:178 с С-концевым лизином или без него.

[0016] В некоторых способах антитело дополнительно содержит сигнальный пептид, слитый со зрелой переменной областью тяжелой и/или легкой цепей. В некоторых способах тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:180 с С-концевым лизином или без него.

[0017] В некоторых способах константная область легкой цепи антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:177. В некоторых способах зрелая переменная область легкой цепи, слитая с константной областью легкой цепи, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:179. В некоторых способах легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:181.

[0005] В некоторых способах тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:178 с С-концевым лизином или без него и легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:179. В некоторых способах тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:180 с С-концевым лизином или без него и легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:181.

[0018] В некоторых способах антитело содержит по меньшей мере одну мутацию в константной области. В некоторых способах антитело содержит по меньшей мере одну мутацию в константной области, при этом мутация снижает фиксацию или активацию компонента константной областью или снижает связывание с рецептором Fcγ по сравнению с природной константной областью тяжелой цепи человека. В некоторых способах антитело содержит мутацию в одном или большем числе из положений 241, 264, 265, 270, 296, 297, 318, 320, 322, 329 и 331 согласно нумерации EU, или аланин в положениях 318, 320 и 322.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0019] На фиг. 1 представлены результаты анализа интернализации тау для антител 3D6 и hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4 мыши.

[0020] На фиг. 2А и 2В показано, что антитело 3D6 мыши нарушает засеивание тау в

in vivo-модели болезни Альцгеймера.

[0021] На фиг. 3 показано, что воздействие антителом 3D6 мыши снижает патологический тау и смягчает поведенческий дефицит в трансгенной модели тау.

[0022] На фиг. 4 показано, что антитело 3D6 мыши защищает первичные кортикальные нейроны от тау-индуцированной токсичности.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0023] В SEQ ID NO:1 представлена аминокислотная последовательность изоформы тау человека (Swiss-Prot P10636-8).

[0024] В SEQ ID NO:2 представлена аминокислотная последовательность изоформы тау человека (Swiss-Prot P10636-7).

[0025] В SEQ ID NO:3 представлена аминокислотная последовательность изоформы тау человека (Swiss-Prot P10636-6) (тау 4R0N человека).

[0026] В SEQ ID NO:4 представлена аминокислотная последовательность изоформы тау человека (Swiss-Prot P10636-5).

[0027] В SEQ ID NO:5 представлена аминокислотная последовательность изоформы тау человека (Swiss-Prot P10636-4).

[0028] В SEQ ID NO:6 представлена аминокислотная последовательность изоформы тау человека (Swiss-Prot P10636-2).

[0029] В SEQ ID NO:7 представлена аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи антитела 3D6 мыши.

[0030] В SEQ ID NO:8 представлена аминокислотная последовательность CDR-H1 по композиту Кабат – Чотиа для антитела 3D6 мыши.

[0031] В SEQ ID NO:9 представлена аминокислотная последовательность CDR-H2 по Кабату для антитела 3D6 мыши.

[0032] В SEQ ID NO:10 представлена аминокислотная последовательность CDR-H3 по Кабату для антитела 3D6 мыши.

[0033] В SEQ ID NO:11 представлена аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи антитела 3D6 мыши и антитела 6A10 мыши.

[0034] В SEQ ID NO:12 представлена аминокислотная последовательность CDR-L1 по Кабату для антитела 3D6 мыши и антитела 6A10 мыши.

[0035] В SEQ ID NO:13 представлена аминокислотная последовательность CDR-L2 по Кабату для антитела 3D6 мыши и антитела 6A10 мыши.

[0036] В SEQ ID NO:14 представлена аминокислотная последовательность CDR-L3 по Кабату для антитела 3D6 мыши и антитела 6A10 мыши.

[0037] В SEQ ID NO:15 представлена аминокислотная последовательность

вариабельной области тяжелой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VHv1.

[0038] В SEQ ID NO:16 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VHv2.

[0039] В SEQ ID NO:17 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VHv1b.

[0040] В SEQ ID NO:18 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VHv1bA11.

[0041] В SEQ ID NO:19 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VHv5.

[0042] В SEQ ID NO:20 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VLv1.

[0043] В SEQ ID NO:21 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VLv2.

[0044] В SEQ ID NO:22 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VLv3.

[0045] В SEQ ID NO:23 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VLv4.

[0046] В SEQ ID NO:24 представлена аминокислотная последовательность акцептора вариабельной тяжелой цепи Асс.# ВАС01986.1.

[0047] В SEQ ID NO:25 представлена аминокислотная последовательность акцептора вариабельной тяжелой цепи Асс.# IMGТ# IGHV1-69-2*01.

[0048] В SEQ ID NO:26 представлена аминокислотная последовательность акцептора вариабельной тяжелой цепи Асс.# IMGТ# IGKJ1*01.

[0049] В SEQ ID NO:27 представлена аминокислотная последовательность акцептора вариабельной легкой цепи Асс. # IMGТ# IGKV2-30*02

[0050] В SEQ ID NO:28 представлена аминокислотная последовательность акцептора вариабельной легкой цепи Асс. # IMGТ# IGKJ2*01.

[0051] В SEQ ID NO:29 представлена аминокислотная последовательность акцептора вариабельной легкой цепи Асс. # ААЗ09048.1.

[0052] В SEQ ID NO:30 представлена последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельную область тяжелой цепи антитела 3D6 мыши.

[0053] В SEQ ID NO:31 представлена последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельную область легкой цепи антитела 3D6 мыши.

[0054] В SEQ ID NO:32 представлена аминокислотная последовательность CDR-H1 по Кабату для антитела 3D6 мыши.

[0055] В SEQ ID NO:33 представлена аминокислотная последовательность CDR-H1 по Чотиа для антитела 3D6 мыши.

[0056] В SEQ ID NO:34 представлена аминокислотная последовательность CDR-H2 по Чотиа для антитела 3D6 мыши.

[0057] В SEQ ID NO:35 представлена аминокислотная последовательность CDR-H2 по AbM для антитела 3D6 мыши.

[0058] В SEQ ID NO:36 представлена аминокислотная последовательность CDR-L1 по контакту для антитела 3D6 мыши.

[0059] В SEQ ID NO:37 представлена аминокислотная последовательность CDR-L2 по контакту для антитела 3D6 мыши.

[0060] В SEQ ID NO:38 представлена аминокислотная последовательность CDR-L3 по контакту для антитела 3D6 мыши.

[0061] В SEQ ID NO:39 представлена аминокислотная последовательность CDR-H1 по контакту для антитела 3D6 мыши.

[0062] В SEQ ID NO:40 представлена аминокислотная последовательность CDR-H2 по контакту для антитела 3D6 мыши.

[0063] В SEQ ID NO:41 представлена аминокислотная последовательность CDR-H3 по контакту для антитела 3D6 мыши.

[0064] В SEQ ID NO:42 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-H1 по композиту Кабат – Чотиа для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VHv5, hu3D6VHv1bA11B6G2, hu3D6VHv1bA11B6H3, hu3D6VHv1e и hu3D6VHv1f).

[0065] В SEQ ID NO:43 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-H2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VHv5 и hu3D6VHv1bA11B6H3).

[0066] В SEQ ID NO:44 представлена консенсусная аминокислотная последовательность среди переменных областей тяжелой цепи антител 3D6 мыши и выбранных гуманизованных антител 3D6 (VHv1, VHv2, VHv1b, VHv1bA11 и VHv5) (обозначенных как «Большинство» на фиг. 2 в PCT/IB2017/052544).

[0067] В SEQ ID NO:45 представлена консенсусная аминокислотная последовательность среди переменных областей легкой цепи антител 3D6 мыши и выбранных гуманизованных антител 3D6 (обозначенных как «Большинство» на фиг. 3 в PCT/IB2017/052544).

[0068] В SEQ ID NO:46 представлена аминокислотная последовательность переменной области тяжелой цепи гуманизованного антитела 3D6

hu3D6VHv1bA11B6G2.

[0069] В SEQ ID NO:47 представлена аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VHv1bA11B6H3.

[0070] В SEQ ID NO:48 представлена аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VHv1c.

[0071] В SEQ ID NO:49 представлена аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VHv1d.

[0072] В SEQ ID NO:50 представлена аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VHv1e.

[0073] В SEQ ID NO:51 представлена аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VHv1f.

[0074] В SEQ ID NO:52 представлена аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VHv3.

[0075] В SEQ ID NO:53 представлена аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VHv3b.

[0076] В SEQ ID NO:54 представлена аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VHv3c.

[0077] В SEQ ID NO:55 представлена аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VHv4.

[0078] В SEQ ID NO:56 представлена аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VHv4b.

[0079] В SEQ ID NO:57 представлена аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VHv4c.

[0080] В SEQ ID NO:58 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-H1 по композиту Кабат – Чотиа для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VH1c).

[0081] В SEQ ID NO:59 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-H1 по композиту Кабат – Чотиа для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VHv1d, hu3D6VHv3c и hu3D6VHv4c).

[0082] В SEQ ID NO:60 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-H1 по композиту Кабат – Чотиа для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VHv3b и hu3D6VHv4b).

[0083] В SEQ ID NO:61 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-H2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в

hu3D6VHv1bA11B6G2).

[0084] В SEQ ID NO:62 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-H2 по Кабату для гуманизированного антитела 3D6 (как в hu3D6VHv1c, hu3D6VHv3b и hu3D6VHv4b).

[0085] В SEQ ID NO:63 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-H2 по Кабату для гуманизированного антитела 3D6 (как в hu3D6VHv1d, hu3D6VHv1f, hu3D6VHv3c и hu3D6VHv4c).

[0086] В SEQ ID NO:64 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-H2 по Кабату для гуманизированного антитела 3D6 (как в hu3D6VHv1e).

[0087] В SEQ ID NO:65 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-H3 по Кабату для гуманизированного антитела 3D6 (как в hu3D6VHv1f).

[0088] В SEQ ID NO:66 представлена аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи антитела 6A10 мыши.

[0089] В SEQ ID NO:67 представлена аминокислотная последовательность CDR-H1 по композиту Кабат – Чотиа для антитела 6A10 мыши.

[0090] В SEQ ID NO:68 представлена аминокислотная последовательность CDR-H2 по Кабату для антитела 6A10 мыши.

[0091] В SEQ ID NO:69 представлена аминокислотная последовательность CDR-H3 по Кабату для антитела 6A10 мыши.

[0092] В SEQ ID NO:70 представлена аминокислотная последовательность области VH антитела мыши (код pdb: 1CR9), которая использовалась как структурная матрица для гуманизации тяжелой цепи.

[0093] В SEQ ID NO:71 представлена консенсусная аминокислотная последовательность среди варибельных областей тяжелой цепи выбранных гуманизированных антител 3D6 (VHv1, VHv1b, VHv1bA11, VHv1bA11B6G2, VHv1bA11B6H3, VHv1c, VHv1d, VHv1e, VHv1f, VHv2, VHv3, VHv3b, VHv3c, VHv4, VHv4b, VHv4c и VHv5) (обозначенных как «Большинство» на фиг. 4А и 4В в PCT/IB2017/052544).

[0094] В SEQ ID NO:72 представлена аминокислотная последовательность тяжелой цепи химерного антитела 3D6.

[0095] В SEQ ID NO:73 представлена аминокислотная последовательность легкой цепи химерного антитела 3D6.

[0096] В SEQ ID NO:74 представлена аминокислотная последовательность

структурной модели варибельной тяжелой цепи Acc.# 5MYX-VH_mSt.

[0097] В SEQ ID NO:75 представлена аминокислотная последовательность акцептора варибельной тяжелой цепи Acc.# 2RCS-VH_huFrwk.

[0098] В SEQ ID NO:76 представлена аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VHvb1.

[0099] В SEQ ID NO:77 представлена аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VHvb2.

[0100] В SEQ ID NO:78 представлена аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VHvb3.

[0101] В SEQ ID NO:79 представлена аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VHvb4.

[0102] В SEQ ID NO:80 представлена аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VHvb5.

[0103] В SEQ ID NO:81 представлена аминокислотная последовательность структурной модели варибельной легкой цепи Acc.# 5MYX-VL_mSt.

[0104] В SEQ ID NO:82 представлена аминокислотная последовательность акцептора варибельной легкой цепи Acc.# ARX71335-VL_huFrwk.

[0105] В SEQ ID NO:83 представлена аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VLvb1.

[0106] В SEQ ID NO:84 представлена аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VLvb2.

[0107] В SEQ ID NO:85 представлена аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VLvb3.

[0108] В SEQ ID NO:86 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-H1 по композиту Кабат – Чотиа для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VHvb4 и hu3D6VHvb5).

[0109] В SEQ ID NO:87 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-H2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VHvb3 и hu3D6VHvb4).

[0110] В SEQ ID NO:88 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-H2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VHvb5).

[0111] В SEQ ID NO:89 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L1 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLvb3).

[0112] В SEQ ID NO:90 представлена аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VHvb6.

[0113] В SEQ ID NO:91 представлена аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VHvb7.

[0114] В SEQ ID NO:92 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-H2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VHvb6 и hu3D6VHvb7).

[0115] В SEQ ID NO:93 представлена аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L54D.

[0116] В SEQ ID NO:94 представлена аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L54G.

[0117] В SEQ ID NO:95 представлена аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L45N.

[0118] В SEQ ID NO:96 представлена аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L54E.

[0119] В SEQ ID NO:97 представлена аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L50E.

[0120] В SEQ ID NO:98 представлена аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L54Q.

[0121] В SEQ ID NO:99 представлена аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L50D.

[0122] В SEQ ID NO:100 представлена аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L54K.

[0123] В SEQ ID NO:101 представлена аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L54R.

[0124] В SEQ ID NO:102 представлена аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L54T.

[0125] В SEQ ID NO:103 представлена аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L50G.

[0126] В SEQ ID NO:104 представлена аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 I48G.

[0127] В SEQ ID NO:105 представлена аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 I48D.

[0128] В SEQ ID NO:106 представлена аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L47G.

[0129] В SEQ ID NO:107 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 Y49E.

[0130] В SEQ ID NO:108 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L54V.

[0131] В SEQ ID NO:109 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L54S.

[0132] В SEQ ID NO:110 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 S52G.

[0133] В SEQ ID NO:111 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L47N.

[0134] В SEQ ID NO:112 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L47D.

[0135] В SEQ ID NO:113 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L47E.

[0136] В SEQ ID NO:114 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L47P.

[0137] В SEQ ID NO:115 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L47T.

[0138] В SEQ ID NO:116 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L47S.

[0139] В SEQ ID NO:117 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L47A.

[0140] В SEQ ID NO:118 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L50V.

[0141] В SEQ ID NO:119 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R.

[0142] В SEQ ID NO:120 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G.

[0143] В SEQ ID NO:121 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G.

[0144] В SEQ ID NO:122 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R.

[0145] В SEQ ID NO:123 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T.

[0146] В SEQ ID NO:124 представлена аминокислотная последовательность

вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D.

[0147] В SEQ ID NO:125 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_L54R.

[0148] В SEQ ID NO:126 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_L54G.

[0149] В SEQ ID NO:127 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_L54D.

[0150] В SEQ ID NO:128 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_L50G.

[0151] В SEQ ID NO:129 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_L50D.

[0152] В SEQ ID NO:130 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_L54T.

[0153] В SEQ ID NO:131 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_S52G.

[0154] В SEQ ID NO:132 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G.

[0155] В SEQ ID NO:133 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R.

[0156] В SEQ ID NO:134 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54G.

[0157] В SEQ ID NO:135 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R.

[0158] В SEQ ID NO:136 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q.

[0159] В SEQ ID NO:137 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q.

[0160] В SEQ ID NO:138 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q.

[0161] В SEQ ID NO:139 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q.

[0162] В SEQ ID NO:140 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта Hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q.

[0163] В SEQ ID NO:141 представлена аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи варианта Hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q.

[0164] В SEQ ID NO:142 представлена аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи варианта Hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q.

[0165] В SEQ ID NO:143 представлена аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи варианта Hu3D6VLv2 L37Q.

[0166] В SEQ ID NO:144 представлена аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи варианта Hu3D6VLv2 G100Q.

[0167] В SEQ ID NO:145 представлена аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи варианта Hu3D6VLv2 L37Q_L54E.

[0168] В SEQ ID NO:146 представлена аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи варианта hu3D6VHv1bA11 D60E, также известного как h3D6VHvb8.

[0169] В SEQ ID NO:147 представлена аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи варианта hu3D6VHv1bA11 L82cV.

[0170] В SEQ ID NO:148 представлена аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи варианта hu3D6VHv1bA11 D60E_L80M_Q81E_L82cV_T83R, также известного как h3D6VHvb9.

[0171] В SEQ ID NO:149 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-H2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в h3D6VHvb8 и h3D6VHvb9).

[0172] В SEQ ID NO:150 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L54D и hu3D6VLv2 L37Q_L54D).

[0173] В SEQ ID NO:151 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L54G и hu3D6VLv2 L37Q_L54G).

[0174] В SEQ ID NO:152 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L54N).

[0175] В SEQ ID NO:153 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L54E и hu3D6VLv2 L37Q_L54E).

[0176] В SEQ ID NO:154 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L50E).

[0177] В SEQ ID NO:155 представлена аминокислотная последовательность

альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L54Q).

[0178] В SEQ ID NO:156 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L50D и hu3D6VLv2 L37Q_L50D).

[0179] В SEQ ID NO:157 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L54K).

[0180] В SEQ ID NO:158 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L54R и hu3D6VLv2 L37Q_L54R).

[0181] В SEQ ID NO:159 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L54T и hu3D6VLv2 L37Q_L54T).

[0182] В SEQ ID NO:160 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L50G и hu3D6VLv2 L37Q_L50G).

[0183] В SEQ ID NO:161 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L54V).

[0184] В SEQ ID NO:162 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L54S).

[0185] В SEQ ID NO:163 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 S52G и hu3D6VLv2 L37Q_S52G).

[0186] В SEQ ID NO:164 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L50V).

[0187] В SEQ ID NO:165 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R и hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q).

[0188] В SEQ ID NO:166 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G и hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q).

[0189] В SEQ ID NO:167 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G).

[0190] В SEQ ID NO:168 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R и hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q).

[0191] В SEQ ID NO:169 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T).

[0192] В SEQ ID NO:170 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D и hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q).

[0193] В SEQ ID NO:171 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в in hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G и hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q).

[0194] В SEQ ID NO:172 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R и hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q).

[0195] В SEQ ID NO:173 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54G).

[0196] В SEQ ID NO:174 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R).

[0197] В SEQ ID NO:175 представлена аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q).

[0198] В SEQ ID NO:176 представлена аминокислотная последовательность константной области тяжелой цепи (IgG1: аллотип G1m17,1).

[0199] В SEQ ID NO:177 представлена аминокислотная последовательность константной области легкой цепи (каппа).

[0200] В SEQ ID NO:178 представлена аминокислотная последовательность зрелой тяжелой цепи гуманизованного варианта 3D6 (hu3D6VHv1bA11, аллотип IgG1 G1m17).

[0201] В SEQ ID NO:179 представлена аминокислотная последовательность зрелой легкой цепи гуманизованного варианта 3D6 (вариант hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R,

L2-DIM4 каппа).

[0202] В SEQ ID NO:180 представлена аминокислотная последовательность тяжелой цепи гуманизированного варианта 3D6 (hu3D6VHv1bA11, аллотип IgG1 G1m17) с сигнальным пептидом – бычьим альфа-лактальбумином на N-конце.

[0203] В SEQ ID NO:181 представлена аминокислотная последовательность легкой цепи гуманизированного варианта 3D6 (варианта hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R, L2-DIM4 каппа) с сигнальным пептидом – бычьим альфа-лактальбумином на N-конце.

[0204] В SEQ ID NO:182 представлена нуклеотидная последовательность, кодирующая тяжелую цепь гуманизированного варианта 3D6 (hu3D6VHv1bA11, аллотип IgG1 G1m17) с сигнальным пептидом – бычьим альфа-лактальбумином на N-конце.

[0205] В SEQ ID NO:183 представлена нуклеотидная последовательность, кодирующая легкую цепь гуманизированного варианта 3D6 (варианта hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R, L2-DIM4 каппа) с сигнальным пептидом – бычьим альфа-лактальбумином на N-конце.

[0206] В SEQ ID NO:184 представлена аминокислотная последовательность области тау – повтора связывания микротрубочек 1 (аминокислотные остатки 255-271 в SEQ ID NO:1).

[0207] В SEQ ID NO:185 представлена аминокислотная последовательность области тау – повтора связывания микротрубочек 2 (аминокислотные остатки 286-302 в SEQ ID NO:1).

[0208] В SEQ ID NO:186 представлена аминокислотная последовательность области тау – повтора связывания микротрубочек 3 (аминокислотные остатки 317-333 в SEQ ID NO:1).

[0209] В SEQ ID NO:187 представлена аминокислотная последовательность области тау – повтора связывания микротрубочек 4 (аминокислотные остатки 349-365 в SEQ ID NO:1).

[0210] В SEQ ID NO:188 представлена аминокислотная последовательность корового мотива тау в MBTR 1, связанного 3D6.

[0211] В SEQ ID NO:189 представлена аминокислотная последовательность N-концевой последовательности тау до корового мотива тау в MBTR 1, связанного 3D6.

[0212] В SEQ ID NO:190 представлена аминокислотная последовательность C-концевой последовательности тау до корового мотива тау в MBTR 1, связанного 3D6.

[0213] В SEQ ID NO:191 представлена аминокислотная последовательность эпитопа 3D6.

[0214] В SEQ ID NO:192 представлена аминокислотная последовательность

корового мотива тау в MBTR 2, связанного 3D6.

[0215] В SEQ ID NO:193 представлена аминокислотная последовательность корового мотива тау в MBTR 3, связанного 3D6.

[0216] В SEQ ID NO:194 представлена аминокислотная последовательность корового мотива тау в MBTR 4, связанного 3D6.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

[0217] Моноклональные антитела или другие биологические соединения, как правило, предоставляются в выделенной форме. Это означает, что антитело или другое биологическое соединение является, как правило, на по меньшей мере 50% мас./мас. чистым – очищенным от мешающих белков и других примесей, возникающих в результате его производства или очистки, но не исключает возможности того, что моноклональное антитело комбинируется с избытком фармацевтически приемлемого (-ых) носителя (-ей) или другой несущей среды, предназначенных для облегчения его использования. Иногда моноклональные антитела являются на по меньшей мере 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или 99% мас./мас. чистыми – очищенными от мешающих белков и примесей, возникающих в результате производства или очистки. Часто выделенное моноклональное антитело или другое биологическое соединение является преобладающим видом макромолекул, остающимся после его очистки.

[0218] Специфическое связывание антитела с его целевым антигеном означает аффинность и/или авидность, составляющие по меньшей мере 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 , 10^{10} , 10^{11} или 10^{12} M^{-1} . Специфическое связывание характеризуется обнаружимо большей величиной и отличается от неспецифического связывания, происходящего с по меньшей мере одной неспецифической целевой молекулой. Специфическое связывание может быть результатом образования связей между конкретными функциональными группами или конкретного пространственного соответствия (например, по принципу ключа и замка), в то время как неспецифическое связывание, как правило, является следствием сил Ван-дер-Ваальса. Однако специфическое связывание не обязательно подразумевает, что антитело связывает одну и только одну целевую молекулу.

[0219] Основная структурная единица антитела представляет собой тетрамер субъединиц. Каждый тетрамер включает в себя две идентичные пары полипептидных цепей, каждая пара имеет одну «легкую» цепь (около 25 кДа) и одну «тяжелую» цепь (около 50-70 кДа). Аминоконцевая часть каждой цепи включает в себя вариабельную область, состоящую из около 100-110 или большего числа аминокислот, главным образом ответственную за распознавание антигена. Эта вариабельная область изначально экспрессируется связанной с расщепляемым сигнальным пептидом. Вариабельную

область без сигнального пептида иногда называют зрелой вариабельной областью. Так, например, зрелая вариабельная область легкой цепи означает вариабельную область легкой цепи без сигнального пептида легкой цепи. Карбоксиконцевая часть каждой цепи определяет константную область, главным образом ответственную за эффекторную функцию.

[0220] Легкие цепи классифицируются как каппа или лямбда. Тяжелые цепи классифицируются как гамма, мю, альфа, дельта или эpsilon и определяют изотип антитела как IgG, IgM, IgA, IgD и IgE, соответственно. В пределах легкой и тяжелой цепей вариабельные и константные области соединяются областью «J», состоящей из около 12 или большего числа аминокислот, при этом тяжелая цепь также включает в себя область «D», состоящую из около 10 или большего числа аминокислот. См., в целом, работу *Fundamental Immunology*, Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y., 1989, Ch. 7 (включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте для всех целей).

[0221] Вариабельная область легкой или тяжелой цепи иммуноглобулина (также называемая в данном документе «вариабельный домен легкой цепи» («домен VL») или «вариабельный домен тяжелой цепи» («домен VH»), соответственно) состоит из «каркасной» области, прерванной тремя «областями, определяющими комплементарность», или «CDR». Каркасные области служат для выравнивания CDR для специфического связывания с эпитопом антигена. CDR включают в себя аминокислотные остатки антитела, которые в первую очередь ответственны за связывание антигена. От аминоконца до карбоксильного конца оба домена VL и VH содержат следующие каркасные области (FR) и CDR: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4. CDR 1, 2 и 3 домена VL также указаны в данном документе, соответственно, как CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3; CDR 1, 2 и 3 домена VH также указаны в данном документе, соответственно, как CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3. Когда в данной заявке раскрывается последовательность VL с R в качестве C-концевого остатка, R альтернативно можно рассматривать как N-концевой остаток константной области легкой цепи. Следовательно, данную заявку также следует понимать как раскрытие последовательности VL без C-концевого R.

[0222] Присвоение аминокислот каждому домену VL и VH соответствует любому стандартному определению CDR. Стандартные определения включают в себя определение по Кабату (Kabat, *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1987 and 1991), определение по Чотиа (Chothia & Lesk, J. *Mol. Biol.* 196:901-917, 1987; Chothia et al., *Nature* 342:878-883, 1989); определение CDR по композиту Чотиа и Кабата, при котором CDR-H1 представляет собой композит из областей CDR по Чотиа и Кабату; определение по AbM, используемое программным

обеспечением Oxford Molecular's antibody modelling software; и определение по контакту согласно Martin et al. (bioinfo.org.uk/abs) (см. таблицу 1). Кабат также предложил широко применяемую конвенцию нумерации (нумерация по Кабату), согласно которой соответствующим остаткам в различных тяжелых цепях или в различных легких цепях присваивают один и тот же номер. Когда говорят, что антитело содержит CDR согласно конкретному определению CDR (например, по Кабату), это определение указывает минимальное число остатков CDR, присутствующих в антителе (т. е. CDR по Кабату). Это не исключает того, что также присутствуют другие остатки, подпадающие под другое стандартное определение CDR, но выходящие за пределы указанного определения. Например, антитело, содержащее CDR, определенные по Кабату, включает в себя, помимо других возможностей, антитело, в котором CDR содержат остатки CDR по Кабату и не содержат другие остатки CDR, и антитело, в котором CDR H1 представляет собой CDR H1 по композиту Кабат – Чотиа и другие CDR содержат остатки CDR по Кабату и не содержат дополнительные остатки CDR на основе других определений.

Таблица 1. Стандартные определения CDR с использованием нумерации по Кабату

Петля	Кабат	Чотиа	Композит Чотиа i Кабат	AbM	Контакт
L1	L24--L34	L24--L34	L24--L34	L24--L34	L30--L36
L2	L50--L56	L50--L56	L50--L56	L50--L56	L46--L55
L3	L89--L97	L89--L97	L89--L97	L89--L97	L89--L96
H1	H31--H35B	H26--H32..H34*	H26--H35B*	H26--H35B	H30--H35B
H2	H50--H65	H52--H56	H50--H65	H50--H58	H47--H58
H3	H95--H102	H95--H102	H95--H102	H95--H102	H93--H101

*CDR-H1 по Чотиа может заканчиваться на H32, H33 или H34 (в зависимости от длины петли). Это связано с тем, что схема нумерации по Кабату помещает вставки дополнительных остатков в положения 35А и 35В, тогда как нумерация по Чотиа помещает их в положения 31А и 31В. Если нет ни H35А, ни H35В (нумерация по Кабату),

петля CDR-H1 по Чотиа заканчивается на H32. Если присутствует только H35A, то она заканчивается на H33. Если присутствуют и H35A, и H35B, то она заканчивается на H34.

[0223] Термин «антитело» включает в себя интактные антитела и их связывающие фрагменты. Как правило, фрагменты конкурируют с интактным антителом, от которого они происходят, за специфическое связывание с целевой молекулой, включительно с отдельными тяжелыми цепями, легкими цепями, Fab, Fab', F(ab')₂, F(ab)₂, диателами, наноантителами и Fv. Фрагменты можно получить методиками рекомбинантной ДНК или посредством ферментативного или химического расщепления интактных иммуноглобулинов. Термин «антитело» также включает в себя биспецифическое антитело и/или гуманизованное антитело. Биспецифическое или бифункциональное антитело представляет собой искусственное гибридное антитело, имеющее две разные пары тяжелая цепь/легкая цепь и два разных сайта связывания (см., например, работы Songsivilai and Lachmann, *Clin. Exp. Immunol.*, 79:315-321 (1990); Kostelny et al., *J. Immunol.*, 148:1547-53 (1992)). В некоторых биспецифических антителах две разные пары тяжелая цепь/легкая цепь включают в себя пару тяжелая цепь/легкая цепь гуманизованного 3D6 и пару тяжелая цепь/легкая цепь, специфическую в отношении эпитопа на тау, отличного от такового, связываемого 3D6.

[0224] В некоторых биспецифических антителах одна пара тяжелая цепь/легкая цепь представляет собой гуманизованное антитело 3D6, как дополнительно раскрыто ниже, и другая пара тяжелая цепь/легкая цепь происходит от антитела, которое связывается с рецептором, экспрессируемым на гематоэнцефалическом барьере, таким как рецептор инсулина, рецептор инсулиноподобного фактора роста (IGF), рецептор лептина или рецептор липопротеина, или рецептор трансферрина (Friden et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:4771-4775, 1991; Friden et al., *Science* 259:373-377, 1993). Такое биспецифическое антитело может проникать через гематоэнцефалический барьер за счет рецептор-опосредованного транцитоза. Поглощение биспецифического антитела головным мозгом можно дополнительно усилить путем конструирования биспецифического антитела со сниженной аффинностью к рецептору гематоэнцефалического барьера. Сниженная аффинность к рецептору приводит к более широкому распределению в головном мозге (см., например, работы Atwal et al., *Sci. Trans. Med.* 3, 84ra43, 2011; Yu et al., *Sci. Trans. Med.* 3, 84ra44, 2011).

[0225] Иллюстративные биспецифические антитела могут также представлять собой: (1) антитело с двумя переменными доменами (DVD-Ig), где каждая легкая цепь и тяжелая цепь содержат два переменных домена, соединенных в тандем посредством короткой пептидной связи (Wu et al., *Generation and Characterization of a Dual Variable*

Domain Immunoglobulin (DVD-Ig™) Molecule, In: *Antibody Engineering*, Springer Berlin Heidelberg (2010)); (2) Tandab, представляющее собой слияние двух одноцепочечных диател, приводящее к образованию тетравалентного биспецифического антитела, которое имеет два сайта связывания для каждого целевого антигена; (3) flexibody, представляющее собой комбинацию scFv с диателом, приводящую к образованию поливалентной молекулы; (4) так называемую молекулу «dock and lock», основанную на «домене димеризации и присоединения» протеинкиназы A, который, присоединяясь к Fab, может приводить к получению трехвалентного биспецифического связывающего белка, состоящего из двух идентичных фрагментов Fab, связанных с другим фрагментом Fab; (5) так называемую молекулу-«скорпион», состоящую из, например, двух scFv, слитых с обоими концами области Fc человека. Примеры платформ, пригодных для получения биспецифических антител, включают в себя BiTE (Micromet), DART (MacroGenics), Fcab и Mab2 (F-star), IgG1, сконструированный на основе Fc (Xencor), или DuoBody (на основе обмена плеч Fab, Genmab)

[0226] Термин «эпитоп» относится к участку на антигене, с которым связывается антитело. «Эпитопы» могут быть образованы как смежными аминокислотами, так и не смежными аминокислотами, расположенными рядом в результате сворачивания белка в третичную структуру. Эпитопы, образованные из смежных аминокислот (также известные как линейные эпитопы), как правило, сохраняются при воздействии денатурирующих растворителей, тогда как эпитопы, образованные в результате сворачивания в третичную структуру (также известные как конформационные эпитопы), как правило, теряются при обработке денатурирующими растворителями. Эпитоп, как правило, включает в себя по меньшей мере 3, и более обычно – по меньшей мере 5 или 8-10 аминокислот в уникальной пространственной конформации. Способы определения пространственной конформации эпитопов включают в себя, например, рентгеновскую кристаллографию и двухмерный ядерный магнитный резонанс. См., например, протоколы картирования эпитопов в работе *Methods in Molecular Biology*, Vol. 66, Glenn E. Morris, Ed. (1996).

[0227] Антитела, которые распознают одинаковые или перекрывающиеся эпитопы, можно идентифицировать с помощью простого иммуноанализа, показывающего способность одного антитела конкурировать с другим антителом за связывание целевого антигена. Эпитоп антитела можно также определить с помощью рентгеновской кристаллографии антитела, связанного с его антигеном, для идентификации контактных остатков. В качестве альтернативы, два антитела имеют один и тот же эпитоп, если все аминокислотные мутации в антигене, которые уменьшают или устраняют связывание

одного антитела, уменьшают или устраняют связывание другого антитела. Два антитела имеют перекрывающиеся эпитопы, если некоторые аминокислотные мутации, которые уменьшают или устраняют связывание одного антитела, уменьшают или устраняют связывание другого антитела.

[0228] Конкуренцию между антителами определяют с помощью анализа, в котором исследуемое антитело ингибирует специфическое связывание референсного антитела с общим антигеном (см., например, работу Junghans et al., Cancer Res. 50:1495, 1990). Исследуемое антитело конкурирует с референсным антителом, если избыток исследуемого антитела (например, по меньшей мере 2x, 5x, 10x, 20x или 100x) ингибирует связывание референсного антитела на по меньшей мере 50% по результатам анализа конкурентного связывания. Некоторые исследуемые антитела ингибируют связывание референсного антитела на по меньшей мере 75%, 90% или 99%. Антитела, идентифицированные путем конкурентного анализа (конкурирующие антитела), включают в себя антитела, связывающиеся с тем же эпитопом, что и референсное антитело, и антитела, связывающиеся со смежным эпитопом, расположенным достаточно близко к эпитопу, связываемому референсным антителом, для появления стерического затруднения для антител.

[0229] Термин «фармацевтически приемлемый» означает, что носитель, разбавитель, эксципиент или вспомогательное вещество совместимы с другими ингредиентами фармацевтического состава и по существу не являются вредными для их реципиента.

[0230] Термин «пациент», включает в себя субъекта-человека и других субъектов-млекопитающих, которые получают либо профилактическое, либо терапевтическое лечение.

[0231] Субъект подвержен повышенному риску заболевания, если данный субъект имеет по меньшей мере один известный фактор риска (например, генетический, биохимический, семейный анамнез, ситуационное воздействие), подвергающий субъектов с данным фактором риска статистически значимо большему риску развития заболевания, чем субъектов без данного фактора риска.

[0232] Термин «биологический образец» относится к образцу биологического материала в биологическом источнике или полученному из биологического источника, например, из субъекта-человека или субъекта-млекопитающего. Такие образцы могут быть органами, органеллами, тканями, частями тканей, жидкостями организма, периферической кровью, плазмой крови, сывороткой крови, клетками, молекулами, такими как белки и пептиды, и любыми частями или комбинациями, полученными из них.

Термин «биологический образец» также охватывает собой любой материал-производное, полученный путем обработки биологического образца. Материал-производное может включать в себя клетки или их потомство. Обработка биологического образца может включать в себя одно или большее число из следующего: фильтрацию, дистилляцию, экстракцию, концентрацию, фиксацию, инактивацию интерферирующих компонентов и тому подобное.

[0233] Термин «контрольный образец» относится к биологическому образцу, который, как известно или предположительно, включает в себя области, пораженные тау-ассоциированным заболеванием, или, по меньшей мере, который, как известно или предположительно, не включает в себя пораженные области данного типа. Контрольные образцы могут быть получены от субъектов, не страдающих тау-ассоциированным заболеванием. В качестве альтернативы, контрольные образцы могут быть получены от пациентов, страдающих тау-ассоциированным заболеванием. Такие образцы могут быть получены одновременно с биологическим образцом, предположительно содержащим тау-ассоциированное заболевание, или в другой момент времени. И биологический образец, и контрольный образец могут быть получены из одной и той же ткани. Предпочтительно, контрольные образцы состоят по существу или полностью из нормальных, здоровых областей и могут использоваться по сравнению с биологическим образцом, который, как считается, содержит области, пораженные тау-ассоциированным заболеванием. Предпочтительно, ткань в контрольном образце относится к тому же типу, что и ткань в биологическом образце. Предпочтительно, клетки, пораженные тау-ассоциированным заболеванием, которые, как предполагается, присутствуют в биологическом образце, происходят из того же типа клеток (например, нейронов или глии), что и тип клеток в контрольном образце.

[0234] Термин «заболевание» относится к любому отличному от нормы состоянию, которое нарушает физиологическую функцию. Данный термин широко употребляется для обозначения любого нарушения, заболевания, аномалии, патологии, болезни, состояния или синдрома, при которых нарушена физиологическая функция, независимо от природы этиологии.

[0235] Термин «симптом» относится к субъективному доказательству заболевания, например, изменению походки, испытываемому субъектом. «Признак» относится к объективному доказательству заболевания, наблюдаемому врачом.

[0236] Термин «положительный ответ на лечение» относится к более благоприятному ответу у отдельного пациента или к среднему ответу в популяции пациентов по сравнению со средним ответом в контрольной популяции, не получающей

лечение.

[0237] В целях классификации аминокислотных замещений как консервативных или неконсервативных, аминокислоты сгруппированы следующим образом: группа I (гидрофобные боковые цепи): met, ala, val, leu, ile; группа II (нейтральные гидрофильные боковые цепи): cys, ser, thr; группа III (кислотные боковые цепи): asp, glu; группа IV (основные боковые цепи): asn, gln, his, lys, arg; группа V (остатки, влияющие на ориентацию цепи): gly, pro; и группа VI (ароматические боковые цепи): trp, tyr, phe. Консервативные замещения включают в себя замещения между аминокислотами одного и того же класса. Неконсервативные замещения представляют собой замещение представителя одного из этих классов на представителя другого класса.

[0238] Процентную идентичность последовательностей определяют при максимальном выравнивании последовательностей антител согласно конвенции нумерации по Кабату. Если область рассматриваемого антитела (например, полную зрелую переменную область тяжелой или легкой цепей) после выравнивания сравнивают с аналогичной областью референсного антитела, процентная идентичность последовательностей рассматриваемого и референсного антител составляет число положений рассматриваемого и референсного антител, занятых аналогичными аминокислотами, разделенное на общее число выровненных положений двух данных областей, при этом пробелы не учитываются, и умноженное на 100 для преобразования в процентное значение.

[0239] Композиции или способы, «содержащие» или «включающие в себя» один или большее число из перечисленных элементов, могут включать в себя другие элементы, которые не были специальным образом перечислены. Например, композиция, которая «содержит» или «включает в себя» антитело, может содержать белок один или в комбинации с другими ингредиентами. Когда данное раскрытие относится к признаку, содержащему конкретно указанные элементы, данное раскрытие следует альтернативно понимать как относящееся к признаку, состоящему по существу из указанных элементов или состоящему из указанных элементов.

[0240] Указание диапазона значений включает в себя все целые числа, находящиеся в пределах диапазона или определяющие диапазон, и все поддиапазоны, определяемые целыми числами в пределах диапазона.

[0241] Если из контекста явным образом не следует иное, термин «около» включает в себя несущественные вариации, такие как значения в пределах стандартных границ погрешности измерения (например, стандартную ошибку среднего) указанного значения.

[0242] «Статистически значимый (-ая, -ое, -ые)» означает $p \leq 0,05$.

[0243] Формы единственного числа включают в себя ссылки на множественное число, если из контекста явным образом не следует иное. Например, термин «соединение» или «по меньшей мере одно соединение» может включать в себя множество соединений, включительно с их смесями.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

I. Общие положения

[0244] В данном изобретении представлены способы лечения таупатий, таких как болезнь Альцгеймера, антителами, которые связываются с тау человека.

II. Целевые молекулы

[0245] Если из контекста явным образом не следует иное, ссылка на тау означает природную форму белка тау человека, включительно со всеми изоформами, независимо от того, присутствует ли посттрансляционная модификация (например, фосфорилирование, гликирование или ацетилирование). Существует шесть основных изоформ (вариантов сплайсинга) тау, встречающихся в головном мозге человека. Самый длинный из этих вариантов содержит 441 аминокислоту, от которых отщеплен исходный остаток met. Остатки пронумерованы в соответствии с изоформой 441. Следовательно, например, ссылка на фосфорилирование в положении 404 означает положение 404 изоформы 441 или соответствующее положение любой другой изоформы при максимальном выравнивании с изоформой 441. Аминокислотные последовательности изоформ и номера Swiss-Prot указаны ниже.

P10636-8 (SEQ ID NO:1)

10 20 30 40 50 60
MAEPRQEFEV MEDHAGTYGL GDRKDQGGYT MHQDQEGDTD AGLKESPLQT PTEDGSEEPG
70 80 90 100 110 120
SETSDAKSTP TAEDVTAPLV DEGAPGKQAA AQPHTEIPEG TTAEAEAGIGD TPSLEDEAAG
130 140 150 160 170 180
HVTQARMVSK SKDGTGSDDK KAKGADGKTK IATPRGAAPP GQKQANATR IPAKTTPAPK
190 200 210 220 230 240
TPPSSGEPK SGDRSGYSSP GSPGTPGSR SRTPSLPTPPT REPKKVAVVR TPPKSPSSAK
250 260 270 280 290 300
SRLQTAPVPM PDLKNVSKI GSTENLKHQP GGGKVQIINK KLDLSNVQSK CGSKDNIKHV
310 320 330 340 350 360
PGGGSVQIVY KPVDLSKVT KCGSLGNIHH KPGGGQVEVK SEKLDLDFKDRV QSKIGSLDNI
370 380 390 400 410 420
THVPGGGNKK IETHKLTFRE NAKAKTDHGA EIVYKSPVVS GDTSRHLN VSSTGSIDMV
430 440
DSPQLATLAD EVSASLAKQ L

P10636-7 (SEQ ID NO:2)

10 20 30 40 50 60
MAEPRQEFEV MEDHAGTYGL GDRKDQGGYT MHQDQEGDTD AGLKESPLQT PTEDGSEEPG
70 80 90 100 110 120
SETSDAKSTP TAEAEAGIG DTPSLEDEAA GHVTQARMVS KSKDGTGSDD KKAKGADGKT
130 140 150 160 170 180
KIATPRGAAP PGQKQANAT RIPAKTTPAP KTPSSGEPK KSGDRSGYSS PGSPGTPGSR
190 200 210 220 230 240
SRTPSLPTP TREPKKAVV RPPKSPSSA KSRLQTAPVP MPDLKNVSK IGSTENLKHQ
250 260 270 280 290 300
PGGKVQIIN KLDLSNVQS KCGSKDNIH VPGGGSVQIV YKPVDLSKVT SKCGSLGNIH
310 320 330 340 350 360
HKPGGQVEV KSEKLDLDFKDR VQSKIGSLDN ITHVPGGGNK KIETHKLTFR ENAKAKTDHG
370 380 390 400 410
AEIVYKSPVV SGDSRHLN NVSSTGSIDM VDSPQLATLA DEVSASLAKQ GL

P10636-6 (4R0N human tau) (SEQ ID NO:3)

10 20 30 40 50 60
MAEPRQEFEV MEDHAGTYGL GDRKDQGGYT MHQDQEGDTD AGLKAE EAGI GDTPSLEDEA
70 80 90 100 110 120
AGHVTQARMV SKSKDGTGSD DKKAKGADGK TKIATPRGAA PPGQKGQANA TRIPAKTPPA
130 140 150 160 170 180
PKTPPSSGEP PKSGDRSGYS SPGSPGTPGS RSRTPSLPTP PTREPKKVAV VRTPPKSPSS
190 200 210 220 230 240
AKSRLQTAPV PMPDLKNVKS KIGSTENLKH QPGGGKVQII NKKLDLSNVQ SKCGSKDNIK
250 260 270 280 290 300
HVPGGGVSQI VYKPVDSLKV TSKCGSLGNI HHKPGGGQVE VKSEKLDLFDK RVQSKIGSLD
310 320 330 340 350 360
NITHVPGGGN KKIETHKLT F RENAKAKTDH GAEIVYKSPV VSGDTSRHL SNVSSTGSID
370 380
MVDSPQLATL ADEVSASLAK QGL

P10636-5 (SEQ ID NO:4)

10 20 30 40 50 60
MAEPRQEFEV MEDHAGTYGL GDRKDQGGYT MHQDQEGDTD AGLKESPLQT PTEDGSEEPG
70 80 90 100 110 120
SETSDAKSTP TAEDVTAPLV DEGAPGKQAA AQPHTEIPEG TTAE EAGIGD TPSLEDEAAG
130 140 150 160 170 180
HVTQARMVSK SKDGTGSDDK KAKGADGKTK IATPRGAAPP GQKGQANATR IPAKTPPAPK
190 200 210 220 230 240
TPPSSGEPK SGDRSGYSSP GSPGTPGSR S RTPSLTPPT REPKKVAVVR TPPKSPSSAK
250 260 270 280 290 300
SRLQTAPVPM PDLKNVKSKI GSTENLKHQP GGGKVQIVYK PVDLSKVTSK CGSLGNIHHK
310 320 330 340 350 360
PGGGQVEVKS EKLDLFDKRVQ SKIGSLDNIT HVPGGGNKKI ETHKLT FREN AKAKTDHGAE
370 380 390 400 410
IVYKSPVVSG DTSRHL SNV SSTGSIDMVD SPQLATLADE VSASLAKQGL

P10636-4 (SEQ ID NO:5)

```

      10      20      30      40      50      60
MAEPRQEFEV MEDHAGTYGL GDRKDQGGYT MHQDQEGDTD AGLKESPLQT PTEDGSEEPG
      70      80      90     100     110     120
SETSDAKSTP TAEAEAEAGIG DTPSLEDEAA GHVTQARMVS KSKDGTGSDD KKAKGADGKT
     130     140     150     160     170     180
KIATPRGAAP PGQKGQANAT RIPAKTPPAP KTPPSSGEPP KSGDRSGYSS PGSPGTPGSR
     190     200     210     220     230     240
SRTPSLPTPP TREPKKVAVV RTPPKSPSSA KSRLQTAPVP MPDLKNVKSK IGSTENLKHQ
     250     260     270     280     290     300
PGGGKVQIVY KPVDSLKVTS KCGSLGNIHH KPGGGQVEVK SEKLDKDRV QSKIGSLDNI
     310     320     330     340     350     360
THVPGGGNKK IETHKLTFRE NAKAKTDHGA EIVYKSPVVS GDTSPRHLSN VSSTGSIDMV
     370     380
DSPQLATLAD EVSASLAKQ L

```

P10636-2 (SEQ ID NO:6)

```

 10      20      30      40      50      60
MAEPRQEFEV MEDHAGTYGL GDRKDQGGYT MHQDQEGDTD AGLKAEAEAGI GDTPSLEDEA
      70      80      90     100     110     120
AGHVTQARMV SKSKDGTGSD DKKAKGADGK TKIATPRGAA PPGQKGQANA TRIPAKTPPA
     130     140     150     160     170     180
PKTPPSSGEP PKSGDRSGYS SPGSPGTPGS RSRTPSLPTP PTREPKKVAV VRTPPKSPSS
     190     200     210     220     230     240
AKSRLQTAPV PMPDLKNVKS KIGSTENLKH QPGGGKVQIV YKPVDSLKVT SKCGSLGNIH
     250     260     270     280     290     300
HKPGGGQVEV KSEKLDKDR VQSKIGSLDN ITHVPGGGNK KIETHKLTFR ENAKAKTDHG
     310     320     330     340     350
AEIVYKSPVV SGGTSPRHLS NVSSTGSIDM VDSPQLATLA DEVSASLAKQ GL

```

[0246] Ссылка на тау включает в себя известные природные вариации, около 30 из которых перечислены в базе данных Swiss-Prot, и их перестановки, а также мутации, связанные с тау-патологиями, такими как деменция, болезнь Пика, надъядерный паралич и т. д. (см., например, базу данных Swiss-Prot и работу Poorkaj, et al. *Ann Neurol.* 43:815-825 (1998)). Некоторыми примерами мутаций тау, пронумерованных по изоформе 441, являются мутация лизина в треонин в аминокислотном остатке 257 (K257T), мутация изолейцина в валин в положении аминокислоты 260 (I260V); мутация глицина в валин в

положении аминокислоты 272 (G272V); мутация аспарагина в лизин в положении аминокислоты 279 (N279K); мутация аспарагина в гистидин в положении аминокислоты 296 (N296H); мутация пролина в серин в положении аминокислоты 301 (P301S); мутация пролина в лейцин в положении аминокислоты 301 (P301L); мутация глицина в валин в положении аминокислоты 303 (G303V); мутация серина в аспарагин в положении аминокислоты 305 (S305N); мутация глицина в серин в положении аминокислоты 335 (G335S); мутация валина в метионин в положении аминокислоты 337 (V337M); мутация глютаминовой кислоты в валин в положении 342 (E342V); мутация лизина в изолейцин в положении аминокислоты 369 (K369I); мутация глицина в аргинин в положении аминокислоты 389 (G389R); и мутация аргинина в триптофан в положении аминокислоты 406 (R406W).

[0247] Тау может быть фосфорилирован по одному или большему числу аминокислотных остатков, включительно с тирозином в положениях аминокислот 18, 29, 97, 310 и 394, серином в положениях аминокислот 184, 185, 198, 199, 202, 208, 214, 235, 237, 238, 262, 293, 324, 356, 396, 400, 404, 409, 412, 413 и 422; и треонином в положениях аминокислот 175, 181, 205, 212, 217, 231 и 403. Если из контекста явным образом не следует иное, ссылка на тау или его фрагменты включает в себя природные аминокислотные последовательности человека, включительно с их изоформами, мутантами и аллельными вариантами.

III. Антитела

A. Специфичность связывания и функциональные свойства

[0248] В данном изобретении представлены антитела, которые связываются с тау. Некоторые антитела специфически связываются с эпитопом внутри KXXSXXNX(K/H)N (SEQ ID NO:191). Некоторые антитела связываются с пептидом, содержащим, состоящим по существу из, или состоящим из аминокислотных остатков 259-268 из 441-аминокислотного белка тау (SEQ ID NO:1). Некоторые антитела связываются с пептидом, содержащим, состоящим по существу из, или состоящим из аминокислотных остатков 290-299 из 441-аминокислотного белка тау (SEQ ID NO:1). Некоторые антитела связываются с пептидом, содержащим, состоящим по существу из, или состоящим из аминокислотных остатков 321-330 из 441-аминокислотного белка тау (SEQ ID NO:1). Некоторые антитела связываются с пептидом, содержащим, состоящим по существу из или состоящим из аминокислотных остатков 353-362 из 441-аминокислотного белка тау (SEQ ID NO:1). Некоторые антитела связываются с двумя, тремя или всеми четырьмя из данных пептидов. Некоторые антитела специфически связываются с эпитопом в пределах остатков 199-213 из 383-аминокислотного белка тау 4R0N человека (SEQ ID NO:3) (что

соответствует остаткам 257-271 в SEQ ID NO:1). Некоторые антитела специфически связываются с эпитопом в пределах остатков 262-276 из 383-аминокислотного белка тау 4RON человека (SEQ ID NO:3) (что соответствует остаткам 320-334 в SEQ ID NO:1). Некоторые антитела согласно данному изобретению специфически связываются с пептидом, состоящим из остатков 257-271 из 441-аминокислотного белка тау (SEQ ID NO:1). Некоторые антитела согласно данному изобретению специфически связываются с пептидом, состоящим из остатков 320-334 из 441-аминокислотного белка тау (SEQ ID NO:1). Некоторые антитела согласно данному изобретению специфически связываются с пептидом, состоящим из остатков 259-268 из 441-аминокислотного белка тау согласно SEQ ID NO:1, а именно – с KIGSTENLKH (SEQ ID NO:188). Некоторые антитела согласно данному изобретению специфически связываются с пептидом, состоящим из остатков 290-299 из 441-аминокислотного белка тау согласно SEQ ID NO:1, а именно – с KCGSKDNIKH (SEQ ID NO:192). Некоторые антитела согласно данному изобретению специфически связываются с пептидом, состоящим из остатков 321-330 из 441-аминокислотного белка тау согласно SEQ ID NO:1, а именно – с KCGSLGNIHH (SEQ ID NO:193). Некоторые антитела согласно данному изобретению специфически связываются с пептидом, состоящим из остатков 353-362 из 441-аминокислотного белка тау согласно SEQ ID NO:1, а именно – с KIGSLDNITH (SEQ ID NO:194). Некоторые антитела согласно данному изобретению специфически связываются с пептидом, состоящим из консенсусного мотива KXXSXXNX(K/H)H (SEQ ID NO:191). Некоторые антитела связываются с эпитопом, содержащим остатки 259, 262, 265, 267, 268, остатки 290, 293, 296, 298, 299, остатки 321, 324, 327, 329, 330 или остатки 353, 356, 359, 362 из 441-аминокислотного белка тау согласно SEQ ID NO:1. Некоторые антитела связываются с тау независимо от состояния фосфорилирования. Некоторые антитела связываются с эпитопом, не включающим в себя остаток, подвергающийся фосфорилированию. Данные антитела можно получить путем иммунизации полипептидом тау, который выделен очищением из природного источника или экспрессирован рекомбинантно. Антитела могут быть проверены скринингом на связывание тау в нефосфорилированной форме, а также в форме, в которой фосфорилированы один или большее число остатков, чувствительных к фосфорилированию. Такие антитела, предпочтительно, связываются с фосфорилированным тау по сравнению с нефосфорилированным тау с неразличимыми аффинностями или по меньшей мере с аффинностями в пределах фактора кратности, составляющего 1,5, 2 или 3 (т. е. являются «панспецифическими»). 3D6 является примером панспецифического моноклонального антитела. В данном изобретении также представлены антитела, связывающиеся с тем же эпитопом, что и любое из

вышеуказанных антител, таким как, например, эпитоп для 3D6. Также включены антитела, конкурирующие за связывание с тау с любым из вышеуказанных антител, такие как, например, конкурирующие с 3D6.

[0249] Вышеуказанные антитела можно получать *de novo* путем иммунизации пептидом тау, состоящим по существу или состоящим из остатков 199-213 или 262-276 из SEQ ID NO:3 (что соответствует остаткам 257-271 или 320-334, соответственно, из SEQ ID NO:1), или путем иммунизации пептидом, включающим в себя, состоящим по существу или состоящим из остатков 259-268, 290-299, 321-330 или 353-362 из SEQ ID NO:1, или путем иммунизации полноразмерным полипептидом тау или его фрагментом, содержащим такие остатки, и путем скрининга на предмет специфического связывания с пептидом, включающим в себя такие остатки. Такие пептиды, предпочтительно, присоединены к молекуле гетерологичного конъюгата, которая помогает вызвать ответ антител на пептид. Присоединение может быть прямым или через спейсерный пептид или аминокислоту. Цистеин используется в качестве спейсерной аминокислоты, поскольку его свободная группа SH облегчает прикрепление молекулы-носителя. Также можно использовать полиглициновый линкер (например, 2-6 глицинов) с остатком цистеина между глицинами и пептидом или без него. Молекула-носитель служит для обеспечения Т-клеточного эпитопа, который помогает вызвать ответ антител против пептида. Обычно используются несколько носителей, в частности гемоцианин моллюска *Megathura crenulata* (KLH), яичный альбумин и бычий сывороточный альбумин (BSA). Пептидные спейсеры могут быть добавлены к пептидному иммуногену как часть твердофазного пептидного синтеза. Носители, как правило, добавляются путем химического перекрестного сшивания. Некоторые примеры химических перекрестно-сшивающих агентов, которые можно использовать, включают в себя кросс-N-малеимидо-6-аминокапроиловый эфир или *m*-малеимидобензоил-N-гидроксисукцинимидный эфир (MBS) (см., например, работы Harlow, E. et al., *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. 1988; Sinigaglia et al., *Nature*, 336:778-780 (1988); Chicz et al., *J. Exp. Med.*, 178:27-47 (1993); Hammer et al., *Cell* 74:197-203 (1993); Falk K. et al., *Immunogenetics*, 39:230-242 (1994); WO 98/23635; and, Southwood et al. *J. Immunology*, 160:3363-3373 (1998)). Носитель и спейсер, если он присутствует, могут быть присоединены к любому концу иммуногена.

[0250] Пептид с необязательным спейсером и носителем можно использовать для иммунизации лабораторных животных или В-клеток, как более подробно описано ниже. Супернатанты гибридомы можно исследовать на предмет способности связывать один или большее число пептидов, включающих в себя, состоящих по существу или состоящих

из остатков 199-213 или 262-276 из SEQ ID NO:3 (что соответствует остаткам 257-271 или 320-334, соответственно, из SEQ ID NO:1), или включающих в себя, состоящих по существу или состоящих из остатков 259-268, 290-299, 321-330 или 353-362 из SEQ ID NO:1, и/или фосфорилированные и нефосфорилированные формы тау, такие как, например, полноразмерная изоформа тау с положением 404 в фосфорилированной форме. Пептид может быть присоединен к носителю или другой метке для облегчения скринингового анализа. В данном случае носитель или метка, предпочтительно, отличаются от комбинации спейсера и молекулы носителя, используемых для иммунизации, для устранения антител, специфических в отношении спейсера или носителя, а не пептида тау. Можно использовать любую из изоформ тау.

[0251] В данном изобретении представлены моноклональные антитела, связывающиеся с эпитопами в пределах тау. Одним из таких иллюстративных антител мыши является антитело, обозначенное как «3D6». Если из контекста явным образом не следует иное, ссылку на 3D6 следует понимать как относящуюся к любой из мышинных, химерных, венированных или гуманизированных форм данного антитела. Данное антитело депонировано как [DEPOSIT NUMBER]. Данное антитело специфически связывается с эпитопом KXXSXXNX(К/Н)Н (SEQ ID NO:191). Данное антитело специфически связывается в пределах аминокислотных остатков 199-213 и/или 262-276 из 383-аминокислотного белка тау 4R0N человека (SEQ ID NO:3) (что соответствует аминокислотным остаткам 257-271 и/или 320-334, соответственно, из SEQ ID NO:1). Данное антитело специфически связывается в пределах аминокислотных остатков 259-268 или 290-299, или 321-330, или 353-362 из SEQ ID NO:1, и комбинаций любых из 2, 3 или всех четырех из них. Данное антитело дополнительно характеризуется своей способностью связывать как фосфорилированный, так и нефосфорилированный тау, как непатологические, так и патологические формы и конформации тау, а также неправильно свернутые/агрегированные формы тау. Гуманизированное антитело hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4 эквивалентно связывает фосфорилированный и нефосфорилированный тау, связывает все сплайсинг-изоформы тау и связывает нейрофибриллярные клубки и дистрофические нейриты в срезах тканей каждого из шести протестированных образцов от доноров с болезнью Альцгеймера. Одним из таких иллюстративных антител мыши является антитело, обозначенное как «6A10». Если из контекста явным образом не следует иное, ссылку на 6A10 следует понимать как относящуюся к любой из мышинных, химерных, венированных или гуманизированных форм данного антитела. CDR тяжелой цепи 6A10 по композиту Кабат – Чотиа обозначены как SEQ ID NO:67, 68 и 69, соответственно, и CDR легкой цепи 6A10 по Кабату обозначены как SEQ ID NO:12, 13 и

14, соответственно. Антитело 6A10 мыши разделяет 82,1% идентичности последовательности VH и 100% идентичности последовательности VL с цепью VH и цепью VL, соответственно, из антитела 3D6 мыши.

[0252] Некоторые антитела согласно данному изобретению связываются с тем же или перекрывающимся эпитопом, что и антитело, обозначенное как «3D6». Последовательности зрелых переменных областей тяжелой и легкой цепей данного антитела обозначены как SEQ ID NO:7 и 11, соответственно. Другие антитела, обладающие такой специфичностью связывания, можно получать путем иммунизации мышей тау или его частью, включающими, состоящими по существу, или состоящими из желаемого эпитопа (например, 199-213 и/или 262-276 из SEQ ID NO:3, что соответствует остаткам 257-271 и/или 320-334, соответственно, из SEQ ID NO:1; или, например, 259-268, или 290-299, или 321-330, или 353-362 из SEQ ID NO:1, любая комбинация из 2, 3 или всех 4 из них), и скрининга полученных антител на предмет связывания с тау, необязательно – в конкуренции с антителом, имеющим переменные области антитела 3D6 мыши (IgG1 каппа). Фрагменты тау, включающие в себя желаемый эпитоп, могут быть связаны с носителем, который помогает вызвать ответ антител на данный фрагмент, и/или связаны с адъювантом, который помогает вызвать такой ответ. Такие антитела можно подвергать скринингу на предмет дифференциального связывания с тау или его фрагментом по сравнению с мутантами по указанным остаткам. Скрининг против таких мутантов более точно определяет специфичность связывания, позволяющую идентифицировать антитела, связывание которых ингибируется мутагенезом определенных остатков и которые, вероятно, обладают функциональными свойствами других иллюстративных антител. Мутации могут представлять собой систематическое замещение аланином (или серином, если аланин уже присутствует) по одному остатку за раз или с более широкими интервалами по всей цепи или по всему ее участку, в котором, как известно, находится эпитоп. Если один и тот же набор мутаций значительно снижает связывание двух антител, данные два антитела связывают один и тот же эпитоп.

[0253] Антитела, обладающие специфичностью связывания с выбранным антителом мыши (например, 3D6), также можно получать с использованием варианта способа фагового дисплея. См. Winter, WO 92/20791. Данный способ особенно подходит для получения антител человека. В данном способе в качестве исходного материала используется переменная область тяжелой или легкой цепей выбранного антитела мыши. Если, например, в качестве исходного материала выбрана переменная область легкой цепи, создается фаговая библиотека, представители которой отображают одну и ту же переменную область легкой цепи (т. е. исходный материал мыши) и другую

вариабельную область тяжелой цепи. Вариабельные области тяжелой цепи можно, например, получать из библиотеки реаранжированных вариабельных областей тяжелой цепи человека. Выбирают фаг, демонстрирующий сильное специфическое связывание с тау или его фрагментом (например, по меньшей мере 10^8 и, предпочтительно, по меньшей мере 10^9 M^{-1}). Вариабельная область тяжелой цепи данного фага затем служит исходным материалом для создания дальнейшей фаговой библиотеки. В данной библиотеке каждый фаг отображает одну и ту же вариабельную область тяжелой цепи (т. е. область, идентифицированную из первой отображаемой библиотеки) и другую вариабельную область легкой цепи. Вариабельные области легкой цепи можно получать, например, из библиотеки реаранжированных вариабельных областей легкой цепи человека. Опять же, выбирают фаг, демонстрирующий сильное специфическое связывание с тау или его фрагментом. Полученные в результате антитела, как правило, обладают такой же или сходной эпитопной специфичностью, что и исходный материал мыши.

[0254] CDR тяжелой цепи 3D6 по композиту Кабат – Чотиа обозначены как SEQ ID NO:8, 9 и 10, соответственно, и CDR легкой цепи 3D6 по Кабату обозначены как SEQ ID NO:12, 13 и 14, соответственно.

[0255] В таблице 2 указаны CDR 3D6, определенные по Кабату, по Чотиа, по композиту Чотиа – Кабат (что также указано в данном документе как «композит Кабат/Чотиа»), по AbM и по контакту.

Таблица 2. CDR 3D6, определенные по Кабату, по Чотиа, по композиту Чотиа – Кабат, по AbM и по контакту

Петля	Кабат	Чотиа	Композит Чотиа – Кабат	AbM	Контакт
L1	L24--L34 SEQ ID NO:12	L24--L34 SEQ ID NO:12	L24--L34 SEQ ID NO:12	L24--L34 SEQ ID NO:12	L30--L36 SEQ ID NO:36
L2	L50--L56 SEQ ID NO:13	L50--L56 SEQ ID NO:13	L50--L56 SEQ ID NO:13	L50--L56 SEQ ID NO:13	L46--L55 SEQ ID NO:37
L3	L89--L97 SEQ ID	L89--L97 SEQ ID NO:14	L89--L97 SEQ ID NO:14	L89--L97 SEQ ID NO:14	L89--L96 SEQ ID NO:38

Таблица 2. CDR 3D6, определенные по Кабату, по Чотиа, по композиту Чотиа – Кабат, по AbM и по контакту

Петля	Кабат	Чотиа	Композит Чотиа – Кабат	AbM	Контакт
	NO:14				
H1	H31--H35B SEQ ID NO:32	H26--H32 SEQ ID NO:33	H26--H35B SEQ ID NO:8	H26--H35B SEQ ID NO:8	H30--H35B SEQ ID NO:39
H2	H50--H65 SEQ ID NO:9	H52--H56 SEQ ID NO:34	H50--H65 SEQ ID NO:9	H50--H58 SEQ ID NO:35	H47--H58 SEQ ID NO:40
H3	H95--H102 SEQ ID NO:10	H95--H102 SEQ ID NO:10	H95--H102 SEQ ID NO:10	H95--H102 SEQ ID NO:10	H93--H101 SEQ ID NO:41

[0256] Другие антитела можно получить путем мутагенеза кДНК, кодирующей тяжелую и легкую цепи иллюстративного антитела, такого как 3D6. Также в данное изобретение включены моноклональные антитела, которые на по меньшей мере 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичны 3D6 по аминокислотной последовательности переменных областей зрелых тяжелых и/или легких цепей и сохраняют свои функциональные свойства, и/или которые отличаются от соответствующего антитела небольшим числом функционально несущественных аминокислотных замещений (например, консервативных замещений), делеций или вставок. Также включены моноклональные антитела, имеющие по меньшей мере одну или все шесть CDR, как определено согласно любому общепринятому определению, но предпочтительно по Кабату, которые на 90%, 95%, 99% или 100% идентичны соответствующим CDR из 3D6.

[0257] В данном изобретении также представлены антитела, имеющие некоторые или все (например, 3, 4, 5 и 6) CDR, полностью или по существу из 3D6. Такие антитела могут включать в себя переменную область тяжелой цепи, которая имеет по меньшей мере две, а обычно все три CDR полностью или по существу происходящие из переменной области тяжелой цепи 3D6, и/или переменную область легкой цепи,

имеющую по меньшей мере две, а обычно все три CDR, полностью или по существу происходящие из вариабельной области легкой цепи 3D6. Антитела могут включать в себя как тяжелые, так и легкие цепи. CDR по существу происходит из соответствующей CDR 3D6, если она содержит не больше чем 4, 3, 2 или 1 замещение, вставку или делецию, за исключением того, что CDR-H2 (если определено по Кабату) может иметь не больше чем 6, 5, 4, 3, 2 или 1 замещение, вставку или делецию. Такие антитела могут быть на по меньшей мере 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичны 3D6 по аминокислотной последовательности зрелых вариабельных областей тяжелых и/или легких цепей, и сохраняют свои функциональные свойства, и/или отличаются от 3D6 небольшим числом функционально несущественных аминокислотных замещений (например, консервативных замещений), делеций или вставок.

[0258] Некоторые антитела, идентифицированные с помощью таких анализов, могут связываться с мономерными, неправильно свернутыми, агрегированными, фосфорилированными или нефосфорилированными формами тау или другими формами. Подобным образом, некоторые антитела являются иммунореактивными в отношении непатологических и патологических форм и конформаций тау.

В. Антитела, происходящие не от человека

[0259] Производство других антител, происходящих не от человека, например, антител мыши, морской свинки, приматов, кролика или крысы, против тау или его фрагмента (например, аминокислотных остатков 199-213 или 262-276 из SEQ ID NO:3, что соответствует аминокислотным остаткам 257-271 или 320-334, соответственно, из SEQ ID NO:1; или аминокислотных остатков 259-268, или 290-299, или 321-330, или 353-362 из SEQ ID NO:1) можно осуществлять, например, путем иммунизации животного тау или его фрагментом. См. работу Harlow & Lane, *Antibodies, A Laboratory Manual* (CSHP NY, 1988) (включена посредством ссылки для всех целей). Такой иммуноген можно получить из природного источника, путем синтеза пептидов или путем рекомбинантной экспрессии. Необязательно, иммуноген можно вводить слитым или находящимся иным образом в комплексе с белком-носителем. Необязательно, иммуноген можно вводить с адъювантом. Можно использовать несколько типов адъюванта, как описано ниже. Для иммунизации лабораторных животных предпочтительно использовать полный адъювант Фрейнда с последующим неполным адъювантом. Кроликов или морских свинок, как правило, используют для получения поликлональных антител. Мышей, как правило, используют для получения моноклональных антител. Антитела подвергают скринингу на предмет специфического связывания с тау или эпитопом внутри тау (например, эпитопом, содержащим один или большее число аминокислотных остатков из 199-213 или 262-276

из SEQ ID NO:3, что соответствует аминокислотным остаткам 257-271 или 320-334, соответственно, из SEQ ID NO:1, или эпитопом, содержащим один или большее число аминокислотных остатков из 259-268, или 290-299, или 321-330, или 353-362 из SEQ ID NO:1). Такой скрининг можно осуществлять путем определения связывания антитела с набором вариантов тау, таких как варианты тау, содержащие аминокислотные остатки 199-213 или 262-276 из SEQ ID NO:3 (что соответствует аминокислотным остаткам 257-271 или 320-334, соответственно, из SEQ ID NO:1), или варианты тау, содержащие аминокислотные остатки 259-268, или 290-299, или 321-330, или 353-362 из SEQ ID NO:1, или мутации в данных остатках, и определения того, какие варианты тау связываются с данным антителом. Связывание можно оценить, например, с помощью вестерн-блоттинга, FACS или твердофазного ИФА.

С. Гуманизированные антитела

[0260] Гуманизированное антитело представляет собой генетически сконструированное антитело, в котором CDR из «донорного» антитела, происходящего не от человека, пересажены в «акцепторные» последовательности антител человека (см., например, Queen, US 5530101 и 5585089; Winter, US 5225539; Carter, US 6407213; Adair, US 5859205; и Foote, US 6881557). Акцепторные последовательности антител могут представлять собой, например, зрелые последовательности антител человека, композит таких последовательностей, консенсусную последовательность последовательностей антител человека, или последовательности областей зародышевой линии. Следовательно, гуманизированное антитело представляет собой антитело, имеющее по меньшей мере три, четыре, пять или все CDR, происходящие полностью или по существу из донорного антитела, и каркасные последовательности вариабельной области, и константные области, если они присутствуют, происходящие полностью или по существу из последовательностей антитела человека. Подобным образом, гуманизированная тяжелая цепь имеет по меньшей мере одну, две и обычно все три CDR, происходящие полностью или по существу из тяжелой цепи донорного антитела, и каркасную последовательность вариабельной области тяжелой цепи, и константную область тяжелой цепи, если они присутствуют, происходящие по существу из каркасных последовательностей вариабельной области тяжелой цепи и последовательностей константной области. Подобным образом, гуманизированная легкая цепь имеет по меньшей мере одну, две и обычно все три CDR, происходящие полностью или по существу из легкой цепи донорного антитела, и каркасную последовательность вариабельной области легкой цепи, и константную область легкой цепи, если они присутствуют, происходящие по существу из каркасных последовательностей вариабельной области легкой цепи и

последовательностей константной области. Кроме нанотел и dAb, гуманизированное антитело включает в себя гуманизированную тяжелую цепь и гуманизированную легкую цепь. CDR в гуманизированном антителе происходит по существу из соответствующей CDR в антителе, происходящем не от человека, если по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 100% соответствующих остатков (как определено на основании любого стандартного определения, но предпочтительно определено по Кабату) идентичны между соответствующими CDR. Каркасные последовательности вариабельной области цепи антитела или константной области цепи антитела по существу происходят из каркасной последовательности вариабельной области человека или константной области человека, соответственно, когда по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 100% соответствующих остатков, на основании определения по Кабату, идентичны. Чтобы быть классифицированным как гуманизированное в соответствии с определением международных непатентованных названий (МНН) Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) 2014 года (англ. «2014 WHO INN») для гуманизированных антител, антитело должно быть по меньшей мере на 85% идентично последовательностям антител зародышевой линии человека (т. е. до соматической гипермутации). Смешанные антитела представляют собой антитела, для которых одна цепь антитела (например, тяжелая цепь) соответствует пороговому значению, а другая цепь (например, легкая цепь) не соответствует пороговому значению. Антитело классифицируется как химерное, если ни одна из цепей не соответствует пороговому значению, даже если вариабельные каркасные области для обеих цепей имели в основном происхождение от человека с некоторыми обратными мутациями мыши. См. работу Jones et al. (2016) The INNs and outs of antibody nonproprietary names, mAbs 8:1, 1-9, DOI: 10.1080/19420862.2015.1114320. См. также “WHO-INN: International nonproprietary names (INN) for biological and biotechnological substances (a review)” (Internet) 2014. Доступна с: <http://www.who.int/medicines/services/inn/BioRev2014.pdf>), включена в данный документ посредством ссылки. Во избежание сомнений, при употреблении в контексте данного документа термин «гуманизированные» не предназначен для ограничения определением гуманизированных антител согласно МНН ВОЗ от 2014 года. Некоторые из гуманизированных антител, представленных в данном документе, на по меньшей мере 85% идентичны последовательностям зародышевой линии человека, а некоторые из гуманизированных антител, представленных в данном документе, на меньше чем 85% идентичны последовательностям зародышевой линии человека. Некоторые из тяжелых цепей гуманизированных антител, представленных в данном документе, на от около 60% до около 100% идентичны последовательностям зародышевой линии человека, например,

в диапазоне от около 60% до 69%, от 70% до 79%, от 80% до 84% или от 85% до 89%. Некоторые тяжелые цепи подпадают под определение МНН ВОЗ от 2014 года и, например, на около 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81% или 82%, 83%, или 84% идентичны последовательностям зародышевой линии человека, в то время как другие тяжелые цепи соответствуют определению МНН ВОЗ от 2014 года и на около 85%, 86%, 87%, 88%, 89% или большее число процентов идентичны последовательностям зародышевой линии человека. Некоторые из легких цепей гуманизированных антител, представленных в данном документе, на от около 60% до около 100% идентичны последовательностям зародышевой линии человека, например, в диапазоне от около 80% до около 84% или от около 85% до около 89%. Некоторые легкие цепи подпадают под определение МНН ВОЗ от 2014 года и, например, на около 81% 82%, 83% или 84% идентичны последовательностям зародышевой линии человека, в то время как другие легкие цепи соответствуют определению МНН ВОЗ от 2014 года и на около 85%, 86%, 87%, 88%, 89% или большее число процентов идентичны последовательностям зародышевой линии человека. Некоторые представленные в данном документе гуманизированные антитела, которые являются «химерными» в соответствии с определением МНН ВОЗ от 2014 года, имеют тяжелые цепи с менее чем 85% идентичностью с последовательностями зародышевой линии человека в паре с легкими цепями, имеющими менее 85% идентичности с последовательностями зародышевой линии человека. Некоторые представленные в данном документе гуманизированные антитела являются «смешанными» в соответствии с определением МНН ВОЗ от 2014 года, например, имеющие тяжелую цепь, которая на по меньшей мере 85% идентична последовательностям зародышевой линии человека, в паре с легкой цепью, которая на по меньшей мере 85% идентична последовательностям зародышевой линии человека, или наоборот. Некоторые представленные в данном документе гуманизированные антитела соответствуют определению МНН ВОЗ 2014 года для термина «гуманизированные» и имеют тяжелую цепь, которая на по меньшей мере 85% идентична последовательностям зародышевой линии человека, в паре с легкой цепью, которая на по меньшей мере 85% идентична последовательностям зародышевой линии человека. Дополнительные гуманизированные антитела согласно данному изобретению соответствуют определению «смешанных» антител согласно МНН ВОЗ от 2014 года.

[0261] Хотя гуманизированные антитела часто включают в себя все шесть CDR (определенных на основании любого стандартного определения, но предпочтительно определенных по Кабату) из антитела мыши, они также могут быть получены с меньшим

числом CDR, чем все CDR (например, по меньшей мере 3, 4 или 5 CDR) из антитела мыши (например, работы Pascalis et al., J. Immunol. 169:3076, 2002; Vajdos et al., J. of Mol. Biol., 320: 415-428, 2002; Iwahashi et al., Mol. Immunol. 36:1079-1091, 1999; Tamura et al., J. Immunol., 164:1432-1441, 2000).

[0262] В некоторых антителах только часть CDR, а именно подмножество остатков CDR, необходимых для связывания, называемых SDR, необходимы для сохранения связывания в гуманизированном антителе. Остатки CDR, не вступающие в контакт с антигеном и не находящиеся в SDR, можно идентифицировать на основании предшествующих исследований (например, остатки H60-H65 в CDR H2 часто не требуются), из областей CDR по Кабату, лежащих вне гипервариабельных петель по Чотиа (Chothia, J. Mol. Biol. 196:901, 1987), с помощью молекулярного моделирования и/или эмпирическим путем, или как описано в работе Gonzales et al., Mol. Immunol. 41: 863, 2004. В таких гуманизированных антителах в положениях, в которых отсутствуют один или большее число остатков донорных CDR или в которых опущены целые донорные CDR, аминокислота, занимающая это положение, может быть аминокислотой, занимающей соответствующее положение (согласно нумерации по Кабату) в последовательности акцепторного антитела. Число таких замещений акцептора для донорных аминокислот в CDR, которые необходимо включить, отражает баланс конкурирующих соображений. Такие замещения потенциально полезны для уменьшения числа аминокислот мыши в гуманизированном антителе и, следовательно, для снижения потенциальной иммуногенности, и/или для соответствия определению МНН ВОЗ для «гуманизированных» антител. Однако замещения также могут вызывать изменения аффинности, и предпочтительно избегать значительного снижения аффинности. Положения для замещений в CDR и аминокислоты для замещений можно также выбирать эмпирическим путем.

[0263] Последовательности акцепторного антитела человека необязательно могут быть выбраны из многих известных последовательностей антител человека для обеспечения высокой степени идентичности последовательностей (например, идентичности на 65-85%) между каркасами вариабельной области акцепторной последовательности человека и соответствующими каркасами вариабельной области цепи донорного антитела.

[0264] Некоторые гуманизированные и химерные антитела обладают одинаковыми (в пределах экспериментальной ошибки) или улучшенными функциональными свойствами, например, аффинностью связывания с тау человека, ингибированием интернализации тау в нейроны, что можно исследовать так, как описано в примерах в

публикации США 2020/0369755 A1, как антитела мыши, из которых они были получены. Например, некоторые гуманизированные и химерные антитела обладают аффинностью связывания в пределах фактора кратности, составляющего 3, 2 или 1, по сравнению с антителом мыши, из которого они были получены, или аффинностью, неразличимой между ними в пределах экспериментальной ошибки. Некоторые гуманизированные и химерные антитела ингибируют интернализацию тау в нейроны, что можно исследовать так, как описано в примерах в публикации США 2020/0369755 A1, в пределах фактора кратности, составляющего 3, 2 или 1, по сравнению с антителом мыши, из которого они были получены, или ингибируют то же с показателем, который в пределах экспериментальной ошибки равен таковому для антитела мыши, из которого они были получены. Некоторые гуманизированные антитела проявляют сниженную иммуногенность, повышенную аффинность, повышенную термостабильность и/или улучшенную экспрессию по сравнению с ранее описанными гуманизированными формами антитела 3D6 (см. WO 2017/191560 и публикацию США 2020/0369755 A1). hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4 продемонстрировало улучшенную аффинность, на что указывают скорость прямой реакции, скорость обратной реакции и показатели K_d , по сравнению с родительским антителом hu3D6VHv1bA11/ hu3D6VLv2. hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4 продемонстрировало более высокие термостабильность и титр по сравнению с родительским антителом hu3D6VHv1bA11/ hu3D6VLv2 (см. публикацию US 2020/0369755 A1). Некоторые антитела согласно данному изобретению связывают конкретные изоформы тау с высокой аффинностью согласно результатам измерений с помощью поверхностного плазмонного резонанса. Например, hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4 связывает 3R2N-тау (Swiss-prot ID: P10636-5) и 4R2N-тау (Swiss-prot ID: P10636-8) с показателем K_D , составляющим 154 пМ и 206 пМ, соответственно.

[0265] Примером акцепторной последовательности для тяжелой цепи является переменная область зрелой тяжелой цепи человека гуманизированного Fab 48G7 с кодом доступа PDB 2RCS-VH_huFrwk (SEQ ID NO:75). Переменные домены Fab 3D6 и 48G7 также имеют одинаковую длину для петель CDR-H1, H2. Примером акцепторной последовательности для тяжелой цепи является переменная область зрелой тяжелой цепи человека IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ ID NO:25). IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ ID NO:25) обладает той же канонической формой CDR-H1 и H2 тяжелой цепи, что и 3D6 мыши. IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ ID NO:25) относится к тяжелой цепи человека, подгруппе 1. Примером акцепторной последовательности для легкой цепи является переменная область зрелой легкой цепи человека с кодом доступа PDB для антитела человека ARX71335 VL (SEQ ID NO:82). Переменный домен легкой цепи антитела 3D6

и антитела ARX71335 также имеет одинаковую длину для петель CDR-L1, L2 и L3. Примером акцепторной последовательности легкой цепи является переменная область зрелой легкой цепи человека с IMGT#IGKV2-30*02 (SEQ ID NO:27). IMGT#IGKV2-30*02 (SEQ ID NO:27) имеет те же канонические классы для CDR-L1, CDR-L2 и L3, что и 3D6 мыши. IMGT#IGKV2-30*02 (SEQ ID NO:27) относится к подгруппе каппа 2 человека.

[0266] Если выбрана больше чем одна последовательность акцепторного антитела человека, можно использовать композит или гибрид этих акцепторов, и аминокислоты, используемые в различных положениях переменных областей гуманизированной легкой цепи и тяжелой цепи, могут быть взяты из любой используемых последовательностей акцепторного антитела человека. Например, переменные области зрелой тяжелой цепи человека из IMGT#IGHV1-69-2*01 (SEQ ID NO:25) и с кодом доступа PDB № 2RCS-VH_huFrwk (SEQ ID NO:75) были использованы в качестве акцепторных последовательностей для гуманизации переменной области зрелой тяжелой цепи 3D6. Примером положений, в которых различаются данные два акцептора, является положение H17 (T или S). Гуманизированные версии переменной области тяжелой цепи 3D6 могут включать в себя любую аминокислоту в данном положении. Например, переменные области зрелой легкой цепи человека из IMGT#IGKV2-30*02 (SEQ ID NO:27) и с кодом PDB № ARX71335-VL_huFrwk (SEQ ID NO:82) были использованы в качестве акцепторных последовательностей для гуманизации переменной области зрелой легкой цепи 3D6. Примером положения, в котором различаются данные два акцептора, является положение L100 (Q или A). Гуманизированные версии переменной области легкой цепи 3D6 могут включать в себя любую аминокислоту в любом из данных положений.

[0267] Определенные аминокислоты из каркасных остатков зрелой переменной области человека можно выбрать для замены на основании их возможного влияния на конформацию CDR и/или связывание с антигеном. Исследование такого возможного влияния выполняют путем моделирования, изучения характеристик аминокислот в конкретных положениях, или путем эмпирического наблюдения влияния замещения или мутагенеза конкретных аминокислот.

[0268] Например, если аминокислота отличается между каркасным остатком зрелой переменной области мыши и каркасным остатком зрелой переменной области человека, каркасную аминокислоту человека можно заменить эквивалентной каркасной аминокислотой антитела мыши, если есть основания ожидать, что данная аминокислота:

- (1) нековалентно связывает антиген напрямую;
- (2) примыкает к области CDR или находится внутри CDR согласно определению по Чотиа, но не по Кабату;

(3) иным образом взаимодействует с областью CDR (например, находится в пределах около 6 Å от области CDR) (например, как идентифицировано путем моделирования легкой или тяжелой цепи на решенной структуре известной гомологичной цепи иммуноглобулина); или

(4) представляет собой остаток, участвующий в области контакта VL-VH.

[0269] В одном варианте осуществления гуманизированные последовательности генерируют с использованием протокола двухэтапной ПЦР, который позволяет вводить множественные мутации, делеции и вставки с использованием сайт-направленного мутагена QuikChange. [Wang, W. and Malcolm, B.A. (1999) *BioTechniques* 26: 680-682)].

[0270] Каркасные остатки из классов с (1) по (3), как определено Queen, US 5530101, иногда в качестве альтернативы называют каноническими и верньерными остатками. Каркасные остатки, которые помогают определить конформацию петли CDR, иногда называют каноническими остатками (Chothia & Lesk, *J. Mol. Biol.* 196: 901-917 (1987); Thornton & Martin, *J. Mol. Biol.* 263:800-815 (1996)). Каркасные остатки, которые поддерживают конформации антигенсвязывающей петли и играют роль в точной настройке соответствия антитела антигену, иногда называют верньерными остатками (Foote & Winter, *J. Mol. Biol.* 224: 487-499 (1992)).

[0271] Другие каркасные остатки, которые являются кандидатами для замещения, представляют собой остатки, создающие потенциальный сайт гликозилирования. Еще другие кандидаты для замещения представляют собой акцепторные аминокислоты каркасной области человека, которые необычны для иммуноглобулина человека в данном положении. Данные аминокислоты могут быть замещены аминокислотами из эквивалентного положения донорного антитела мыши или из эквивалентных положений более типичных иммуноглобулинов человека.

[0272] Другие каркасные остатки, которые являются кандидатами для замещения, представляют собой N-концевые остатки глутамина (Q), которые можно заместить глутаминовой кислотой (E), чтобы минимизировать возможность превращения в пироглутамат [Y. Diana Liu, et al., 2011, *J. Biol. Chem.*, 286: 11211-11217]. Превращение глутаминовой кислоты (E) в пироглутамат (pE) происходит медленнее, чем из глутамина (Q). Из-за потери первичного амина при превращении глутамина в pE антитела становятся более кислыми. Неполное превращение вызывает гетерогенность антитела, которую можно наблюдать в виде множественных пиков при использовании аналитических способов, основанных на заряде. Различия в гетерогенности могут указывать на отсутствие контроля над процессом.

[0273] Иллюстративные гуманизированные антитела представляют собой гуманизированные формы 3D6 мыши, обозначенные как «Hu3D6».

[0274] Антитело 3D6 мыши содержит зрелые переменные области тяжелых и легких цепей, имеющие аминокислотные последовательности, содержащие SEQ ID NO:7 и SEQ ID NO:11, соответственно. В данном изобретении представлены гуманизированные формы антитела 3D6 мыши, включительно с 10 иллюстративными зрелыми переменными областями тяжелой цепи (hu3D6VHvb1 (SEQ ID NO:76), hu3D6VHvb2 (SEQ ID NO:77), hu3D6VHvb3 (SEQ ID NO:78), hu3D6VHvb4 (SEQ ID NO:79), hu3D6VHvb5 (SEQ ID NO:80), hu3D6VHvb6 (SEQ ID NO:90), hu3D6VHvb7 (SEQ ID NO:91), hu3D6VHv1bA11 D60E (h3D6VHvb8, SEQ ID NO:146), hu3D6VHv1bA11 L82cV (SEQ ID NO:147) и hu3D6VHv1bA11 D60E_L80M_Q81E_L82cV_T83R (h3D6VHvb9, SEQ ID NO:148)), и 56 иллюстративными зрелыми переменными областями легкой цепи (hu3D6VLvb1 (SEQ ID NO:83), hu3D6VLvb2 (SEQ ID NO:84), hu3D6VLvb3 (SEQ ID NO:85), hu3D6VLv2 L54D (SEQ ID NO:93), hu3D6VLv2 L54G (SEQ ID NO:94), hu3D6VLv2 L54N (SEQ ID NO:95), hu3D6VLv2 L54E (SEQ ID NO:96), hu3D6VLv2 L50E (SEQ ID NO:97), hu3D6VLv2 L54Q (SEQ ID NO:98), hu3D6VLv2 L50D (SEQ ID NO:99), hu3D6VLv2 L54K (SEQ ID NO:100), hu3D6VLv2 L54R (SEQ ID NO:101), hu3D6VLv2 L54T (SEQ ID NO:102), hu3D6VLv2 L50G (SEQ ID NO:103), hu3D6VLv2 I48G (SEQ ID NO:104), hu3D6VLv2 I48D (SEQ ID NO:105), hu3D6VLv2 L47G (SEQ ID NO:106), hu3D6VLv2 Y49E (SEQ ID NO:107), hu3D6VLv2 L54V (SEQ ID NO:108), hu3D6VLv2 L54S (SEQ ID NO:109), hu3D6VLv2 S52G (SEQ ID NO:110), hu3D6VLv2 L47N (SEQ ID NO:111), hu3D6VLv2 L47D (SEQ ID NO:112), hu3D6VLv2 L47E (SEQ ID NO:113), hu3D6VLv2 L47P (SEQ ID NO:114), hu3D6VLv2 L47T (SEQ ID NO:115), hu3D6VLv2 L47S (SEQ ID NO:116), hu3D6VLv2 L47A (SEQ ID NO:117), hu3D6VLv2 L50V (SEQ ID NO:118), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R (SEQ ID NO:119), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G (SEQ ID NO:120), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G (SEQ ID NO:121), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R (SEQ ID NO:122), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T (SEQ ID NO:123), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D (SEQ ID NO:124), hu3D6VLv2 L37Q_L54R (SEQ ID NO:125), hu3D6VLv2 L37Q_L54G (SEQ ID NO:126), hu3D6VLv2 L37Q_L54D (SEQ ID NO:127), hu3D6VLv2 L37Q_L50G (SEQ ID NO:128), hu3D6VLv2 L37Q_L50D (SEQ ID NO:129), hu3D6VLv2 L37Q_L54T (SEQ ID NO:130), hu3D6VLv2 L37Q_S52G (SEQ ID NO:131), hu3D6VLv2 L37Q_L54E (SEQ ID NO:145), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G (SEQ ID NO:132), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R (SEQ ID NO:133), hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54G (SEQ ID NO:134), hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R (SEQ ID NO:135), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q (SEQ ID NO:136), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q (SEQ ID NO:137), hu3D6VLv2

L37Q_S52G_L54R_G100Q (SEQ ID NO:138), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q (SEQ ID NO:139), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q (SEQ ID NO:140), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q (SEQ ID NO:141), hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q (SEQ ID NO:142), hu3D6VLv2 L37Q (SEQ ID NO:143) и hu3D6VLv2 G100Q (SEQ ID NO:144)).

[0275] На фиг. 2 и 3 в публикации США 2020/0369755 A1 показано выравнивание переменной области тяжелой цепи и переменной области легкой цепи, соответственно, для антитела 3D6 мыши и различных гуманизированных антител. На фиг. 9A и 9B в публикации США 2020/0369755 A1 показано выравнивание переменной области тяжелой цепи для антитела 3D6 мыши с переменной областью тяжелой цепи различных гуманизированных антител. На фиг. 10A, 10B, 10C и 10D в публикации США 2020/0369755 A1 показано выравнивание переменной области легкой цепи hu3D6VLv2 с переменной областью легкой цепи различных гуманизированных антител.

[0276] По таким причинам, как возможное влияние на конформацию CDR и/или связывание с антигеном, опосредование взаимодействия между тяжелой и легкой цепями, взаимодействие с константной областью, представление собой участка для желаемой или нежелательной посттрансляционной модификации, представление собой необычного остатка для своего положения в последовательности переменной области человека и, следовательно, потенциальной иммуногенности, влияние на потенциальную агрегацию и по другим причинам, следующие 35 каркасных положений переменной области рассматривались как кандидаты для замещений в 56 иллюстративных переменных областях зрелой легкой цепи человека и 10 иллюстративных переменных областях зрелой тяжелой цепи человека, как дополнительно указано в примерах из публикации США 2020/0369755 A1: L7 (T7S), L10 (T10S), L15 (I15L), L17 (Q17E), L37 (L37Q), L45 (K45R), L47 (L47G, L47N, L47D, L47E, L47P, L47T, L47S, or L47A), L48 (I48G or I48D), L49 (Y49E), L83 (L83V), L86 (H86Y), L100 (A100Q), L106 (L106I), H1 (Q1E), H5 (Q5V), H11 (L11V), H17 (S17T), H20 (L20I), H23 (T23K), H38 (K38R), H42 (E42G), H43 (Q43K), H66 (K66R), H67 (A67V), H75 (S75T), H76 (N76D), H80 (L80M), H81 (Q81E), H82c (L82cV), H83 (T83R), H91 (Y91F), H93 (A93S), H94 (S94T), H108 (T108L) и H109 (L109V). Следующие 9 положений CDR переменной области рассматривались как кандидаты для замещений в 56 иллюстративных переменных областях зрелой легкой цепи человека и в 10 иллюстративных переменных областях зрелой тяжелой цепи человека, как дополнительно указано в примерах в публикации США 2020/0369755 A1: L24 (K24R), L50 (L50E, L50D, L50G, or L50V), L52 (S52G), L54 (L54D, L54G, L54N, L54E, L54Q, L54K, L54R, L54T, L54V, or L54S), H28 (N28T), H54 (N54D), H56 (D56E), H58 (V58I) и H60 (D60E). В некоторых гуманизированных антителах 3D6 область CDR-H2 по Кабату имеет

аминокислотную последовательность, содержащую SEQ ID NO:87. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 область CDR-H2 по Кабату имеет аминокислотную последовательность, содержащую SEQ ID NO:149. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 область CDR-H1 по композиту Кабат – Чотиа имеет аминокислотную последовательность, содержащую SEQ ID NO:86, и область CDR-H2 по Кабату имеет аминокислотную последовательность, содержащую SEQ ID NO:87. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 область CDR-H1 по композиту Кабат – Чотиа имеет аминокислотную последовательность, содержащую SEQ ID NO:86, и область CDR-H2 по Кабату имеет аминокислотную последовательность, содержащую SEQ ID NO:88. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 область CDR-H1 по композиту Кабат – Чотиа имеет аминокислотную последовательность, содержащую SEQ ID NO:86, и область CDR-H2 по Кабату имеет аминокислотную последовательность, содержащую SEQ ID NO:92. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 область CDR-L1 по Кабату имеет аминокислотную последовательность, содержащую SEQ ID NO:89. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 область CDR-L2 по Кабату содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:150-175.

[0277] Здесь, как и везде по тексту, первый указанный остаток представляет собой остаток гуманизированного антитела, образованный путем трансплантации CDR по Кабату или, в случае CDR-H1, CDR по композиту Кабат – Чотиа в акцепторный каркасный участок человека, а второй указанный остаток представляет собой остаток, рассматриваемый для замещения такого остатка. Следовательно, в каркасных участках варибельной области первый указанный остаток является происходящим от человека, а в CDR первым указанным остатком является происходящий от мыши.

[0278] Иллюстративные антитела включают в себя любые перестановки или комбинации иллюстративных зрелых варибельных областей тяжелых и легких цепей VHvb1/VLvb1, VHvb1/VLvb2, VHvb1/VLvb3, VHvb2/VLvb1, VHvb2/VLvb2, VHvb2/VLvb3, VHvb3/VLvb1, VHvb3/VLvb2, VHvb3/VLvb3, VHvb4/VLvb1, VHvb4/VLvb2, VHvb4/VLvb3, VHvb5/VLvb1, VHvb5/VLvb2, VHvb5/VLvb3, VHvb6/VLvb1, VHvb6/VLvb2, VHvb6/VLvb3, VHvb7/VLvb1, VHvb7/VLvb2, VHvb7/VLvb3. Иллюстративные антитела включают в себя любые перестановки или комбинации иллюстративных зрелых варибельных областей тяжелых цепей hu3D6VHvb1 (SEQ ID NO:76), hu3D6VHvb2 (SEQ ID NO:77), hu3D6VHvb3 (SEQ ID NO:78), hu3D6VHvb4 (SEQ ID NO:79), hu3D6Hvb5 (SEQ ID NO:80), hu3D6VHvb6 (SEQ ID NO:90), hu3D6VHvb7 (SEQ ID NO:91), hu3D6VHvb7 (SEQ ID NO:91), hu3D6VHv1bA11 D60E (h3D6VHvb8, SEQ ID NO:146), hu3D6VHv1bA11 L82cV (SEQ ID NO:147) и

hu3D6VHv1bA11 D60E_L80M_Q81E_L82cV_T83R (h3D6VHvb9, SEQ ID NO:148) с любыми из переменных областей легких цепей гуманизированных 3D6VL hu3D6VLvb1 (SEQ ID NO:83), hu3D6VLvb2 (SEQ ID NO:84), hu3D6VLvb3 (SEQ ID NO:85), hu3D6VLv2 L54D (SEQ ID NO:93), hu3D6VLv2 L54G (SEQ ID NO:94), hu3D6VLv2 L54N (SEQ ID NO:95), hu3D6VLv2 L54E (SEQ ID NO:96), hu3D6VLv2 L50E (SEQ ID NO:97), hu3D6VLv2 L54Q (SEQ ID NO:98), hu3D6VLv2 L50D (SEQ ID NO:99), hu3D6VLv2 L54K (SEQ ID NO:100), hu3D6VLv2 L54R (SEQ ID NO:101), hu3D6VLv2 L54T (SEQ ID NO:102), hu3D6VLv2 L50G (SEQ ID NO:103), hu3D6VLv2 I48G (SEQ ID NO:104), hu3D6VLv2 I48D (SEQ ID NO:105), hu3D6VLv2 L47G (SEQ ID NO:106), hu3D6VLv2 Y49E (SEQ ID NO:107), hu3D6VLv2 L54V (SEQ ID NO:108), hu3D6VLv2 L54S (SEQ ID NO:109), hu3D6VLv2 S52G (SEQ ID NO:110), hu3D6VLv2 L47N (SEQ ID NO:111), hu3D6VLv2 L47D (SEQ ID NO:112), hu3D6VLv2 L47E (SEQ ID NO:113), hu3D6VLv2 L47P (SEQ ID NO:114), hu3D6VLv2 L47T (SEQ ID NO:115), hu3D6VLv2 L47S (SEQ ID NO:116), hu3D6VLv2 L47A (SEQ ID NO:117), hu3D6VLv2 L50V (SEQ ID NO:118), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R (SEQ ID NO:119), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G (SEQ ID NO:120), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G (SEQ ID NO:121), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R (SEQ ID NO:122), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T (SEQ ID NO:123), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D (SEQ ID NO:124), hu3D6VLv2 L37Q_L54R (SEQ ID NO:125), hu3D6VLv2 L37Q_L54G (SEQ ID NO:126), hu3D6VLv2 L37Q_L54D (SEQ ID NO:127), hu3D6VLv2 L37Q_L50G (SEQ ID NO:128), hu3D6VLv2 L37Q_L50D (SEQ ID NO:129), hu3D6VLv2 L37Q_L54T (SEQ ID NO:130), hu3D6VLv2 L37Q_S52G (SEQ ID NO:131), hu3D6VLv2 L37Q_L54E (SEQ ID NO:145), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G (SEQ ID NO:132), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R (SEQ ID NO:133), hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54G (SEQ ID NO:134), hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R (SEQ ID NO:135), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q (SEQ ID NO:136), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q (SEQ ID NO:137), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q (SEQ ID NO:138), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q (SEQ ID NO:139), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q (SEQ ID NO:140), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q (SEQ ID NO:141), hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q (SEQ ID NO:142), hu3D6VLv2 L37Q (SEQ ID NO:143) и hu3D6VLv2 G100Q (SEQ ID NO:144).

[0279] Иллюстративные антитела включают в себя любые перестановки или комбинации иллюстративных зрелых переменных областей тяжелых цепей hu3D6VHvb1 (SEQ ID NO:76), hu3D6VHvb2 (SEQ ID NO:77), hu3D6VHvb3 (SEQ ID NO:78), hu3D6VHvb4 (SEQ ID NO:79), hu3D6Hvb5 (SEQ ID NO:80), hu3D6VHvb6 (SEQ ID NO:90), hu3D6VHvb7 (SEQ ID NO:91), hu3D6VHvb7 (SEQ ID NO:91), hu3D6VHv1bA11 D60E (h3D6VHvb8, SEQ ID NO:146), hu3D6VHv1bA11 L82cV (SEQ ID NO:147) и

hu3D6VHv1bA11 D60E_L80M_Q81E_L82cV_T83R (h3D6VHvb9, SEQ ID NO:148) с любыми из переменных областей легких цепей гуманизированных 3D6VL hu3D6VLv1 (SEQ ID NO:20), hu3D6VLv2 (SEQ ID NO:21), hu3D6VLv3 (SEQ ID NO:22) и hu3D6VLv4 (SEQ ID NO:22). Иллюстративные антитела включают в себя любые перестановки или комбинации иллюстративных зрелых переменных областей легких цепей hu3D6VLvb1 (SEQ ID NO:83), hu3D6VLvb2 (SEQ ID NO:84), hu3D6VLvb3 (SEQ ID NO:85), hu3D6VLv2 L54D (SEQ ID NO:93), hu3D6VLv2 L54G (SEQ ID NO:94), hu3D6VLv2 L54N (SEQ ID NO:95), hu3D6VLv2 L54E (SEQ ID NO:96), hu3D6VLv2 L50E (SEQ ID NO:97), hu3D6VLv2 L54Q (SEQ ID NO:98), hu3D6VLv2 L50D (SEQ ID NO:99), hu3D6VLv2 L54K (SEQ ID NO:100), hu3D6VLv2 L54R (SEQ ID NO:101), hu3D6VLv2 L54T (SEQ ID NO:102), hu3D6VLv2 L50G (SEQ ID NO:103), hu3D6VLv2 I48G (SEQ ID NO:104), hu3D6VLv2 I48D (SEQ ID NO:105), hu3D6VLv2 L47G (SEQ ID NO:106), hu3D6VLv2 Y49E (SEQ ID NO:107), hu3D6VLv2 L54V (SEQ ID NO:108), hu3D6VLv2 L54S (SEQ ID NO:109), hu3D6VLv2 S52G (SEQ ID NO:110), hu3D6VLv2 L47N (SEQ ID NO:111), hu3D6VLv2 L47D (SEQ ID NO:112), hu3D6VLv2 L47E (SEQ ID NO:113), hu3D6VLv2 L47P (SEQ ID NO:114), hu3D6VLv2 L47T (SEQ ID NO:115), hu3D6VLv2 L47S (SEQ ID NO:116), hu3D6VLv2 L47A (SEQ ID NO:117), hu3D6VLv2 L50V (SEQ ID NO:118), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R (SEQ ID NO:119), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G (SEQ ID NO:120), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G (SEQ ID NO:121), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R (SEQ ID NO:122), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T (SEQ ID NO:123), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D (SEQ ID NO:124), hu3D6VLv2 L37Q_L54R (SEQ ID NO:125), hu3D6VLv2 L37Q_L54G (SEQ ID NO:126), hu3D6VLv2 L37Q_L54D (SEQ ID NO:127), hu3D6VLv2 L37Q_L50G (SEQ ID NO:128), hu3D6VLv2 L37Q_L50D (SEQ ID NO:129), hu3D6VLv2 L37Q_L54T (SEQ ID NO:130), hu3D6VLv2 L37Q_S52G (SEQ ID NO:131), hu3D6VLv2 L37Q_L54E (SEQ ID NO:145), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G (SEQ ID NO:132), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R (SEQ ID NO:133), hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54G (SEQ ID NO:134), hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R (SEQ ID NO:135), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q (SEQ ID NO:136), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q (SEQ ID NO:137), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q (SEQ ID NO:138), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q (SEQ ID NO:139), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q (SEQ ID NO:140), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q (SEQ ID NO:141), hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q (SEQ ID NO:142), hu3D6VLv2 L37Q (SEQ ID NO:143) и hu3D6VLv2 G100Q (SEQ ID NO:144) с любыми из переменных областей тяжелых цепей гуманизированных 3D6 hu3D6VHv1 (SEQ ID NO:15); hu3D6VHv2 (SEQ ID NO:16); hu3D6VHv1b (SEQ ID NO:17); hu3D6VHv1bA11 (SEQ ID NO:18); hu3D6VHv5 (SEQ ID NO:19); hu3D6VHv1bA11B6G2

(SEQ ID NO:46); hu3D6VHv1bA11B6H3 (SEQ ID NO:47); hu3D6VHv1c (SEQ ID NO:48); hu3D6VHv1d (SEQ ID NO:49); hu3D6VHv1e (SEQ ID NO:50); hu3D6VHv1f (SEQ ID NO:51); hu3D6VHv3 (SEQ ID NO:52); hu3D6VHv3b (SEQ ID NO:53); hu3D6VHv3c (SEQ ID NO:54); hu3D6VHv4 (SEQ ID NO:55); hu3D6VHv4b (SEQ ID NO:56); и hu3D6VHv4c (SEQ ID NO:57).

[0280] В данном изобретении представлено антитело, в котором гуманизованная переменная область тяжелой цепи hu3D6VHv1bA11, также известного как h3D6Hu5 (SEQ ID NO:18), комбинируется с гуманизованной переменной областью легкой цепи hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R (L2-DIM4, SEQ ID NO:122). В данном изобретении представлено антитело, в котором гуманизованная переменная область тяжелой цепи hu3D6VHv1bA11, также известного как h3D6Hu5 (SEQ ID NO:18), комбинируется с гуманизованной переменной областью легкой цепи hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T (L2-DIM5, SEQ ID NO:123). В данном изобретении представлено антитело, в котором гуманизованная переменная область тяжелой цепи h3D6VHvb8 (SEQ ID NO:146) комбинируется с гуманизованной переменной областью легкой цепи hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R (L2-DIM4, SEQ ID NO:122). В данном изобретении представлено антитело, в котором гуманизованная переменная область тяжелой цепи hu3D6VHv1bA11, также известного как h3D6Hu5 (SEQ ID NO:18), комбинируется с гуманизованной переменной областью легкой цепи hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G (L2-DIM3, SEQ ID NO:121). В данном изобретении представлено антитело, в котором гуманизованная переменная область тяжелой цепи hu3D6VHv1bA11, также известного как h3D6Hu5, (SEQ ID NO:18), комбинируется с гуманизованной переменной областью легкой цепи hu3D6VLv2 S52G (L2-DIM9, SEQ ID NO:110). В данном изобретении представлено антитело, в котором гуманизованная переменная область тяжелой цепи h3D6VHvb8 (SEQ ID NO:146) комбинируется с гуманизованной переменной областью легкой цепи hu3D6VLv2 L54G (L2-DIM7, SEQ ID NO:94). В данном изобретении представлено антитело, в котором гуманизованная переменная область тяжелой цепи hu3D6VHv1bA11, также известного как h3D6Hu5 (SEQ ID NO:18), комбинируется с гуманизованной переменной областью легкой цепи hu3D6VLv2 L50G (L2-DIM22, SEQ ID NO:103).

[0281] В данном изобретении представлено антитело, в котором любая из иллюстративных гуманизованных переменных областей тяжелой цепи комбинируется с константной областью тяжелой цепи человека. Иллюстративная константная область тяжелой цепи человека представлена в SEQ ID NO:176 (IgG1: аллотип G1m17,1). Например, в SEQ ID NO:178 представлена аминокислотная последовательность зрелой

тяжелой цепи гуманизованного варианта 3D6 (hu3D6VHv1bA11, аллотип IgG1 G1m17). Например, в SEQ ID NO:180 представлена аминокислотная последовательность тяжелой цепи гуманизованного варианта 3D6 (hu3D6VHv1bA11, аллотип IgG1 G1m17) с сигнальным пептидом – бычьим альфа-лактальбумином на N-конце. В данном изобретении представлено антитело, в котором любая из иллюстративных гуманизованных переменных областей легкой цепи комбинируется с константной областью легкой цепи человека. Иллюстративная константная область легкой цепи человека представлена в SEQ ID NO:177 (каппа). Например, в SEQ ID NO:179 представлена аминокислотная последовательность зрелой легкой цепи гуманизованного варианта 3D6 (варианта hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R, L2-DIM4 каппа). Например, в SEQ ID NO:181 представлена аминокислотная последовательность легкой цепи гуманизованного варианта 3D6 (варианта hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R, L2-DIM4 каппа) с сигнальным пептидом – бычьим альфа-лактальбумином на N-конце.

[0282] В данном изобретении представлены варианты гуманизованного антитела 3D6, в котором зрелая гуманизованная переменная область тяжелой цепи на по меньшей мере 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична hu3D6VHvb1 (SEQ ID NO:76), hu3D6VHvb2 (SEQ ID NO:77), hu3D6VHvb3 (SEQ ID NO:78), hu3D6VHvb4 (SEQ ID NO:79), hu3D6Hvb5 (SEQ ID NO:80), hu3D6VHvb6 (SEQ ID NO:90), hu3D6VHvb7 (SEQ ID NO:91), hu3D6VHvb7 (SEQ ID NO:91), hu3D6VHv1bA11 D60E (h3D6VHvb8, SEQ ID NO:146), hu3D6VHv1bA11 L82cV (SEQ ID NO:147) или hu3D6VHv1bA11 D60E_L80M_Q81E_L82cV_T83R (h3D6VHvb9, SEQ ID NO:148), и зрелая гуманизованная переменная область легкой цепи на по меньшей мере 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична hu3D6VLvb1 (SEQ ID NO:83), hu3D6VLvb2 (SEQ ID NO:84), hu3D6VLvb3 (SEQ ID NO:85), hu3D6VLv2 L54D (SEQ ID NO:93), hu3D6VLv2 L54G (SEQ ID NO:94), hu3D6VLv2 L54N (SEQ ID NO:95), hu3D6VLv2 L54E (SEQ ID NO:96), hu3D6VLv2 L50E (SEQ ID NO:97), hu3D6VLv2 L54Q (SEQ ID NO:98), hu3D6VLv2 L50D (SEQ ID NO:99), hu3D6VLv2 L54K (SEQ ID NO:100), hu3D6VLv2 L54R (SEQ ID NO:101), hu3D6VLv2 L54T (SEQ ID NO:102), hu3D6VLv2 L50G (SEQ ID NO:103), hu3D6VLv2 I48G (SEQ ID NO:104), hu3D6VLv2 I48D (SEQ ID NO:105), hu3D6VLv2 L47G (SEQ ID NO:106), hu3D6VLv2 Y49E (SEQ ID NO:107), hu3D6VLv2 L54V (SEQ ID NO:108), hu3D6VLv2 L54S (SEQ ID NO:109), hu3D6VLv2 S52G (SEQ ID NO:110), hu3D6VLv2 L47N (SEQ ID NO:111), hu3D6VLv2 L47D (SEQ ID NO:112), hu3D6VLv2 L47E (SEQ ID NO:113), hu3D6VLv2 L47P (SEQ ID NO:114), hu3D6VLv2 L47T (SEQ ID NO:115), hu3D6VLv2 L47S (SEQ ID NO:116), hu3D6VLv2 L47A (SEQ ID NO:117), hu3D6VLv2 L50V (SEQ ID NO:118), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R (SEQ ID NO:119), hu3D6VLv2

L37Q_L50G_L54G (SEQ ID NO:120), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G (SEQ ID NO:121), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R (SEQ ID NO:122), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T (SEQ ID NO:123), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D (SEQ ID NO:124), hu3D6VLv2 L37Q_L54R (SEQ ID NO:125), hu3D6VLv2 L37Q_L54G (SEQ ID NO:126), hu3D6VLv2 L37Q_L54D (SEQ ID NO:127), hu3D6VLv2 L37Q_L50G (SEQ ID NO:128), hu3D6VLv2 L37Q_L50D (SEQ ID NO:129), hu3D6VLv2 L37Q_L54T (SEQ ID NO:130), hu3D6VLv2 L37Q_S52G (SEQ ID NO:131), hu3D6VLv2 L37Q_L54E (SEQ ID NO:145), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G (SEQ ID NO:132), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R (SEQ ID NO:133), hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54G (SEQ ID NO:134), hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R (SEQ ID NO:135), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q (SEQ ID NO:136), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q (SEQ ID NO:137), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q (SEQ ID NO:138), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q (SEQ ID NO:139), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q (SEQ ID NO:140), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q (SEQ ID NO:141), hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q (SEQ ID NO:142), hu3D6VLv2 L37Q (SEQ ID NO:143) или hu3D6VLv2 G100Q (SEQ ID NO:144). В некоторых таких антителах сохранены по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43 или все 44 положения обратных мутаций или других мутаций в SEQ ID NO:76-80, SEQ ID NO:90-91, SEQ ID NO:146-148, SEQ ID NO:83-85 и SEQ ID NO:93-145.

[0283] В некоторых гуманизированных антителах 3D6 по меньшей мере одно из следующих положений в области VH занято аминокислотой, как указано: Н93 занято S и Н94 занято T. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения Н93 и Н94 заняты S и T, соответственно.

[0284] В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение Н91 в области VH занято F.

[0285] В некоторых гуманизированных антителах 3D6 по меньшей мере одно из следующих положений в области VH занято аминокислотой, как указано: Н1 занято E, Н5 занято V, Н11 занято V, Н20 занято I, Н23 занято K, Н38 занято R, Н42 занято G, Н43 занято K, Н66 занято R, Н75 занято T, Н76 занято D, Н81 занято E, Н108 занято L, Н109 занято V. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения Н1, Н5, Н11, Н20, Н23, Н38, Н42, Н43, Н66, Н75, Н76, Н81, Н108 и Н109 в области VH заняты E, V, V, I, K, R, G, K, R, T, D, E, L и V, соответственно.

[0286] В некоторых гуманизированных антителах 3D6 по меньшей мере одно из следующих положений в области VH занято аминокислотой, как указано: Н17 занято T, Н80 занято M, Н83 занято R. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения

H17, H80 и H83 в области VH заняты T, M и R, соответственно.

[0287] В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение H58 в области VH занято I.

[0288] В некоторых гуманизированных антителах 3D6 по меньшей мере одно из следующих положений в области VH занято аминокислотой, как указано: H28 занято T, H67 занято V. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения H28 и H67 в области VH заняты T и V, соответственно.

[0289] В некоторых гуманизированных антителах 3D6 по меньшей мере одно из следующих положений в области VH занято аминокислотой, как указано: H54 занято D, H56 занято E. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения H54 и H56 в области VH заняты D и E, соответственно.

[0290] В некоторых гуманизированных антителах 3D6 по меньшей мере одно из следующих положений в области VH занято аминокислотой, как указано: H1 занято Q или E, H5 занято Q или V, H11 занято L или V, H17 занято S или T, H20 занято L или I, H23 занято T или K, H28 занято N или T, H38 занято K или R, H42 занято E или G, H43 занято Q или K, H54 занято N или D, H56 занято D или E, H58 занято V или I, H66 занято K или R, H67 занято A или V, H75 занято S или T, H76 занято N или D, H80 занято L или M, H81 занято Q или E, H83 занято T или R, H91 занято F или Y, H93 занято S, H94 занято T, H108 занято T или L, H109 занято L или V.

[0291] В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения H91, H93 и H94 в области VH заняты F, S и T, соответственно, как в huVHvb1. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения H1, H5, H11, H20, H23, H38, H42, H43, H66, H75, H76, H81, H91, H93, H94, H108 и H109 в области VH заняты E, V, V, I, K, R, G, K, R, T, D, E, F, S, T, L и V, соответственно, как в huVHvb2. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения H1, H5, H11, H17, H20, H23, H38, H42, H43, H58, H66, H75, H76, H80, H81, H83, H93, H94, H108 и H109 в области VH заняты E, V, V, T, I, K, R, G, K, I, R, T, D, M, E, R, S, T, L и V, соответственно, как в huVHvb3. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения H1, H5, H11, H17, H20, H23, H28, H38, H42, H43, H58, H66, H67, H75, H76, H80, H81, H83, H93, H94, H108 и H109 в области VH заняты E, V, V, T, I, K, T, R, G, K, I, R, V, T, D, M, E, R, S, T, L и V, соответственно, как в huVHvb4. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения H1, H5, H11, H17, H20, H23, H28, H38, H42, H43, H54, H56, H58, H66, H67, H75, H76, H80, H81, H83, H93, H94, H108 и H109 в области VH заняты E, V, V, T, I, K, T, R, G, K, D, E, I, R, V, T, D, M, E, R, S, T, L и V, соответственно, как в huVHvb5. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения H1, H5, H11, H17, H20, H23, H28, H38, H42, H43, H54, H56, H66, H67,

H75, H76, H80, H81, H83, H91, H93, H94, H108 и H109 в области VH заняты E, V, V, T, I, K, T, R, G, K, D, E, R, V, T, D, M, E, R, F, S, T, L и V, соответственно, как в huVHvb6. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения H1, H5, H11, H17, H20, H23, H28, H38, H42, H43, H54, H56, H66, H67, H75, H76, H80, H81, H83, H93, H94, H108 и H109 в области VH заняты E, V, V, T, I, K, T, R, G, K, D, E, R, V, T, D, M, E, R, S, T, L и V, соответственно, как в huVHvb7.

[0292] В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение H60 занято E, как в hu3D6VHv1bA11 D60E (h3D6VHvb8). В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение H82C занято V, как в hu3D6VHv1bA11 L82cV. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения H60, H80, H81, H82c и H83 заняты E, M, E, V и R соответственно, как в hu3D6VHv1bA11 D60E_L80M_Q81E_L82cV_T83R (h3D6VHvb9).

[0293] Вариабельная область тяжелой цепи любого из указанных выше антител может быть модифицирована для дальнейшего снижения иммуногенности. Например, в некоторых гуманизированных антителах положение H80 занято M и/или положение H82c занято V.

[0294] В некоторых гуманизированных антителах 3D6 по меньшей мере одно из следующих положений в области VL занято аминокислотой, как указано: L7 занято S, L10 занято S, L15 занято L, L83 занято V, L86 занято Y и L106 занято I. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения L7, L10, L15, L83, L86 и L106 заняты S, S, L, V, Y и Y, соответственно.

[0295] В некоторых гуманизированных антителах 3D6 по меньшей мере одно из следующих положений в области VL занято аминокислотой, как указано: L7 представляет собой T или S, L10 представляет собой T или S, L15 представляет собой I или L, L17 представляет собой Q или E, L24 представляет собой K или R, L37 представляет собой L или Q, L45 представляет собой K или R, L83 представляет собой L или V, L86 представляет собой H или Y, L100 представляет собой A или Q, L106 представляет собой L или I.

[0296] В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения L7, L10, L15, L83, L86 и L106 в области VL заняты S, S, L, V, Y и I, соответственно, как в huVLvb2. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения L7, L10, L15, L17, L24, L37, L45, L83, L86, L100 и L106 в области VL заняты S, S, L, E, R, Q, R, V, Y, Q и I, соответственно, как в huVLvb3.

[0297] Вариабельная область легкой цепи любого из указанных выше антител может быть модифицирована для дальнейшего снижения иммуногенности. Например, в

некоторых гуманизированных антителах положение L47 занято G, N, D, E, P, T, S или A; положение L48 занято G или D; положение L49 занято E; положение L50 занято E, D, G или V; положение L52 занято G; и/или положение L54 занято D, G, N, E, Q, K, R, T, V или S. Вариабельная область тяжелой цепи любого из указанных выше антител может быть модифицирована для дальнейшего снижения иммуногенности. Например, в некоторых гуманизированных антителах положение H80 занято M и/или положение H82c занято V.

[0298] В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение L54 занято D, как в hu3D6VLv2 L54D. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение L54 занято G, как в hu3D6VLv2 L54G. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение L54 занято N, как в hu3D6VLv2 L54N. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение L54 занято E, как в hu3D6VLv2 L54E. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение L50 занято E, как в hu3D6VLv2 L50E. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение L54 занято Q, как в hu3D6VLv2 L54Q. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение L50 занято D, как в hu3D6VLv2 L50D. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение L54 занято K, как в hu3D6VLv2 L54K. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение L54 занято R, как в hu3D6VLv2 L54R. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение L54 занято T, как в hu3D6VLv2 L54T. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение L50 занято G, как в hu3D6VLv2 L50G. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение L48 занято G, как в hu3D6VLv2 I48G. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение L48 занято D, как в hu3D6VLv2 I48D. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение L47 занято G, как в hu3D6VLv2 L47G. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение L49 занято E, как в hu3D6VLv2 Y49E. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение L54 занято V, как в hu3D6VLv2 L54V. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение L54 занято S, как в hu3D6VLv2 L54S. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение L52 занято G, как в hu3D6VLv2 S52G. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение L47 занято N, как в hu3D6VLv2 L47N. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение L47 занято D, как в hu3D6VLv2 L47D. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение L47 занято E, как в hu3D6VLv2 L47E. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение L47 занято P, как в hu3D6VLv2 L47P. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение L47 занято T, как в hu3D6VLv2 L47T. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение L47 занято S, как в hu3D6VLv2 L47S. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение L47 занято A, как в hu3D6VLv2 L47A. В некоторых

гуманизированных антителах 3D6 положение L50 занято V, как в hu3D6VLv2 L50V.

[0299] В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения L37, L50 и L54 заняты Q, G и R, соответственно, как в hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения L37, L50 и L54 заняты Q, G и G, соответственно, как в hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения L37, L52 и L54 заняты Q, G и G, соответственно, как в hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения L37, L52 и L54 заняты Q, G и R, соответственно, как в hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения L37, L52 и L54 заняты Q, G и T, соответственно, как в hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения L37, L52 и L54 заняты Q, G и D, соответственно, как в hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D.

[0300] В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения L37 и L54 заняты Q и R, соответственно, как в hu3D6VLv2 L37Q_L54R. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения L37 и L54 заняты Q и G, соответственно, как в hu3D6VLv2 L37Q_L54G. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения L37 и L54 заняты Q и D, соответственно, как в hu3D6VLv2 L37Q_L54D. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения L37 и L50 заняты Q и G, соответственно, как в hu3D6VLv2 L37Q_L50G. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения L37 и L50 заняты Q и D, соответственно, как в hu3D6VLv2 L37Q_L50D. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения L37 и L54 заняты Q и T, соответственно, как в hu3D6VLv2 L37Q_L54T. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения L37 и L52 заняты Q и G, соответственно, как в hu3D6VLv2 L37Q_S52G. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения L37 и L54 заняты Q и E, соответственно, как в hu3D6VLv2 L37Q_L54E.

[0301] В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения L37, L50 и L54 заняты Q, D и G, соответственно, как в hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения L37, L50 и L54 заняты Q, D и R, соответственно, как в hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения L37, L50 и L54 заняты Q, E и G, соответственно, как в hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54G. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения L37, L50 и L54 заняты Q, E и R, соответственно, как в hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R.

[0302] В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения L37, L50, L54 и L100 заняты Q, G, R и Q, соответственно, как в hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q. В

некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения L37, L50, L54 и L100 заняты Q, G, G и Q, соответственно, как в hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения L37, L52, L54 и L100 заняты Q, G, R и Q, соответственно, как в hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения L37, L52, L54 и L100 заняты Q, G, D и Q, соответственно, как в hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения L37, L50, L54 и L100 заняты Q, D, G и Q, соответственно, как в hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения L37, L50, L54 и L100 заняты Q, D, R и Q, соответственно, как в hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положения L37, L50, L54 и L100 заняты Q, V, D и Q, соответственно, как в hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q.

[0303] В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение L37 занято Q, как в hu3D6VLv2 L37Q. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 положение L100 занято Q, как в hu3D6VLv2 G100Q.

[0304] Некоторые гуманизированные антитела 3D6 содержат зрелую вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR H1, H2 и H3, содержащие SEQ ID NO:8, 9 и 10, соответственно, за исключением того, что положение H28 может быть занято N или T, H54 может быть занято N или D, H56 может быть занято D или E, положение H58 занято V или I и положение H60 может быть занято D или E, и вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR L1, L2 и L3, содержащие SEQ ID NO: 12, 13 и 14, соответственно, за исключением того, что положение L24 может быть занято K или R, положение L50 может быть занято L, E, D, G, или V, положение L52 может быть занято S или G и положение L54 может быть занято L, D, G, N, E, Q, K, R, T, V или S, при этом по меньшей мере одно из следующих положений занято аминокислотой, как указано: H1 занято Q, H5 занято Q, H11 занято L, H20 занято L, H23 занято T, H38 занято K, H75 занято S, H56 занято E, H58 занято I, H60 занято E, H82с занято V, L10 занято T, L17 занято E, L24 занято R, L37 занято Q, L47 занято G, N, D, E, P, T, S или A, L48 занято G или D, L49 занято E, L50 занято E, D, G или V, L52 занято G, L54 занято D, G, N, E, Q, K, R, T, V или S, L83 занято L, L86 занято H, L100 занято Q, L106 занято L.

[0305] Некоторые гуманизированные антитела 3D6 содержат три CDR легкой цепи и три CDR тяжелой цепи из моноклонального антитела 3D6, при этом 3D6 представляет собой антитело мыши, характеризующееся вариабельной областью тяжелой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, содержащую SEQ ID NO:7, и вариабельной областью легкой цепи, имеющей аминокислотную последовательность,

содержащую SEQ ID NO:11, за исключением того, что положение H27 может быть занято F или Y, положение H28 может быть занято N или T, положение H29 может быть занято I или F, положение H30 может быть занято K или T, положение H51 может быть занято I или V, положение H54 может быть занято N или D, положение H60 может быть занято D, A или E, положение H61 может быть занято P или E, положение H102 может быть занято F или Y, положение L50 может быть занято L, E, D, G или V, положение L52 может быть занято S или G, and положение L54 может быть занято L, D, G, N, E, Q, K, R, T, V или S, при этом по меньшей мере одно из следующих положений занято аминокислотой, как указано: L37 занято Q, L47 занято G, N, D, E, P, T, S или A, L48 занято G или D, L49 занято E, L50 занято E, D, G или V, L52 занято G, L54 занято D, G, N, E, Q, K, R, T, V или S, L100 занято Q, H60 занято E, H82c занято V.

[0306] В некоторых гуманизированных антителах 3D6 переменная тяжелая цепь на $\geq 85\%$ идентична последовательности человека. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 переменная легкая цепь на $\geq 85\%$ идентична последовательности человека. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 каждая из переменной тяжелой цепи и переменной легкой цепи на $\geq 85\%$ идентична последовательности зародышевой линии человека. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 три CDR тяжелой цепи являются такими, как определено по композиту Кабат/Чотиа (SEQ ID NO:8, 9 и 10), и три CDR легкой цепи являются такими, как определено по композиту Кабат/Чотиа (SEQ ID NO:12, 13 и 14); при этом положение H28 занято N или T, положение H54 занято N или D, положение H56 занято D или E, положение H58 занято V или I, положение H60 занято D или E, положение L24 занято K или R, положение L50 занято L, E, D, G, или V, положение L52 занято S или G, and положение L54 занято L, D, G, N, E, Q, K, R, T, V или S. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 область CDR-H1 по композиту Кабат/Чотиа имеет аминокислотную последовательность, содержащую SEQ ID NO:86. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 область CDR-H2 по Кабату имеет аминокислотную последовательность, содержащую SEQ ID NO:87, SEQ ID NO:88, SEQ ID NO:92 или SEQ ID NO:149. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 область CDR-L1 по Кабату имеет аминокислотную последовательность, содержащую SEQ ID NO:89. В некоторых гуманизированных антителах 3D6 область CDR-L2 по Кабату содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:150-175.

[0307] Области CDR таких гуманизированных антител могут быть идентичны или по существу идентичны областям CDR из 3D6. Области CDR могут быть определены на основании любого стандартного определения (например, Чотиа или композит Чотиа –

Кабат), но предпочтительно определены по Кабату.

[0308] Каркасные положения вариабельной вариабельных областей соответствуют нумерации по Кабату, если не указано иное. Другие такие варианты, как правило, отличаются от иллюстративных последовательностей тяжелой и легкой цепей Hu3D6 на небольшое число (например, как правило не больше чем на 1, 2, 3, 5, 10 или 15) замещений, удалений или вставок. Такие различия, как правило, присутствуют в каркасном участке, но могут также встречаться в CDR.

[0309] Возможность дополнительных изменений в гуманизованных вариантах 3D6 – это дополнительные обратные мутации в каркасных участках вариабельной области. Многие из каркасных остатков, не контактирующих с CDR в гуманизованном мАт, могут вмещать замещения аминокислот из соответствующих положений донорного мАт мыши или других или антител мыши или человека, и даже многие потенциальные остатки, контактирующие с CDR, также поддаются замещению. Даже аминокислоты в CDR могут быть изменены, например, с помощью остатков, обнаруженных в соответствующем положении акцепторной последовательности человека, используемой для снабжения каркасных участков вариабельной области. В дополнение к этому можно использовать альтернативные акцепторные последовательности человека, например, для тяжелых и/или легких цепей. Если используются разные акцепторные последовательности, можно не выполнять одну или большее число рекомендованных выше обратных мутаций, потому что соответствующие донорные и акцепторные остатки уже совпадают без обратных мутаций.

[0310] Предпочтительно, замещения или обратные мутации в гуманизованных вариантах 3D6 (независимо от того, консервативны они или нет) не оказывают существенного влияния на аффинность связывания или активность гуманизованного мАт, то есть его способность связываться с тау.

[0311] Гуманизованные антитела 3D6 дополнительно характеризуются своей способностью связывать как фосфорилированный, так и нефосфорилированный тау, а также неправильно свернутые/агрегированные формы тау.

D. Химерные и венерованные антитела

[0312] В данном изобретении также представлены химерные и венерованные формы антител, происходящие не от человека, в частности – антитела 3D6 из примеров.

[0313] Химерное антитело представляет собой антитело, в котором зрелые вариабельные области легкой и тяжелой цепей антитела, происходящего не от человека (например, мыши), объединены с константными областями легкой и тяжелой цепей человека. Такие антитела по существу или полностью сохраняют специфичность

связывания антитела мыши и на около две трети представляют собой последовательность человека. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело 3D6 имеет аминокислотную последовательность тяжелой цепи согласно SEQ ID NO:72 и аминокислотную последовательность легкой цепи согласно SEQ ID NO:73.

[0314] Венированное антитело представляет собой вид гуманизованного антитела, которое сохраняет некоторые, а как правило, все CDR и некоторые каркасные остатки вариабельной области антитела, происходящего не от человека, но в которых другие каркасные остатки вариабельной области, которые могут быть вовлечены в В- или Т-клеточные эпитопы, например, остатки, находящиеся на поверхности антитела (Padlan, Mol. Immunol. 28: 489, 1991), замещены остатками из соответствующих положений последовательностей антитела человека. Результатом является антитело, в котором CDR полностью или по существу происходят из антитела, происходящего не от человека, и каркасные участки вариабельной области антитела, происходящего не от человека, сделаны более похожими на таковые от человека за счет замещений. В данное изобретение включены венированные формы антитела 3D6.

Е. Антитела человека

[0315] Антитела человека против тау или его фрагмента (например, против аминокислотных остатков 199-213 и/или 262-276 из SEQ ID NO:3, что соответствует аминокислотным остаткам 257-271 и/или 320-334, соответственно, из SEQ ID NO:1, или аминокислотных остатков 259-268, или 290-299, или 321-330, или 353-362 из SEQ ID NO:1, или любая комбинация из 2, 3 или всех 4 из них) можно осуществлять с помощью различных описанных методик. Некоторые антитела человека отбирают путем экспериментов по конкурентному связыванию, способом фагового дисплея Винтера, описанным выше, или иным образом, чтобы они имели такую же эпитопную специфичность, что и конкретное антитело мыши, такое как одно из моноклональных антител мыши, описанных в примерах. Антитела человека можно также подвергать скринингу на предмет конкретной эпитопной специфичности путем использования только фрагмента тау, например, фрагмента тау, содержащего только аминокислотные остатки 199-213 или 262-276 из SEQ ID NO:3 (что соответствует аминокислотным остаткам 257-271 или 320-334, соответственно, из SEQ ID NO:1), или содержащего только аминокислотные остатки 259-268, или 290-299, или 321-330, или 353-362 из SEQ ID NO:1, в качестве целевого антигена, и/или путем скрининга антител против набора вариантов тау, таких как варианты тау, содержащие различные мутации в аминокислотных остатках 199-213 или 262-276 из SEQ ID NO:3 (что соответствует аминокислотным остаткам 257-271 или 320-334, соответственно, из SEQ ID NO:1), или в пределах аминокислотных

остатков 259-268, или 290-299, или 321-330, или 353-362 из SEQ ID NO:1.

[0316] Способы получения антител человека включают в себя способ триомы согласно Oestberg et al., *Hybridoma* 2: 361-367 (1983); Oestberg, патент США № 4634664; и Engleman et al., патент США № 4634666; использование трансгенных мышей, включающих в себя гены иммуноглобулинов человека (см., например, Lonberg et al., WO93/12227 (1993); US 5877397; US 5874299; US 5814318; US 5789650; US 5770429; US 5661016; US 5633425; US 5625126; US 5569825; US 5545806; Neuberger, *Nat. Biotechnol.* 14: 826 (1996); и Kucherlapati, WO 91/10741 (1991)); способы фагового дисплея (см., например, Dower et al., WO 91/17271; McCafferty et al., WO 92/01047; US 5877218; US 5871907; US 5858657; US 5837242; US 5733743; и US 5565332); и способы, описанные в WO 2008/081008 (например, иммортализация В-клеток памяти, выделенных от человека, например, с помощью EBV, скрининг на предмет желаемых свойств, а также клонирование и экспрессия рекомбинантных форм).

F. Выбор константной области

[0317] Вариабельные области тяжелой и легкой цепей химерных, венериванных или гуманизированных антител могут быть связаны с по меньшей мере частью константной области человека. Выбор константной области частично зависит от того, являются ли желательными антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность, антителозависимый клеточный фагоцитоз и/или комплемент-зависимая цитотоксичность. Например, изотипы IgG1 и IgG3 человека обладают комплемент-зависимой цитотоксичностью, а изотипы IgG2 и IgG4 человека – нет. IgG1 и IgG3 человека также индуцируют более сильные клеточно-опосредованные эффекторные функции, чем IgG2 и IgG4 человека. Константные области легкой цепи могут быть лямбда или каппа. Соглашения о нумерации для константных областей включают в себя нумерацию EU (Edelman, G.M. et al., *Proc. Natl. Acad. USA*, 63, 78-85 (1969)), нумерацию по Кабату (Kabat, *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991, уникальную нумерацию IMGT (Lefranc M.-P. et al., *IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor constant domains and Ig superfamily C-like domains*, *Dev. Comp. Immunol.*, 29, 185-203 (2005), и нумерация экзонов IMGT (Lefranc, см. выше).

[0318] Одна или большее число аминокислот на амино- или карбоксиконце легкой и/или тяжелой цепей, такие как С-концевой лизин тяжелой цепи, могут отсутствовать или быть дериватизированы в части или во всех молекулах. В константных областях могут быть произведены замещения для снижения или усиления эффекторной функции, такой как опосредованная комплементом цитотоксичность или АЗКЦ (см., например, Winter et

al., патент США № 5624821; Tso et al., патент США № 5834597; и Lazar et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103:4005, 2006), или для продления периода полужизни у человека (см., например, работу Hinton et al., J. Biol. Chem. 279:6213, 2004). Иллюстративные замещения включают в себя Gln в положении 250 и/или Leu в положении 428 (в данном параграфе для константной области используется нумерация EU) для увеличения периода полужизни антитела. Замещение в любом или всех положениях 234, 235, 236 и/или 237 снижают аффинность к рецепторам Fcγ, особенно к рецептору FcγRI (см., например, US 6624821). Замещение аланина в положениях 234, 235 и 237 IgG1 человека может использоваться для снижения эффекторных функций. Некоторые антитела имеют замещение аланином в положениях 234, 235 и 237 IgG1 человека для снижения эффекторных функций. Необязательно, положения 234, 236 и/или 237 в IgG2 человека замещены аланином, а положение 235 – глутамином (см., например, US 5624821). В некоторых антителах используется мутация в одном или большем числе из положений 241, 264, 265, 270, 296, 297, 322, 329 и 331 в IgG1 человека, по нумерации EU. В некоторых антителах используется мутация в одном или большем числе из положений 318, 320 и 322 в IgG1 человека, по нумерации EU. В некоторых антителах положения 234 и/или 235 замещены аланином, и/или положение 329 замещено глицином. В некоторых антителах положения 234 и 235 замещены аланином. В некоторых антителах изотипом является IgG2 или IgG4 человека.

[0319] Антитела могут быть экспрессированы в виде тетрамеров, содержащих две легкие и две тяжелые цепи, в виде отдельных тяжелых цепей, легких цепей, в виде Fab, Fab', F(ab')₂ и Fv, или в виде одноцепочечных антител, в которых зрелые переменные домены тяжелых и легких цепей связаны через спейсер.

[0320] Константные области человека демонстрируют аллотипические вариации и изоаллотипические вариации между разными индивидуумами, то есть константные области могут различаться у разных индивидуумов в одном или большем числе полиморфных положений. Изоаллотипы отличаются от аллотипов тем, что сыворотки, распознающие изоаллотип, связываются с неполоморфной областью одного или большего числа других изотипов. Следовательно, например, другая константная область тяжелой цепи представляет собой IgG1 G1m3, с С-концевым лизином или без него. Ссылка на константную область человека включает в себя константную область с любым природным аллотипом или любую перестановку остатков, занимающих положения в природных аллотипах. Иллюстративной константной областью тяжелой цепи является SEQ ID NO:176, с С-концевым лизином или без него, и иллюстративной константной областью легкой цепи является SEQ ID NO:177.

G. Экспрессия рекомбинантных антител

[0321] Известен ряд способов получения химерных и гуманизированных антител с использованием линии клеток, экспрессирующих антитела (например, гибридомы). Например, переменные области иммуноглобулина антител можно клонировать и секвенировать с использованием хорошо известных способов. В одном способе переменную область VH тяжелой цепи клонируют с помощью ОТ-ПЦР с использованием мРНК, полученной из клеток гибридомы. Применяют консенсусные праймеры для лидирующего пептида области VH с охватом кодона инициации трансляции в качестве 5'-праймера и 3'-праймер, специфический в отношении константных областей g2b. Иллюстративные праймеры описаны в патентной публикации США US 2005/0009150 Schenk et al. (далее «Schenk»). Последовательности из нескольких независимо полученных клонов можно сравнивать, чтобы гарантировать отсутствие изменений во время амплификации. Последовательность области VH можно также определить или подтвердить секвенированием фрагмента VH, полученного с помощью методологии 5' RACE ОТ-ПЦР и праймера, специфического в отношении 3' g2b.

[0322] Аналогичным образом можно клонировать переменную область VL легкой цепи. В одном подходе набор консенсусных праймеров конструируется для амплификации областей VL с использованием 5'-праймера, сконструированного для гибридизации с областью VL, содержащей кодон инициации трансляции, и 3'-праймера, специфического в отношении области Ck, расположенной ниже области соединения V-J. Во втором подходе методологию 5' RACE ОТ-ПЦР применяют для клонирования кДНК, кодирующей VL. Иллюстративные праймеры описаны в Schenk, выше. Затем клонированные последовательности объединяют с последовательностями, кодирующими константные области человека (или других видов, не являющихся человеком).

[0323] В одном подходе переменные области тяжелой и легкой цепей модифицируют для кодирования донорных последовательностей сплайсинга ниже соответствующих соединений VDJ или VJ и клонируют в вектор экспрессии млекопитающих, такой как pCMV-hy1 для тяжелой цепи и pCMV-Mc1 для легкой цепи. Данные векторы кодируют константные области $\gamma 1$ и Ck человека в виде экзонных фрагментов ниже вставленной кассеты переменной области. После проверки последовательности векторы экспрессии тяжелой цепи и легкой цепи можно совместно трансфицировать в клетки СНО для получения химерных антител. Кондиционированные среды собирают через 48 часов после трансфекции и анализируют способом вестерн-блота на предмет продукции антител или способом ТИФА на предмет связывания антигена. Химерные антитела гуманизированы так, как описано выше.

[0324] Химерные, венированные, гуманизированные антитела и антитела человека, как правило, получают путем рекомбинантной экспрессии. Рекомбинантные полинуклеотидные конструкции, как правило, включают в себя последовательность контроля экспрессии, функционально связанную с кодирующими последовательностями цепей антител, включительно с естественно связанными или гетерологичными элементами контроля экспрессии, такими как промотор. Предпочтительно, последовательности контроля экспрессии представляют собой эукариотические промоторные системы в векторах, способные трансформировать или трансфицировать клетки эукариотических хозяев. После встраивания вектора в подходящего хозяина данного хозяина культивируют в условиях, подходящих для высокого уровня экспрессии нуклеотидных последовательностей, а также для сбора и очистки перекрестно реагирующих антител.

[0325] Подходящие векторы экспрессии, как правило, являются воспроизводимыми в организме-хозяине в виде эписом или в качестве составляющей части хромосомной ДНК хозяина. В большинстве случаев векторы экспрессии содержат селективные маркеры, например, резистентности к ампициллину, чтобы обеспечить выявление клеток, трансформированных желаемыми последовательностями ДНК.

[0326] *E. coli* является одним из прокариотических хозяев, пригодных для экспрессии антител, особенно фрагментов антител. Микробы, такие как дрожжи, также пригодны для экспрессии. *Saccharomyces* представляет собой дрожжевой хозяин с подходящими векторами, имеющими последовательности контроля экспрессии, точку начала репликации, последовательности терминации и т. п., если необходимо. Типичные промоторы включают в себя 3-фосфоглицераткиназу и другие гликолитические ферменты. Индуцируемые промоторы дрожжей включают в себя, среди прочего, промоторы алкогольдегидрогеназы, изоцитохрома С и ферменты, ответственные за утилизацию мальтозы и галактозы.

[0327] Клетки млекопитающих можно использовать для экспрессии нуклеотидных сегментов, кодирующих иммуноглобулины или их фрагменты. См. Winnacker, *From Genes to Clones* (VCH Publishers, NY, 1987). Был разработан ряд подходящих линий клеток-хозяев, способных секретировать интактные гетерологичные белки, и они включают в себя линии клеток CHO, различные линии клеток COS, клетки HeLa, клетки НЕК293, L-клетки и миеломы, не продуцирующие антитела, включительно с Sp2/0 и NS0. Клетки могут происходить не от человека. Векторы экспрессии для этих клеток могут включать в себя последовательности контроля экспрессии, такие как точка начала репликации, промотор и энхансер (Queen et al., *Immunol. Rev.* 89: 49 (1986)), и

необходимые сайты информационного процессинга, такие как сайты связывания рибосом, сайты сплайсинга РНК, сайты полиаденилирования и последовательности терминации транскрипции. Последовательности контроля экспрессии могут включать в себя промоторы, происходящие от эндогенных генов, цитомегаловируса, SV40, аденовируса, вируса папилломы крупного рогатого скота и т. п. См. Co et al., J. Immunol. 148: 1149 (1992).

[0328] В качестве альтернативы, последовательности, кодирующие антитела, могут быть встроены в трансгены для внедрения в геном трансгенного животного и последующей экспрессии в молоке трансгенного животного (см., например, патент США № 5741957; патент США № 5304489; и патент США № 5849992). Пригодные трансгены включают в себя кодирующие последовательности для легких и/или тяжелых цепей в функциональной связи с промотором и энхансером из специфического гена молочной железы, такого как ген казеина или ген бета-лактоглобулина.

[0329] Векторы, содержащие сегменты ДНК, представляющие интерес, можно переносить в клетку-хозяина способами, зависящими от типа клетки-хозяина. Например, трансфекцию хлоридом кальция, как правило, применяют для прокариотических клеток, тогда как обработку фосфатом кальция, электропорацию, липофекцию, биолистику или трансфекцию на основе вирусов можно применять для других клеток-хозяев. Другие способы, применяемые для трансформации клеток млекопитающих, включают в себя применение полибрана, слияния протопластов, липосом, электропорации и микроинъекции. Для получения трансгенных животных трансгены можно вводить путем микроинъекции в оплодотворенные ооциты или можно встраивать в геном эмбриональных стволовых клеток или индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК), а ядра таких клеток переносить в энуклеированные ооциты.

[0330] После введения вектора (-ов), кодирующего (-их) тяжелую и легкую цепи антитела, в культуру клеток, пулы клеток можно подвергать скринингу на предмет продуктивности роста и качества продукта в бессывороточной среде. Пулы высокопродуцирующих клеток затем можно подвергать клонированию отдельных клеток на основе FACS для создания моноклональных линий. Можно использовать удельную продуктивность, составляющую больше чем 50 или 100 мкг на клетку в сутки, что соответствует титрам продукта, составляющим больше чем 7,5 г/л культуры. Антитела, продуцируемые клонами отдельных клеток, также можно исследовать на мутность, фильтрационные свойства, путем PAGE, IEF, УФ-сканирования, HP-SEC, картирования углеводов-олигосахарид, масс-спектрометрии и анализа связывания, такого как ИФА или Вiasoge. Выбранный клон затем можно помещать в несколько флаконов и сохранять в

замороженном виде для последующего использования.

[0331] После экспрессии антитела можно очищать согласно стандартным процедурам, известным в данной области техники, включительно с захватом протеином А, ВЭЖХ-очисткой, колоночной хроматографией, гель-электрофорезом и т. п. (см., в целом, Scopes, Protein Purification (Springer-Verlag, NY, 1982)).

[0332] Можно применять методологию коммерческого производства антител, включающую в себя оптимизацию кодонов, выбор промоторов, выбор элементов транскрипции, выбор терминаторов, бессывороточное клонирование отдельных клеток, создание банка клеток, использование маркеров отбора для амплификации числа копий, терминатор СНО, или улучшение титров белков (см., например, US 5786464; US 6114148; US 6063598; US 7569339; W02004/050884; W02008/012142; W02008/012142; W02005/019442; W02008/107388; W02009/027471; и US 5888809).

Н. Скрининговые анализы антител

[0333] Первоначально антитела можно подвергнуть скринингу на предмет предполагаемой специфичности связывания, как описано выше. Активные иммуногены также можно подвергнуть скринингу на предмет способности индуцировать антитела с такой специфичностью связывания. В данном случае активный иммуноген используют для иммунизации лабораторного животного, а полученные сыворотки исследуют на предмет соответствующей специфичности связывания.

[0334] Затем антитела, обладающие желаемой специфичностью связывания, можно исследовать на клеточных и животных моделях. Клетки, используемые для такого скрининга, предпочтительно представляют собой нейрональные клетки. Сообщалось о клеточной модели тау-патологии, в которой клетки нейробластомы трансфицировали доменом с четырьмя повторами тау, необязательно – с мутацией, связанной с тау-патологией (например, дельта K280, см. работу Khlistunova, Current Alzheimer Research 4, 544-546 (2007)). В другой модели тау индуцируется в клеточной линии нейробластомы N2a путем добавления доксициклина. Клеточные модели позволяют изучать токсичность тау для клеток в растворимом или агрегированном состоянии, появление агрегатов тау после включения экспрессии гена тау, растворение агрегатов тау после повторного выключения экспрессии гена и эффективность антител в ингибировании образования агрегатов тау или их дезагрегации.

[0335] Антитела или активные иммуногены можно также подвергать скринингу в трансгенных животных моделях тау-ассоциированных заболеваний. Такие трансгенные животные могут включать в себя трансген тау (например, любую из изоформ человека) и, необязательно, трансген APP человека, среди прочих, например, киназу,

фосфорилирующую тау, ApoE, пресенилин или альфа-синуклеин. Такие трансгенные животные склонны к развитию по меньшей мере одного признака или симптома тау-ассоциированного заболевания.

[0336] Иллюстративным трансгенным животным является линия мышей K3 (Itner et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105 (41): 15997-6002 (2008)). Данные мыши имеют трансген тау человека с мутацией K 369 I (мутация связана с болезнью Пика) и промотор Thy 1.2. Данная модель показывает быстрое течение нейродегенерации, двигательного дефицита и дегенерации афферентных волокон и гранулярных клеток мозжечка. Другим иллюстративным животным является линия мышей JNPL3. Данные мыши имеют трансген тау человека с мутацией P301L (мутация связана с лобно-височной деменцией) и промотор Thy 1.2 (Taconic, Germantown, N.Y., Lewis, et al., Nat Genet. 25:402-405 (2000)). У данных мышей нейродегенерация имеет более постепенное течение. У мышей развиваются нейрофибриллярные клубки в нескольких областях головного мозга и спинного мозга, что включено в данный документ посредством ссылки в полном объеме). Это отличная модель для изучения последствий развития клубков и для скрининга терапии, которая может ингибировать образование данных агрегатов. Еще одно преимущество данных животных – относительно раннее начало патологии. В гомозиготной линии поведенческие отклонения, связанные с тау-патологией, могут наблюдаться по меньшей мере уже через 3 месяца, но животные остаются относительно здоровыми по меньшей мере до 8-месячного возраста. Другими словами, в 8 месяцев животные передвигаются, кормятся и могут достаточно хорошо выполнять поведенческие задачи, чтобы можно было мониторировать эффект лечения. Активная иммунизация данных мышей в течение 6-13 месяцев с помощью AI с KLN-PHF-1 привела к титрам, составляющим около 1000, и показала меньшее число нейрофибриллярных клубков, меньше pSer422 и меньшую потерю веса по сравнению с контрольными мышами, не подвергавшимися воздействию.

[0337] Активность антител или активных агентов можно оценить с помощью различных критериев, включающих в себя снижение количества общего тау или фосфорилированного тау, снижение других патологических характеристик, таких как отложения амилоида A β , а также ингибирование или задержку или поведенческих дефицитов. Активные иммуногены можно также исследовать на предмет индукции антител в сыворотке крови. И пассивные, и активные иммуногены можно исследовать на предмет прохождения антител через гематоэнцефалический барьер в головной мозг трансгенного животного. Антитела или фрагменты, индуцирующие антитело, можно также исследовать на нечеловекообразных приматах, у которых естественным путем или

путем индукции развиваются симптомы заболеваний, характеризующихся тау. Исследования антитела или активного агента, как правило, проводят в сочетании с контролем, в котором проводится параллельный эксперимент, за исключением того, что антитело или активный агент отсутствуют (например, заменены несущей средой). Затем можно оценить снижение, задержку или ингибирование признаков или симптомов заболевания, связанных с исследуемым антителом или активным агентом, относительно контроля.

I. Способы применения антител согласно данному изобретению

[0338] Описанные в данном документе антитела или их антигенсвязывающие фрагменты могут ингибировать или снижать интернализацию тау клетками, ингибировать или снижать тау-индуцированную токсичность, снижать или задерживать начало проявления поведенческого дефицита, ингибировать или снижать уровни маркеров тау-патологии, или ингибировать или снижать развитие тау-патологии.

[0339] Также в данном изобретении представлены способы снижения интернализации тау клетками у субъекта, включающие в себя введение субъекту, нуждающемуся в этом, количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое снижает интернализацию тау клетками, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий CDR-H1, содержащую SEQ ID NO:8, CDR-H2, содержащую SEQ ID NO:9, и CDR-H3, содержащую LDF, и переменный домен легкой цепи, содержащий CDR-L1, содержащую SEQ ID NO:12, CDR-L2, содержащую SEQ ID NO:13 или SEQ ID NO:168, и CDR-L3, содержащую SEQ ID NO:14.

[0340] В некоторых вариантах осуществления введение описанных в данном документе антител или их антигенсвязывающих фрагментов снижает интернализацию тау клетками на около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95%, около 96%, около 97%, около 98% или на около 99% (например, по сравнению с уровнем интернализации тау у субъекта до введения или по сравнению с уровнем интернализации тау у субъекта, которому не вводили данные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты). В некоторых вариантах осуществления введение описанных в данном документе антител или их антигенсвязывающих фрагментов снижает интернализацию тау клетками на от около 10% до около 99%, от около 20% до около 90%, от около 30% до около 80%, от около 40% до 80% или от около 50% до 75% (например, по сравнению с уровнем интернализации тау у

субъекта до введения или по сравнению с уровнем интернализации тау у субъекта, которому не вводили данные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты). В некоторых вариантах осуществления введение приводит к снижению на от около 10% до около 99% (например, к снижению на от около 10% до около 95%, от около 10% до около 90%, от около 10% до около 85%, от около 10% до около 80%, от около 10% до около 75%, от около 10% до около 70%, от около 10% до около 65%, от около 10% до около 60%, от около 10% до около 55%, от около 10% до около 50%, от около 10% до около 45%, от около 10% до около 40%, от около 10% до около 35%, от около 10% до около 30%, от около 10% до около 25%, от около 10% до около 20%, от около 10% до около 15%, от около 15% до около 99%, от около 15% до около 95%, от около 15% до около 90%, от около 15% до около 85%, от около 15% до около 80%, от около 15% до около 75%, от около 15% до около 70%, от около 15% до около 65%, от около 15% до около 60%, от около 15% до около 55%, от около 15% до около 50%, от около 15% до около 45%, от около 15% до около 40%, от около 15% до около 35%, от около 15% до около 30%, от около 15% до около 25%, от около 15% до около 20%, от около 20% до около 99%, от около 20% до около 95%, от около 20% до около 90%, от около 20% до около 85%, от около 20% до около 80%, от около 20% до около 75%, от около 20% до около 70%, от около 20% до около 65%, от около 20% до около 60%, от около 20% до около 55%, от около 20% до около 50%, от около 20% до около 45%, от около 20% до около 40%, от около 20% до около 35%, от около 20% до около 30%, от около 20% до около 25%, от около 25% до около 99%, от около 25% до около 95%, от около 25% до около 90%, от около 25% до около 85%, от около 25% до около 80%, от около 25% до около 75%, от около 25% до около 70%, от около 25% до около 65%, от около 25% до около 60%, от около 25% до около 55%, от около 25% до около 50%, от около 25% до около 45%, от около 25% до около 40%, от около 25% до около 35%, от около 25% до около 30%, от около 30% до около 99%, от около 30% до около 95%, от около 30% до около 90%, от около 30% до около 85%, от около 30% до около 80%, от около 30% до около 75%, от около 30% до около 70%, от около 30% до около 65%, от около 30% до около 60%, от около 30% до около 55%, от около 30% до около 50%, от около 30% до около 45%, от около 30% до около 40%, от около 30% до около 35%, от около 35% до около 99%, от около 35% до около 95%, от около 35% до около 90%, от около 35% до около 85%, от около 35% до около 80%, от около 35% до около 75%, от около 35% до около 70%, от около 35% до около 65%, от около 35% до около 60%, от около 35% до около 55%, от около 35% до около 50%, от около 35% до около 45%, от около 35% до около 40%, от около 40% до около 99%, от около 40% до около 95%, от около 40% до около

90%, от около 40% до около 85%, от около 40% до около 80%, от около 40% до около 75%, от около 40% до около 70%, от около 40% до около 65%, от около 40% до около 60%, от около 40% до около 55%, от около 40% до около 50%, от около 40% до около 45%, от около 45% до около 99%, от около 45% до около 95%, от около 45% до около 90%, от около 45% до около 85%, от около 45% до около 80%, от около 45% до около 75%, от около 45% до около 70%, от около 45% до около 65%, от около 45% до около 60%, от около 45% до около 55%, от около 45% до около 50%, от около 50% до около 99%, от около 50% до около 95%, от около 50% до около 90%, от около 50% до около 85%, от около 50% до около 80%, от около 50% до около 75%, от около 50% до около 70%, от около 50% до около 65%, от около 50% до около 60%, от около 50% до около 55%, от около 55% до около 99%, от около 55% до около 95%, от около 55% до около 90%, от около 55% до около 85%, от около 55% до около 80%, от около 55% до около 75%, от около 55% до около 70%, от около 55% до около 65%, от около 55% до около 60%, от около 60% до около 99%, от около 60% до около 95%, от около 60% до около 90%, от около 60% до около 85%, от около 60% до около 80%, от около 60% до около 75%, от около 60% до около 70%, от около 60% до около 65%, от около 65% до около 99%, от около 65% до около 95%, от около 65% до около 90%, от около 65% до около 85%, от около 65% до около 80%, от около 65% до около 75%, от около 65% до около 70%, от около 70% до около 99%, от около 70% до около 95%, от около 70% до около 90%, от около 70% до около 85%, от около 70% до около 80%, от около 70% до около 75%, от около 75% до около 99%, от около 75% до около 95%, от около 75% до около 90%, от около 75% до около 85%, от около 75% до около 80%, от около 80% до около 99%, от около 80% до около 95%, от около 80% до около 90%, от около 80% до около 85%, от около 85% до около 99%, от около 85% до около 95%, от около 85% до около 90%, от около 90% до около 99%, от около 90% до около 95% или от около 95% до около 99%) (например, по сравнению с уровнем интернализации тау у субъекта до введения или по сравнению с уровнем интернализации тау у субъекта, которому не вводили данные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты).

[0341] Также в данном документе представлены способы снижения тау-индуцированной токсичности у субъекта, включающие в себя введение субъекту, нуждающемуся в этом, количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое снижает тау-индуцированную токсичность, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий CDR-H1, содержащую SEQ ID NO:8, CDR-H2, содержащую SEQ ID NO:9, и CDR-H3, содержащую LDF, и переменный домен легкой цепи, содержащий CDR-L1,

содержащую SEQ ID NO:12, CDR-L2, содержащую SEQ ID NO:13 или SEQ ID NO:168, и CDR-L3, содержащую SEQ ID NO:14.

[0342] В некоторых вариантах осуществления введение описанных в данном документе антител или их антигенсвязывающих фрагментов снижает тау-индуцированную токсичность на около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95%, около 96%, около 97%, около 98% или на около 99% (например, по сравнению с уровнем тау-индуцированной токсичности у субъекта до введения или по сравнению с уровнем тау-индуцированной токсичности у субъекта, которому не вводили данные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты). В некоторых вариантах осуществления введение описанных в данном документе антител или их антигенсвязывающих фрагментов снижает тау-индуцированную токсичность на от около 10% до около 99%, от около 20% до около 90%, от около 30% до около 80%, от около 40% до 80% или от около 50% до 75% (например, по сравнению с уровнем тау-индуцированной токсичности у субъекта до введения или по сравнению с уровнем тау-индуцированной токсичности у субъекта, которому не вводили данные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты). В некоторых вариантах осуществления введение приводит к снижению на от около 10% до около 99% (например, к снижению на от около 10% до около 95%, от около 10% до около 90%, от около 10% до около 85%, от около 10% до около 80%, от около 10% до около 75%, от около 10% до около 70%, от около 10% до около 65%, от около 10% до около 60%, от около 10% до около 55%, от около 10% до около 50%, от около 10% до около 45%, от около 10% до около 40%, от около 10% до около 35%, от около 10% до около 30%, от около 10% до около 25%, от около 10% до около 20%, от около 10% до около 15%, от около 15% до около 99%, от около 15% до около 95%, от около 15% до около 90%, от около 15% до около 85%, от около 15% до около 80%, от около 15% до около 75%, от около 15% до около 70%, от около 15% до около 65%, от около 15% до около 60%, от около 15% до около 55%, от около 15% до около 50%, от около 15% до около 45%, от около 15% до около 40%, от около 15% до около 35%, от около 15% до около 30%, от около 15% до около 25%, от около 15% до около 20%, от около 20% до около 99%, от около 20% до около 95%, от около 20% до около 90%, от около 20% до около 85%, от около 20% до около 80%, от около 20% до около 75%, от около 20% до около 70%, от около 20% до около 65%, от около 20% до около 60%, от около 20% до около 55%, от около 20% до около 50%, от около 20% до около 45%, от около 20% до около 40%, от около 20% до около 35%, от около 20% до около 30%, от около 20% до около

75%, от около 75% до около 99%, от около 75% до около 95%, от около 75% до около 90%, от около 75% до около 85%, от около 75% до около 80%, от около 80% до около 99%, от около 80% до около 95%, от около 80% до около 90%, от около 80% до около 85%, от около 85% до около 99%, от около 85% до около 95%, от около 85% до около 90%, от около 90% до около 99%, от около 90% до около 95% или от около 95% до около 99%) (например, по сравнению с уровнем тау-индуцированной токсичности у субъекта до введения или по сравнению с уровнем тау-индуцированной токсичности у субъекта, которому не вводили данные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты).

[0343] Также в данном изобретении представлены способы снижения или задержки начала проявления поведенческого дефицита у субъекта, включающие в себя введение субъекту, нуждающемуся в этом, количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое снижает или задерживает начало проявления поведенческого дефицита, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий CDR-H1, содержащую SEQ ID NO:8, CDR-H2, содержащую SEQ ID NO:9, и CDR-H3, содержащую LDF, и переменный домен легкой цепи, содержащий CDR-L1, содержащую SEQ ID NO:12, CDR-L2, содержащую SEQ ID NO:13 или SEQ ID NO:168, и CDR-L3, содержащую SEQ ID NO:14.

[0344] В некоторых вариантах осуществления введение описанных в данном документе антител или их антигенсвязывающих фрагментов снижает или задерживает начало проявления поведенческого дефицита на около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95%, около 96%, около 97%, около 98% или на около 99% (например, по сравнению с уровнем поведенческого дефицита у субъекта до введения или по сравнению с уровнем поведенческого дефицита у субъекта, которому не вводили данные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты). В некоторых вариантах осуществления введение описанных в данном документе антител или их антигенсвязывающих фрагментов снижает или задерживает начало проявления поведенческого дефицита на от около 10% до около 99%, от около 20% до около 90%, от около 30% до около 80%, от около 40% до 80% или от около 50% до 75% (например, по сравнению с уровнем поведенческого дефицита у субъекта до введения или по сравнению с уровнем поведенческого дефицита у субъекта, которому не вводили данные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты). В некоторых вариантах осуществления введение приводит к снижению на от около 10% до около 99% (например, к снижению на от около 10% до около 95%, от около 10% до около 90%, от около 10% до около 85%, от около 10% до около 80%, от около 10% до около

75%, от около 45% до около 70%, от около 45% до около 65%, от около 45% до около 60%, от около 45% до около 55%, от около 45% до около 50%, от около 50% до около 99%, от около 50% до около 95%, от около 50% до около 90%, от около 50% до около 85%, от около 50% до около 80%, от около 50% до около 75%, от около 50% до около 70%, от около 50% до около 65%, от около 50% до около 60%, от около 50% до около 55%, от около 55% до около 99%, от около 55% до около 95%, от около 55% до около 90%, от около 55% до около 85%, от около 55% до около 80%, от около 55% до около 75%, от около 55% до около 70%, от около 55% до около 65%, от около 55% до около 60%, от около 60% до около 99%, от около 60% до около 95%, от около 60% до около 90%, от около 60% до около 85%, от около 60% до около 80%, от около 60% до около 75%, от около 60% до около 70%, от около 60% до около 65%, от около 65% до около 99%, от около 65% до около 95%, от около 65% до около 90%, от около 65% до около 85%, от около 65% до около 80%, от около 65% до около 75%, от около 65% до около 70%, от около 70% до около 99%, от около 70% до около 95%, от около 70% до около 90%, от около 70% до около 85%, от около 70% до около 80%, от около 70% до около 75%, от около 75% до около 99%, от около 75% до около 95%, от около 75% до около 90%, от около 75% до около 85%, от около 75% до около 80%, от около 80% до около 99%, от около 80% до около 95%, от около 80% до около 90%, от около 80% до около 85%, от около 85% до около 99%, от около 85% до около 95%, от около 85% до около 90%, от около 90% до около 99%, от около 90% до около 95% или от около 95% до около 99%) (например, по сравнению с уровнем поведенческого дефицита у субъекта до введения или по сравнению с уровнем поведенческого дефицита у субъекта, которому не вводили данные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты).

[0345] Также в данном изобретении представлены способы снижения уровней маркеров тау-патологии у субъекта, включающие в себя введение субъекту, нуждающемуся в этом, количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое снижает уровни маркеров тау-патологии, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий CDR-H1, содержащую SEQ ID NO:8, CDR-H2, содержащую SEQ ID NO:9, и CDR-H3, содержащую LDF, и переменный домен легкой цепи, содержащий CDR-L1, содержащую SEQ ID NO:12, CDR-L2, содержащую SEQ ID NO:13 или SEQ ID NO:168, и CDR-L3, содержащую SEQ ID NO:14.

[0346] В некоторых вариантах осуществления введение описанных в данном документе антител или их антигенсвязывающих фрагментов снижает уровни маркеров тау-патологии на около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%,

около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95%, около 96%, около 97%, около 98% или на около 99% (например, по сравнению с уровнями маркеров тау-патологии у субъекта до введения или по сравнению с уровнями маркеров тау-патологии у субъекта, которому не вводили данные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты). В некоторых вариантах осуществления введение описанных в данном документе антител или их антигенсвязывающих фрагментов снижает уровни маркеров тау-патологии на от около 10% до около 99%, от около 20% до около 90%, от около 30% до около 80%, от около 40% до 80% или от около 50% до 75% (например, по сравнению с уровнями маркеров тау-патологии у субъекта до введения или по сравнению с уровнями маркеров тау-патологии у субъекта, которому не вводили данные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты). В некоторых вариантах осуществления введение приводит к снижению на от около 10% до около 99% (например, к снижению на от около 10% до около 95%, от около 10% до около 90%, от около 10% до около 85%, от около 10% до около 80%, от около 10% до около 75%, от около 10% до около 70%, от около 10% до около 65%, от около 10% до около 60%, от около 10% до около 55%, от около 10% до около 50%, от около 10% до около 45%, от около 10% до около 40%, от около 10% до около 35%, от около 10% до около 30%, от около 10% до около 25%, от около 10% до около 20%, от около 10% до около 15%, от около 15% до около 99%, от около 15% до около 95%, от около 15% до около 90%, от около 15% до около 85%, от около 15% до около 80%, от около 15% до около 75%, от около 15% до около 70%, от около 15% до около 65%, от около 15% до около 60%, от около 15% до около 55%, от около 15% до около 50%, от около 15% до около 45%, от около 15% до около 40%, от около 15% до около 35%, от около 15% до около 30%, от около 15% до около 25%, от около 15% до около 20%, от около 20% до около 99%, от около 20% до около 95%, от около 20% до около 90%, от около 20% до около 85%, от около 20% до около 80%, от около 20% до около 75%, от около 20% до около 70%, от около 20% до около 65%, от около 20% до около 60%, от около 20% до около 55%, от около 20% до около 50%, от около 20% до около 45%, от около 20% до около 40%, от около 20% до около 35%, от около 20% до около 30%, от около 20% до около 25%, от около 25% до около 99%, от около 25% до около 95%, от около 25% до около 90%, от около 25% до около 85%, от около 25% до около 80%, от около 25% до около 75%, от около 25% до около 70%, от около 25% до около 65%, от около 25% до около 60%, от около 25% до около 55%, от около 25% до около 50%, от около 25% до около 45%, от около 25% до около 40%, от около 25% до около 35%, от около 25% до около 30%, от около 30% до около 99%, от около 30% до

маркеров тау-патологии у субъекта до введения или по сравнению с уровнями маркеров тау-патологии у субъекта, которому не вводили данные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты).

[0347] Также в данном изобретении представлены способы снижения развития тау-патологии у субъекта, включающие в себя введение субъекту, нуждающемуся в этом, количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое снижает развитие тау-патологии, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий CDR-H1, содержащую SEQ ID NO:8, CDR-H2, содержащую SEQ ID NO:9, и CDR-H3, содержащую LDF, и переменный домен легкой цепи, содержащий CDR-L1, содержащую SEQ ID NO:12, CDR-L2, содержащую SEQ ID NO:13 или SEQ ID NO:168, и CDR-L3, содержащую SEQ ID NO:14.

[0348] В некоторых вариантах осуществления введение описанных в данном документе антител или их антигенсвязывающих фрагментов снижает развитие тау-патологии на около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95%, около 96%, около 97%, около 98% или на около 99% (например, по сравнению с уровнем развития тау-патологии у субъекта до введения или по сравнению с уровнем развития тау-патологии у субъекта, которому не вводили данные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты). В некоторых вариантах осуществления введение описанных в данном документе антител или их антигенсвязывающих фрагментов снижает развитие тау-патологии на от около 10% до около 99%, от около 20% до около 90%, от около 30% до около 80%, от около 40% до 80% или от около 50% до 75% (например, по сравнению с уровнем развития тау-патологии у субъекта до введения или по сравнению с уровнем развития тау-патологии у субъекта, которому не вводили данные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты). В некоторых вариантах осуществления введение приводит к снижению на от около 10% до около 99% (например, к снижению на от около 10% до около 95%, от около 10% до около 90%, от около 10% до около 85%, от около 10% до около 80%, от около 10% до около 75%, от около 10% до около 70%, от около 10% до около 65%, от около 10% до около 60%, от около 10% до около 55%, от около 10% до около 50%, от около 10% до около 45%, от около 10% до около 40%, от около 10% до около 35%, от около 10% до около 30%, от около 10% до около 25%, от около 10% до около 20%, от около 10% до около 15%, от около 15% до около 99%, от около 15% до около 95%, от около 15% до около 90%, от около 15% до около 85%, от около 15% до около 80%, от около 15% до около 75%, от около 15% до около 70%, от около 15% до около 65%, от около 15% до

около 75%, от около 55% до около 70%, от около 55% до около 65%, от около 55% до около 60%, от около 60% до около 99%, от около 60% до около 95%, от около 60% до около 90%, от около 60% до около 85%, от около 60% до около 80%, от около 60% до около 75%, от около 60% до около 70%, от около 60% до около 65%, от около 65% до около 99%, от около 65% до около 95%, от около 65% до около 90%, от около 65% до около 85%, от около 65% до около 80%, от около 65% до около 75%, от около 65% до около 70%, от около 70% до около 99%, от около 70% до около 95%, от около 70% до около 90%, от около 70% до около 85%, от около 70% до около 80%, от около 70% до около 75%, от около 75% до около 99%, от около 75% до около 95%, от около 75% до около 90%, от около 75% до около 85%, от около 75% до около 80%, от около 80% до около 99%, от около 80% до около 95%, от около 80% до около 90%, от около 80% до около 85%, от около 85% до около 99%, от около 85% до около 95%, от около 85% до около 90%, от около 90% до около 99%, от около 90% до около 95% или от около 95% до около 99%) (например, по сравнению с уровнем развития тау-патологии у субъекта до введения или по сравнению с уровнем развития тау-патологии у субъекта, которому не вводили данные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты).

IV. Пациенты, поддающиеся лечению

[0349] Присутствие нейрофибриллярных клубков было обнаружено при нескольких заболеваниях, включающих в себя болезнь Альцгеймера, синдром Дауна, легкое когнитивное нарушение, первичную возрастную таупатию, постэнцефалитный паркинсонизм, посттравматическую деменцию или деменцию боксеров, болезнь Пика, болезнь Ниманна – Пика типа С, надъядерный паралич, лобно-височную деменцию, лобно-височную лобарную дегенерацию, болезнь с аргирофильными зернами, глобулярную глиальную таупатию, боковой амиотрофический склероз/комплекс паркинсонизм-деменция Гуама, кортикобазальную дегенерацию (КБД), деменцию с тельцами Леви, вариант болезни Альцгеймера с тельцами Леви (ВБАТЛ), хроническую травматическую энцефалопатию (ХТЭ), глобулярную глиальную таупатию (ГГТ) и прогрессирующий надъядерный паралич (ПНП). Данные режимы можно также использовать в лечении или профилактике любого из данных заболеваний. Из-за широко распространенной связи между неврологическими заболеваниями и состояниями и тау, данные режимы можно использовать для лечения или профилактики любого субъекта, у которого обнаружены повышенные уровни тау или фосфорилированного тау (например, в СМЖ) по сравнению со средним значением у субъектов без неврологических заболеваний. Данные режимы можно также использовать в лечении или профилактике неврологического заболевания у субъектов, имеющих мутацию тау, связанную с

неврологическим заболеванием. Данные способы особенно подходят для лечения или профилактики болезни Альцгеймера, особенно у пациентов.

[0350] Пациенты, поддающиеся лечению, включают в себя субъектов с риском заболевания, но не проявляющих симптомы, а также пациентов, у которых в настоящее время проявляются симптомы. Пациенты с риском заболевания включают в себя пациентов с известным генетическим риском заболевания. Такие субъекты включают в себя тех, у кого есть родственники, перенесшие данное заболевание, и те, риск которых определяется анализом генетических или биохимических маркеров. Генетические маркеры риска включают в себя мутации тау, такие как те, что обсуждались выше, а также мутации в других генах, ассоциированных с неврологическими заболеваниями. Например, аллель ApoE4 в гетерозиготной и тем более гомозиготной форме ассоциирована с риском болезни Альцгеймера. Другие маркеры риска болезни Альцгеймера включают в себя мутации в гене APP, в частности, мутации в положении 717 и положениях 670 и 671, называемые мутацией Харди и шведской мутацией, соответственно, мутации в генах пресенилина, PS1 и PS2, БА в семейном анамнезе, гиперхолестеринемия или атеросклероз. Людей, страдающих в настоящее время болезнью Альцгеймера, можно распознать с помощью ПЭТ-визуализации, по характерному слабоумию, а также по наличию факторов риска, описанных выше. В дополнение к этому, доступен ряд диагностических анализов для выявления людей, имеющих БА. Они включают в себя измерение уровней тау или фосфо-тау и A β 42 в СМЖ. Повышенные уровни тау или фосфо-тау и пониженные уровни A β 42 указывают на наличие БА. Некоторые мутации ассоциированы с болезнью Паркинсона. Ala30Pro или Ala53, или мутации в других генах, ассоциированных с болезнью Паркинсона, таких как киназа с повтором с высоким содержанием лейцина, PARK8. У субъектов можно также диагностировать любое из неврологических заболеваний, указанных выше, по критериям DSM IV TR.

[0351] У бессимптомных пациентов лечение можно начинать в любом возрасте (например, 10, 20, 30). Однако обычно нет необходимости начинать лечение до достижения пациентом возраста 40, 50, 60 или 70 лет. Лечение, как правило, предполагает прием нескольких доз в течение некоторого периода времени. Лечение можно мониторить путем анализа уровней антител с течением времени. Если ответ падает, показана бустерная доза. В случае потенциальных пациентов с синдромом Дауна лечение можно начинать антенатально путем введения терапевтического агента матери или вскоре после рождения.

V. Нуклеиновые кислоты

[0352] В данном изобретении также представлены нуклеиновые кислоты, кодирующие любую из тяжелых и легких цепей, описанных выше (например, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:76-80, SEQ ID NO:90-91, SEQ ID NO:146-148, SEQ ID NO:83-85, SEQ ID NO:93-145 и SEQ ID NO:178-181). Иллюстративная нуклеиновая кислота, кодирующая тяжелую цепь согласно данному изобретению, представляет собой SEQ ID NO:182, а иллюстративная нуклеиновая кислота, кодирующая легкую цепь согласно данному изобретению, представляет собой SEQ ID NO:183. Необязательно, такие нуклеиновые кислоты дополнительно кодируют сигнальный пептид и могут экспрессироваться с сигнальным пептидом, связанным с вариабельной областью. Кодирующие последовательности нуклеиновых кислот могут быть функционально связаны с регуляторными последовательностями для обеспечения экспрессии кодирующих последовательностей, такими как промотор, энхансер, сайт связывания рибосом, сигнал терминации транскрипции и т. п. Регуляторные последовательности могут включать в себя промотор, например, прокариотический промотор или эукариотический промотор. Нуклеиновые кислоты, кодирующие тяжелые или легкие цепи, могут быть оптимизированы по кодонам для экспрессии в клетке-хозяине. Нуклеиновые кислоты, кодирующие тяжелые и легкие цепи, могут кодировать выбираемый ген. Нуклеиновые кислоты, кодирующие тяжелые и легкие цепи, могут находиться в изолированной форме или могут быть клонированы в один или большее число векторов. Нуклеиновые кислоты можно синтезировать, например, твердофазным синтезом или ПЦР перекрывающихся олигонуклеотидов. Нуклеиновые кислоты, кодирующие тяжелую и легкую цепи, могут быть соединены как одна непрерывная нуклеиновая кислота, например, внутри вектора экспрессии, или могут быть отдельными, например, каждая клонирована в свой собственный вектор экспрессии.

VI. Конъюгированные антитела

[0353] Конъюгированные антитела, которые специфически связываются с антигенами, такими как тау, полезны для обнаружения присутствия тау; мониторинга и оценки эффективности терапевтических агентов, используемых для лечения пациентов с диагнозом болезнь Альцгеймера, синдром Дауна, легкое когнитивное нарушение, первичная возрастная таупатия, постэнцефалитный паркинсонизм, посттравматическая деменция или деменция боксеров, болезнь Пика, болезнь Ниманна – Пика типа С, надъядерный паралич, лобно-височная деменция, лобно-височная лобарная дегенерация, болезнь с аргирофильными зернами, глобулярная глиальная таупатия, боковой амиотрофический склероз/комплекс паркинсонизм-деменция Гуама, кортикобазальная дегенерация (КБД), деменция с тельцами Леви, вариант болезни Альцгеймера с тельцами

Леви (ВБАТЛ), хроническая травматическая энцефалопатия (ХТЭ), глобулярная глиальная таупатия (ГГТ) или прогрессирующий надъядерный паралич; ингибирования или снижения агрегации тау; ингибирования или снижения образования тау-фибрилл; уменьшение или очистка отложений тау; стабилизация нетоксичных конформаций тау; либо лечения или профилактики болезни Альцгеймера, синдрома Дауна, легкого когнитивного нарушения, первичной возрастной таупатии, постэнцефалитного паркинсонизма, посттравматической деменции или деменции боксеров, болезни Пика, болезни Ниманна–Пика типа С, надъядерной лобарной деменции, лобно-височной деменции, болезни с аргирофильными зернами, глобулярной глиальной таупатии, бокового амиотрофического склероза/комплекса паркинсонизм-деменция Гуама, кортикобазальной дегенерации (КБД), деменции с тельцами Леви, варианта болезни Альцгеймера с тельцами Леви (ВБАТЛ), хронической травматической энцефалопатии (ХТЭ), глобулярной глиальной таупатии (ГГТ) или прогрессирующего надъядерного паралича у пациента. Например, такие антитела можно конъюгировать с другими терапевтическими фрагментами, другими белками, другими антителами и/или обнаруживаемыми метками. См. WO 03/057838; US 8,455,622. Такие терапевтические фрагменты могут представлять собой любые агенты, которые можно применять для лечения, подавления, облегчения, профилактики или улучшения нежелательного состояния или заболевания у пациента, такого как болезнь Альцгеймера, синдром Дауна, легкое когнитивное нарушение, первичная возрастная таупатия, постэнцефалитный паркинсонизм, посттравматическая деменция или деменция боксеров, болезнь Пика, болезнь Ниманна – Пика типа С, надъядерный паралич, лобно-височная деменция, лобно-височная лобарная дегенерация, болезнь с аргирофильными зернами, глобулярная глиальная таупатия, боковой амиотрофический склероз/комплекс паркинсонизм-деменция Гуама, кортикобазальная дегенерация (КБД), деменция с тельцами Леви, вариант болезни Альцгеймера с тельцами Леви (ВБАТЛ), хроническая травматическая энцефалопатия (ХТЭ), глобулярная глиальная таупатия (ГГТ) или прогрессирующий надъядерный паралич (ПНП).

[0354] Конъюгированные терапевтические фрагменты могут включать в себя цитотоксические агенты, цитостатические агенты, нейротрофические агенты, нейропротекторные агенты, радиотерапевтические агенты, иммуномодуляторы или любые биологически активные агенты, которые способствуют или усиливают активность антитела. Цитотоксический агент может быть любым агентом, токсичным для клетки. Цитостатический агент может быть любым агентом, ингибирующим пролиферацию клеток. Нейротрофический агент может быть любым агентом, включительно с

химическими или белковыми агентами, который способствует поддержанию, росту или дифференцировке нейронов. Нейропротекторный агент может быть агентом, включительно с химическими или белковыми агентами, который защищает нейроны от острого поражения или дегенеративных процессов. Иммуномодулятор может быть любым агентом, который стимулирует или ингибирует развитие или поддержание иммунологического ответа. Радиотерапевтический агент может быть любой молекулой или соединением, излучающими радиацию. Если такие терапевтические фрагменты связаны с тау-специфическим антителом, таким как антитела, описанные в данном документе, связанные терапевтические фрагменты будут иметь специфическую аффинность к клеткам, пораженным тау-ассоциированным заболеванием, по сравнению с нормальными клетками. Следовательно, введение конъюгированных антител напрямую нацелено на раковые клетки с минимальным повреждением окружающей нормальной здоровой ткани. Это может быть особенно полезно для терапевтических фрагментов, которые слишком токсичны для введения сами по себе. В дополнение к этому, можно использовать меньшие количества терапевтических фрагментов.

[0355] Некоторые такие антитела можно модифицировать, чтобы они действовали как иммунотоксины. См., например, патент США № 5194594. Например, рицин, клеточный токсин, получаемый из растений, может быть связан с антителами с помощью бифункциональных реагентов S-ацетилмеркаптоянтарного ангидрида для антитела и сукцинимидил-3-(2-пиридилдитио) пропионата для рицина. См. работу Pietersz et al., *Cancer Res.* 48 (16): 4469-4476 (1998). Связывание приводит к потере связывающей активности В-цепи рицина, при этом не нарушаются ни токсический потенциал А-цепи рицина, ни активность антитела. Подобным образом, сапорин, ингибитор сборки рибосом, может быть связан с антителами через дисульфидную связь между химически вставленными сульфгидрильными группами. См. работу Polito et al., *Leukemia* 18: 1215-1222 (2004).

[0356] Некоторые такие антитела могут быть связаны с радиоизотопами. Примеры радиоизотопов включают в себя, например, иттрий⁹⁰ (⁹⁰Y), индий¹¹¹ (¹¹¹In), ¹³¹I, ^{99m}Tc, радиоактивное серебро-111, радиоактивное серебро-199 и висмут²¹³. Связывание радиоизотопов с антителами можно осуществлять с помощью обычных бифункциональных хелатов. Для связи радиоактивного серебра-111 и радиоактивного серебра-199 можно использовать линкеры на основе серы. См. работу Nazra et al., *Cell Biophys.* 24-25: 1-7 (1994). Связывание радиоизотопов серебра может включать в себя восстановление иммуноглобулина аскорбиновой кислотой. Для радиоизотопов, таких как ¹¹¹In и ⁹⁰Y, можно использовать ибритумомаб тиуксетан, который будет реагировать с

такими изотопами с образованием ^{111}In -ибритумомаб тиуксетана и ^{90}Y -ибритумомаб тиуксетана, соответственно. См. работу Witzig, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 48 Suppl 1: S91-S95 (2001).

[0357] Некоторые такие антитела могут быть связаны с другими терапевтическими фрагментами. Такие терапевтические фрагменты могут быть, например, цитотоксическими, цитостатическими, нейротрофическими или нейропротекторными. Например, антитела могут быть конъюгированы с токсичными химиотерапевтическими лекарственными средствами, такими как майтансин, гелданамицин, ингибиторы тубулина, такие как агенты, связывающие тубулин (например, ауристатины), или агентами, связывающими малые бороздки, такими как калихеамицин. Другие репрезентативные терапевтические фрагменты включают в себя агенты, которые, как известно, полезны для лечения, контроля или облегчения болезни Альцгеймера, синдрома Дауна, легкого когнитивного нарушения, первичной возрастной таупатии, постэнцефалитного паркинсонизма, посттравматической деменции или деменции боксеров, болезни Пика, болезни Ниманна – Пика типа С, надъядерного паралича, лобно-височной деменции, лобно-височной лобарной дегенерации, болезни с аргирофильными зернами, глобулярной глиальной таупатии, бокового амиотрофического склероза/комплекса паркинсонизм-деменция Гуама, кортикобазальной дегенерации (КБД), деменции с тельцами Леви, варианта болезни Альцгеймера с тельцами Леви (ВБАТЛ), хронической травматической энцефалопатии (ХТЭ), глобулярной глиальной таупатии (ГГТ) или прогрессирующего надъядерного паралича (ПНП).

[0358] Антитела могут также быть связаны с другими белками. Например, антитела могут быть связаны с финомерами. Финомеры представляют собой небольшие связывающие белки (например, 7 кДа), происходящие из домена Fyn SH3 человека. Они могут быть стабильными и растворимыми, и в них могут отсутствовать остатки цистеина и дисульфидные связи. Финомеры могут быть сконструированы для связывания с целевыми молекулами с такой же аффинностью и специфичностью, что и антитела. Они подходят для создания полиспецифических слитых белков на основе антител. Например, финомеры могут быть слиты с N-концом и/или C-концом антител для создания би- и триспецифических FynomAb с различной архитектурой. Финомеры можно выбирать с использованием библиотек финомеров с помощью технологий скрининга с использованием FACS, *Viacore* и клеточных анализов, которые позволяют эффективно выбирать финомеры с оптимальными свойствами. Примеры финомеров описаны в работах Grabulovski et al., *J. Biol. Chem.* 282: 3196-3204 (2007); Bertschinger et al., *Protein Eng. Des. Sel.* 20: 57-68 (2007); Schlatter et al., *MAbs.* 4: 497-508 (2011); Banner et al., *Acta.*

Crystallogr. D. Biol. Crystallogr. 69 (Pt6): 1124-1137 (2013); и Brack et al., Mol. Cancer Ther. 13: 2030-2039 (2014).

[0359] Антитела, описанные в данном документе, могут также быть связаны или конъюгированы с одним или большим числом других антител (например, с образованием гетероконъюгатов антител). Такие другие антитела могут связываться с разными эпитопами внутри тау или могут связываться с другим целевым антигеном.

[0360] Антитела могут также быть связаны с выявляемой меткой. Такие антитела можно применять, например, для диагностики болезни Альцгеймера, синдрома Дауна, легкого когнитивного нарушения, первичной возрастной таупатии, постэнцефалитного паркинсонизма, посттравматической деменции или деменции боксеров, болезни Пика, болезни Ниманна – Пика типа С, надъядерного паралича, лобно-височной деменции, лобно-височной лобарной дегенерации, болезни с аргирофильными зернами, глобулярной глиальной таупатии, бокового амиотрофического склероза/комплекса паркинсонизм-деменция Гуама, кортикобазальной дегенерации (КБД), деменции с тельцами Леви, варианта болезни Альцгеймера с тельцами Леви (ВБАТЛ), хронической травматической энцефалопатии (ХТЭ), глобулярной глиальной таупатии (ГГТ) или прогрессирующего надъядерного паралича (ПНП), и/или для оценки эффективности лечения. Такие антитела особенно полезны для выполнения таких определений у субъектов, которые имеют болезнь Альцгеймера, синдром Дауна, легкое когнитивное нарушение, первичную возрастную таупатию, постэнцефалитный паркинсонизм, посттравматическую деменцию или деменцию боксеров, болезнь Пика, болезнь Ниманна – Пика типа С, надъядерный паралич, лобно-височную деменцию, лобно-височную лобарную дегенерацию, болезнь с аргирофильными зернами, глобулярную глиальную таупатию, боковой амиотрофический склероз/комплекс паркинсонизм-деменция Гуама, кортикобазальную дегенерацию (КБД), деменцию с тельцами Леви, вариант болезни Альцгеймера с тельцами Леви (ВБАТЛ), хроническую травматическую энцефалопатию (ХТЭ), глобулярную глиальную таупатию (ГГТ) или прогрессирующий надъядерный паралич (ПНП), или которые предрасположены к вышеуказанному, или в соответствующих биологических образцах от таких субъектов. Репрезентативные выявляемые метки, которые могут быть слиты или связаны с антителом, включают в себя различные ферменты, такие как пероксидаза хрена, щелочная фосфатаза, бета-галактозидаза или ацетилхолинэстераза; протезные группы, такие как стрептавидин/биотин и авидин/биотин; флуоресцентные материалы, такие как умбеллиферон, флуоресцеин, флуоресцеинизотиоцианат, родамин, дихлортриазиниламин флуоресцеин, дансилхлорид или фикоэритрин; люминесцентные материалы, такие как люминол; биолюминесцентные материалы, такие как люцифераза, люциферин и экворин;

радиоактивные материалы, такие как радиоактивное серебро-111, радиоактивное серебро-199, висмут²¹³, йод (¹³¹I, ¹²⁵I, ¹²³I, ¹²¹I), углерод (¹⁴C), сера (³⁵S), тритий (³H), индий (¹¹⁵In, ¹¹³In, ¹¹²In, ¹¹¹In), технеций (⁹⁹Tc), таллий (²⁰¹Tl), галлий (⁶⁸Ga, ⁶⁷Ga), палладий (¹⁰³Pd), молибден (⁹⁹Mo), ксенон (¹³³Xe), фтор (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 и ¹¹⁷олово; позитронно-излучающие металлы с использованием различных позитронно-эмиссионных томографов; нерадиоактивные ионы парамагнитных металлов; и молекулы, которые помечены радиоактивными изотопами или конъюгированы с конкретными радиоизотопами.

[0361] Связывание радиоизотопов с антителами можно осуществлять с помощью обычных бифункциональных хелатов. Для связи радиоактивного серебра-111 и радиоактивного серебра-199 можно использовать линкеры на основе серы. См. работу Nazra et al., *Cell Biophys.* 24-25: 1-7 (1994). Связывание радиоизотопов серебра может включать в себя восстановление иммуноглобулина аскорбиновой кислотой. Для радиоизотопов, таких как ¹¹¹In и ⁹⁰Y, можно использовать ибритумомаб тиуксетан, который будет реагировать с такими изотопами с образованием ¹¹¹In-ибритумомаб тиуксетана и ⁹⁰Y-ибритумомаб тиуксетана, соответственно. См. работу Witzig, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 48 Suppl 1: S91-S95 (2001).

[0362] Терапевтические фрагменты, другие белки, другие антитела и/или обнаруживаемые метки могут быть связаны или конъюгированы, напрямую или непрямо, через промежуточное соединение (например, линкер), с антителом согласно данному изобретению. См. работы Arnon et al., "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy," in *Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy*, Reisfeld et al. (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom et al., "Antibodies For Drug Delivery," in *Controlled Drug Delivery* (2nd Ed.), Robinson et al. (eds.), pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review," in *Monoclonal Antibodies 84: Biological And Clinical Applications*, Pinchera et al. (eds.), pp. 475-506 (1985); "Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy," in *Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy*, Baldwin et al. (eds.), pp. 303-16 (Academic Press 1985); и Thorpe et al., *Immunol. Rev.*, 62: 119-58 (1982). Подходящие линкеры включают в себя, например, расщепляемые и нерасщепляемые линкеры. Можно использовать различные линкеры, которые высвобождают связанные терапевтические фрагменты, белки, антитела и/или обнаруживаемые метки в окислительных или восстановительных условиях, или при воздействии определенных протеаз, или в других определенных условиях.

VII. Фармацевтические композиции и способы применения

[0363] В профилактических применениях антитело или агент для индукции антитела, или его фармацевтическую композицию вводят пациенту, предрасположенному к заболеванию или другим образом имеющему риск заболевания (например, болезни Альцгеймера), в режиме (доза, частота и способ введения), эффективном для снижения риска, уменьшения тяжести или отсрочки появления хотя бы одного признака или симптома заболевания. В частности, режим, предпочтительно, является эффективным для ингибирования или задержки образования тау или фосфо-тау и парных нитей, образованных из них в головном мозге, и/или ингибировать или задерживать их токсические эффекты, и/или ингибировать или задерживать развитие поведенческих дефицитов. В терапевтических применениях антитело или агент для индукции антитела вводят пациенту с подозрением на заболевание или уже страдающему заболеванием (например, болезнью Альцгеймера) в режиме (доза, частота и путь введения), эффективном для улучшения или по меньшей мере сдерживания дальнейшего ухудшения по меньшей мере одного признака или симптома заболевания. В частности, режим, предпочтительно, является эффективным для снижения или по меньшей мере ингибирования дальнейшего повышения уровней тау, фосфо-тау или парных филаментов, образованных из него, ассоциированных с токсичностью и/или поведенческими дефицитами. Поведенческие дефициты можно оценить с помощью когнитивных шкал, таких как ADAS Cog, или мини-теста психического статуса. О лечении может свидетельствовать улучшение показателей по этим шкалам, необязательно – до показателей в пределах нормы, уменьшение спада или поддержание постоянного значения по шкалам. О профилактике может свидетельствовать уменьшение, отсрочка или отсутствие снижения по данным шкалам. Лечение и профилактика могут также быть подтверждены изменениями уровней одного или большего числа маркеров, включительно с теми, которые раскрыты в примерах.

[0364] Режим считается терапевтически или профилактически эффективным, если у отдельного пролеченного субъекта достигается более благоприятный результат, чем средний результат в контрольной популяции сопоставимых пациентов, не леченных способами согласно данному изобретению, или если у пролеченных пациентов демонстрируется более благоприятный результат по сравнению с пациентами контрольной группы в контролируемом клиническом испытании (испытание фазы II, фазы II/III или испытание фазы III) при уровне $p < 0,05$ или $0,01$, или даже $0,001$.

[0365] Эффективные дозы варьируют в зависимости от многих различных факторов, в том числе способа введения, целевого сайта, физиологического состояния

пациента, от того, является ли пациент носителем AроЕ, представляет ли собой пациент человека или животное, других вводимых медицинских препаратов и того, является ли лечение профилактическим или терапевтическим.

[0366] Иллюстративные диапазоны доз для антител составляют от около 0,01 до около 60 мг/кг или от около 0,1 до около 3 мг/кг, или 0,15-2 мг/кг, или 0,15-1,5 мг/кг массы тела пациента. Антитело можно вводить в таких дозах ежедневно, через сутки, еженедельно, раз в две недели, ежемесячно, ежеквартально или по любому другому графику, определенному эмпирическим анализом. Иллюстративное лечение включает в себя введение в нескольких дозах в течение длительного периода, например, по меньшей мере шести месяцев. Дополнительные иллюстративные режимы лечения включают в себя введение один раз в две недели или один раз в месяц, или один раз каждые 3-6 месяцев.

[0367] Количество агента для активного введения варьируется от 0,1-500 мкг и больше на пациента, как правило, от 1-100 или 1-10 мкг на инъекцию для введения человеку. Время введения инъекций может значительно варьировать от одного раза в сутки до одного раза в год и одного раза в десять лет. Типичный режим состоит из иммунизации с последующими повторными инъекциями через определенные промежутки времени, например, 6 недель или два месяца. Другой режим состоит из иммунизации с последующими повторными инъекциями через 1, 2 и 12 месяцев. Другой режим предполагает введение каждые два месяца пожизненно. В качестве альтернативы, повторные инъекции могут быть нерегулярными, на что указывает мониторинг иммунного ответа.

[0368] Антитела или агенты для индукции антител предпочтительно вводят периферическим путем (т. е. таким, при котором введенное или индуцированное антитело пересекает гематоэнцефалический барьер, чтобы достичь необходимого участка в головном мозге). Пути введения включают в себя местный, внутривенный, пероральный, подкожный, внутриартериальный, внутричерепной, интратекальный, внутрибрюшинный, интраназальный, внутриглазной или внутримышечный. Предпочтительными путями введения антител являются внутривенный и подкожный. Предпочтительными путями активной иммунизации являются подкожный и внутримышечный. Данный тип инъекции чаще всего выполняется в мышцы рук или ног. В некоторых способах агенты вводят путем инъекции непосредственно в конкретную ткань, где накопились отложения, например, внутричерепная инъекция.

[0369] Фармацевтические композиции для парентерального введения предпочтительно являются стерильными и по существу изотоничными, и произведены согласно условиям правил производства и контроля качества лекарственных средств

(GMP). Фармацевтические композиции могут быть предоставлены в единичной лекарственной форме (т. е. дозированной форме для однократного введения). Фармацевтические композиции могут быть составлены с использованием одного или большего числа физиологически приемлемых носителей, разбавителей, эксципиентов или вспомогательных веществ. Состав зависит от выбранного пути введения. Антитела для инъекционного введения могут быть составлены в водных растворах, предпочтительно – в физиологически совместимых буферах, таких как раствор Хэнкса, раствор Рингера или физиологический солевой буфер, или ацетатный буфер (для снижения дискомфорта в месте инъекции). Раствор может содержать рецептурные агенты, такие как суспендирующие, стабилизирующие и/или диспергирующие агенты. В качестве альтернативы, антитела могут быть в лиофилизированной форме для растворения подходящей несущей средой, например, стерильной апиrogenной водой, перед применением.

[0370] Введение согласно данным режимам можно выполнять в комбинации с другим агентом, эффективным для лечения или профилактики заболевания, подлежащего лечению. Например, в случае болезни Альцгеймера данные режимы можно комбинировать с иммунотерапией против Аβ (WO/2000/072880), ингибиторами холинэстеразы или мемантина, или, в случае болезни Паркинсона, – с иммунотерапией против альфа-синуклеина (WO/2008/103472), леводопой, агонистами дофамина, ингибиторами СОМТ, ингибиторами MAO-B, амантадином или антихолинергическими агентами.

[0371] Антитела вводят в эффективном режиме, означающем дозу, путь введения и частоту введения, которые задерживают начало, уменьшают тяжесть, ингибируют дальнейшее ухудшение и/или облегчают по меньшей мере один признак или симптом заболевания, подлежащего лечению. Если пациент уже страдает заболеванием, режим можно назвать терапевтически эффективным режимом. Если пациент находится в группе повышенного риска заболевания по сравнению с населением в целом, но еще не испытывает симптомов, режим можно назвать профилактически эффективным. В некоторых случаях терапевтическая или профилактическая эффективность может наблюдаться у отдельного пациента относительно исторического контроля или предшествующего опыта у того же пациента. В других случаях терапевтическая или профилактическая эффективность может быть продемонстрирована в доклинических или клинических испытаниях на популяции пролеченных пациентов по сравнению с контрольной популяцией нелеченных пациентов.

[0372] Иллюстративные дозы для антитела составляют 0,1-60 мг/кг (например, 0,5,

3, 10, 30 или 60 мг/кг) или 0,5-5 мг/кг масса тела (например, 0,5, 1, 2, 3, 4 или 5 мг/кг), или 10-4000 мг, или 10-1500 мг в виде фиксированной дозы. Доза зависит от состояния пациента и реакции на предшествующее лечение, если таковые имеются, от того, является ли лечение профилактическим или терапевтическим, а также от того, является ли заболевание острым или хроническим, среди других факторов.

[0373] Введение может быть парентеральным, внутривенным, пероральным, подкожным, внутриартериальным, внутрочерепным, интратекальным, внутрибрюшинным, местным, интраназальным или внутримышечным. Некоторые антитела можно вводить в системный кровоток путем внутривенного или подкожного введения. Внутривенное введение может быть, например, инфузией в течение периода времени, такого как 30-90 мин.

[0374] Частота введения зависит от периода полужизни антитела в кровотоке, состояния пациента и пути введения, среди других факторов. Частота может быть ежедневной, еженедельной, ежемесячной, ежеквартальной или с нерегулярными интервалами в ответ на изменения в состоянии пациента или прогрессирование заболевания, подлежащего лечению. Иллюстративная частота внутривенного введения составляет от еженедельной до ежеквартальной в зависимости от продолжительности причины лечения, хотя также возможно более или менее частое введение доз. Для подкожного введения иллюстративная частота введения доз составляет от ежедневной до ежемесячной, хотя также возможно более или менее частое введение доз.

[0375] Число вводимых доз зависит от того, является ли нарушение острым или хроническим, и от реакции нарушения на лечение. При острых нарушениях или обострениях хронического нарушения часто бывает достаточно от 1 до 10 доз. Иногда однократной болюсной дозы, необязательно – в разделенной форме, достаточно для лечения острого нарушения или обострения хронического нарушения. Лечение можно повторять при рецидиве острого нарушения или при обострении. При хронических нарушениях антитело можно вводить с регулярными интервалами, например, еженедельно, раз в две недели, ежемесячно, ежеквартально, каждые шесть месяцев в течение по меньшей мере 1, 5 или 10 лет, или в течение всей жизни пациента.

A. Способы диагностики и мониторинга

Визуализация *in vivo*, способы диагностики и оптимизация иммунотерапии

[0376] В данном изобретении представлены способы визуализации отложений тау (например, нейрофибриллярных клубков и включений тау) у пациента. Данные способы работают путем введения пациенту реагента, такого как антитело, которое связывает тау (например, мышинового, гуманизированного, химерного или венерированного антитела 3D6),

и затем обнаружения агента после его связывания. Предпочтительными являются антитела, связывающиеся эпитопом тау в пределах аминокислотных остатков 199-213 или 262-276 из SEQ ID NO:3 (что соответствует аминокислотным остаткам 257-271 или 320-334, соответственно, из SEQ ID NO:1), или в пределах аминокислотных остатков 259-268, или 290-299, или 321-330, или 353-362 из SEQ ID NO:1. В некоторых способах антитело связывается с эпитопом в пределах аминокислотных остатков 199-213 из SEQ ID NO:3 (что соответствует аминокислотным остаткам 257-271 из SEQ ID NO:1), или в пределах аминокислотных остатков 262-276 из SEQ ID NO:3 (что соответствует аминокислотным остаткам 320-334 из SEQ ID NO:1). В некоторых способах антитело связывается с эпитопом в пределах аминокислотных остатков 259-268 из SEQ ID NO:1, в пределах аминокислотных остатков 290-299 из SEQ ID NO:1, в пределах аминокислотных остатков 321-330 из SEQ ID NO:1 или в пределах аминокислотных остатков 353-362 из SEQ ID NO:1. Очищающего ответа на введенные антитела можно избежать или уменьшить его с помощью фрагментов антител, лишенных полноразмерной константной области, таких как Fab. В некоторых способах одно и то же антитело может служить как лечебным, так и диагностическим реагентом.

[0377] Диагностические реагенты можно вводить путем внутривенной инъекции в тело пациента или непосредственно в головной мозг путем внутричерепной инъекции, или путем просверливания отверстия в черепе. Доза реагента должна находиться в тех же пределах, что и для лечебных способов. Как правило, реагент является меченым, хотя в некоторых способах первичный реагент, обладающий аффинностью к тау, является немеченым, и для связывания с первичным реагентом используется вторичный маркирующий агент. Выбор метки зависит от средств обнаружения. Например, флуоресцентная метка подходит для оптического обнаружения. Использование парамагнитных меток подходит для томографического обнаружения без хирургического вмешательства. Радиоактивные метки можно также обнаруживать с помощью позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) или однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ).

[0378] Способы визуализации отложений белка тау *in vivo* полезны для диагностики или подтверждения диагноза таупатии, такой как болезнь Альцгеймера, лобно-височная лобарная дегенерация, прогрессирующий надъядерный паралич и болезнь Пика, или предрасположенности к такому заболеванию. Например, данные способы можно применять у пациентов с симптомами деменции. Если у пациента присутствуют нейрофибриллярные клубки, то он, вероятно, страдает болезнью Альцгеймера. В качестве альтернативы, если у пациента присутствуют аномальные включения тау, то, в

зависимости от расположения включений, пациент может страдать лобно-височной лобарной дегенерацией. Данные способы можно также применять у бессимптомных пациентов. Присутствие аномальных отложений белка тау указывает на предрасположенность к будущему симптоматическому заболеванию. Данные методы также полезны для мониторинга прогрессирования заболевания и/или ответа на лечение у пациентов, у которых ранее было диагностировано тау-ассоциированное заболевание.

[0379] Диагностику можно проводить путем сравнения числа, размера и/или интенсивности помеченных локусов с соответствующими значениями базового уровня. Значения базового уровня могут представлять собой средние уровни в популяции субъектов, не страдающих данным заболеванием. Значения базового уровня могут также представлять собой предшествующие уровни, определенные у того же пациента. Например, значения базового уровня можно определить у пациента до начала лечения иммунотерапией тау и значения, измеренные после этого, можно сравнивать со значениями базового уровня. Уменьшение значений относительно базового уровня свидетельствует о положительном ответе на лечение.

[0380] У некоторых пациентов диагностике таупатии может способствовать выполнение ПЭТ-сканирования. ПЭТ-сканирование можно выполнять с использованием, например, обычного ПЭТ-визуализатора и вспомогательного оборудования. Данное сканирование, как правило, включает в себя одну или большее число областей головного мозга, которые, как известно в целом, ассоциированы с отложениями белка тау, и одну или большее число областей, в которых, как правило, присутствует мало отложений, если они вообще присутствуют, чтобы служить в качестве контроля.

[0381] Сигнал, обнаруженный при сканировании ПЭТ, может быть представлен как многомерное изображение. Многомерное изображение может быть в двух измерениях, представляющих собой поперечное сечение головного мозга, в трех измерениях, представляющих собой трехмерный головной мозг, или в четырех измерениях, представляющих собой изменения в трехмерном головном мозге с течением времени. Может использоваться цветовая шкала с разными цветами, указывающими на разное количество метки и, соответственно, обнаруженные отложения белка тау. Результаты сканирования могут также быть представлены в числовом виде с числами, относящимися к количеству обнаруженной метки и, следовательно, количеству отложений белка тау. Метку, присутствующую в области головного мозга, которая, как известно, ассоциирована с отложениями для конкретной таупатии (например, болезни Альцгеймера), можно сравнивать с меткой, присутствующей в области, которая, как известно, не ассоциирована с отложениями, чтобы обеспечить соотношение, указывающее на степень отложений в

указанной первой области. Для одного и того же радиоактивно меченного лиганда такие соотношения обеспечивают сопоставимую меру отложений белка тау и их изменений у разных пациентов.

[0382] В некоторых способах ПЭТ-сканирование выполняют одновременно с визитом пациента или во время того же визита, что и МРТ- или КТ-сканирование. МРТ- или КТ-сканирование позволяют получить больше анатомических деталей головного мозга, чем ПЭТ-сканирование. Однако изображение из ПЭТ-сканирования можно наложить на изображение из МРТ- или КТ-сканирования, более точно указывая расположение ПЭТ-лиганда и предположительно отложения тау относительно анатомических структур в головном мозге. Некоторые аппараты могут выполнять как ПЭТ-сканирование, так и МРТ- или КТ-сканирование без изменения положения пациента между сканированиями, что облегчает наложение изображений.

[0383] Подходящие ПЭТ-лиганды включают в себя радиоактивно меченные антитела согласно данному изобретению (например, мышинное, гуманизированное, химерное или венерное антитело 3D6). Используемый радиоизотоп может представлять собой, например, C^{11} , N^{13} , O^{15} , F^{18} или I^{123} . Интервал между введением ПЭТ-лиганда и проведением сканирования может зависеть от ПЭТ-лиганда и, в частности, от скорости его поглощения и клиренса в головном мозге, а также от периода полужизни его радиоактивной метки.

[0384] ПЭТ-сканирование можно также выполнять в качестве профилактической меры у бессимптомных пациентов или у пациентов, у которых есть симптомы легкого когнитивного нарушения, но еще не диагностирована таупатия, но у них повышенный риск развития таупатии. Для бессимптомных пациентов сканирование особенно полезно для субъектов, которые считаются подверженными повышенному риску таупатии из-за семейного анамнеза, генетических или биохимических факторов риска или зрелого возраста. Профилактическое сканирование можно начинать, например, у пациента в возрасте от 45 до 75 лет. Некоторым пациентам первое сканирование проводят в возрасте 50 лет.

[0385] Профилактическое сканирование можно проводить с интервалом, например, от шести месяцев до десяти лет, предпочтительно – от 1 до 5 лет. Некоторым пациентам профилактическое сканирование проводят ежегодно. Если ПЭТ-сканирование, выполненное в качестве профилактической меры, указывает на аномально высокие уровни отложений белка тау, можно начать иммунотерапию и выполнить последующее ПЭТ-сканирование, как у пациентов с диагностированной таупатией. Если ПЭТ-сканирование, выполненное в качестве профилактической меры, показывает уровни

отложений белка тау в пределах нормы, дальнейшее ПЭТ-сканирование можно выполнять с интервалами от шести месяцев до 10 лет, а предпочтительно – 1-5 лет, как и раньше, или в ответ на появление признаков и симптомов таупатии или легкого когнитивного нарушения. Комбинируя профилактическое сканирование с проведением тау-направленной иммунотерапии, если и когда обнаруживается уровень отложений белка тау выше нормального, уровни отложений белка тау можно снизить до нормального уровня или приблизиться к нему, или по меньшей мере предотвратить его дальнейшее повышение, и пациент может оставаться свободным от таупатии в течение более длительного периода, чем если бы он не получал профилактическое сканирование и тау-направленную иммунотерапию (например, по меньшей мере 5, 10, 15 или 20 лет, или до конца жизни пациента).

[0386] Нормальные уровни отложений белка тау можно определить по количеству нейрофибриллярных клубков или включений тау в головном мозге репрезентативной выборки людей из общей популяции, у которых не была диагностирована таупатия (например, болезнь Альцгеймера), и которые не рассматриваются как имеющие повышенный риск развития такого заболевания (например, репрезентативная выборка субъектов без заболевания в возрасте до 50 лет). В качестве альтернативы, нормальный уровень можно распознать у отдельного пациента, если сигнал ПЭТ в соответствии с представленными способами в области головного мозга, в которой, как известно, развиваются отложения белка тау, не отличается (в пределах точности измерения) от сигнала в области головного мозга, в которой, как известно, такие отложения в норме не образуются. Повышенный уровень у субъекта можно распознать путем сравнения с нормальными уровнями (например, вне среднего значения и дисперсии стандартного отклонения) или просто по повышенному сигналу за пределами экспериментальной ошибки в области головного мозга, ассоциированной с отложениями белка тау, по сравнению с областью, которая, как известно, не ассоциирована с отложениями. В целях сравнения уровней отложений белка тау у индивидуума и популяции, отложения белка тау предпочтительно следует определять в одной и той же области (-ях) головного мозга, при этом данные области включают в себя по меньшей мере одну область, в которой, как известно, образуются отложения белка тау, ассоциированные с определенной таупатией (например, болезнью Альцгеймера). Пациент с повышенным уровнем отложений белка тау является кандидатом, чтобы начать у него иммунотерапию.

[0387] После начала иммунотерапии снижение уровня отложений белка тау можно сначала рассматривать как показатель того, что данное лечение дает желаемый эффект. Наблюдаемое снижение может быть, например, в диапазоне 1-100%, 1-50%, или 1-25% от

значения базового уровня. Такие эффекты можно измерять в одной или большем числе областей головного мозга, в которых, как известно, образуются отложения, или можно измерять в среднем по таким областям. Общий эффект лечения можно приблизительно оценить, прибавив процентное снижение относительно базового уровня к увеличению отложений белка тау, которое в противном случае произошло бы у среднего нелеченного пациента.

[0388] Поддержание отложений белка тау на приблизительно постоянном уровне или даже небольшое увеличение отложений белка тау также может быть признаком ответа на лечение, хотя и субоптимального ответа. Такие ответы можно сравнивать с динамикой уровней отложений белка тау у пациентов с определенной таупатией (например, болезнью Альцгеймера), которые не получали лечение, чтобы определить, оказывает ли иммунотерапия эффект на ингибирование дальнейшего увеличения отложений белка тау.

[0389] Мониторинг изменений отложений белка тау позволяет корректировать режим иммунотерапии или другого режима лечения в ответ на лечение. ПЭТ-мониторинг позволяет определить характер и степень ответа на лечение. Затем можно определить, следует ли корректировать лечение, и, при желании, лечение можно скорректировать в ответ на ПЭТ-мониторинг. Следовательно, ПЭТ-мониторинг позволяет скорректировать тау-направленную иммунотерапию или другой режим лечения до того, как другие биомаркеры, МРТ или когнитивные меры дадут заметный ответ. Существенное изменение означает, что сравнение значения параметра после лечения по сравнению с базовым уровнем дает некоторые доказательства того, что лечение привело или не привело к положительному эффекту. В некоторых случаях изменение значений параметра у пациента само по себе свидетельствует о том, что лечение привело или не привело к положительному эффекту. В других случаях изменение значений, если оно есть, у пациента сравнивают с изменением значений, если оно есть, в репрезентативной контрольной популяции пациентов, не проходящих иммунотерапию. Отличие ответа у конкретного пациента от нормального ответа у контрольного пациента (например, среднее значение плюс дисперсия стандартного отклонения) также может служить доказательством того, что режим иммунотерапии приводит или не приводит к положительному эффекту у пациента.

[0390] У некоторых пациентов мониторинг показывает заметное снижение отложений белка тау, но уровень отложений белка тау остается выше нормы. У таких пациентов, если нет неприемлемых побочных эффектов, режим лечения можно продолжить как есть или даже увеличить частоту введения и/или дозу, если она еще не

достигла максимальной рекомендуемой дозы.

[0391] Если мониторинг показывает, что уровни отложений белка тау у пациента уже снизились до нормальных или близких к нормальным уровням отложений белка тау, режим иммунотерапии можно скорректировать из индукционного режима (т. е. снижающего уровень отложений белка тау) на поддерживающий режим (т. е. поддерживающий отложения белка тау примерно на постоянном уровне). На такой режим можно влиять путем уменьшения дозы и/или частоты введения иммунотерапии.

[0392] У других пациентов мониторинг может показывать, что иммунотерапия имеет некоторый положительный эффект, хотя и субоптимальный эффект. Оптимальный эффект можно определить как процентное снижение уровня отложений белка тау в верхней половине или квантиле изменения отложений белка тау (измеренного или рассчитанного по всему головному мозгу или его репрезентативной (-ым) области (-ям), где, как известно, образуются отложения белка тау) в репрезентативной выборке пациентов с таупатией, проходящих иммунотерапию в определенный момент времени после начала терапии. Пациента, испытывающего меньший спад, или пациента, у которого отложения белка тау остаются постоянными или даже увеличиваются, но в меньшей степени, чем ожидается при отсутствии иммунотерапии (например, как это было установлено для контрольной группы пациентов, которым не проводилась иммунотерапия), можно классифицировать как испытывающего положительный, но субоптимальный ответ. У таких пациентов, необязательно, может быть изменен режим – увеличены доза и/или частота введения агента.

[0393] У некоторых пациентов отложения белка тау могут увеличиваться аналогично или в большей степени, чем отложения белка тау у пациентов, не получающих иммунотерапию. Если такое увеличение сохраняется в течение определенного периода времени, например, 18 месяцев или 2 года, даже после любого увеличения частоты или дозы агентов, иммунотерапия при желании может быть прекращена в пользу других способов лечения.

[0394] Вышеприведенное описание диагностики, мониторинга и корректировки лечения таупатий в основном сосредоточено на использовании ПЭТ-сканирования. Однако для выполнения таких способов вместо ПЭТ-сканирования можно использовать любой другой способ визуализации и/или измерения отложений белка тау, которые подходят для использования с антителами против тау согласно данному изобретению (например, мышинным, гуманизированным, химерным или венеризованным антителом 3D6).

[0395] Также представлены способы обнаружения иммунного ответа против тау у пациента, страдающего или предрасположенного к заболеваниям, ассоциированным с тау.

Данные способы можно применять для мониторинга курса терапевтического и профилактического лечения агентами, представленными в данном документе. Профиль антител после пассивной иммунизации обычно показывает немедленный пик концентрации антител, за которым следует экспоненциальный спад. Без дополнительной дозы спад приближается к уровням до лечения в течение периода от нескольких суток до месяцев, в зависимости от периода полужизни введенного антитела. Например, период полужизни некоторых антител человека составляет порядка 20 суток.

[0396] В некоторых способах измерение базового уровня для антитела против тау у субъекта проводят до введения, второе измерение проводят вскоре после этого для определения пикового уровня антитела, и одно или большее число дополнительных измерений проводят через промежутки времени для отслеживания снижения уровней антитела. Когда уровень антитела снизился до базового уровня или до заранее определенного процента от пика за вычетом базового уровня (например, 50%, 25% или 10%), вводят дополнительную дозу антитела. В некоторых способах пиковые или последующие измеренные уровни за вычетом фона сравнивают с референсными уровнями, определенными ранее, чтобы составить благоприятный режим профилактического или терапевтического лечения для других субъектов. Если измеренный уровень антитела значительно ниже референсного уровня (например, меньше, чем среднее значение минус одно или, предпочтительно, два стандартных отклонения от референсного значения в популяции субъектов, получающих лечение), показано введение дополнительной дозы антитела.

[0397] Также представлены способы обнаружения тау у субъекта, например, путем измерения тау в образце от субъекта или путем визуализации тау у субъекта *in vivo*. Такие способы полезны для диагностики или подтверждения диагноза заболеваний, ассоциированных с тау, или предрасположенности к ним. Данные способы можно также применять для бессимптомных субъектов. Присутствие тау указывает на предрасположенность к будущему симптоматическому заболеванию. Данные способы также полезны для мониторинга прогрессирования заболевания и/или ответа на лечение у субъектов, у которых ранее диагностировали болезнь Альцгеймера, синдром Дауна, легкое когнитивное нарушение, первичную возрастную таупатию, постэнцефалитный паркинсонизм, посттравматическую деменцию или деменцию боксеров, болезнь Пика, болезнь Ниманна – Пика типа С, надъядерный паралич, лобно-височную деменцию, лобно-височную лобарную дегенерацию, болезнь с аргирофильными зернами, глобулярную глиальную таупатию, боковой амиотрофический склероз/комплекс паркинсонизм-деменция Гуама, кортикобазальную дегенерацию (КБД), деменцию с

тельцами Леви, вариант болезни Альцгеймера с тельцами Леви (ВБАТЛ), хроническую травматическую энцефалопатию (ХТЭ), глобулярную глиальную таупатию (ГГТ) или прогрессирующий надъядерный паралич (ПНП).

[0398] Биологические образцы, полученные от субъекта, имеющего, вероятно имеющего или имеющего риск болезни Альцгеймера, синдрома Дауна, легкого когнитивного нарушения, первичной возрастной таупатии, постэнцефалитного паркинсонизма, посттравматической деменции или деменции боксеров, болезни Пика, болезни Ниманна – Пика типа С, надъядерного паралича, лобно-височной деменции, лобно-височной лобарной дегенерации, болезни с аргирофильными зернами, глобулярной глиальной таупатии, бокового амиотрофического склероза/комплекса паркинсонизм-деменция Гуама, кортикобазальной дегенерации (КБД), деменции с тельцами Леви, варианта болезни Альцгеймера с тельцами Леви (ВБАТЛ), хронической травматической энцефалопатии (ХТЭ), глобулярной глиальной таупатии (ГГТ) или прогрессирующего надъядерного паралича (ПНП), можно приводить в контакт с антителами, представленными в данном документе, для оценки присутствия тау. Например, уровни тау у таких субъектов можно сравнивать с уровнями, присутствующими у здоровых субъектов. В качестве альтернативы, уровни тау у таких субъектов, получающих лечение от заболевания, можно сравнивать с таковыми у субъектов, которых не лечили от болезни Альцгеймера, синдрома Дауна, легкого когнитивного нарушения, первичной возрастной таупатии, постэнцефалитного паркинсонизма, посттравматической деменции или деменции боксеров, болезни Пика, болезни Ниманна – Пика типа С, надъядерного паралича, лобно-височной деменции, лобно-височной лобарной дегенерации, болезни с аргирофильными зернами, глобулярной глиальной таупатии, бокового амиотрофического склероза/комплекса паркинсонизм-деменция Гуама, кортикобазальной дегенерации (КБД), деменции с тельцами Леви, варианта болезни Альцгеймера с тельцами Леви (ВБАТЛ), хронической травматической энцефалопатии (ХТЭ), глобулярной глиальной таупатии (ГГТ) или прогрессирующего надъядерного паралича (ПНП). Некоторые такие анализы включают в себя биопсию ткани, взятой у таких субъектов. Анализы ТИФА также могут быть полезными способами, например, для оценки тау в образцах жидкости.

VIII. Наборы

[0399] В данном изобретении также представлены наборы (например, контейнеры), содержащие антитело, представленное в данном документе, и связанные материалы, такие как инструкции по применению (например, вкладыш в упаковку). Инструкции по применению могут содержать, например, инструкции по введению антитела и, необязательно, одного или большего числа дополнительных агентов. Контейнеры могут

представлять собой одноразовые дозы, многоразовые дозы (например, многодозовые упаковки) или субъединичные дозы.

[0400] Вкладыш в упаковку относится к инструкциям, обычно включаемым в коммерческие упаковки терапевтических продуктов, которые содержат информацию о показаниях, применении, дозах, введении, противопоказаниях и/или предостережениях относительно применения таких терапевтических продуктов.

[0401] Наборы могут также включать в себя второй контейнер, содержащий фармацевтически приемлемый буфер, такой как бактериостатическая вода для инъекций (BWFI), фосфатно-солевой буфер, раствор Рингера и раствор декстрозы. Он также может включать в себя другие материалы, желательные с коммерческой и пользовательской точек зрения, включительно с другими буферами, разбавителями, фильтрами, иглами и шприцами.

[0402] Все патентные документы, веб-сайты, другие публикации, учетные номера и тому подобное, цитируемые выше или ниже, включены в данный документ посредством ссылки в полном объеме и для всех целей в той же степени, как если бы для каждого отдельного элемента было специально и отдельно указано его включение посредством ссылки. Если с учетным номером в разное время связаны разные версии последовательности, подразумевается версия, которой присвоен учетный номер на момент действительной даты подачи данной заявки. Действительная дата подачи означает более раннюю дату из фактической даты подачи или даты подачи приоритетной заявки, ссылающейся на учетный номер, если это применимо. Подобным образом, если разные версии публикации, веб-сайта и тому подобного опубликованы в разное время, подразумевается самая последняя опубликованная версия на момент действительной даты подачи заявки, если не указано иное. Любой признак, этап, элемент, вариант осуществления или аспект данного изобретения можно использовать в комбинации с любым другим, если специально не указано иное. Несмотря на то, что данное изобретение было достаточно подробно описано посредством иллюстрации и примера в целях ясности и понимания, следует считать очевидным, что на практике можно вносить определенные изменения и модификации в рамках объема прилагаемой формулы изобретения.

ПРИМЕРЫ

[0403] Пример 1. Антитело 3D6 мыши и гуманизированный вариант hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4 блокируют интернализацию тау

[0404] Выполняли анализ интернализации с использованием сортировки активированных флуоресценцией клеток (FACS) для оценки способности различных

антител блокировать интернализацию тау в нейронах. Антитела, которые блокируют интернализацию, скорее всего, заблокируют передачу тау.

[0405] Растворимые агрегаты тау получали путем инкубации рекомбинантного полноразмерного тау с эквимольными количествами низкомолекулярного гепарина в течение 3 суток при 37°C. После инкубации нерастворимый и растворимый тау разделяли центрифугированием при 10000xg в течение 15 минут. Затем супернатант разделяли с помощью препаративной эксклюзионной хроматографии по размеру и собирали и концентрировали пики агрегатов (больше чем 100 кДа). Для измерения интернализации растворимую фракцию агрегатов метили сукцинимидиловым эфиром pHrodo Red, который флуоресцирует при интернализации в эндолизосомальный путь.

[0406] Растворимый олигомер тау человека 4RON P301L, меченный pHrodo (конечная концентрация – 1,5 мкг/мл), предварительно инкубировали с антителами против тау (титрование дозы: начальная концентрация – 80 мкг/мл, с последующими 4-кратными последовательными разведениями) в течение 30 мин при комнатной температуре в среде для культивирования клеток. Затем смесь тау/антитело добавляли к клеточным линиям нейробластомы В103 в конечной концентрации 500000 клеток/мл и инкубировали в течение 3-4 часов при 37°C в инкубаторе для культуры тканей (5% CO₂). Затем клетки промывали 3 раза культуральной средой с последующей 10-минутной инкубацией в культуральной среде и 2 раза промывали буфером для FACS (1% ЭТС в ФСБ). Клетки ресуспендировали в 100 мкл буфера для FACS и измеряли среднюю интенсивность флуоресценции Texas Red с помощью FACS LSR II. Флуоресценция Texas Red от pHrodo активируется низким pH, связанным с эндолизосомальными компартментами при интернализации. Поскольку FACS обнаруживает клетки, а pHrodo флуоресцирует только при интернализации, будет обнаружен только тау, интернализированный клетками. Чем ниже средняя интенсивность флуоресценции, тем меньше количество интернализированного белка тау, что предполагает более высокую блокирующую активность исследуемого антитела.

[0407] Как (m)PRX005 (3D6 мыши), так и PRX005 (hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4) проявляли высокую степень ингибирующей активности в модели интернализации тау при эквивалентной концентрации по сравнению с изотипическим контролем (изотип-контроль) (фиг. 1). Все значения представляют собой среднее значение ± СКО (среднеквадратичное отклонение) (n = 3-5). IC₅₀ = 9 нМ. [тау] = 167 нМ.

[0408] Пример 2. Антитело 3D6 мыши снижает развитие патологического тау в модели индуцированного засева тау с экстрактами ткани, пораженной болезнью Альцгеймера

[0409] Способность антитела 3D6 мыши снижать развитие патологического тау исследовали в модели индуцированного засева тау с экстрактами ткани, пораженной болезнью Альцгеймера

[0410] В данном исследовании использовали мышей, экспрессирующих клинический мутант тау человека (P301S) под контролем промотора мыши PrP (нейронспецифическая экспрессия), до появления патологии тау, обусловленной промотором. У мышей hTauP301S к 6-месячному возрасту проявляются нитевидные нейритические тау-поражения, которые постепенно накапливаются в связи с потерей нейронов и атрофией гиппокампа и энторинальной коры к возрасту 9-12 месяцев. Мышам (средний возраст – 3 месяца) выполняли однократную стереотаксическую инъекцию в гиппокамп. В течение 2 месяцев, начиная за 7 суток до инъекции в гиппокамп, мыши (n = 30/группа) получали еженедельные в/бр-инъекции (50 мг/кг) антитела 3D6 (mPRX005)-IgG2a мыши или отрицательного контрольного антитела IgG2a. В конце исследования степень патологического прогрессирования оценивали с помощью антитела AT8.

[0411] Получение экстрактов головного мозга, пораженного БА

[0412] Ткань, пораженную болезнью Альцгеймера, гомогенизировали и обогащали белком тау: сначала ресуспендировали серое вещество человека в 9 объемных эквивалентах (к исходной массе ткани головного мозга) в буфере А (10 mM TRIS, 0,8 M NaCl, 10% сахарозы, 2 mM DTT, 1 mM EGTA, pH 7,4), затем гомогенизировали 20 ходами автоматического гомогенизатора Даунса. Затем гомогенат центрифугировали при 10000 xg в течение 10 минут при 4°C. Супернатант фильтровали через Kimwipе и выдерживали на льду до дальнейшего использования. Осадок с этапа центрифугирования снова ресуспендировали в 9 объемных эквивалентах и центрифугировали при тех же условиях, что и раньше. Супернатант, полученный в результате этого центрифугирования, снова фильтровали через Kimwipе и объединяли с первой фракцией. Затем эти объединенные супернатанты доводили до 1% лаурилсаркозина (из 30%-го начального раствора) и перемешивали при 180 об/мин в течение 180 минут при комнатной температуре. Затем данный лизат центрифугировали при 250000 xg в течение 90 минут при 4°C. Супернатант сохраняли в виде саркозил-растворимой фракции, а осадок осторожно промывали в 6 мл ФСБ так, чтобы не сместить его из пробирки. Промывочную жидкость удаляли и к осадку добавляли еще 2 мл промывочной жидкости. После удаления данной промывочной жидкости осадок извлекали с помощью 1 мл ФСБ, ресуспендировали и переносили в чистую и стерильную микроцентрифужную пробирку. Затем ресуспендированный осадок снова центрифугировали при 250000 xg в течение 30 минут при 4°C. После

центрифугирования осадок отделяли от супернатанта и ресуспендировали в 0,1 мл ФСБ/г исходной массы. Осадок измельчали с помощью наконечника пипетки и перемешивали переворачиванием в течение 16 часов при комнатной температуре. После инкубации суспензию обрабатывали ультразвуком в течение пятнадцати импульсов продолжительностью 0,5 с (установленная мощность – 15%, рабочий цикл – 100%) с использованием соникатора с наконечником. Затем обработанный ультразвуком материал пропускали через иглу калибра 27G и перемешивали переворачиванием в течение 30 минут при комнатной температуре. Раствор обрабатывали ультразвуком и образец центрифугировали при 100000 xg в течение 30 минут при 4°C. Супернатант сохраняли в виде фракции супернатанта высокого g, а осадок ресуспендировали в ФСБ с использованием 50 мкл/г исходного материала. Ресуспендированный осадок обрабатывали ультразвуком при 20% мощности в течение ста импульсов продолжительностью 0,5 с с 30-секундной выдержкой на льду каждые 20 импульсов. Данный гомогенат центрифугировали при 10000 xg в течение 10 минут при температуре 4°C. Данный конечный супернатант сохраняли в виде обогащенной саркозил-нерастворимой фракции белка тау, а осадок выбрасывали.

[0413] Составление и введение доз

[0414] Подготовка материалов

[0415] Необходимое количество саркозил-обогащенной фракции головного мозга пациентов с БА размораживали и обрабатывали ультразвуком в течение 3 минут при 10% мощности, 10 секундах с импульсом и 5 секундах без импульса

на водяной бане соникатора (QSonica), наполненной ледяной водой. 1 мкл антитела 3D6 мыши (mPRX005) или 6F10 (контрольное антитело) (все без разведения, при 10 мг/мл), или ФСБ, смешивали пипеткой с 1 мкл саркозил-обогащенного головного мозга с БА перед стереотаксической инъекцией сразу после обработки ультразвуком. IgG2a мыши способствует более быстрому клиренсу тау фагоцитами *in vitro* по сравнению с IgG1, и его использовали в данном исследовании. IgG2a mPRX005 (3D6 мыши) продемонстрировал превосходную эффективность по сравнению с IgG1 *in vivo*.

[0416] Перед исследованием тестируемые и контрольные препараты составляли в стерильной несущей среде из 1-кратного фосфатно-солевого буфера (1xФСБ) до концентрации 5 мг/мл, чтобы обеспечить возможность введения в дозе объемом 10 мл/кг.

[0417] Стереотаксические инъекции

[0418] Мышей анестезировали изофлураном и помещали плоским черепом в стереотаксический аппарат (Kopf instruments). Область операции выбривали и дезинфицировали 70%-м спиртом и йодом, и делали разрез на коже. В черепе сверлили

отверстие в правильном роstralном и боковом положении относительно брегмы (координаты описаны в таблице 3) с помощью микродрели и сверла с диаметром головки 0,9 мм. В необходимое положение помещали канюлю 30-го калибра, удерживаемую в держателе (координаты описаны в таблице 3). Предварительно инкубированные экстракты головного мозга с БА (1 мкл экстракта головного мозга с БА) вводили со скоростью 1 мкл/мин (WPI, AL-1000, инфузионная помпа). Объем инъекции вводили через трубку PE10, присоединенную к герметичному шприцу Гамильтона объемом 10 мкл (№1701), помещенному в помпу для инфузии/оттока. После инфузии иглу оставляли в таком положении на 5 мин, затем медленно вынимали. Разрез кожи закрывали швами. Вводили карпрофен п/к в качестве обезболивающего средства. Температуру тела мышей поддерживали в течение всей процедуры, пока мыши не оправились от наркоза, с помощью грелки.

[0610] Таблица 3

План исследования

Путь введения	Внутричерепная стереотаксическая инъекция
Целевая ткань	Гиппокамп, СА1
Стереотаксические координаты	А/П: -1,7 мм М/Л: -1,9 мм Д/В: -2,0 мм
Объем дозы	1 мкл для предварительно инкубированных гомогенатов ствола головного мозга
Скорость инъекции	1 мкл/мин
Частота воздействия	Одна доза
Протоколы введения доз	Протоколы введения доз вели для каждой мыши, чтобы обеспечить отсутствие двойного введения или введения неправильных доз.

А/П: антериорно-постериорно; М/Л: медиально-латерально; Д/В: дорсально-вентрально

[0419] Отбор и обработка образцов

[0420] Мышей умерщвляли в возрасте 5 месяцев (через 2 месяца после стереотаксической инъекции) с помощью CO₂ и транскардиально промывали ледяным 1хФСБ в течение 5 минут (3 мл/мин с помощью перистальтической помпы) через левый желудочек. Правое предсердие перерезали в качестве пути оттока крови. Головной мозг извлекали из черепа. Цельный головной мозг фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине (НЗФ) в течение 24 часов и хранили в 1хФСБ при температуре

4°C до дальнейшей обработки.

[0421] Гистологическое окрашивание

[0422] Реагенты для иммунофлуоресцентного окрашивания были такими, как указано в таблице 4.

[0610] Таблица 4

Информация о реактивах для иммуногистохимии

Реактив	Хозяин	Конъюгация	Производитель	№ по каталогу	Разведение
AT8	Мышь	Биотин	Thermo Scientific	MN1020B	1:5000
VECTASTAIN® Elite ABC (комплекс авидин- биотин-ПХ)	Н/П	Н/П	Vector	PK-6100	1:100

[0423] Образцы головного мозга отправляли в NeuroScience Associates (г. Ноксвилл, штат Теннесси, США), обрабатывали в течение ночи 20%-м глицеролом и 2%-м диметилсульфоксидом для предотвращения артефактов замораживания. Затем образцы помещали в желатиновую матрицу с использованием технологии MultiBrain®/MultiCord® (NeuroScience Associates, г. Ноксвилл, штат Теннесси, США). Блоки быстро замораживали, после отверждения погружением в 2-метилбутан охлаждали дробленным сухим льдом и устанавливали на ступени замораживания скользящего микротомом АО 860. Блоки MultiBrain®/MultiCord® разрезали коронально на 35 мкм, получая срезы, содержащие гиппокамп (брегма -0,5 и -4,0). Все срезы разрезали по всей длине сегмента образца и собирали последовательно в серию из 24 контейнеров. Все контейнеры содержали раствор для консервирования антигена (50% ФСБ, pH7,0, 50% этиленгликоль, 1% поливинилпирролидон). Для иммуногистохимии свободно плавающие срезы окрашивали AT8 (1:5000, Thermo Scientific). Во всех инкубационных растворах, начиная с блокирующей сыворотки, использовали Трис-буферный солевой раствор (ТБС) с Тритон X-100 в качестве несущей среды; все промывки выполняли с использованием ТБС. После обработки перекисью водорода и блокирующей сывороткой срезы иммуноокрашивали биотинилированным AT8 (1:5000) в течение ночи при комнатной температуре. Растворы несущей среды содержали Тритон X-100 для пермеабилзации. После промывок наносили раствор ABC от Vector Lab (комплекс авидин-биотин-ПХ; VECTASTAIN® Elite ABC, Vector, г. Берлингем, штат Калифорния, США). Срезы снова промывали, затем обрабатывали диаминобензидин тетрагидрохлоридом (ДАБ) и перекисью водорода для

получения видимого продукта реакции. После дополнительных промывок срезы устанавливали на предметные стекла, покрытые желатином, и сушили на воздухе. Препараты обезвоживали в спиртах, очищали в ксилоле и закрывали покровными стеклами. На каждом препарате лазером гравировали номер блока и тип окрашивания. После упорядочивания препаратов в серии, от роstralного к каудальному для каждого окрашивания, препараты нумеровали перманентными чернилами в правом верхнем углу и сканировали цифровым способом с 10-кратным увеличением на Huron Digital Pathology Tissuescope LE 120.

[0424] Иммуногистохимический анализ

[0425] A8-положительные нейроны в ипсилатеральном и контралатеральном гиппокампах (cornu ammonis, dentate gyrus и subiculum) количественно определяли с использованием функции счетчика частиц на ImageJ. В общей сложности были количественно определены 15 срезов, расположенных с интервалом 210 мкм. Были включены только нейроны размером больше чем 5 мкм с различным ядром и нейрональными отростками.

[0426] Для расчета статистической значимости использовали двусторонний дисперсионный анализ с коэффициентами полушария (внутри субъекта) и воздействия (между субъектами). Весь статистический анализ и все графики выполняли с помощью GraphPad Prism 9.

[0427] Результаты

[0428] На фиг. 2А представлены изображения срезов головного мозга мышей, получавших контроль (верхняя панель) и 3D6 мыши [(m)PRX005]; нижняя панель]. Контралатеральная сторона (contra) находится на левой стороне каждого изображения, а ипсилатеральная (ipsi) – на правой стороне каждого изображения.

[0429] Результаты представлены на фиг. 2В. Общая нагрузка тау-патологии была ниже в контралатеральном (относительно инъекции) гиппокампе по сравнению с ипсилатеральным гиппокампом; это ожидаемо, поскольку патология в контралатеральном гиппокампе обусловлена распространением тау через эфферентные нейроны из места инъекции в гиппокампе. Системное воздействие антителом 3D6 мыши привело к значительному снижению окрашивания АТ8 как в ипсилатеральном, так и в контралатеральном гиппокампах, как измерено с помощью иммуногистохимии (фиг. 2В), по сравнению с воздействием изотипическим контролем IgG2a. Данные результаты демонстрируют эффективность системного введения антитела 3D6 мыши в ингибировании поглощения и распространения тау-патологии, индуцированной патогенными молекулами, происходящими из БА. Все значения представляют собой

среднее значение \pm CO (стандартная ошибка) (n = 30).

[0430] Пример 3. Воздействие антителом 3D6 мыши снижает патологический тау и смягчает поведенческий дефицит в трансгенной модели тау

[0431] Эффективность антитела 3D6 мыши (mPRX005) оценивали на трансгенной модели старения тау. Использование данной модели обеспечивает ортогональный подход к исследованию эффективности, поскольку патологическое развитие тау происходит из-за старения и сверхэкспрессии, и любые молекулы тау, доступные для лечения антителами, секретируются нейронами. Это устранило предвзятость, присущую отбору конкретного семени тау, используемого в модели индуцированного заболевания.

[0432] В данном исследовании оценивали зависящие от возраста изменения в патологии, посттрансляционные изменения в тау и поведенческие изменения у трансгенной линии мышей с тау человека, несущей клиническую мутацию P301S, связанную с лобно-височной деменцией, под контролем прионного промотора мыши (линия PS19). У мышей PS19 наблюдается зависимое от возраста гиперфосфорилирование тау (как обнаружено с помощью AT8 и AT100) в спинном мозге, стволе головного мозга, среднем мозге, коре головного мозга, миндалевидном теле и гиппокампе, а также наблюдается связанный с этим двигательный дефицит. Патологическое развитие тау проявляется к 6 месяцам и прогрессирует вместе с сопутствующей нейродегенерацией вплоть до смерти в возрасте 10-14 месяцев.

[0433] На мышей воздействовали инъекцией ФСБ, изотипического контроля IgG1 и антитела 3D6 мыши (mPRX005) еженедельно (50 мг/кг, в/бр (внутрибрюшинно)) в течение 3 месяцев (в возрасте 6-9,7 месяцев) и измеряли различные конечные точки тау-патологии и ассоциированные с ней поведенческие дефициты.

[0434] Поведенческая оценка

[0435] Тест на подвешивание к перевернутой сетке проводили в возрасте 3, 6 и 9 месяцев, и перед умерщвлением – в возрасте 9,7 месяцев. Подвешивание на перевернутой сетке проверяет координацию и состояние мышц. Сетку (40 × 20 см/0,5 × 0,5 см ячейка) располагали на высоте 50 см над плоской мягкой поверхностью и измеряли время, в течение которого животное опускалось вниз.

[0436] Свободно плавающие вибраторные срезы

[0437] Из каждого правого полушария вырезали в общей сложности около 32 сагиттальных срезов (40 мкм), содержащих соответствующие области, представляющие интерес. Срезы головного мозга, представляющие интерес, с интервалами 200 мкм между латеральной брегмой 2,64 и 0,84 были выбраны на основе стереотаксического атласа мозга мыши (Paxinos and Franklin). Наборы из 5 срезов на мышшь и ROI подготавливали для

окрашивания с помощью AT8 и AT100 соответственно. Срезы всех животных, отобранные для конкретного окрашивания, рандомизировали для окрашивания и количественно анализировали вслепую. Номер среза – это номер мышцы с расширением 1-5 для разных срезов на мышь.

[0438] Иммуногистохимические процедуры

[0439] Сагиттальные срезы головного мозга (40 мкм) вырезали на вибрирующем микротоме HM650V (Thermo Scientific, г. Уолтем, штат Массачусетс, США) и хранили в 1x ФСБ/0,1% натрий азида до использования.

[0440] После двукратной промывки в ФСБ в течение 5 минут срезы головного мозга инкубировали в растворе 1xФСБ:метанол (1:1) в течение 10 минут, затем промывали 3 раза по 5 минут раствором ФСБ-0,1 % Тритон-100 (ФСБТ). После блокирования (5% молоко в ФСБТ) в течение 30 минут срезы головного мозга инкубировали со специфическим первичным антителом мыши против тау (AT8 или AT100, характеристики см. в таблице 5 ниже) в течение 2 часов при комнатной температуре (или в течение ночи при 40°C), затем, после 3 промывок в ФСБТ по 5 минут, инкубировали с соответствующим вторичным антителом, конъюгированным с Alexa, в 5% молоке-ФСБТ (1:500; Invitrogen; ThermoFisher) в течение 1 часа при комнатной температуре. После 3 промывок в ФСБТ и 2 промывок в ФСБ по 5 минут каждая срезы головного мозга монтировали на предметные стекла микроскопа (Menzel, Superfrost+), высушивали, заливали реактивом Fluoromount (Sigma-Aldrich) и накрывали покровными стеклами. Иммунореактивную область в ROI определяли с помощью ImageJ. Статистический анализ выполняли в GraphPad Prism v9.0 с использованием критерия Краскела – Уоллиса с апостериорным анализом по Данну (для множественных сравнений), где это применимо. Выбросы точек данных идентифицировали с использованием способа ROUT в GraphPad Prism, основанного на способе анализа частоты ложных обнаружений (FDR) с использованием очень строгого Q = 0,1% (максимально желаемый FDR), где это применимо.

[0441] Таблица 5. Краткое описание антител, использованных для ИГХ-анализа

мАт	Поставщик	Специфичность	Хозяин	Исходная конц.	Рабочая конц.
AT8	Thermo Scientific	Человек	Мышь	200 мкг/мл	0,4 мкг/мл
AT100	Thermo Scientific	Человек	Мышь	200 мкг/мл	0,8 мкг/мл

[0442] Автоматизированный количественный анализ

[0443] Изображения получали с помощью флуоресцентного микроскопа Leica DM400 B LED и анализировали с помощью ImageJ. Все полученные изображения

подвергали одним и тем же компьютерным алгоритмам, чтобы свести к минимуму предвзятость исследователя. Для количественной оценки АТ8- и АТ100-положительных областей на протяжении всего анализа применяли автоматизированный способ пороговых значений.

[0444] Области, представляющие интерес (середины рострального моста), выбирали для количественной оценки ствола головного мозга. Для каждого окрашивания антителом АТ100 или АТ8 в анализ включали пять срезов головного мозга на мышь, соответственно, и вычисляли среднее значение. Изображения корректировали вручную, когда это было возможно, или исключали, когда область, представляющая интерес, имела механические, структурные артефакты и/или артефакты окрашивания.

[0445] Фиг. 3, верхняя панель, представляет собой схематическое изображение экспериментального протокола трансгенной модели тау. [в/бр, 1р./нед, 50 мг/кг означает внутривенную инъекцию, один раз в неделю, 50 мг на кг массы тела мыши]

[0446] Результаты

[0447] Системная пассивная иммунизация антителом 3D6 мыши способствовала уменьшению тау-патологии в стволе головного мозга (фиг. 3, нижняя правая панель; * $p < 0,05$), как измерено путем иммуноокрашивания антителами, направленными на участки гиперфосфорилирования тау. В дополнение к этому, лечение антителом 3D6 мыши уменьшило двигательный дефицит, связанный с патологией тау, как измерено с помощью анализа с подвешиванием сетки (фиг. 3, нижняя левая панель; * $p < 0,05$). Начало лечения в начале развития патологии (режим лечения) с помощью mPRX005 задерживает патологию тау ствола головного мозга и, как следствие, поведенческие дефициты. Лечение антителом 3D6 мыши также уменьшило патологическое накопление тау в коре головного мозга и гиппокампе, как измерено иммуногистохимическими и биохимическими методиками. Оценка остаточных уровней антител в два момента времени (перед 6-й дозой и по окончании исследования) показала, что средний уровень антитела 3D6 мыши составлял 280 мкг/мл. Взятые вместе, данные результаты демонстрируют эффективность лечения антителом 3D6 мыши в трансгенной модели возрастной таупатии и дают уверенность в том, что лечение антителом 3D6 мыши эффективно против прогрессирования тау, индуцированного нефибриллярными формами тау.

[0448] Пример 4. Антитело 3D6 мыши защищает первичные кортикальные нейроны от тау-индуцированной токсичности

[0449] Кортикальные нейроны эмбриональных суток 16-17 получали из эмбрионов мышей C57Bl6/J, как описано ранее (Pillot, T., Drouet, B., Queillé, S., et al., The nonfibrillar

amyloid beta-peptide induces apoptotic neuronal cell death: involvement of its C-terminal fusogenic domain. *J Neurochem.* 73 (4): 1626-34 (1999). Кратко, диссоциированные кортикальные клетки высевали (50000 клеток на лунку) в 48-луночные планшеты, предварительно покрытые полиорнитином, 1,5 мкг/мл (Sigma). Клетки культивировали в химически определенной модифицированной по Дульбекко среде Игла/F12 без сыворотки и с добавлением гормонов, белков и солей. Культуры содержали при 35°C во влажной атмосфере с 6% CO₂.

[0450] Воздействия на нейроны

[0451] Все воздействия выполняли в 48-луночных планшетах в трех повторностях в сутки а 6-7 день *in vitro* (DIV). Нейроны инкубировали либо с несущей средой, либо с олигомерами белка тау человека (hTO; конечная концентрация: 1 мкМ на основе мономеров), в присутствии 5 возрастающих концентраций указанного антитела в течение 24 ч и в конечном объеме, составляющем 140 мкл на лунку.

[0452] Конечные соотношения антитела к hTO составляли: 1:5, 1:3, 1:1, 3:1 и 5:1, где концентрация hTO основана на молярных эквивалентах мономера, поскольку точный состав и эпитопная презентация олигомеров неизвестны. Антитела инкубировали с hTO в течение 30 мин при комнатной температуре перед добавлением к нейронам.

[0453] Измерение жизнеспособности нейронов

[0454] Кортикальные нейроны мышей инкубировали в течение 24 ч после добавления исследуемых соединений перед мониторингом жизнеспособности нейронов с использованием анализов высвобождения 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолийбромида (МТТ) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ).

[0455] Для измерения сигнала МТТ клетки инкубировали при 35°C в течение 1 ч с МТТ (Sigma, № по каталогу: M2128-10G, № лота: МКВН7489V). С этой целью МТТ растворяли в ФСБ в концентрации 5 мг/мл. В каждую лунку добавляли по 14 мкл раствора МТТ. После инкубации среду удаляли, а клетки лизировали в 150 мкл ДМСО в течение 10 минут, защищая от света. После полной солюбилизации продукта формазана определяли абсорбцию при 570 нм в планшетном анализаторе FLUOSTAR-Omega (BMG-LABTECH).

[0456] Для измерения высвобождения ЛДГ культуральную среду (110 мкл) из каждой лунки переносили в пробирку Эппендорф на 1,5 мл и заменяли свежей средой для анализа МТТ. Собранную среду центрифугировали при 800 g в течение пяти минут и супернатант (100 мкл бесклеточной культуральной среды) переносили в 48-луночный планшет, который хранили при 4°C и защищали от света для дальнейшего анализа. Количественное определение ЛДГ в культуральной среде выполняли в соответствии с рекомендациями производителя (Cytotoxicity Detection Kit [LDH], Roche, Ref 11 644 793

001).

[0457] Результаты

[0458] Эффект антитела 3D6 мыши (mPRX005) на жизнеспособность нейронов: анализ ЛДГ

[0459] Чтобы исследовать способность антитела 3D6 мыши (mPRX005) защищать нейроны от тау-индуцированной нейротоксичности, на первичные кортикальные нейроны мыши воздействовали различными концентрациями антитела 3D6 мыши (mPRX005) с тау-олигомерами, и измеряли жизнеспособность с помощью МТТ-анализа. Использовали молярные эквиваленты антитела:hTO, поскольку (a) конкретный состав и молекулярная масса разновидностей тау неоднородны и неизвестны, и (b) из-за ограничений по продолжительности эксперимента и различий между средами *in vitro* и *in vivo* концентрация тау, используемая в данной конкретной модели для индуцирования измеримой токсичности, является более высокой, чем можно было бы ожидать от присутствия во внеклеточной среде головного мозга при БА. Лечение антителом 3D6 мыши (mPRX005) снижало тау-индуцированную токсичность дозозависимым образом и возвращало жизнеспособность нейронов к уровням, близким к базовому, при более высоких концентрациях (фиг. 4, панель слева; все значения представляют собой среднее \pm СО (n = 3-5)).

[0460] Эффект антитела 3D6 мыши (mPRX005) на жизнеспособность нейронов: анализ ЛДГ

[0461] В качестве ортогонального способа оценки жизнеспособности нейронов высвобождение ЛДГ также использовали для оценки предотвращения тау-индуцированной нейротоксичности антителом 3D6 мыши (mPRX005). Высвобождение лактатдегидрогеназы (ЛДГ) является показателем гибели клеток. Снижение ЛДГ указывает на снижение гибели клеток в результате снижения интернализации тау. Подобно лечению и результатам, наблюдаемым при МТТ-анализе, антитело 3D6 мыши (mPRX005) продемонстрировало способность предотвращать нейротоксичность тау дозозависимым образом, указывая на то, что целостность мембран нейронов после лечения тау сохранялась (фиг. 4, панель справа; все значения представляют собой среднее \pm СО (n = 3-5)).

[0462] В заключение, *in vitro*-скрининг антител, охватывающих всю длину белка тау, показал, что R1/R2 МТВР проявляет превосходящую активность против поглощения тау и нейротоксичности. Мышиный предшественник PRX005 (3D6 мыши) обладает высокой аффинностью к тау-эпитопу МТВР и превосходным профилем по сравнению с другими антителами. Прямое ингибирование взаимодействия тау – гепарансульфат-

протеогликан может способствовать блокаде интернализации тау, токсичности тау и развитию внутриклеточной тау-патологии. Воздействие *in vivo* антителом mPRX005 (3D6 мыши) на трансгенных тау-мышей и на модель засева уменьшает интранейрональную тау-патологию и последующие поведенческие дефициты. Последовательный, превосходящий профиль PRX005 (hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4) в широком спектре систем *in vitro* и *in vivo* поддерживает продвижение PRX005 (hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4) в качестве клинического кандидата для потенциального лечения таупатий, таких как болезнь Альцгеймера.

[0463] Пример 5. Иллюстративные CDR

[0464] Иллюстративные CDR антител согласно данному изобретению представлены в таблице 6.

Таблица 6: Иллюстративные CDR

CDR и определение	Аминокислотная последовательность CDR	SEQ ID NO:	Иллюстративные VH или VL, в которых присутствует CDR
HCDR1 по Кабату/Чотиа	GFNIKDYYLH	8	VH 3D6 мыши
HCDR2 по Кабату	WIDPENGDTVYDPKFQG	9	VH 3D6 мыши
HCDR3 по Кабату	LDF	10	VH 3D6 мыши
LCDR1 по Кабату	KSSQSLLSDGKTYLN	12	VL 3D6 мыши
LCDR2 по Кабату	LVSKLDS	13	VL 3D6 мыши
LCDR3 по Кабату:	WQGTHFPYT	14	VL 3D6 мыши
CDR-H1 по Кабату	DYYLH	32	VH 3D6 мыши
CDR-H1 по Чотиа	GFNIKDY	33	VH 3D6 мыши
CDR-H2 по Чотиа	DPENGD	34	VH 3D6 мыши
CDR-H2 по AbM	WIDPENGDTV	35	VH 3D6 мыши
CDR-L1 по контакту	KTYLNWL	36	VL 3D6 мыши
CDR-L2 по контакту	RLIYLVSKLD	37	VL 3D6 мыши

CDR и определение	Аминокислотная последовательность CDR	SEQ ID NO:	Иллюстративные VH или VL, в которых присутствует CDR
CDR-L3 по контакту	WQGTHFPY	38	VL 3D6 мыши
CDR-H1 по контакту	KDYLLH	39	VH 3D6 мыши
CDR-H2 по контакту	WIGWIDPENGDTV	40	VH 3D6 мыши
CDR-H3 по контакту	STLD	41	VH 3D6 мыши
CDR-H1 по Кабату – Чотиа	GFTIKDYLLH	42	hu3D6VHv5, hu3D6VHv1bA11B6G2, hu3D6VHv1bA11B6H3, hu3D6VHv1e и hu3D6VHv1f
CDR-H2 по Кабату	WIDPEDGDTVYAPKFQG	43	hu3D6VHv5 и hu3D6VHv1bA11B6H3
CDR-H1 по Кабату – Чотиа	GFNFKDYYLLH	58	hu3D6VH1c
CDR-H1 по Кабату – Чотиа	GYTFTDYLLH	59	hu3D6VHv1d, hu3D6VHv3c и hu3D6VHv4c
CDR-H1 по Кабату – Чотиа	GYNFKDYYLLH	60	hu3D6VHv3b и hu3D6VHv4b
CDR-H2 по Кабату	WVDPEDGDTVYAPKFQG	61	hu3D6VHv1bA11B6G2
CDR-H2 по Кабату	WIDPENGDTVYDEKFQG	62	hu3D6VHv1c, hu3D6VHv3b и hu3D6VHv4b
CDR-H2 по Кабату	WVDPEDGDTVYAEKFQG	63	hu3D6VHv1d, hu3D6VHv1f, hu3D6VHv3c и hu3D6VHv4c
CDR-H2 по Кабату	WIDPENGDTVYAEKFQG	64	hu3D6VHv1e
CDR-H3 по Кабату	LDY	65	hu3D6VHv1f

CDR и определение	Аминокислотная последовательность CDR	SEQ ID NO:	Иллюстративные VH или VL, в которых присутствует CDR
CDR-H1 по композиту Кабат – Чотиа	GLNIKDYIИH	67	VH 6A10 мыши
CDR-H2 по Кабату	WIDPENDDTEYAPKFQG	68	VH 6A10 мыши
CDR-H3 по Кабату	LDY	69	VH 6A10 мыши
CDR-H1 по композиту Кабат – Чотиа	GFTIKDYIYLH	86	hu3D6VHvb4 и hu3D6VHvb5
CDR-H2 по Кабату	WIDPENGDTIYDPKFQG	87	hu3D6VHvb3 и hu3D6VHvb4
CDR-H2 по Кабату	WIDPEDGETIYDPKFQG	88	hu3D6VHvb5
CDR-L1 по Кабату	RSSQSLLDSDGKTYLN	89	hu3D6VLvb3
CDR-H2 по Кабату	WIDPEDGETVYDPKFQG	92	hu3D6VHvb6 и hu3D6VHvb7
CDR-H2 по Кабату	WIDPENGDTVYEPKFQG	149	h3D6VHvb8 и h3D6VHvb9
CDR-L2 по Кабату	LVSKEKDS	150	hu3D6VLv2 L54D и hu3D6VLv2 L37Q_L54D
CDR-L2 по Кабату	LVSKGDS	151	hu3D6VLv2 L54G и hu3D6VLv2 L37Q_L54G
CDR-L2 по Кабату	LVSKEKDS	152	hu3D6VLv2 L54N
CDR-L2 по Кабату	LVSKEKDS	153	hu3D6VLv2 L54E и hu3D6VLv2 L37Q_L54E
CDR-L2 по Кабату	EVSKLDS	154	hu3D6VLv2 L50E
CDR-L2 по Кабату	LVSKEKDS	155	hu3D6VLv2 L54Q

CDR и определение	Аминокислотная последовательность CDR	SEQ ID NO:	Иллюстративные VH или VL, в которых присутствует CDR
CDR-L2 по Кабату	DVSKLDS	156	hu3D6VLv2 L50D и hu3D6VLv2 L37Q_L50D
CDR-L2 по Кабату	LVSkkDS	157	hu3D6VLv2 L54K
CDR-L2 по Кабату	LVSKRDS	158	hu3D6VLv2 L54R и hu3D6VLv2 L37Q_L54R
CDR-L2 по Кабату	LVSKTDS	159	hu3D6VLv2 L54T и hu3D6VLv2 L37Q_L54T
CDR-L2 по Кабату	GVSKLDS	160	hu3D6VLv2 L50G и hu3D6VLv2 L37Q_L50G
CDR-L2 по Кабату	LVSKVDS	161	hu3D6VLv2 L54V
CDR-L2 по Кабату	LVSKSDS	162	hu3D6VLv2 L54S
CDR-L2 по Кабату	LVGKLDS	163	hu3D6VLv2 S52G и hu3D6VLv2 L37Q_S52G
CDR-L2 по Кабату	VVSKLDS	164	hu3D6VLv2 L50V
CDR-L2 по Кабату	GVSKRDS	165	hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R и hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q
CDR-L2 по Кабату	GVSKGDS	166	hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G и hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q
CDR-L2 по Кабату	LVGKGDS	167	hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G
CDR-L2 по Кабату	LVGKRDS	168	hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R и hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q
CDR-L2 по Кабату	LVGKTDS	169	hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T

CDR и определение	Аминокислотная последовательность CDR	SEQ ID NO:	Иллюстративные VH или VL, в которых присутствует CDR
CDR-L2 по Кабату	LVGKDDS	170	hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D и hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q
CDR-L2 по Кабату	DVSKGDS	171	in hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G и hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q
CDR-L2 по Кабату	DVSKRDS	172	hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R и hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q
CDR-L2 по Кабату	EVSKGDS	173	hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54G
CDR-L2 по Кабату	EVSKRDS	174	hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R
CDR-L2 по Кабату	VVSKDDS	175	hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q

Перечень последовательностей

[0465] P10636-8 (SEQ ID NO:1)

MAEPRQEFVEMEDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGD TDAGLKESPLQTPT
 EDGSEEPGSETSDAKSTPTAEDVTAPLVDEGAPGKQAAAQPHTEIPEGTTAEEAGIGDTP
 SLEDEAAGHVVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGADGKTKIATPRGAAPPGQKQANAT
 RIPA K T P P A P K T P P S S G E P P K S G D R S G Y S S P G S P G T P G S R S R T P S L P T P P T R E P K K V A V V R T
 P P K S P S S A K S R L Q T A P V P M P D L K N V K S K I G S T E N L K H Q P G G G K V Q I I N K K L D L S N V Q S K C
 G S K D N I K H V P G G G S V Q I V Y K P V D L S K V T S K C G S L G N I H H K P G G G Q V E V K S E K L D F K D R
 V Q S K I G S L D N I T H V P G G G N K K I E T H K L T F R E N A K A K T D H G A E I V Y K S P V V S G D T S P R H L S
 N V S S T G S I D M V D S P Q L A T L A D E V S A S L A K Q G L

[0466] P10636-7 (SEQ ID NO:2)

MAEPRQEFVEMEDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGD TDAGLKESPLQTPT
 EDGSEEPGSETSDAKSTPTAEAEAGIGDTPSLEDEAAGHVVTQARMVSKSKDGTGSDDK
 KAKGADGKTKIATPRGAAPPGQKQANATRIPA K T P P A P K T P P S S G E P P K S G D R S G Y S S P
 G S P G T P G S R S R T P S L P T P P T R E P K K V A V V R T P P K S P S S A K S R L Q T A P V P M P D L K N V K S K I G
 S T E N L K H Q P G G G K V Q I I N K K L D L S N V Q S K C G S K D N I K H V P G G G S V Q I V Y K P V D L S K V T S

KCGSLGNIHHKPGGGQVEVKSEKLDKDRVQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTFR
ENAKAKTDHGAEIVYKSPVVS GDTSPRHLSNVSSTGSIDMVDS PQLATLADEV SASLAK
QGL

[0467] P10636-6 (тау 4RON человека) (SEQ ID NO:3)

MAEPRQEFVME DHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGD TDAGLKAEEAGIGD
TPSLEDEAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDK KAKGADGKTKIATPRGAAPPGQKQAN
ATRIPAKTPPAPKTPSSGEPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSRSRTPSLPTPPTREP KKVAVV
RTPPKSPSSAKSRLQTAPVMPDLKNVSKIGSTENLKHQP GGGKVQIINKKLDLSNVQS
KCGSKDNIKHVPGGGSVQIVYKPV DLSKVTSKCGSLGNIHHKPGGGQVEVKSEKLDK
DRVQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTFR ENAKAKTDHGAEIVYKSPVVS GDTSPR
HLSNVSSTGSIDMVDS PQLATLADEV SASLAKQGL

[0468] P10636-5 (SEQ ID NO:4)

MAEPRQEFVME DHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGD TDAGLKE SPLQTPT
EDGSEEPGSETSDAKSTPTAEDVTAPLVDEGAPGKQAAAQPHTEIPEGTTAEEAGIGDTP
SLEDEAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDK KAKGADGKTKIATPRGAAPPGQKQANAT
RIPAKTPPAPKTPSSGEPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSRSRTPSLPTPPTREP KKVAVVRT
PPKSPSSAKSRLQTAPVMPDLKNVSKIGSTENLKHQP GGGKVQIVYKPV DLSKVTSK
CGSLGNIHHKPGGGQVEVKSEKLDK DRVQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTFR E
NAKAKTDHGAEIVYKSPVVS GDTSPRHLSNVSSTGSIDMVDS PQLATLADEV SASLAKQ
GL

[0469] P10636-4 (SEQ ID NO:5)

MAEPRQEFVME DHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGD TDAGLKE SPLQTPT
EDGSEEPGSETSDAKSTPTAEAE EAGIGDTPSLEDEAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDK
KAKGADGKTKIATPRGAAPPGQKQANATRIPAKTPPAPKTPSSGEPKSGDRSGYSSP
GSPGTPGSRSRTPSLPTPPTREP KKVAVVRTPPKSPSSAKSRLQTAPVMPDLKNVSKIG
STENLKHQP GGGKVQIVYKPV DLSKVTSKCGSLGNIHHKPGGGQVEVKSEKLDK DRV
QSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTFR ENAKAKTDHGAEIVYKSPVVS GDTSPRHLSN
VSSTGSIDMVDS PQLATLADEV SASLAKQGL

[0470] P10636-2 (SEQ ID NO:6)

MAEPRQEFVME DHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGD TDAGLKAEEAGIGD
TPSLEDEAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDK KAKGADGKTKIATPRGAAPPGQKQAN
ATRIPAKTPPAPKTPSSGEPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSRSRTPSLPTPPTREP KKVAVV
RTPPKSPSSAKSRLQTAPVMPDLKNVSKIGSTENLKHQP GGGKVQIVYKPV DLSKVTS
KCGSLGNIHHKPGGGQVEVKSEKLDK DRVQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTFR
ENAKAKTDHGAEIVYKSPVVS GDTSPRHLSNVSSTGSIDMVDS PQLATLADEV SASLAK

QGL

[0471] SEQ ID NO:7; аминокислотная последовательность VH 3D6 мыши:

EVQLQQSGADLVRPGALVKLSCKASGFNIKDYLLHWVRQRPEQGLEWIGWIDPE
NGDTVYDPKFQGKATITADTSSNTAYLQLGSLTSEDТАVYFCSTLDFWGGTTLTVSS

[0472] SEQ ID NO:8; HCDR1 по Кабату/Чотиа:

GFNIKDYLLH

[0473] SEQ ID NO:9; HCDR2 по Кабату:

WIDPENGDТVYDPKFQG

[0474] SEQ ID NO:10; HCDR3 по Кабату:

LDF

[0475] SEQ ID NO:11; аминокислотная последовательность VL 3D6 мыши:

DVVMTQTPLTЛSVTIGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPGQSPKRLIYLV
SKLDSGVPRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCWQGFHPYTFGGGТKLEIK

[0476] SEQ ID NO:12; LCDR1 мыши по Кабату:

KSSQSLLDSDGKTYLN

[0477] SEQ ID NO:13; LCDR2 мыши по Кабату:

LVSKLDS

[0478] SEQ ID NO:14; LCDR3 мыши по Кабату:

WQGFHPYT

[0479] SEQ ID NO:15; hu3D6VHv1:

EVQLVQSGAEVVRPGALVKVSCKASGFNIKDYLLHWVRAPEQGLEWIGWIDP
ENGDТVYDPKFQGKATITADTSTNTAYLQLSSLTSEDТАVYFCSTLDFWGGTLTVSS

[0480] SEQ ID NO:16; hu3D6VHv2:

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGFNKDYYLLHWVRAPEQGLEWIMGWID
PENGDТVYDPKFQGRVTITADTSTNTAYMELSSLTSEDТАVYYCSTLDFWGGTLTVSS
S

[0481] SEQ ID NO:17; hu3D6VHv1b:

EVQLVQSGAEVVRPGALVKISCKASGFNIKDYLLHWVRQRPEQGLEWIGWIDPE
NGDTVYDPKFQGKATITADTSTNTAYLQLGSLTSEDТАVYFCSTLDFWGGTLTVSS

[0482] SEQ ID NO:18; hu3D6VHv1bA11:

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFNIKDYLLHWVRQRPGQGLEWIGWIDPE
NGDTVYDPKFQGRATITADTSTDTAYLQLGSLTSEDТАVYFCSTLDFWGGTLTVSS

[0483] SEQ ID NO:19; hu3D6VHv5:

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFNIKDYLLHWVRQRPGQGLEWIGWIDPE
DGDTVYAPKFQGRATITADTSTDTAYLQLGSLTSEDТАVYFCSTLDFWGGTLTVSS

[0484] SEQ ID NO:20; hu3D6VLv1:

DVVMTQSPLSLSVTLGQPASISCKSSQSLLSDGKTYLNWLLQRPQGQSPKRLLIYL
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEIK

[0485] SEQ ID NO:21; hu3D6VLv2:

DVVMTQSPLSLPVTGQPASISCKSSQSLLSDGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLIYL
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEIK

[0486] SEQ ID NO:22; hu3D6VLv3:

DVVMTQSPLSLPVTGQPASISCKSSQSLLSDGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLIYL
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEIK

[0487] SEQ ID NO:23; hu3D6VLv4:

DIVMTQTPLSLSVTIGQPASISCKSSQSLLSDGKTYLNWLLQKPGQSPKRLLIYLV
SKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEIK

[0488] SEQ ID NO:24; акцептор вариабельной тяжелой цепи Acc.# BAC01986.1

QVQLQQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFGSYAIWVRQAPGQGLEWMGRIPI
LGIATYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMDLSSLRSEDVAVYYCARGKGEFEGMDVWGQG
TTVTVSS

[0489] SEQ ID NO:25; акцептор вариабельной тяжелой цепи Acc.# IMGT# IGHV1-
69-2*01

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFDYYMHWVQQAPGKGLEWMGLVD
PEDGETIYAEKFQGRVTITADTSTDYMEYSSLRSEDVAVYYCAT

[0490] SEQ ID NO:26; акцептор вариабельной тяжелой цепи Acc.# IMGT#IGKJ1*01

QHWGQGLVTVSS

[0491] SEQ ID NO:27; акцептор вариабельной легкой цепи Acc. # IMGT#IGKV2-
30*02 Acc. # IMGT#IGKV2-30*02

DVVMTQSPLSLPVTGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLNWFQQRPGQSPRRLIYK
VSNRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWP

[0492] SEQ ID NO:28; акцептор вариабельной легкой цепи Acc. # IMGT#IGKJ2*01

YTFGQGTKLEIK

[0493] SEQ ID NO:29; акцептор вариабельной легкой цепи Acc. # AAZ09048.1

DVVMTQSPLSLTVTLGQPASISCRSSQSLVYSDGNTYLNWFQQRPGQSPRRLIYR
VSHWDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTYWPLTFGQGTKLEIK

[0494] SEQ ID NO:30; последовательность нуклеиновой кислоты VH 3D6 мышцы:

GAGGTTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCTGACCTTGTGAGGCCAGGGGCCTTAG
TCAAGTTGTCCTGCAAAGCTTCTGGCTTCAACATTAAGACTACTATTTGCACTGGG
TGAGGCAGAGGCCTGAACAGGGCCTGGAGTGGATTGGATGGATTGATCCTGAGAAT

GGTGATACTGTATATGACCCGAAGTTCCAGGGCAAGGCCACTATAACAGCAGACAC
ATCCTCCAATACAGCCTACCTGCAGCTCGGCAGCCTGACATCTGAGGACACTGCCGT
CTATTTCTGTTCTACCCTTGACTTCTGGGGCCAAGGCCACTCTCACAGTCTCCTCA

[0495] SEQ ID NO:31; последовательность нуклеиновой кислоты VL 3D6 мыши:

GATGTTGTGATGACCCAGACTCCACTCACTTTGTCGGTTACCATTGGACAACC
AGCCTCCATCTCTTGCAAGTCAAGTCAGAGCCTCTTAGATAGTGATGGAAAGACATA
TTTGAATTGGTTGTTACAGAGGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCGCCTAATCTATCTGGT
GTCTAAACTGGACTCTGGAGTCCCTGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGGACAG
ATTTCACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATTTGGGAGTTTATTATTGCT
GGCAAGGTACACATTTTCCGTACACGTTCCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA
CGT

[0496] SEQ ID NO:32; CDR-H1 мыши по Кабату

DYYLH

[0497] SEQ ID NO:33; CDR-H1 мыши по Чотиа

GFNIKDY

[0498] SEQ ID NO:34; CDR-H2 мыши по Чотиа

DPENGD

[0499] SEQ ID NO:35; CDR-H2 мыши по AbM

WIDPENGDV

[0500] SEQ ID NO:36; CDR-L1 мыши по контакту

KTYLNWL

[0501] SEQ ID NO:37; CDR-L2 мыши по контакту

RLIYLVSKLD

[0502] SEQ ID NO:38; CDR-L3 мыши по контакту

WQGTHFPY

[0503] SEQ ID NO:39; CDR-H1 мыши по контакту

KDYYLH

[0504] SEQ ID NO:40; CDR-H2 мыши по контакту

WIGWIDPENGDV

[0505] SEQ ID NO:41; CDR-H3 мыши по контакту

STLD

[0506] SEQ ID NO:42; альтернативная CDR-H1 по Кабату – Чотиа

GFTIKDYYLH

[0507] SEQ ID NO:43; альтернативная CDR-H2 по Кабату

WIDPEDGDTVYAPKFQG

[0508] SEQ ID NO:44; консенсусная аминокислотная последовательность VH из фиг. 2 в PCT/IB2017/052544

EVQLVQSGAEVVPKPGALVKISCKASGFNIKDYLLHWVRQRPEQGLEWIGWIDPE
NGDTVYDPKFQGXATITADTSTNTAYLQLGSLTSEDТАVYFCSTLDFWGQGTЛTVSS

[0509] SEQ ID NO:45; консенсусная аминокислотная последовательность VL из фиг. 3 в PCT/IB2017/052544

DVVMТQSPLSLSVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPGQSPKRLIYL
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTНFPYTFGGGТKLEIKR

[0510] SEQ ID NO:46; hu3D6VHv1bA11B6G2:

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFTIKDYLLHWVRQRPKGKLEWIGWVDP
EDGDTVYAPKFQGRATITADTSTDTAYLELGSЛTSEDТАVYFCSTLDFWGQGTЛTVSS

[0511] SEQ ID NO:47; hu3D6VHv1bA11B6H3:

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFTIKDYLLHWVRQRPKGKLEWIGWIDPE
DGDTVYAPKFQGRATITADTSTDTAYLELGSЛTSEDТАVYFCSTLDFWGQGTЛTVSS

[0512] SEQ ID NO:48; hu3D6VHv1c:

EVQLVQSGAEVKRPGALVKISCKASGFNFKDYYLHWVRQRPEQGLEWMGWIDP
ENGDTVYDEKFQGRVTITADTSTNTAYLQLGSLTSEDТАVYFCSTLDFWGQGTЛTVSS

[0513] SEQ ID NO:49; hu3D6VHv1d:

EVQLVQSGAEVKRPGALVKISCKASGYTFTDYLLHWVRQRPEQGLEWMGWVD
PEDGDTVYAEKFQGRVTITADTSTNTAYLQLGSLTSEDТАVYFCSTLDFWGQGTЛTVSS
S

[0514] SEQ ID NO:50; hu3D6VHv1e:

EVQLVQSGADVvkPGALVKISCKASGFTIKDYLLHWVRQRPEQGLEWIGWIDPE
NGDTVYAEKFQGRVTITADTSTNTAYLeLGSЛTSEDТАVYFCSTLDFWGQGTЛTVSS

[0515] SEQ ID NO:51; hu3D6VHv1f:

EVQLVQSGADVVKPGALVKISCKASGFTIKDYLLHWVRQRPQGKLEWIGWVDP
EDGDTVYAEKFQGRVTITADTSTDTAYMELGSЛTSEDТАVYFCSTLDYWGQGTЛTVSS

[0516] SEQ ID NO:52; hu3D6VHv3:

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGFNKDYYLHWVRQAPKGKLEWMGWIDP
ENGDTVYDPKFQGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDТАVYYCSTLDFWGQGTЛTVSS

[0517] SEQ ID NO:53; hu3D6VHv3b:

EVQLVQSGAEVKKPGALVKISCKVSGYNFKDYLLHWVRQAPKGKLEWMGWID
PENGDTVYDEKFQGRVTITADTSTNTAYMELGSLRSEDТАVYYCSTLDFWGQGTЛTV
SS

[0518] SEQ ID NO:54; hu3D6VHv3c:

EVQLVQSGAEVKKPGALVKISCKVSGYTFTDYHLHWVRQAPGKGLEWMGWVD
PEDGDTVYAEKFQGRVTITADTSTNTAYMELGSLRSEDVAVYYCSTLDFWGQGLTVV
SS

[0519] SEQ ID NO:55; hu3D6VHv4:

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKVSGFNKDYYLHWVRQRPGKGLEWIGWIDPE
NGDTVYDPKFQGKATITADTSTNTAYLELGSLTSEDVAVYYCSTLDFWGQGLTVVSS

[0520] SEQ ID NO:56; hu3D6VHv4b:

EVQLVQSGAEVVKPGALVKISCKVSGYNFKDYYLHWVRQRPGKGLEWMGWID
PENGDTVYDEKFQGRVTITADTSTDYAYLELGSLTSEDVAVYYCSTLDFWGQGLTVVS
S

[0521] SEQ ID NO:57; hu3D6VHv4c:

EVQLVQSGAEVVKPGALVKISCKVSGYTFTDYHLHWVRQRPGKGLEWMGWVD
PEDGDTVYAEKFQGRVTITADTSTDYAYLELGSLTSEDVAVYYCSTLDFWGQGLTVVS
S

[0522] SEQ ID NO:58; альтернативная CDR-H1 по Кабату – Чотиа (как в hu3D6VH1c).

GFNFKDYYLH

[0523] SEQ ID NO:59; альтернативная CDR-H1 по Кабату – Чотиа (как в hu3D6VHv1d, hu3D6VHv3c и hu3D6VHv4c).

GYTFTDYHLH

[0524] SEQ ID NO:60; альтернативная CDR-H1 по Кабату – Чотиа (как в hu3D6VHv3b и hu3D6VHv4b)

GYNFKDYYLH

[0525] SEQ ID NO:61; альтернативная CDR-H2 по Кабату (как в hu3D6VHv1bA11B6G2).

WVDPEDGDTVYAPKFQG

[0526] SEQ ID NO:62, альтернативная CDR-H2 по Кабату (как в hu3D6VHv1c, hu3D6VHv3b и hu3D6VHv4b).

WIDPENGDTVYDEKFQG

[0527] SEQ ID NO:63; альтернативная CDR-H2 по Кабату (как в hu3D6VHv1d, hu3D6VHv1f, hu3D6VHv3c и hu3D6VHv4c).

WVDPEDGDTVYAEKFQG

[0528] SEQ ID NO:64; альтернативная CDR-H2 по Кабату (как в hu3D6VHv1e).

WIDPENGDTVYAEKFQG

[0529] SEQ ID NO:65; альтернативная CDR-H3 по Кабату (как в hu3D6VHv1f).

LDY

SEQ ID NO:66; вариабельная область тяжелой цепи антитела 6A10 мыши.

EVQLQQSGAELVRSGASVKLSCTASGLNIKDYYIHWVKQRPEQGLEWIGWIDPE
NDDTEYAPKFQGRATLTTDTSNTAYLQLSSLTSEDVAVYYCTPLDYWGQGTSTVTVSS

[0530] SEQ ID NO:67; аминокислотная последовательность CDR-H1 по композиту
Кабат – Чотиа для антитела 6A10 мыши.

GLNIKDYYIH

[0531] SEQ ID NO:68; CDR-H2 по Кабату антитела 6A10 мыши.

WIDPENDDTEYAPKFQG

[0532] SEQ ID NO:69; CDR-H3 по Кабату антитела 6A10 мыши.

LDY

[0533] SEQ ID NO:70; структурная матрица VH мыши (PDB#1CR9_H)

KVKLQQSGAELVRSGASVKLSCTASGFNIKDYYIQWVKQRPEQGLEWIGWIDPE
NGNSEYAPRFQGKATMTADTSLNTAYLQLSSLTSEDVAVYYCNADLHDYWGQGTTLT
VSS

[0534] SEQ ID NO:71; консенсусная аминокислотная последовательность VH из
фиг. 4A и 4B в PCT/IB2017/052544

EVQLVQSGAEVVKPGALVKISCKASGFNIKDYYLHWVRQRPGQGLEWIGWIDPE
NGDTVYDPKFQGRVTITADTSTNTAYLELGSLTSEDVAVYFCSTLDFWGQGTSLTVTVSS

[0535] SEQ ID NO:72; тяжелая цепь химерного антитела 3D6

EVQLQQSGADLVRPGALVKLSCKASGFNIKDYYLHWVRQRPEQGLEWIGWIDPE
NGDTVYDPKFQGKATITADTSSNTAYLQLGSLTSEDVAVYFCSTLDFWGQGTTLTVSSA
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGP
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0536] SEQ ID NO:73; легкая цепь химерного антитела 3D6

DVVMVTQTPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPGQSPKRLIYLV
SKLD SGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGYYCWQGFTHFPYTFGGGTKLEIKRTV
AAPS FIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPRKAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0537] SEQ ID NO:74; аминокислотная последовательность структурной модели
вариабельной тяжелой цепи Acc.# 5MYX-VH_mSt

EVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYIFNNYWINWVKQRPGQGLEWIGQIYPG
DGDNTNYNGKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREGYIVYWGQGLT
VSA

[0538] SEQ ID NO:75; аминокислотная последовательность акцептора
вариабельной тяжелой цепи Acc.# 2RCS-VH_huFrwk

QVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDTYMHVVKQRPEQGLEWIGRIDPA
NGNTKYDPKFQGKATITADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCASYYGIYWGQGTTLTVS
S

[0539] SEQ ID NO:76; аминокислотная последовательность вариабельной области
тяжелой цепи гуманизированного антитела 3D6 hu3D6VHvb1

QVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDYHLHWVKQRPEQGLEWIGWIDPE
NGDTVYDPKFQGKATITADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYFCSTLDFWGQGTTLTVSS

[0540] SEQ ID NO:77; аминокислотная последовательность вариабельной области
тяжелой цепи гуманизированного антитела 3D6 hu3D6VHvb2

EVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGFNIKDYHLHWVRQRPKGKLEWIGWIDPE
NGDTVYDPKFQGRATITADTSTDYALELSSLTSEDTAVYFCSTLDFWGQGLTTLTVSS

[0541] SEQ ID NO:78; аминокислотная последовательность вариабельной области
тяжелой цепи гуманизированного антитела 3D6 hu3D6VHvb3

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFNIKDYHLHWVRQRPKGKLEWIGWIDPE
NGDTIYDPKFQGRATITADTSTDYAMELSSLRSEDTAVYYCSTLDFWGQGLTTLTVSS

[0542] SEQ ID NO:79; аминокислотная последовательность вариабельной области
тяжелой цепи гуманизированного антитела 3D6 hu3D6VHvb4

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFTIKDYHLHWVRQRPKGKLEWIGWIDPE
NGDTIYDPKFQGRVTITADTSTDYAMELSSLRSEDTAVYYCSTLDFWGQGLTTLTVSS

[0543] SEQ ID NO:80; аминокислотная последовательность вариабельной области
тяжелой цепи гуманизированного антитела 3D6 hu3D6VHvb5

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFTIKDYHLHWVRQRPKGKLEWIGWIDPE
DGETIYDPKFQGRVTITADTSTDYAMELSSLRSEDTAVYYCSTLDFWGQGLTTLTVSS

[0544] SEQ ID NO:81; аминокислотная последовательность структурной модели
вариабельной легкой цепи Acc.# 5MYX-VL_mSt

DVVLVTQTPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNWLLQRPQGSPKRLIYVV
SKLDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCVQGTHTFPFTFGSGTKLEIK

[0545] SEQ ID NO:82; аминокислотная последовательность акцептора
вариабельной легкой цепи Acc.# ARX71335-VL_huFrwk

DVVMVTQTPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNWLLQRPQGSPKRLIYLV

SKLD SGVPDR FSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVHYCEQGTHFPLTFGAGTKLELK

[0546] SEQ ID NO:83; аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VLvb1

DVVM TQTPLT LSVTIGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPGQSPKRLIYLV
SKLD SGVPDR FSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVHYCWQGTHFPYTFGAGTKLELK

[0547] SEQ ID NO:84; аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VLvb2

DVVM TQSPLS LSVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPGQSPKRLIYL
VSKLD SGVPDR FSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGAGTKLEIK

[0548] SEQ ID NO:85; аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VLvb3

DVVM TQSPLS LSVTLGEPASISCRSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYLV
SKLD SGVPDR FSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGQGTKLEIK

[0549] SEQ ID NO:86; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-H1 по композиту Кабат – Чотиа для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VHvb4 и hu3D6VHvb5)

GFTIKDY YLH

[0550] SEQ ID NO:87; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-H2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VHvb3 и hu3D6VHvb4)

WIDPEN GDTIYDPKFQG

[0551] SEQ ID NO:88; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-H2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VHvb5)

WIDPE DGETIYDPKFQG

[0552] SEQ ID NO:89; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L1 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLvb3)

RSSQSLL DSDGKTYLN

[0553] SEQ ID NO:90; аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VHvb6

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFTIKDY YLHWVRQRPGKGLEWIGWIDPE
DGETVYDPKFQGRVTITADTSTD TAYMELSSLRSED TAVYFCSTLDFWGQGLVTVSS

[0554] SEQ ID NO:91; аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи гуманизованного антитела 3D6 hu3D6VHvb7

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFTIKDY YLHWVRQRPGKGLEWIGWIDPE
DGETVYDPKFQGRVTITADTSTD TAYMELSSLRSED TAVYYCSTLDFWGQGLVTVSS

[0555] SEQ ID NO:92; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-

H2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VHvb6 и hu3D6VHvb7)

WIDPEDGETVYDPKFQG

[0556] SEQ ID NO:93; вариабельная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2
L54D, также известного как L2-DIM21

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPGQSPRRLIYL
VSKDDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTTFPYTFGGGKLEIK

[0557] SEQ ID NO:94; вариабельная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2
L54G, также известного как L2-DIM7

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPGQSPRRLIYL
VSKGDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTTFPYTFGGGKLEIK

[0558] SEQ ID NO:95; вариабельная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2
L45N

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPGQSPRRLIYL
VSKNDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTTFPYTFGGGKLEIK

[0559] SEQ ID NO:96; вариабельная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2
L54E

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPGQSPRRLIYL
VSKEDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTTFPYTFGGGKLEIK

[0560] SEQ ID NO:97; вариабельная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2
L50E

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPGQSPRRLIYE
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTTFPYTFGGGKLEIK

[0561] SEQ ID NO:98; вариабельная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2
L54Q

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPGQSPRRLIYL
VSKQDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTTFPYTFGGGKLEIK

[0562] SEQ ID NO:99; вариабельная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2
L50D

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPGQSPRRLIYD
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTTFPYTFGGGKLEIK

[0563] SEQ ID NO:100; вариабельная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2
L54K

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPGQSPRRLIYL
VSKKDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTTFPYTFGGGKLEIK

[0564] SEQ ID NO:101; вариабельная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2

L54R

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGDGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLIYL
VSKRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTTHFPYTFGGGKLEIK

[0565] SEQ ID NO:102; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2

L54T

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGDGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLIYL
VSKTDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTTHFPYTFGGGKLEIK

[0566] SEQ ID NO:103; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2

L50G, также известного как L2-DIM22

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGDGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLIYG
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTTHFPYTFGGGKLEIK

[0567] SEQ ID NO:104; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2

I48G

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGDGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLGYL
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTTHFPYTFGGGKLEIK

[0568] SEQ ID NO:105; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2

I48D

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGDGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLDYL
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTTHFPYTFGGGKLEIK

[0569] SEQ ID NO:106; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2

L47G

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGDGKTYLNWLLQRPQGQSPRRGIYL
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTTHFPYTFGGGKLEIK

[0570] SEQ ID NO:107; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2

Y49E

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGDGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLIELV
SKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTTHFPYTFGGGKLEIK

[0571] SEQ ID NO:108; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2

L54V

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGDGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLIYL
VSKVDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTTHFPYTFGGGKLEIK

[0572] SEQ ID NO:109; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2

L54S

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGDGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLIYL
VSKSDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTTHFPYTFGGGKLEIK

[0573] SEQ ID NO:110; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2 S52G, также известного как L2-DIM9

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLIYL
VGKLD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGT HFPYTFGGG TKLEIK

[0574] SEQ ID NO:111; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L47N

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPQGQSPRRIIYL
VSKLD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGT HFPYTFGGG TKLEIK

[0575] SEQ ID NO:112; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L47D

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPQGQSPRRDIYL
VSKLD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGT HFPYTFGGG TKLEIK

[0576] SEQ ID NO:113; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L47E

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPQGQSPRREIYL
VSKLD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGT HFPYTFGGG TKLEIK

[0577] SEQ ID NO:114; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L47P

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPQGQSPRRPIYLV
SKLD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGT HFPYTFGGG TKLEIK

[0578] SEQ ID NO:115; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L47T

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPQGQSPRRTIYL
VSKLD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGT HFPYTFGGG TKLEIK

[0579] SEQ ID NO:116; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L47S

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPQGQSPRRSIYLV
SKLD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGT HFPYTFGGG TKLEIK

[0580] SEQ ID NO:117; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L47A

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPQGQSPRRAIYL
VSKLD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGT HFPYTFGGG TKLEIK

[0581] SEQ ID NO:118, переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L50V

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLIYV

VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGT HFPYTFGGG TKLEIK

[0582] SEQ ID NO:119; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R, также известного как L2-DIM1

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYG
VSKGDSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGT HFPYTFGGG TKLEIK

[0583] SEQ ID NO:120; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G, также известного как L2-DIM2

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYE
VSKGDSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGT HFPYTFGGG TKLEIK

[0584] SEQ ID NO:121; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G, также известного как L2-DIM3

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYL
VGKDSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGT HFPYTFGGG TKLEIK

[0585] SEQ ID NO:122; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R, также известного как L2-DIM4

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYL
VGKRDSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGT HFPYTFGGG TKLEIK

[0586] SEQ ID NO:123; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T, также известного как L2-DIM5

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYL
VGKTD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGT HFPYTFGGG TKLEIK

[0587] SEQ ID NO:124; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D, также известного как L2-DIM6

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYL
VGKDD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGT HFPYTFGGG TKLEIK

[0588] SEQ ID NO:125; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_L54R

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYL
VSKGDSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGT HFPYTFGGG TKLEIK

[0589] SEQ ID NO:126; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_L54G

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYL
VSKGDSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGT HFPYTFGGG TKLEIK

[0590] SEQ ID NO:127; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_L54D, также известного как L2-DIM12

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYL
VSKDDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEIK

[0591] SEQ ID NO:128; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2
L37Q_L50G, также известного как L2-DIM13

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYG
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEIK

[0592] SEQ ID NO:129; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2
L37Q_L50D, также известного как L2-DIM14

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYD
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEIK

[0593] SEQ ID NO:130; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2
L37Q_L54T

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYD
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEIK

[0594] SEQ ID NO:131; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2
L37Q_S52G

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYL
VGKLDGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEIK

[0595] SEQ ID NO:132; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2
L37Q_L50D_L54G, также известного как L2-DIM17

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYD
VSKGDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEIK

[0596] SEQ ID NO:133; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2
L37Q_L50D_L54R, также известного как L2-DIM18

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYD
VSKRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEIK

[0597] SEQ ID NO:134; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2
L37Q_L50E_L54G, также известного как L2-DIM19

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYE
VSKGDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEIK

[0598] SEQ ID NO:135; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2
L37Q_L50E_L54R, также известного как L2-DIM20

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYE
VSKRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEIK

[0599] SEQ ID NO:136; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2

L37Q_L50G_L54R_G100Q

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYG
VSKRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTTHFPYTFGQGTKLEIK

[0600] SEQ ID NO:137; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2

L37Q_L50G_L54G_G100Q

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYG
VSKGDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTTHFPYTFGQGTKLEIK

[0601] SEQ ID NO:138; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2

L37Q_S52G_L54R_G100Q

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYL
VGKRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTTHFPYTFGQGTKLEIK

[0602] SEQ ID NO:139; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2

L37Q_S52G_L54D_G100Q

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYL
VGKDDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTTHFPYTFGQGTKLEIK

[0603] SEQ ID NO:140; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2

L37Q_L50D_L54G_G100Q

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYD
VSKGDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTTHFPYTFGQGTKLEIK

[0604] SEQ ID NO:141; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2

L37Q_L50D_L54R_G100Q

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYD
VSKRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTTHFPYTFGQGTKLEIK

[0605] SEQ ID NO:142; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2

L37Q_L50V_L54D_G100Q

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYV
VSKDDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTTHFPYTFGQGTKLEIK

[0606] SEQ ID NO:143; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2

L37Q, также известного как L2-DIM8

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYL
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTTHFPYTFGGGTKLEIK

[0607] SEQ ID NO:144; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2

G100Q

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGDGKTYLNWLLQQRPGQSPRRLIYL
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTTHFPYTFGQGTKLEIK

[0608] SEQ ID NO:145; переменная область легкой цепи варианта hu3D6VLv2 L37Q_L54E

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYL
VSKEDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTTFPYTFGGGTKLEIK

[0609] SEQ ID NO:146; переменная область тяжелой цепи варианта hu3D6VHv1bA11 D60E, также известного как h3D6VHvb8

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFNIKDYLLHWVRQRPQGQGLEWIGWIDPE
NGDTVYEPKFQGRATITADTSTDYAYLQLGSLTSEDYAVYFCSTLDFWGQGTLLVTVSS

[0610] SEQ ID NO:147; переменная область тяжелой цепи варианта hu3D6VHv1bA11 L82cV

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFNIKDYLLHWVRQRPQGQGLEWIGWIDPE
NGDTVYDPKFQGRATITADTSTDYAYLQLGSLTSEDYAVYFCSTLDFWGQGTLLVTVSS

[0611] SEQ ID NO:148; переменная область тяжелой цепи варианта hu3D6VHv1bA11 D60E_L80M_Q81E_L82cV_T83R, также известного как h3D6VHvb9

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFNIKDYLLHWVRQRPQGQGLEWIGWIDPE
NGDTVYEPKFQGRATITADTSDYAYMELGSRSEDYAVYFCSTLDFWGQGTLLVTVSS

[0612] SEQ ID NO:149; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-
H2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в h3D6VHvb8 и h3D6VHvb9)

WIDPENGDYVYEPKFQ

[0613] SEQ ID NO:150; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-
L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L54D и hu3D6VLv2
L37Q_L54D):

LVSKDDS

[0614] SEQ ID NO:151; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-
L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L54G и hu3D6VLv2
L37Q_L54G):

LVSKGDS

[0615] SEQ ID NO:152; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-
L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L54N):

LVSKNDS

[0616] SEQ ID NO:153; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-
L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L54E и hu3D6VLv2
L37Q_L54E):

LVSKEDS

[0617] SEQ ID NO:154; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-

L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L50E):

EVSKLDS

[0618] SEQ ID NO:155; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-

L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L54Q):

LVSKQDS

[0619] SEQ ID NO:156; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-

L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L50D и hu3D6VLv2 L37Q_L50D):

DVSKLDS

[0620] SEQ ID NO:157; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-

L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L54K):

LVSKKDS

[0621] SEQ ID NO:158; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-

L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L54R и hu3D6VLv2 L37Q_L54R):

LVSKRDS

[0622] SEQ ID NO:159; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-

L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L54T и hu3D6VLv2 L37Q_L54T):

LVSKTDS

[0623] SEQ ID NO:160; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-

L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L50G и hu3D6VLv2 L37Q_L50G):

GVSKLDS

[0624] SEQ ID NO:161; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-

L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L54V):

LVSKVDS

[0625] SEQ ID NO:162; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-

L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L54S):

LVSKSDS

[0626] SEQ ID NO:163; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-

L2 по Кабату для гуманизованного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 S52G и hu3D6VLv2 L37Q_S52G):

LVGKLDS

[0627] SEQ ID NO:164; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-

L2 по Кабату для гуманизированного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L50V):

VVSKLDS

[0628] SEQ ID NO:165; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизированного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R и hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q):

GVSKRDS

[0629] SEQ ID NO:166; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизированного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G и hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q):

GVSKGDS

[0630] SEQ ID NO:167; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизированного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G):

LVGKGDS

[0631] SEQ ID NO:168; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизированного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R и hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q):

LVGKRDS

[0632] SEQ ID NO:169; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизированного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T):

LVGKTDS

[0633] SEQ ID NO:170; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизированного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D и hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q):

LVGKDDS

[0634] SEQ ID NO:171; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизированного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G и hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q):

DVSKGDS

[0635] SEQ ID NO:172; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизированного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R и hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q):

DVSKRDS

[0636] SEQ ID NO:173; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизированного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54G):

EVSKGDS

[0637] SEQ ID NO:174; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизированного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R):
EVSKRDS

[0638] SEQ ID NO:175; аминокислотная последовательность альтернативной CDR-L2 по Кабату для гуманизированного антитела 3D6 (как в hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q):
VVSKDDS

[0639] SEQ ID NO:176; аминокислотная последовательность константной области тяжелой цепи (IgG1: аллотип G1m17,1):

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0640] SEQ ID NO:177; аминокислотная последовательность константной области легкой цепи (каппа):

RTVAAPSVMFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKDYSLSSITLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0641] SEQ ID NO:178; аминокислотная последовательность зрелой тяжелой цепи гуманизированного варианта 3D6 (hu3D6VHv1bA11, аллотип IgG1 G1m17)

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFNIKDYLLHWVRQRPGQGLEWIGWIDPE
NGDTVYDPKFKGRATITADTSTDTAYLQLGSLTSEDTA VYFCSTLDFWQGTLVTVSSA
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0642] SEQ ID NO:179; аминокислотная последовательность зрелой легкой цепи гуманизированного варианта 3D6 (вариант hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R, L2-DIM4 каппа)

DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYL
VGKRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGFHFPYTFGGGTKLEIKRT
VAAPSVMFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS

KDSTYLSSTLTLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0643] SEQ ID NO:180; аминокислотная последовательность тяжелой цепи гуманизированного варианта 3D6 (hu3D6VHv1bA11, аллотип IgG1 G1m17) с сигнальным пептидом – бычьим альфа-лактальбумином на N-конце

MMSFVSLLLVGILFHATQAEVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFNIKDYLLH
WVRQRPQGQLEWIGWIDPENGDTVYDPKFQGRATITADTSTDYAYLQLGSLTSEDYAV
YFCSTLDFWGGQTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVS
WNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKE
PKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0644] SEQ ID NO:181; аминокислотная последовательность легкой цепи гуманизированного варианта 3D6 (варианта hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R, L2-DIM4 каппа) с сигнальным пептидом – бычьим альфа-лактальбумином на N-конце.

MMSFVSLLLVGILFHATQADVMTQSPSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKT
YLNWLQQRPGQSPRRLIYLVGKRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCW
QGTHFPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK
VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS
FNRGEC

[0645] SEQ ID NO:182; нуклеотидная последовательность, кодирующая тяжелую цепь гуманизированного варианта 3D6 (hu3D6VHv1bA11, аллотип IgG1 G1m17) с сигнальным пептидом – бычьим альфа-лактальбумином на N-конце

ATGATGTCCTTTGTCTCTCTGCTCCTGGTTGGCATCCTATTCCATGCCACCCAG
GCCGAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCAGAGGTTGTGAAGCCAGGGGCCACAGT
CAAGATCTCCTGTAAGGCTTCTGGCTTCAACATTAAGACTACTATCTGCACTGGGT
GCGGCAGAGGCCTGGACAGGGCCTGGAGTGGATTGGATTGATCCTGAGAATG
GTGATACTGTGTATGACCCGAAGTTCCAGGGCAGGGCCACTATAACAGCAGACACA
TCCACCGACACAGCCTACCTGCAGCTCGGCAGCCTGACATCTGAGGACACTGCCGTC
TATTTCTGTTCTACCCTGGACTTCTGGGGCCAAGGCACCCTTGTCACAGTCTCCTCAG
CCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTTAGCAAGAGCACCTCTG
GGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG
GTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTA
CAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTG
GGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA

CAAGAAGGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCAG
CACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACA
CCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACG
AAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC
AAGACAAAGCCGAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCT
CACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCA
ACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC
CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCA
GGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTG
GGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACT
CCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATTCCAAACTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC
AGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC
AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGGAATGATGAGATCTCGAG

[0646] SEQ ID NO:183; нуклеотидная последовательность, кодирующая легкую цепь гуманизованного варианта 3D6 (варианта hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R, L2-DIM4 каппа) с сигнальным пептидом – бычьим альфа-лактальбумином на N-конце

ATGATGTCCTTTGTCTCTCTGCTCCTGGTTGGCATCCTATTCCATGCCACCCAG
GCCGATGTTGTGATGACCCAGTCTCCACTCTCTTTGCCCGTTACCCTTGGACAACCTG
CCTCCATCTCTTGCAAGTCAAGTCAGAGCCTCTTAGATAGTGATGGAAAGACATATT
TGAATTGGTTGCAACAGAGGCCAGGCCAGTCTCCACGGCGCCTAATCTATCTGGTGG
GCAAACGGGACTCTGGAGTCCCTGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGAT
TTCACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGAGTTTATTATTGCTG
GCAAGGCACACATTTTCCGTACACGTTCCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAAC
GAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGCTTAAGT
CCGGAACTGCTAGCGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAG
TACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAA
GAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAA
AGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGA
GCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAGTGAGATCTCGAG

[0647] SEQ ID NO:184; аминокислотная последовательность области тау – повтора связывания микротрубочек 1 (аминокислотные остатки 255-271 в SEQ ID NO:1)

NVSKIGSTENLKHQPG

[0648] SEQ ID NO:185; аминокислотная последовательность области тау – повтора связывания микротрубочек 2 (аминокислотные остатки 286-302 в SEQ ID NO:1)

NVQSKCGSKDNIKHVPG

[0649] SEQ ID NO:186; аминокислотная последовательность области тау – повтора связывания микротрубочек 3 (аминокислотные остатки 317-333 в SEQ ID NO:1)

KVTSKCGSLGNIHHPG

[0650] SEQ ID NO:187; аминокислотная последовательность области тау – повтора связывания микротрубочек 4 (аминокислотные остатки 349-365 в SEQ ID NO:1)

RVQSKIGSLDNITHVPG

[0651] SEQ ID NO:188; аминокислотная последовательность корового мотива тау, связанного 3D6

KIGSTENLKH

[0652] SEQ ID NO:189; аминокислотная последовательность N-концевой последовательности тау до корового мотива тау, связанной 3D6

NVKS

[0653] SEQ ID NO:190; аминокислотная последовательность C-концевой последовательности тау до корового мотива тау, связанной 3D6

QPG

[0654] SEQ ID NO:191; аминокислотная последовательность эпитопа 3D6

KXXSXXNX(K/H)H

[0655] SEQ ID NO:192; аминокислотная последовательность корового мотива тау, связанного 3D6

KCGSKDNIKH

[0656] SEQ ID NO:193; аминокислотная последовательность корового мотива тау, связанного 3D6

KCGSLGNIH

[0657] SEQ ID NO:194; аминокислотная последовательность корового мотива тау, связанного 3D6

KIGSLDNITH

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ снижения интернализации тау клетками у субъекта, включающий в себя введение субъекту, нуждающемуся в этом, количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое снижает интернализацию тау клетками, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий CDR-H1, содержащую SEQ ID NO:8, CDR-H2, содержащую SEQ ID NO:9, и CDR-H3, содержащую LDF, и переменный домен легкой цепи, содержащий CDR-L1, содержащую SEQ ID NO:12, CDR-L2, содержащую SEQ ID NO:13 или SEQ ID NO:168, и CDR-L3, содержащую SEQ ID NO:14.

2. Способ снижения тау-индуцированной токсичности у субъекта, включающий в себя введение субъекту, нуждающемуся в этом, количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое снижает тау-индуцированную токсичность, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий CDR-H1, содержащую SEQ ID NO:8, CDR-H2, содержащую SEQ ID NO:9, и CDR-H3, содержащую LDF, и переменный домен легкой цепи, содержащий CDR-L1, содержащую SEQ ID NO:12, CDR-L2, содержащую SEQ ID NO:13 или SEQ ID NO:168, и CDR-L3, содержащую SEQ ID NO:14.

3. Способ снижения или задержки начала проявления поведенческого дефицита у субъекта, включающий в себя введение субъекту, нуждающемуся в этом, количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое снижает или задерживает начало проявления поведенческого дефицита, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий CDR-H1, содержащую SEQ ID NO:8, CDR-H2, содержащую SEQ ID NO:9, и CDR-H3, содержащую LDF, и переменный домен легкой цепи, содержащий CDR-L1, содержащую SEQ ID NO:12, CDR-L2, содержащую SEQ ID NO:13 или SEQ ID NO:168, и CDR-L3, содержащую SEQ ID NO:14.

4. Способ снижения уровней маркеров тау-патологии у субъекта, включающий в себя введение субъекту, нуждающемуся в этом, количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое снижает маркеры тау-патологии, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий CDR-H1, содержащую SEQ ID NO:8, CDR-H2, содержащую SEQ ID NO:9, и CDR-H3, содержащую LDF, и переменный домен легкой цепи, содержащий CDR-L1, содержащую SEQ ID NO:12, CDR-L2, содержащую SEQ ID NO:13 или SEQ ID NO:168, и CDR-L3, содержащую SEQ ID NO:14.

5. Способ снижения развития тау-патологии у субъекта, включающий в себя введение субъекту, нуждающемуся в этом, количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое снижает развитие тау-патологии, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий CDR-H1, содержащую SEQ ID NO:8, CDR-H2, содержащую SEQ ID NO:9, и CDR-H3, содержащую LDF, и переменный домен легкой цепи, содержащий CDR-L1, содержащую SEQ ID NO:12, CDR-L2, содержащую SEQ ID NO:13 или SEQ ID NO:168, и CDR-L3, содержащую SEQ ID NO:14.

6. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что субъект имеет патологические признаки болезни Альцгеймера.

7. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что субъект имеет болезнь Альцгеймера.

8. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что CDR-L2 антитела или антигенсвязывающего фрагмента содержит SEQ ID NO:13.

9. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что CDR-L2 антитела или антигенсвязывающего фрагмента содержит SEQ ID NO:168.

10. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что переменная область тяжелой цепи антитела или антигенсвязывающего фрагмента содержит зрелую переменную область тяжелой цепи согласно SEQ ID NO:18 и переменная область легкой цепи антитела или антигенсвязывающего фрагмента содержит зрелую переменную область легкой цепи согласно SEQ ID NO:122.

11. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что антитело или антигенсвязывающий фрагмент представляют собой гуманизованную версию антитела мыши, характеризующуюся зрелой переменной областью тяжелой цепи согласно SEQ ID NO: 7 и переменной областью легкой цепи согласно SEQ ID NO:11.

12. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что антитело содержит легкую цепь, содержащую зрелую переменную область легкой цепи, слитую с константной областью легкой цепи, и тяжелую цепь, содержащую зрелую переменную область тяжелой цепи, слитую с константной областью тяжелой цепи.

13. Способ по п. 12, отличающийся тем, что константная область тяжелой цепи антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:176 с С-концевым лизином или без него.

14. Способ по п. 12, отличающийся тем, что зрелая переменная область тяжелой цепи, слитая с константной областью тяжелой цепи, содержит аминокислотную

последовательность SEQ ID NO:178 с С-концевым лизином или без него.

15. Способ по п. 12, отличающийся тем, что антитело дополнительно содержит сигнальный пептид, слитый со зрелой вариабельной областью тяжелой и/или легкой цепей.

16. Способ по п. 15, отличающийся тем, что тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:180 с С-концевым лизином или без него.

17. Способ по п. 12, отличающийся тем, что константная область легкой цепи антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:177.

18. Способ по п. 12, отличающийся тем, что зрелая вариабельная область легкой цепи, слитая с константной областью легкой цепи, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:179.

19. Способ по п. 18, отличающийся тем, что легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:181.

20. Способ по п. 14, отличающийся тем, что тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:178 с С-концевым лизином или без него и легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:179.

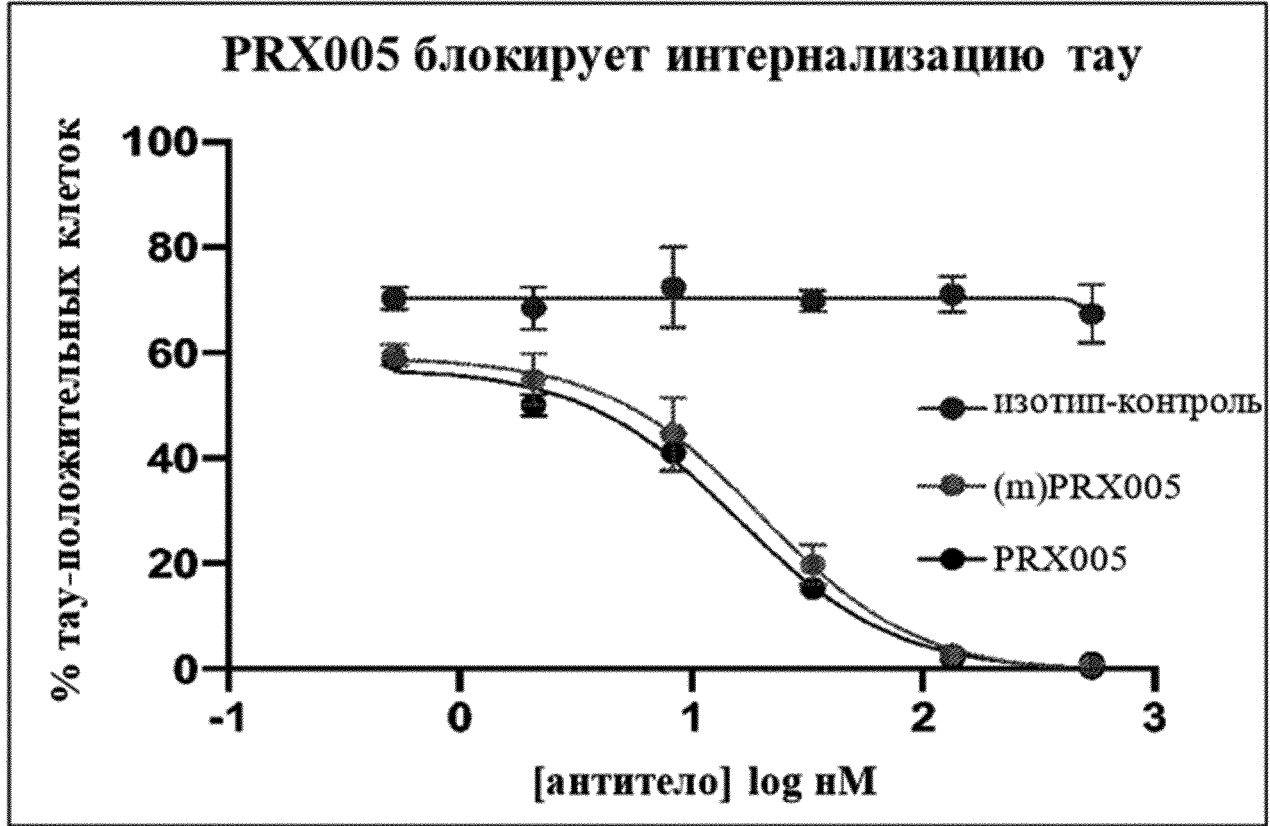
21. Способ по п. 16, отличающийся тем, что тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:180 с С-концевым лизином или без него и легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:181.

22. Способ по п. 12, отличающийся тем, что антитело содержит по меньшей мере одну мутацию в константной области.

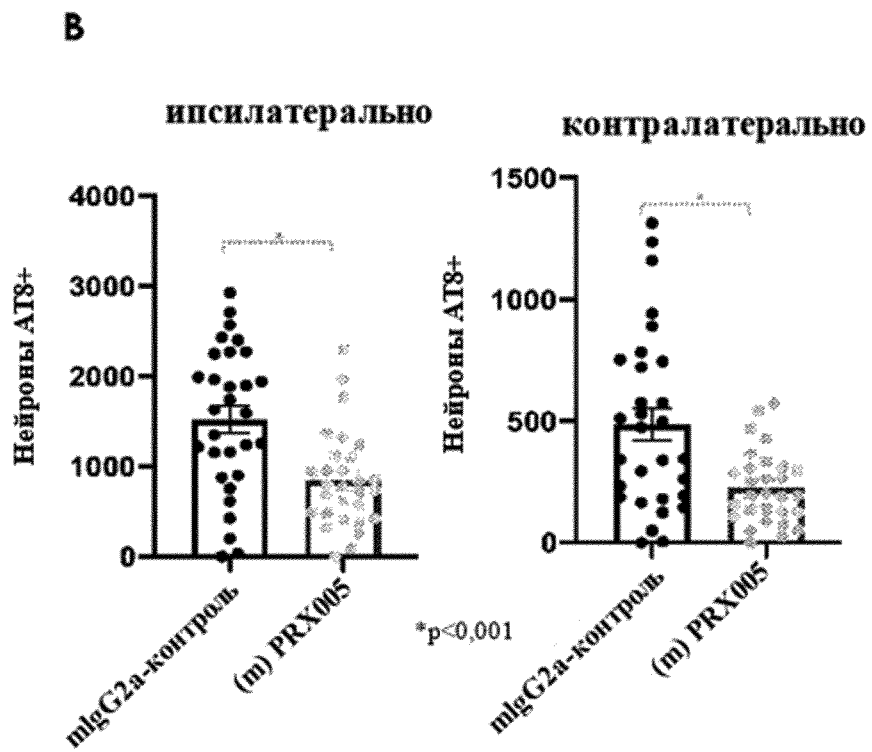
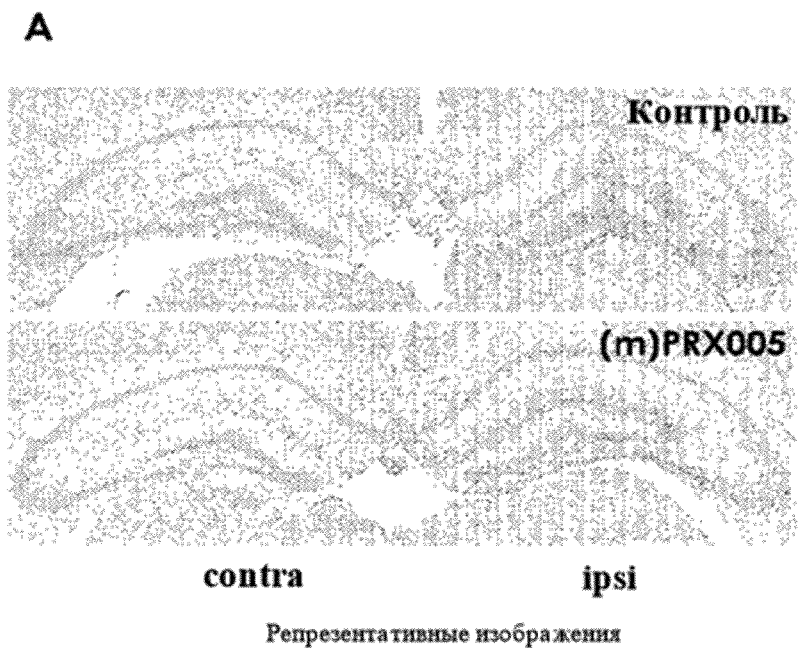
23. Способ по п. 22, отличающийся тем, что антитело содержит по меньшей мере одну мутацию в константной области, при этом мутация снижает фиксацию или активацию комплемента константной областью или снижает связывание с рецептором Fcγ по сравнению с природной константной областью тяжелой цепи человека.

24. Способ по п. 23, отличающийся тем, что антитело содержит мутацию в одном или большем числе из положений 241, 264, 265, 270, 296, 297, 318, 320, 322, 329 и 331 согласно нумерации EU, или аланин в положениях 318, 320 и 322.

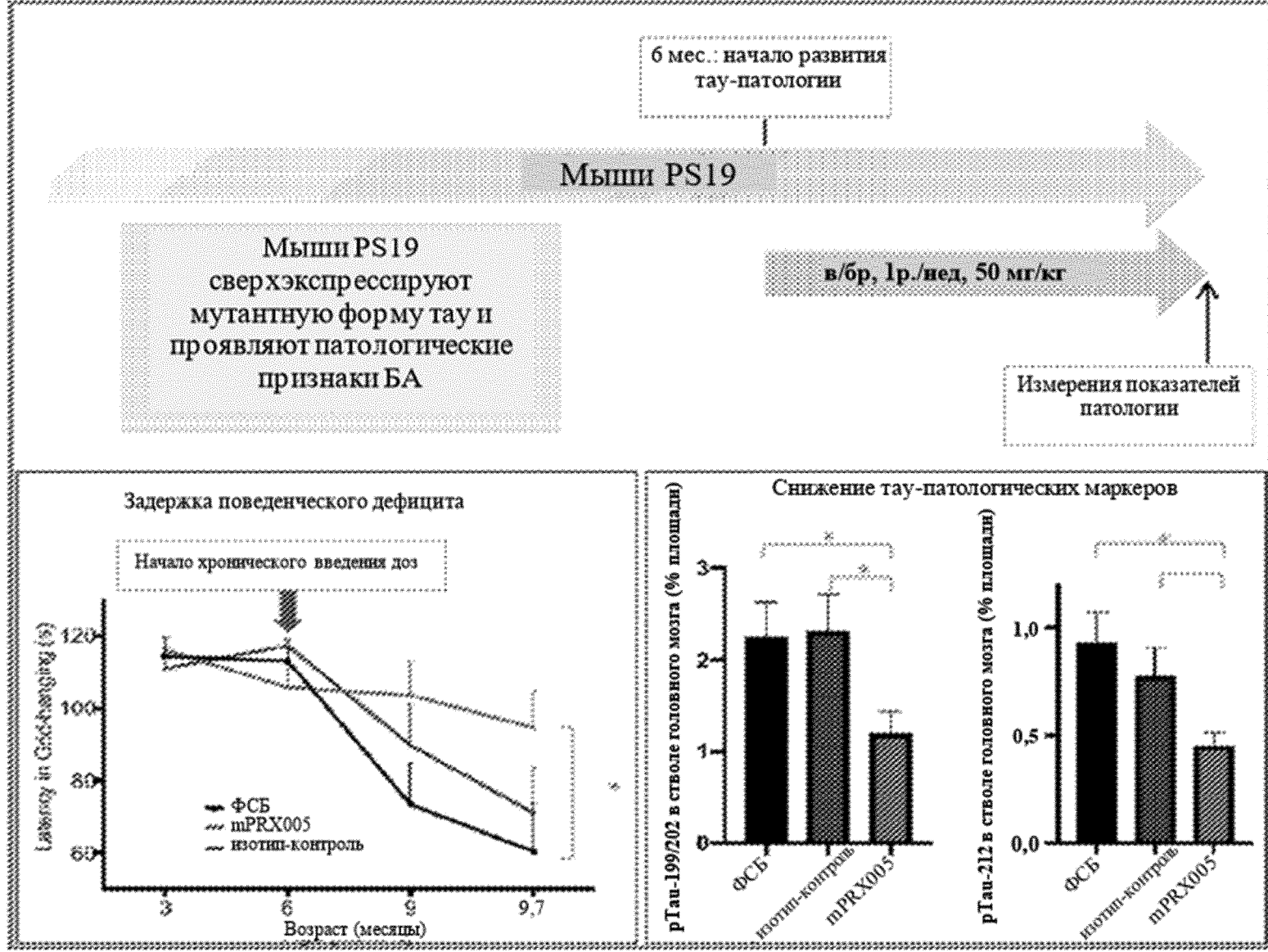
ФИГУРА 1

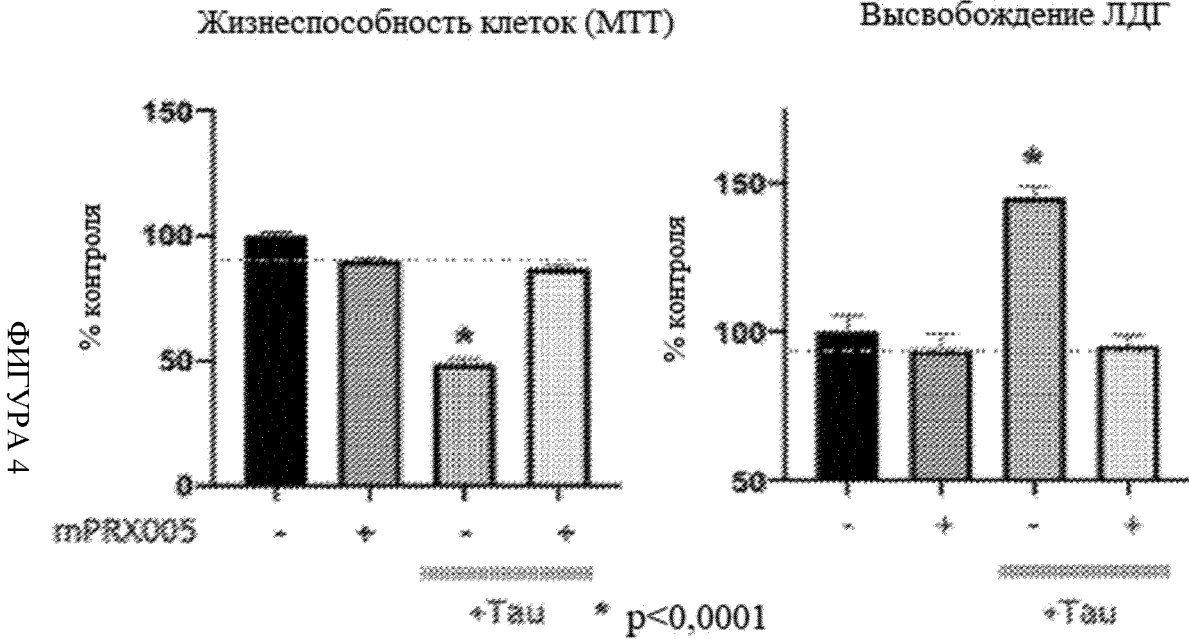


ФИГУРА 2



ФИГУРА 3





ФИГУРА 4