

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **047294**

(13) **B1**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

**(45)** Дата публикации и выдачи патента  
**2024.06.27**

**(51)** Int. Cl. **G01N 33/68** (2006.01)

**(21)** Номер заявки  
**202192888**

**(22)** Дата подачи заявки  
**2020.05.22**

---

**(54) СОЕДИНЕНИЯ И СПОСОБЫ НАЦЕЛИВАНИЯ НА ТАУ ЧЕЛОВЕКА**

---

**(31)** **62/855,331**

**(32)** **2019.05.31**

**(33)** **US**

**(43)** **2022.03.23**

**(86)** **PCT/US2020/034274**

**(87)** **WO 2020/242963 2020.12.03**

**(71)(73)** Заявитель и патентовладелец:  
**ЭЛИ ЛИЛЛИ ЭНД КОМПАНИ (US)**

**(72)** Изобретатель:  
**Чай Сиюнь, Чэнь Цзиньбяо, Дейдж  
Джеффри Л., Драйвер Дэвид Альберт,  
Хинтон Стивен Фишер, Сигель  
Роберт Уильям П, Вайлланкур Питер  
Эдвард (US)**

**(74)** Представитель:  
**Угрюмов В.М., Пармонова К.В.,  
Христофоров А.А., Гизатуллин Ш.Ф.,  
Гизатуллина Е.М., Костюшенкова  
М.Ю., Строкова О.В. (RU)**

**(56)** **US-A1-2008220449**

**WO-A1-9822120**

**GUO J.J. ET AL. "P2-167: Alzheimer disease tangles and threads display multiple tau phosphorylation sites", ALZHEIMER'S & DEMENTIA: THE JOURNAL OF THE ALZHEIMER'S ASSOCIATION, ELSEVIER, NEW YORK, NY, US, vol. 4, no. 4, 1 July 2008 (2008-07-01), page T419, XP023174166, ISSN: 1552-5260, DOI:10.1016/J.JALZ.2008.05.1241, [retrieved on 2008-07-01], abstract**

**WO-A2-0155725**

**NICOLAS R. BARTHELEMY ET AL. "Tau Phosphorylation Rates Measured by Mass Spectrometry Differ in the Intracellular Brain vs. Extracellular Cerebrospinal Fluid Compartments and Are Differentially Affected by Alzheimer's Disease", FRONTIERS IN AGING NEUROSCIENCE, vol. 11, 21 May 2019 (2019-05-21), XP055717185, CH ISSN: 1663-4365, DOI: 10.3389/finagi.2019.00121 page 17, column 1, paragraph 4 - column 2, paragraph 1**

**JAMES P. QUINN ET AL. "Tau Proteolysis in the Pathogenesis of Tauopathies: Neurotoxic Fragments and Novel Biomarkers", JOURNAL OF ALZHEIMER'S DISEASE, vol. 63, no. 1, 10 April 2018 (2018-04-10), pages 13-33, XP055717391, NL ISSN: 1387-2877, DOI: 10.3233/JAD-170959 figure 1 page 26, column 2, paragraph 2; figure 3; table 1**

---

**(57)** В изобретении предложены соединения и способы нацеливания на тау человека, в частности тау человека, фосфорилированный по треонину (217), и изоформы тау, экспрессируемые только в ЦНС, включая терапевтические антитела, фармацевтические композиции и диагностические варианты применения, подходящие для области нейродегенеративных заболеваний, таких как БА, PSP и FTD.

---

**B1**

**047294**

**047294**

**B1**

Изобретение относится к области медицины. Более конкретно, изобретение относится к соединениям, фармацевтическим композициям, диагностическим средствам и способам, которые включают антитело или его фрагмент, направленные против тау человека. Ожидается, что соединения и способы согласно изобретению будут полезны в области нейродегенеративных заболеваний, в частности таупатий, включая болезнь Альцгеймера (БА), прогрессирующий супрануклеарный паралич (PSP) и лобно-височную деменцию (FTD) и т.п., включая их лечение и относящуюся к этому диагностику.

Тау представляет собой аксональный белок, связывающий микротрубочки, экспрессирующийся как в центральной нервной системе ("ЦНС"), так и на периферии, что способствует сборке и стабильности микротрубочек. Известные изоформы тау человека экспрессируются в ЦНС и участвуют в aberrантном образовании и агрегации интранейрональных нейрофибриллярных клубков ("NFT"). При нейродегенеративных заболеваниях, таких как БА, плотность и нейроанатомическая локализация NFT в ЦНС коррелируют с тяжестью деменции, степенью потери нейронов и общим прогрессированием заболевания. При PSP также наблюдается формирование NFT в ЦНС, плотность которого также коррелирует со степенью тяжести потери нейронов.

БА представляет собой нейродегенеративное заболевание, характеризующееся деменцией, вызывающей проблемы с памятью, мышлением и поведением. По данным Ассоциации болезни Альцгеймера, около 5,6 миллиона американцев 65 лет и старше (т.е. примерно 1 из 10) страдают БА, и еще 200 000 американцев моложе 65 лет страдают БА. Ассоциация болезни Альцгеймера также отмечает ожидаемое увеличение числа американцев 65 лет и старше с БА более чем на 26% к 2025 году. Это представляет значительные расходы на здравоохранение; только в 2019 году непосредственные затраты на здравоохранение, связанные с БА, в Соединенных Штатах, по оценкам, достигнут 290 миллиардов долларов, и эта цифра не включает неоплачиваемые расходы на лиц, осуществляющих уход. Несмотря на значительное влияние БА на человека и здоровье, на сегодняшний день не существует утвержденных терапевтических средств, модифицирующих заболевание, для лечения БА, и такое лечение остается неудовлетворенной медицинской потребностью.

Кроме того, чтобы помочь в открытии и/или разработке лечения, модифицирующего заболевание, необходимы надежные и чувствительные средства диагностики БА. Утвержденным диагностическим вариантом применения для БА является Амивид™. Фтортауципир представляет собой диагностический вариант применения для БА, который в настоящее время рассматривается FDA. И Амивид™, и флортауципир являются радиоизотопными агентами для визуализации неврологических заболеваний, подходящими для обнаружения и определения стадии БА и других нейродегенеративных заболеваний. Кроме того, недавно раскрыт диагностический анализ, нацеленный на фосфорилированный треонин по остатку 181 тау человека ("hTau-pT181") (номер остатка на основе SEQ ID NO 1) в образцах пациентов. Однако диагностическому варианту применения hTau-pT181 не хватает чувствительности, необходимой для диагностического тестирования, такого как определение различных стадий БА у пациентов или прогноза пациента, в анализе крови, плазмы и спинномозговой жидкости ("CSF"). Таким образом, необходима диагностика, применимая для тестирования с использованием крови, плазмы и/или спинномозговой жидкости, которая предлагает менее дорогой и менее инвазивный вариант диагностики, а также является чувствительной и надежной. Предпочтительно, такая диагностика будет способна идентифицировать и/или дифференцировать пациентов с БА (например, на основе стадии БА или прогноза). Такая диагностика также предпочтительно будет способна идентифицировать и/или различать эффективные терапевтические ответы. В вариантах реализации такая диагностика также предпочтительно будет способна идентифицировать и/или дифференцировать пациентов, нуждающихся в дальнейшей диагностической оценке, например, пациентов, для которых подходит неврологическая визуализация, такая как флортауципир и/или амивид.

Соответственно, в одном из вариантов реализации в настоящем изобретении предложены антитела и их фармацевтические композиции, направленные против тау человека, фосфорилированного по остатку треонина 217 (номер остатка на основе SEQ ID NO 1) ("hTau-pT217"), а также способы и диагностические варианты применения с применением таких антител и фармацевтических композиций. Кроме того, согласно варианту реализации настоящего раскрытия, предложены антитела и их фармацевтические композиции, которые нацелены против изоформ тау человека, экспрессируемого в ЦНС (например, распознающие изоформы, экспрессируемые в ЦНС, и не распознающие изоформы тау человека, экспрессируемые исключительно вне ЦНС).

Согласно некоторым вариантам реализации предложены антитела, которые специфично связывают hTau-pT217. В более конкретных вариантах реализации предложены антитела, которые связывают эпитопную область тау человека, содержащую фосфорилированный треонин по остатку 217 SEQ ID NO 1, причем такие антитела не связывают тау человека, если треонин по остатку 217 SEQ ID NO 1 не фосфорилирован. В еще более конкретных вариантах реализации настоящего раскрытия такие антитела содержат переменную область легкой цепи (LCVR) и переменную область тяжелой цепи (HCVR), причем LCVR содержит определяющие комплементарности участки (CDR) LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и HCVR содержит CDR HCDR1, HCDR2 и HCDR3, причем LCDR1 имеет аминокислотную последовательность

SEQ ID NO: 13, LCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14, LCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15, HCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, HCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11, и HCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12. В некоторых вариантах реализации LCDR1 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 13, LCDR2 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 14, LCDR3 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 15, HCDR1 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 10, HCDR2 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 11, и HCDR3 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 12. Согласно некоторым вариантам реализации антител, предложенных в настоящем раскрытии, LCVR имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, и HCVR имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3. В некоторых вариантах реализации антител, предложенных в настоящем раскрытии, LCVR имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, и HCVR имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6. В некоторых других вариантах реализации LCVR имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 5, и HCVR имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 3. В некоторых других вариантах реализации LCVR имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 8, и HCVR имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 6.

Согласно вариантам реализации настоящего раскрытия предложены антитела, которые специфично связывают изоформы тау человека, экспрессируемые в ЦНС (например, известные изоформы тау человека, экспрессируемые в ЦНС), и такие антитела не связывают изоформы тау человека, экспрессируемые исключительно в областях за пределами ЦНС, включая периферическую нервную систему. Согласно конкретным вариантам реализации такие антитела, которые специфично связывают изоформы тау человека, экспрессируемые в ЦНС, связывают эпитопную область тау человека, содержащую остатки 124 (глутамин) и 125 (аланин) SEQ ID NO: 1. В конкретных вариантах реализации такие антитела содержат вариабельную область легкой цепи (LCVR) и вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), причем LCVR содержит определяющие комплементарности участки (CDR) LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и HCVR содержит CDR HCDR1, HCDR2 и HCDR3, причем LCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23, LCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24, LCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25, HCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20, HCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21, и HCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22. В некоторых вариантах реализации LCDR1 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 23, LCDR2 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 24, LCDR3 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 25, HCDR1 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 20, HCDR2 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 21, и HCDR3 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 22. Согласно некоторым вариантам реализации антител, предложенных в настоящем раскрытии, LCVR имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и HCVR имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19. В некоторых других вариантах реализации LCVR имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 17, и HCVR имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 19.

Согласно некоторым вариантам реализации антитела согласно настоящему раскрытию могут быть гуманизированными. В некоторых вариантах реализации антитела согласно настоящему раскрытию содержат тяжелую цепь IgG4. В некоторых вариантах реализации антитела согласно настоящему раскрытию содержат легкую каппа-цепь. Согласно другим вариантам реализации в настоящем раскрытии предложены фармацевтические композиции, содержащие антитело согласно настоящему раскрытию и один или более фармацевтически приемлемых носителей, разбавителей или вспомогательных веществ.

Согласно другим вариантам реализации в настоящем раскрытии предложен способ лечения нейродегенеративного заболевания, содержащий введение пациенту, который в этом нуждается, эффективного количества антитела или его фармацевтической композиции согласно настоящему раскрытию. В некоторых таких вариантах реализации нейродегенеративное заболевание представляет собой таупатию. В еще

более конкретных вариантах реализации таупатия представляет собой одну из следующих форм: БА, PSP и FTD.

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем раскрытии предложено антитело или его фармацевтическая композиция согласно настоящему раскрытию для применения в терапии. Кроме того, антитело или его фармацевтическая композиция согласно настоящему раскрытию предназначены для применения для лечения нейродегенеративного заболевания. В некоторых таких вариантах реализации нейродегенеративное заболевание представляет собой таупатию. В некоторых более конкретных вариантах реализации таупатия выбрана из группы, состоящей из БА, PSP и FTD.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего раскрытия, антитело или его фармацевтическая композиция согласно настоящему раскрытию предназначены для применения для получения лекарственного средства для лечения нейродегенеративного заболевания. В некоторых таких вариантах реализации нейродегенеративное заболевание представляет собой таупатию. В еще более конкретных вариантах реализации таупатия выбрана из группы, состоящей из БА, PSP и FTD.

Согласно другим вариантам реализации настоящего раскрытия предложен способ обнаружения hTau-pT217 в образце пациента. Такие способы включают стадии приведения образца пациента в контакт с антителом согласно настоящему раскрытию, которое специфично связывает hTau-pT217, и обнаружения сигнала, обеспечиваемого указанной стадией приведения в контакт.

Согласно вариантам реализации предложен способ обнаружения только изоформ тау человека, экспрессируемых в ЦНС. Такие способы включают стадии приведения образца пациента в контакт с антителом согласно настоящему раскрытию, которое специфично связывает изоформы тау человека, экспрессируемого в ЦНС (т.е., и которые не связывают изоформы тау человека, экспрессируемые исключительно вне ЦНС), и обнаружения сигнала, обеспечиваемого указанной стадией приведения в контакт.

Согласно некоторым вариантам реализации предложен способ количественного определения hTau-pT217 в образце пациента. Такие способы включают стадии приведения образца пациента в контакт с антителом согласно настоящему раскрытию, которое специфично связывает hTau-pT217, и обнаружения сигнала, обеспечиваемого указанной стадией приведения в контакт. В некоторых вариантах реализации такие способы дополнительно содержат стадии приведения контрольного стандарта в контакт с антителом и обнаружения сигнала, обеспечиваемого указанной стадией приведения в контакт с контрольным стандартом.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения предложен способ количественного определения hTau-pT217 в образце пациента. Такие способы включают стадии приведения образца пациента в контакт с антителом согласно настоящему раскрытию, которое специфично связывает hTau-pT217, и приведения образца пациента в контакт с антителом по настоящему раскрытию, которое специфично связывает изоформы тау человека, экспрессируемые в ЦНС, при этом указанные антитела не связывают перекрывающиеся области эпитопа антитела и одного из антител, содержащих обнаруживаемую метку; обнаружения сигнала, обеспечиваемого обнаруживаемой меткой, при образовании комплекса, содержащего антитела и hTau-pT217; приведения контрольного стандарта в контакт с антителами; и обнаружения сигнала, обеспечиваемого обнаруживаемой меткой при образовании комплекса, содержащего антитела и контрольный стандарт.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего раскрытия предложен способ диагностики пациента как одного или более из: (i) страдающего нейродегенеративным заболеванием; (ii) подверженного риску нейродегенеративного заболевания; (iii) нуждающегося в лечении нейродегенеративного заболевания; (iv) страдающего БА стадии I, II, III, IV, V или VI по Braak; или (v) нуждающегося в нейрологической визуализации. Согласно таким вариантам реализации такие способы включают стадии приведения образца пациента в контакт с антителом согласно настоящему раскрытию, которое специфично связывает hTau-pT217, и обнаружения связывания между антителом и hTau-pT217 в образце пациента. В некоторых таких вариантах реализации способ дополнительно включает стадию диагностики пациента как одного из: (i) страдающего нейродегенеративным заболеванием; (ii) подверженного риску нейродегенеративного заболевания; (iii) нуждающегося в лечении нейродегенеративного заболевания; (iv) страдающего БА стадии I, II, III, IV, V или VI по Braak; или (v) нуждающегося в нейрологической визуализации, если уровень hTau-pT217, обнаруживаемый в образце пациента, превышает референсный уровень.

В некоторых вариантах реализации настоящего раскрытия, предложен способ диагностики и лечения нейродегенеративного заболевания у пациента. Согласно таким вариантам реализации указанные способы включают стадии приведения образца пациента в контакт с антителом согласно настоящему раскрытию, которое специфично связывает hTau-pT217, обнаружения связывания между антителом и hTau-pT217 в образце пациента; диагностики пациента с нейродегенеративным заболеванием; и введения терапевтически эффективного количества антитела против тау человека пациенту, которому проведена диагностика. В некоторых вариантах реализации стадия диагностики включает диагностику пациента как страдающего нейродегенеративным заболеванием, когда присутствие hTau-pT217 в образце пациента превышает референсный уровень.

Согласно некоторым вариантам реализации способов согласно настоящему раскрытию такие способы дополнительно включают стадию количественного определения hTau-pT217 в образце пациента. В

таких вариантах реализации стадия количественного определения hTau-pT217 содержит количественное определение hTau-pT217 в образце пациента относительно референсного стандарта.

Согласно некоторым вариантам реализации способов согласно настоящему раскрытию образец пациента представляет собой образец крови, плазмы, сыворотки или CSF.

Согласно некоторым вариантам реализации способов согласно настоящему раскрытию, способы дополнительно включают стадию приведения образца пациента в контакт с антителом, которое специфично связывает hTau-pT217, и вторым антителом, причем указанное второе антитело специфично связывает изоформы тау человека, экспрессируемые в ЦНС. В некоторых таких способах одно из указанного антитела или второго антитела содержит обнаруживаемую метку, и указанная стадия обнаружения содержит обнаружение сигнала, обеспечиваемого обнаруживаемой меткой, при образовании комплекса, включающего антитело, второе антитело и hTau-pT217. Согласно некоторым таким вариантам реализации одно из антитела и второго антитела иммобилизовано на субстрате. В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему раскрытию стадии приведения образца пациента в контакт с антителом и приведения образца пациента в контакт со вторым антителом происходят одновременно. Согласно некоторым более конкретным вариантам реализации второе антитело содержит антитело согласно настоящему раскрытию, которое специфично связывает изоформы тау человека, экспрессируемые в ЦНС, как описано в настоящем документе.

В настоящем документе "антитело" представляет собой молекулу иммуноглобулина, содержащую 2 HC и 2 LC, связанные дисульфидными связями. Аминоконцевая часть каждой LC и HC содержит вариативную область из примерно 100-120 аминокислот, в первую очередь отвечающую за распознавание антигена содержащимися в ней CDR. CDR перемежаются с областями, которые являются более консервативными, называемыми каркасными областями ("FR"). Каждая LCVR и HCVR состоит из 3 CDR и 4 FR, расположенных от аминоконца до карбоксиконца в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 3 CDR LC обозначаются как "LCDR1, LCDR2 и LCDR3", а 3 CDR HC обозначаются как "HCDR1, HCDR2 и HCDR3". CDR содержат большую часть остатков, которые образуют специфические взаимодействия с антигеном. На функциональную способность антитела связывать определенный антиген в значительной степени влияют шесть CDR. Назначение аминокислот доменам CDR в областях LCVR и HCVR антител согласно настоящему изобретению основано на хорошо известном соглашении нумерации по Кабат (Kabat, et al., Ann. NY Acad. Sci. 190:382-93 (1971); Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242 (1991)), и конвенции по нумерации по Норсу (North et al., A New Clustering of Antibody CDR Loop Conformations, Journal of Molecular Biology, 406:228-256 (2011)).

LC, согласно некоторым вариантам реализации настоящего раскрытия, классифицируются как каппа или лямбда, каждая из которых характеризуется определенной константной областью, известной в данной области техники. HC, согласно некоторым вариантам реализации настоящего раскрытия, классифицируются как гамма, мю, альфа, дельта или эпсилон, и определяют изотип антитела как IgG, IgM, IgA, IgD или IgE, соответственно. Согласно некоторым вариантам реализации антитела включают HC IgG, которые можно дополнительно разделить на подклассы, например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4. Карбоксиконцевая часть каждой HC определяет константную область, в первую очередь ответственную за эффекторную функцию. В конкретном варианте реализации, антитела согласно настоящему изобретению имеют одну или более модификаций в константной области каждой HC, которые снижают эффекторную функцию.

Антитела согласно настоящему изобретению представляют собой моноклональные антитела. Моноклональные антитела представляют собой антитела, полученные из единственной копии или клона, включая, например, любой эукариотический, прокариотический или фаговый клон, а не способ, с помощью которого их получают. Моноклональные антитела могут быть получены, например, с помощью гибридомных технологий, рекомбинантных технологий, технологий фагового дисплея, синтетических технологий, например, CDR-трансплантации, или комбинаций таких или других технологий, известных в данной области техники.

Способы получения и очистки антител хорошо известны в данной области техники и могут быть найдены, например, в Harlow and Lane (1988), Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring harbor, N.Y., chapters 5-8 and 15, ISBN 0-87969-314-2. Например, мышей или кроликов можно иммунизировать посредством hTau-pT217, и полученные антитела можно выделить, очистить и определить аминокислотные последовательности с применением обычных способов, хорошо известных в данной области техники. Аналогичным образом можно проводить скрининг фаговой библиотеки, посредством чего тысячи Fab-фрагментов проверяют на взаимодействие с hTau-pT217, и полученные в результате взаимодействующие молекулы могут быть выделены, очищены, и аминокислотные последовательности могут быть определены с использованием общепринятых способов, хорошо известных в данной области техники, с помощью которых могут быть сконструированы исходные антитела. Варианты реализации антител согласно настоящему изобретению включают антитела, сконструированные так, чтобы они содержали одну или более человеческих каркасных областей, окружающих CDR, происходящие из нечеловеческого антитела. Каркасные последовательности зародышевой линии челове-

ка можно получить, например, в ImMunoGeneTics (INGT) через их веб-сайт, <http://imgt.cines.fr> или из "The Immunoglobulin FactsBook by Marie-Paule Lefranc and Gerard Lefranc, Academic Press, 2001, ISBN 012441351."

В конкретных вариантах реализации настоящего изобретения, антитело или нуклеиновая кислота, кодирующая его, предложена в выделенной форме. В настоящем документе термин "выделенный" относится к белку, пептиду или нуклеиновой кислоте, который(ая) свободен(на) или практически свободен(на) от других макромолекулярных частиц, обнаруженных в клеточной среде.

Антитела, предложенные в настоящем раскрытии, можно применять при лечении пациентов. Более конкретно, варианты реализации антител согласно настоящему изобретению могут быть подходящими для лечения нейродегенеративных заболеваний или расстройств, включая таупатии, включая БА, PSP и FTD. Хотя антитела согласно настоящему изобретению могут быть подходящими для лечения БА, PSP и FTD, такие антитела также могут быть подходящими для лечения других нейродегенеративных заболеваний, особенно тех, которые связаны с патологией тау, такой как образование NFT. Как используется в настоящем документе взаимозаменяемо, "лечение" и/или "процесс лечения" и/или "лечить" предназначены для обозначения всех процессов, в которых может происходить замедление, прерывание, купирование, контроль, остановка или изменение прогрессирования расстройства, описанного в настоящем документе, но не обязательно указывает на полное устранение всех симптомов расстройства. Лечение включает введение антитела согласно настоящему изобретению для лечения заболевания или состояния у человека, который бы получил пользу от уменьшения распространения по меньшей мере одного из образования агрегатов тау, образования NFT и потери нейронов, и включает: (а) подавление дальнейшего прогрессирования заболевания, т.е. прекращение его развития; и (б) облегчение заболевания, т.е. вызов регрессии заболевания или расстройства или ослабления его симптомов или осложнений.

Как используется в настоящем документе взаимозаменяемо, термин "пациент", "субъект" и "индивид" относится к человеку. В некоторых вариантах реализации пациент дополнительно характеризуется заболеванием, расстройством или состоянием (например, нейродегенеративным расстройством), который получил бы пользу от уменьшения распространения по меньшей мере одного из образования агрегатов тау, образования нейрофибриллярных клубков и потери нейронов. В другом варианте реализации пациент дополнительно характеризуется как подверженный риску развития нейродегенеративного расстройства, заболевания или состояния, который получил бы пользу от уменьшения распространения по меньшей мере одного из образования агрегатов тау, образования NFT и потери нейронов.

В настоящем документе термин "специфично связывает hTau-pT217" относится к взаимодействию антитела с эпитопной областью тау человека, содержащей фосфорилированный треонин по остатку 217 SEQ ID NO: 1. Такое связывание зависит от фосфорилирования треонина по остатку 217 SEQ ID NO: 1. Следует понимать, что существуют известные варианты или изоформы тау человека, например, полученные в результате вариантов сплайсинга. Также понятно, что такие известные варианты могут приводить к измененной нумерации некоторых аминокислотных остатков SEQ ID NO: 1, включая фосфорилированный треонин, как это предусмотрено в настоящем документе со ссылкой на последовательность тау человека, как указано в SEQ ID NO: 1.

В настоящем документе термин "специфично связывает изоформы тау человека, экспрессируемые в ЦНС" относится к взаимодействию антитела согласно настоящему раскрытию с эпитопной областью, общей или присутствующей в изоформах тау человека, экспрессируемых в ЦНС, и такая эпитопная область не присутствует в изоформах человеческого тау, экспрессируемых исключительно вне ЦНС. Антитела, которые специфично связывают изоформы тау человека, экспрессируемые в ЦНС, не связывают изоформы тау человека, экспрессируемые исключительно вне ЦНС (например, изоформы, экспрессируемые только в других областях организма, таких как периферическая нервная система). Согласно некоторым вариантам реализации антитела, которые специфично связывают изоформы тау человека, экспрессируемые в ЦНС, связывают или распознают эпитопную область изоформ тау человека, экспрессируемого в ЦНС, содержащую глутамин по остатку 124 (Q124) и аланин по остатку 125 (A125), номер остатка указан относительно SEQ ID NO: 1. Следует понимать, что существуют известные варианты или изоформы тау человека, например, полученные в результате вариантов сплайсинга, и что такие варианты могут приводить к измененной нумерации некоторых аминокислотных остатков относительно SEQ ID NO: 1, включая глутамин и аланин, как они представлены в настоящем документе со ссылкой на последовательность тау человека, приведенную в SEQ ID NO: 1.

Термин "эпитопная область", как применяется в настоящем документе, относится к дискретным трехмерным сайтам антигена, которые распознаются, полностью или частично, антителами согласно настоящему изобретению. Аминокислоты эпитопной области образуют химически активные поверхностные группировки тау человека и образуют специфическую трехмерную структуру тау человека и могут обеспечивать определенные характеристики заряда. Конформационные и неконформационные / линейные эпитопы можно различить тем, что связывание с конформационными эпитопными областями теряется в присутствии денатурирующих растворителей, тогда как с линейными эпитопными областями - нет.

Антитело согласно настоящему изобретению может быть включено в фармацевтическую компози-

цию, которая может быть приготовлена способами, хорошо известными в данной области техники, и содержит антитело согласно данному изобретению, и один или большее количество фармацевтически приемлемых носителей и/или разбавителей) (например, Remington, *The Science and Practice of Pharmacy*, 22<sup>nd</sup> Edition, Loyd V., Ed., Pharmaceutical Press, 2012, в котором представлен сборник методов приготовления, общеизвестных практикующим специалистам). Подходящие носители для фармацевтических композиций включают в себя любой материал, который в комбинации с антителом согласно настоящему изобретению сохраняет активность молекулы и не вступает в реакцию с иммунной системой пациента. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело согласно настоящему изобретению, может быть введена пациенту с риском, или проявлением, заболеваний или расстройств, как описано в настоящем документе, парентеральными путями (например, подкожным, внутривенным, внутривенным, внутримышечным или трансдермальным). Фармацевтическая композиция согласно настоящему изобретению содержит "эффективное" или "терапевтически эффективное" количество, которые используются в настоящем документе взаимозаменяемо, антитела согласно настоящему изобретению. Эффективное количество относится к количеству, необходимому (в дозах и в течение периодов времени и с целями введения) для достижения желаемого терапевтического результата. Эффективное количество антитела может изменяться в зависимости от таких факторов как состояние заболевания, возраст, пол и масса индивида, и способности антитела вызывать целевой ответ у индивида. Эффективным количеством является также количество, при котором любые токсические или вредные эффекты антитела согласно настоящему изобретению перевешиваются терапевтически благоприятными эффектами. Термин "процент гомологии", упоминаемый в настоящем раскрытии, в контексте двух или более аминокислотных последовательностей относится к двум или более последовательностям, имеющим определенный процент одинаковых аминокислотных остатков при сравнении и выравнивании для максимального соответствия при измерении с использованием алгоритма сравнения последовательностей (например, BLASTP и BLASTN или других алгоритмов, доступных специалистам) или путем визуального осмотра. В зависимости от применения процент гомологии может существовать в пределах области сравниваемой последовательности, например, по функциональному домену, или, в качестве альтернативы, существовать по всей длине двух сравниваемых последовательностей. В качестве примера процент гомологии последовательности можно сравнить с референсной последовательностью. Например, при использовании алгоритма сравнения последовательностей исследуемая и референсная последовательности могут быть введены в компьютер (и координаты подпоследовательности могут быть дополнительно обозначены, если необходимо, вместе с параметрами программы алгоритма последовательности). Затем алгоритм сравнения последовательностей вычисляет процент идентичности или гомологии последовательностей для исследуемых последовательностей относительно референсных последовательностей на основе заданных параметров программы. Примеры алгоритмов выравнивания и/или гомологии последовательностей доступны в Smith & Waterman, *Adv. Appl. Math.* 2:482 (1981), Needleman & Wunsch, *J. Mol. Biol.* 48:443 (1970), Pearson & Lipman, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 85:2444 (1988), GAP, BESTFIT, FASTA, и TFASTA (в Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.), или путем визуального осмотра (см. в целом Ausubel et al., ниже). Одним из примеров алгоритма, который подходит для определения процента идентичности последовательностей и сходства последовательностей, является алгоритм BLAST, который описан в Altschul et al., *J. Mol. Biol.* 215:403-410 (1990). Программное обеспечение для проведения анализов BLAST находится в открытом доступе через Национальный центр биотехнологической информации ([www.ncbi.nlm.nih.gov/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)).

Используемый в настоящем документе термин "образец" пациента относится к образцу человека. Неограничивающие источники образца для применения в настоящем изобретении включают кровь, плазму, сыворотку и спинномозговую жидкость (CSF). Кроме того, образец может также относиться к лимфатической жидкости, биопсийным аспиратам, асциту, жидкостным экстрактам, твердым тканям, внешним участкам кожи, дыхательным, назальным, кишечным и мочеполовым трактам, слезам, слюне, молоку, опухолям, органам, культурам клеток и/или составляющим культуры клеток.

Настоящее раскрытие также относится к способам клинической диагностики, прогноза или терапии субъекта, выполняемым медицинским работником с использованием раскрытых в настоящем документе способов. Способы, описанные в настоящем документе, может, например, осуществлять индивидум, медицинский работник или третья сторона, например поставщик услуг, который интерпретирует информацию от субъекта. Как объясняется в настоящем документе, медицинский работник может начать или изменить лечение после получения информации, касающейся диагностического способа согласно настоящему раскрытию. Например, медицинский работник может порекомендовать терапию, изменение терапии или дополнительную диагностическую оценку (например, неврологическую визуализацию).

Антитела против тау-белка согласно настоящему изобретению, которые специфично связывают hTau-pT217, можно применять для выделения, обнаружения и/или количественного определения hTau-pT217с помощью таких методов, как аффинная хроматография, иммунопреципитация, иммуногистохимия или анализ на основе ELISA. Такой анализ можно применять для обнаружения и/или оценки количества и/или паттернов экспрессии hTau-pT217 в диагностических, прогностических или терапевтических целях для мониторинга уровней полипептидов, например, в сыворотке, плазме, крови или CSF в рамках

процедуры клинического исследования, например, для определения эффективности данной схемы лечения.

Антитела против тау-белка согласно настоящему раскрытию, которые специфично связывают изоформы тау человека, экспрессируемые в ЦНС, можно применять для выделения и/или обнаружения изоформ тау человека, экспрессируемых в ЦНС (за исключением изоформ тау человека, экспрессируемых исключительно вне ЦНС) такими методами, как аффинная хроматография, иммунопреципитация, иммуногистохимия или анализ на основе ELISA. Такой анализ можно применять для обнаружения и/или оценки количества и/или паттернов экспрессии изоформ тау человека, экспрессируемого в ЦНС, в диагностических, прогностических или тераностических целях для мониторинга уровней полипептидов, например, в сыворотке, плазме, крови или CSF в рамках процедуры клинического исследования, например, для определения эффективности данной схемы лечения. Как понятно из данной области техники, антитело согласно настоящему изобретению может быть связано с обнаруживаемым веществом или меткой для облегчения его обнаружения. Примеры обнаруживаемых веществ или меток включают различные ферменты, простетические группы, флуоресцентные материалы, люминесцентные материалы, биолюминесцентные материалы, хемилюминесцентные материалы и радиоактивные материалы. Примеры подходящих ферментов включают пероксидазу хрена, щелочную фосфатазу, бета-галактозидазу или ацетилхолинэстеразу; примеры подходящих комплексов простетических групп включают стрептавидин/биотин и авидин/биотин; примеры подходящих флуоресцентных материалов включают умбеллиферон, флуоресцеин, флуоресцеин изотиоцианат, родамин, дихлороназиламин флуоресцеин (dichlorotnazinylamine fluorescein), дансилхлорид или фикоэритин; пример люминесцентного материала включает люминол; примеры биолюминесцентных материалов включают люциферазу, люциферин, рутений и экворин, и примеры подходящего радиоактивного материала включают  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{35}\text{S}$  или  $^3\text{H}$ . Антитела согласно настоящему изобретению также могут быть подходящими для фармакогеномного анализа. Такие варианты реализации можно применять для идентификации индивидуумов, которым могут получать пользу от определенных или модифицированных методов лечения и/или мониторинга эффективности существующих режимов лечения.

Уровни или измерения hTau-pT217, как обеспечивается анализами согласно настоящему изобретению, могут быть абсолютными значениями (например, концентрацией в биологическом образце) или относительными значениями (например, концентрацией по сравнению с референсом). В настоящем документе hTau-pT217 называется "повышенным" в образце пациента, если способ обнаружения hTau-pT217 указывает, что уровень или концентрация hTau-pT217 в образце пациента выше референсного значения. Наоборот, hTau-pT217 называется "пониженным" в образце пациента, если уровень hTau-pT217 или концентрация hTau-pT217 в образце пациента ниже референсного значения, или, например, значения hTau-pT217, измеренного в предыдущем образце пациента.

В настоящем документе "референсное значение" относится к известной или приблизительной концентрации hTau-pT217, связанной с определенным состоянием. Уровни концентрации в референсном значении могут быть абсолютным или относительным количеством, диапазоном количества или минимальным количеством, средним количеством и/или медианным количеством hTau-pT217. Референсное значение также может служить базовым уровнем hTau-pT217, с которым сравнивают образец пациента.

"Контрольный стандарт" в настоящем документе относится к образцу, который можно использовать для сравнения результатов, полученных на образце пациента в способах согласно настоящему изобретению. Контрольные стандарты могут представлять собой клетки, кровь, плазму, спинномозговую жидкость, ткань или известные концентрации белка, добавленные в среду. Уровни концентрации в контрольном стандарте могут быть абсолютным или относительным количеством, диапазоном количества или минимальным количеством, средним количеством и/или медианным количеством hTau-pT217. Контрольный стандарт также может служить базовым уровнем hTau-pT217, с которым сравнивают образец пациента. Контрольный стандарт может включать значение концентрации от того же пациента или известный нормальный референс hTau-pT217. Кроме того, в некоторых вариантах реализации контрольный стандарт может экспрессировать концентрации hTau-pT217 в форме стандартной кривой.

В настоящем документе термин "захватывающее антитело" относится к антителу, которое будет связывать hTau-pT217. В таких вариантах реализации захватывающее антитело способно связывать и захватывать hTau-pT217, например, специфично связывать hTau-pT217 (например, не связывать тау человека, если треонин по остатку 217 SEQ ID NO: 1 не фосфорилирован) в образце пациента в подходящих условиях, так что комплекс захватывающее антитело-hTau-pT217 можно отделить от остальной части образца. В некоторых вариантах реализации захватывающее антитело может представлять собой антитело, которое специфично связывает изоформы тау человека, экспрессируемые в ЦНС (например, которые могут включать hTau, фосфорилированный по треонину по остатку 217), и антитело, которое специфично связывает hTau-pT217, используется в качестве "второго (или детектирующего) антитела". В некоторых вариантах реализации захватывающее антитело мечено обнаруживаемой меткой. В некоторых вариантах реализации захватывающее антитело иммобилизовано в "сэндвич"-иммуноанализе, и захватывающее или первое антитело специфично связывает эпителиальную область тау человека, содержащую фосфорилированный



треонин по остатку 217 SEQ ID NO: 1. В таких сэндвич-иммуноанализах также применяют "детектирующее (или второе) антитело". Согласно некоторым вариантам реализации, детектирующее или второе антитело может специфично связываться с захватывающим антителом и может быть помечено обнаруживаемой меткой. В некоторых вариантах реализации детектирующее или второе антитело специфично связывает hTau-pT217, уже связанным или захваченным захватывающим или первым антителом. В таких вариантах реализации детектирующее антитело связывает hTau-pT217 на второй эпитопной области, которое не перекрывается с первым или захватывающим антителом и может быть помечено обнаруживаемой меткой. В некоторых таких вариантах реализации второе антитело представляет собой антитело согласно настоящему изобретению, которое специфично связывает изоформы тау человека, экспрессируемые в ЦНС.

В настоящем документе термин "обнаруживаемая метка" представляет собой фрагмент, композицию или методику, которые можно применять для обнаружения образования комплекса между антителом согласно настоящему изобретению, которое специфично связывает hTau-pT217 и hTau-pT217. Согласно некоторым вариантам реализации обнаруживаемая метка может быть конъюгирована с антителом (либо захватывающим, либо детектирующим, в зависимости от обстоятельств) прямо или косвенно. Примеры вариантов реализации обнаруживаемых меток включают биотин; радиоизотопы; флуорофоры или другие флуоресцентные фрагменты; и ферментативные фрагменты.

Термин "диагноз" или "диагностика", используемый в настоящем документе взаимозаменяемо, относится к способам, с помощью которых квалифицированный специалист может оценить и/или определить вероятность ("возможность") того, страдает ли пациент данным заболеванием или состоянием. В случае настоящего изобретения "диагностика" пациента включает использование результатов анализа настоящего изобретения для идентификации или диагностики неврологического расстройства, такого как БА, PSP или FTD, а также для идентификации пациента, например, в отношении наличия или возникновения неврологического заболевания или расстройства, или в отношении потребности в лечении, или в отношении эффективности лечения пациента с неврологическим заболеванием. Согласно настоящему изобретению диагноз может быть основан на комбинации других клинических признаков, как их понимает специалист в области здравоохранения, для постановки диагноза. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, диагностические варианты применения согласно настоящему изобретению могут использоваться для диагностики пациента как описано для БА стадии I, II, III, IV, V или VI по Braak. Стадии AD по Braak известны в данной области техники и описаны в Braak, et al., (2006) *Acta Neuropathol* 112(4): 389-404.

#### Примеры

##### Антитела против hTau-pT217

Антитела против hTau-pT217 или антитела, которые специфично связывают hTau-pT217, по настоящему раскрытию получают с применением методологии гибридомы (например, как впервые описано в Kohler et al., *Nature*, 256:495 (1975)). Вкратце, в качестве примера кролика иммунизируют пептидом, включающим фосфорилированный треонин и четыре или более N-концевых и C-концевых аминокислот, таких как треонин, как представлено в SEQ ID NO: 1 (пример пептида, который можно использовать при иммунизации, представлен в SEQ ID NO: 26). Лимфоциты, способные продуцировать антитела, связывающие hTau-pT217, выделяют и сливают с линией клеток миеломы с использованием подходящего агента слияния для образования гибридомной клетки (Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, pp.59-103 (Academic Press, 1986)). Гибридомы засевают и выращивают в подходящей культуральной среде (предпочтительно содержащей одно или более веществ, ингибирующих выживание неслитых миеломных клеток). Затем определяют специфичность связывания моноклональных антител, продуцируемых гибридомами, с помощью анализа связывания *in vitro* (например, иммунопреципитации, радиоиммуноанализа (РИА) или твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA)) с использованием как hTau-pT217, так и рекомбинантного тау, не фосфорилированного по треонину по остатку 217 (номер приведен на основе SEQ ID NO: 1). Идентифицируют антитела, которые специфично связывают hTau-pT217 (например, и не связывают тау человека, не фосфорилированный по остатку 217, нумерация на основе SEQ ID NO: 1). Предпочтительные гибридомы можно субклонировать с помощью процедур ограниченного разведения и выращивать стандартными способами, включая *in vivo* как асцитные опухоли у животных (Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, pp.59-103 (Academic Press, 1986)). Моноклональные антитела, секретируемые гибридомами (и/или субклонами), очищают в соответствии с обычными процедурами, такими как, например, аффинная хроматография (например, белок А или белок G-сефароза) или ионообменная хроматография, гидроксиллапатитовая хроматография, гель-электрофорез, диализ или тому подобное.

кДНК, кодирующие антитела согласно настоящему изобретению, секвенируют с использованием общепринятых процедур. Приведенное в качестве примера антитело кролика против hTau-pT217 ("mAb A"), полученное в соответствии с процедурами, по существу, как описано в настоящем документе, содержит тяжелую цепь SEQ ID NO: 2 и легкую цепь SEQ ID NO: 4. Определяющие комплементарность участки (CDR) или переменные области секвенированных антител могут быть использованы для преобразования в химерные или гуманизированные антитела и/или преобразованы в другие формы IgG мле-

копитающих. Например, клон может быть преобразован в химерное антитело IgG мыши, такое как приведенное в качестве примера химерное антитело против hTau-pT217 варибельной области кролика, константной области IgG мыши ("mAb B"), имеющее варибельную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 6 и тяжелую цепь SEQ ID NO: 7 и варибельную область легкой цепи SEQ ID NO: 8 и легкую цепь SEQ ID NO: 9. Затем можно повторно оценить специфичность связывания. Последовательности кДНК, кодирующие тяжелую и легкую цепи, можно клонировать и сконструировать в вектор экспрессии GS (глутамин синтетазы). Затем сконструированный вектор экспрессии иммуноглобулина может быть стабильно трансфицирован в клетки CHO. Специалист в данной области техники поймет, что экспрессия антител в млекопитающих приведет к гликозилированию, обычно по высококонсервативным сайтам N-гликозилирования в области Fc. Стабильные клоны могут быть проверены на экспрессию антитела, специфично связывающегося с hTau-pT217. Положительные клоны могут быть размножены в бессывороточной культуральной среде для продукции антител в биореакторах. Среда, в которую было секретировано антитело, может быть очищена обычными способами. Например, среда может быть удобным образом нанесена на FF колонку с белком A или G с сефарозой, которая была уравновешена совместимым буфером, таким как забуференный фосфатом физиологический раствор. Колонку промывают для удаления неспецифических связывающихся компонентов. Связанное антитело элюируют, например, градиентом pH, и фракции антитела обнаруживают, например, с помощью ДСН-ПААГ электрофореза, и затем объединяют. Антитело может быть сконцентрировано и/или стерильно отфильтровано с использованием обычных методик. Растворимый агрегат и мультимеры могут быть эффективно удалены обычными методами, включая эксклюзионную, гидрофобного взаимодействия, ионообменную или гидроксиапатитную хроматографию. Продукт может быть немедленно заморожен, например, при  $-70^{\circ}\text{C}$ , или может быть лиофилизирован.

Антитела, специфичные для изоформ hTau, экспрессируемых только в ЦНС

Антитела согласно настоящему изобретению, которые специфично связывают изоформы тау человека, экспрессируемые в ЦНС, могут быть получены с использованием методологии гибридомы (например, как впервые описано в Kohler et al., Nature, 256:495 (1975)). Вкратце, в качестве примера, млекопитающее, не являющееся человеком (например, мышь или кролик), может быть иммунизировано посредством тау человека (например, hTau, представленным SEQ ID NO: 1), или его пептидом, который включает глутамин по остатку 124 и аланин по остатку 125, нумерация представлена SEQ ID NO: 1. Лимфоциты, способные продуцировать антитела, которые специфично связывают изоформы тау человека, экспрессируемые в ЦНС, могут быть выделены и слиты с линией клеток миеломы с использованием подходящего агента слияния для образования гибридомной клетки (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pp.59-103 (Academic Press, 1986)). Гибрид омы могут быть засеяны и выращены в подходящей культуральной среде (предпочтительно содержащей одно или более веществ, ингибирующих выживание неслитых миеломных клеток). Затем определяют специфичность связывания моноклональных антител, продуцируемых гибридомами, с помощью анализа связывания *in vitro* (например, иммунопреципитации, радиоиммуноанализа (РИА) или твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA)) против изоформ тау человека, экспрессируемого в ЦНС (например, пептида, имеющего последовательность SEQ ID NO: 1) и/или периферически экспрессируемых изоформ тау человека (например, пептида, имеющего последовательность, указанную в SEQ ID NO: 27, который не включает глутамин в остатке 124 рядом с аланином в остатке 125, как представлено SEQ ID NO: 1). Антитела, которые специфично связывают изоформы тау человека, экспрессируемые в ЦНС (например, и не связывают периферически экспрессируемый тау человека), могут быть идентифицированы. Предпочтительные гибридомы можно субклонировать с помощью процедур ограниченного разведения и выращивать стандартными способами, включая *in vivo* как асцитные опухоли у животных (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pp.59-103 (Academic Press, 1986)). Моноклональные антитела, секретируемые гибридомами (и/или субклонами), могут быть очищены в соответствии с обычными процедурами, такими как, например, аффинная хроматография (например, белок A или белок G-сефароза) или ионообменная хроматография, гидроксиапатитовая хроматография, гель-электрофорез, диализ или тому подобное.

кДНК, кодирующие антитела согласно настоящему изобретению, могут быть секвенированы с использованием общепринятых процедур. Типичное антитело мыши согласно настоящему раскрытию, которое специфично связывает изоформы тау человека, экспрессируемые в ЦНС ("mAb C"), полученные в соответствии с процедурами, по существу, как описано в настоящем документе, включает тяжелую цепь SEQ ID NO: 16 и легкую цепь SEQ ID NO: 18. Определяющие комплементарность участки (CDR) или варибельные области секвенированных антител могут быть использованы для преобразования в химерные или гуманизированные антитела и/или преобразованы в другие формы IgG млекопитающих и экспрессированы в составляющих клетках-хозяевах, таких как клетки CHO.

Кинетика связывания и аффинность

Анализ интерферометрии биослоя (BLI), измеренный с помощью прибора Octet Red96®, доступно от ForteBio (с использованием HBS-EP + рабочий буфер (GE Healthcare, 10 mM Hepes pH 7,4 + 150 mM NaCl + 3 mM ЭДТА + 0,05% поверхностно-активного вещества P20)) при  $25^{\circ}\text{C}$ , используют для измерения связывания антитела по настоящему изобретению, которое специфично связывается с hTau-pT217, с

рекомбинантным белком hTau-pT217, имеющим аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1.

Если не указано иное, все реагенты и материалы поставляются ForteBio (Freemont, CA). Биосенсор белка А используют для иммобилизации представляющего интерес антитела для анализа. Примеры образцов антител согласно настоящему изобретению (mAb А) готовят в концентрации 5 мкг/мл путем разбавления в рабочем буфере. Рекомбинантный белок hTau-pT217 готовят в концентрациях 300, 100, 33,3, 11,1, 3,7, 1,24, 0,4115 и 0 (холостой) нМ путем разбавления в рабочем буфере. Каждый анализ состоит из: (1) сбора образцов антител на биосенсорах в течение 240 секунд; (2) установление базового уровня путем инкубации загруженных антителами биосенсоров с рабочим буфером в течение 60 секунд; (3) инкубирование загруженных антителами биосенсоров с серийно разведенным рекомбинантным белком hTau-pT217 в течение 300 секунд для мониторинга фазы ассоциации; (4) возврат биосенсора в рабочий буфер для контроля фазы диссоциации.

Данные связывания обрабатывают с использованием стандартного двойного контроля и подгонки к модели связывания 1:1 с использованием программного обеспечения Data Analysis v9.0 для определения скорости ассоциации ( $k_{on}$ ,  $M^{-1}c^{-1}$  ед.) и скорости диссоциации ( $k_{off}$ ,  $c^{-1}$  ед.). Константа равновесной диссоциации ( $K_D$ ) рассчитывается из соотношения  $K_D = k_{off}/k_{on}$ , и выражается в молярных единицах. Результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1  
Данные связывания BLI с рекомбинантным hTau-pT217

Пример антитела	$k_{on}$ ( $M^{-1}c^{-1}$ ед.)	$k_{off}$ ( $M^{-1}c^{-1}$ ед.)	$K_D^*$ (нМ)
mAb А	3,39E+05	2,36E-04	6,95E-10

\*Результаты  $K_D$  считают относительными, так как результаты не нормализованы на влияние avidности.

Специфичность связывания с hTau-pT217

Специфичность представленных в качестве примеров антител согласно настоящему изобретению, которые специфично связывают hTau-pT217 (mAb А и mAb В), определяют с применением синтетических пептидов с использованием анализа BLI, измеренного с помощью прибора Octet Red96®, доступного от ForteBio (с использованием HBS-EP + рабочий буфер (GE Healthcare, 10 mM Hepes pH 7,4 + 150 mM NaCl + 3 mM ЭДТА + 0,05% поверхностно-активного вещества P20)) при 25°C). Меченые N-концевым биотином пептиды SEQ ID NO: 26, с фосфорилированным треонином по остатку 7 и без него, иммобилизованы на стрептавидиновых биосенсорах (ForteBio). Пептиды инкубируют с IgG mAb А и mAb В, разведенными до 5 мкг/мл в рабочем буфере, в течение 300 секунд с последующей диссоциацией в течение 300 секунд. Данные связывания определяют с использованием программного обеспечения для оценки Data Analysis v9.0. Сигнал связывания (нм) для каждого пептида в конце диссоциации представлен в табл. 2.

Таблица 2  
Данные BLI по связыванию mAb А и mAb В с рекомбинантным hTau с pT217 и без него

Пример антитела	фосфорилированный треонин (нм ед)	нефосфорилированный треонин (нм ед)
mAb А	4,4178	-0,0024
mAb В	4,7715	0,3389

Иммуноанализ hTau-pT217

Иммуноанализы для измерения hTau-pT217 в плазме предназначены для измерения связанных с заболеванием различий у пациентов с БА. В качестве примера иммуноанализ согласно настоящему раскрытию проводят на планшете с маленькими пятнами стрептавидина с использованием платформы Meso Scale Discovery (MSD). Либо mAb А, либо mAb В используют в качестве захватывающего антитела и биотинилируют. Второе антитело SULFO-TAG, такое как mAb С (антитело согласно настоящему изобретению, которое специфично связывает изоформы тау человека, экспрессируемые в ЦНС), используют в качестве детектирующего антитела. Антитела конъюгируют с сульфид-NHS-биотином (Thermo Scientific, номер по каталогу: 21329) или MSD GOLD SULFO-TAG NHS-Ester (MSD, номер по каталогу: R91AO-1) в соответствии с протоколом производителя. Анализ калибруют с использованием рекомбинантного белка тау (4R2N, NCBI tau v2), который фосфорилируют *in vitro* с использованием реакции с киназой-3 гликогенсинтазы и характеризуют масс-спектрометрией. Образец размораживают на мокром льду, кратковременно встряхивают, и плазму разбавляют 1:4 в буфере для образцов: для mAb А (фосфатно-солевой буфер (PBS), 0,5% бычий сывороточный альбумин (BSA), 0,5% Tween20, 5 mM EDTA, 5 mM EGTA); для mAb В 50 mM HEPES, 300 mM NaCl, 5 mM EDTA, 5 mM EGTA, 1% Triton X-100, 1% MSD Blocker А, 2% PEG) с добавлением Гетерофильного блокирующего реагента 1 до концентрации 200 мкг/мл (Scantibodies Inc, каталожный номер: 3КС533). Раствор для разведения калибратора получают путем смешивания буфера для образцов 50/50 с заменителем сыворотки Knock-Out (Gibco, 10828-010).

Планшеты, покрытые стрептавидином (MSD, L45SA) MSD, блокируют в течение 1 часа при комнатной температуре 200 мкл 3% BSA в PBS при 650 об/мин встряхивании на шейкере для планшетов.

Планшеты трижды промывают 200 мкл промывочного буфера (PBS + 0,05% Tween 20) и 25 мкл биотинилированного захватывающего антитела (mAb A) при 0,464 мкг/мл (разбавленный в DPBS + 0,1% BSA + 0,05% Tween20, плюс 2% ПЭГ для mAb 2), добавленного для планшетов с hTau-pT217, и инкубируют в течение 1 часа при комнатной температуре при 650 об/мин встряхивании на шейкере для планшетов. Планшеты снова трижды промывают 200 мкл промывочного буфера и 50 мкл разбавленного калибратора или образца, добавленного в планшет, и инкубируют в течение 2 часов при комнатной температуре при 650 об/мин встряхивании на шейкере для планшетов. Затем планшеты трижды промывают 200 мкл промывочного буфера, и добавляют 25 мкл SULFO-меченного детектирующего антитела (mAb C) в концентрации 0,25 мкг/мл (разбавленного в MSD Diluent 35, плюс 2% PEG для mAb 2) для планшетов с hTau-pT217, и инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре при 650 об/мин встряхивании на шейкере для планшетов. Планшеты в последний раз промывают 200 мкл промывочного буфера и 150 мкл буфера для считывания 2X MSD Read Buffer T с поверхностно-активным веществом (MSD, R92TC), добавляемого в каждый планшет, и считывают на MSD SQ120 в течение 10 минут после добавления буфера для считывания. Результаты рассчитывают программным обеспечением MSD с использованием 4PL,  $1/y^2$  стандартной кривой для интерполяции с использованием уравнения:  $Y = b_1 + ((b_2 - b_1) / (1 + (x / b_3)^{b_4}))$ .

Иммуноанализ hTau-pT217 в качестве прогностического анализа для нейрологической визуализации

Уровни hTau-pT217 и hTau-pT181 оценивают в крови субъектов, участвующих в клинических испытаниях БА. Иммуноанализ hTau-pT217, как описано в настоящем документе, используют для оценки hTau-pT217 в плазме субъектов с БА из двух исследований (исследование 1: N = 42; исследование 2: N = 185). Кроме того, иммуноанализ hTau-pT181, ранее описанный в данной области, используют для измерения hTau-pT181 у тех же пациентов. Все пациенты имеют тау позитронно-эмиссионную томографию (ПЭТ), измеренную с помощью нейрологической визуализации флортауципира. Образцы получали в течение двух уникальных клинических испытаний, в том числе и на базовом уровне, и хранили при -80°C для будущего исследования биомаркеров. Флортауципир SUVR определяют в представляющей интерес неокортикальной области относительно референсного сигнала в белом веществе. Корреляции SUVR флортауципира и pTau в плазме (pT181 и pT217, соответственно) оценивают с помощью корреляций рангового порядка Спирмена. При анализе кривых соотношений правильного и ложного обнаружения сигналов (ROC) используются модели логистической регрессии, включающие возраст и пол в качестве ковариант и пороговое значение положительности флортауципира SUVR  $\geq 1,1$ . Базовый уровень pTau, предсказывающий будущее когнитивное снижение, оценивают с использованием моделей со смешанными эффектами, оценивающих pTau по квартилям.

Иммуноанализ hTau-pT217 показывает статистически значимую более высокую корреляцию с Флортауципир ПЭТ в обоих исследованиях (значение  $p < 0,05$ ), как показано в табл. 3.

Таблица 3

Корреляция иммуноанализов hTau-pT217 и hTau-pT181 с Флортауципир ПЭТ

	<u>Иммуноанализ hTau-pT217</u>	<u>Иммуноанализ hTau-pT181</u>
Исследование 1	0,783	0,332
Исследование 2	0,463	0,308

Площадь под ROC для положительности флортауципира показывает более высокие значения для hTau-pT217 по сравнению с hTau-pT181 в обоих исследованиях (исследование 1: 0,88 относительно 0,79; исследование 2: 0,83 относительно 0,81 соответственно). Кроме того, модели смешанных эффектов hTau-pT217 по квартилям показывают значительное увеличение снижения когнитивных функций. Как показывают результаты настоящего примера, иммуноанализы hTau-pT217 согласно настоящему раскрытию могут определять субъектов, подходящих для нейрологической визуализации и подверженных риску снижения когнитивных функций вследствие нейродегенеративного заболевания, и показывает значительное улучшение по сравнению с иммуноанализом hTau-pT181.

Иммуноанализ hTau-pT217 как диагностический индикатор БА и прогрессирования заболевания

Уровни hTau-pT217 в CSF с использованием описанного иммуноанализа оценивают и сравнивают с оценками иммуноанализа hTau-pT181. Вкратце, образцы CSF пожилых людей без нарушений (CU, n = 65); пациентов с легкими нарушениями когнитивной функции вследствие БА (MCI-AD, n = 29); с деменцией вследствие БА (n = 43) и другими нейродегенеративными расстройствами (n = 57) из шведского исследования BioFINDER оценивали с помощью иммуноанализов с hTau-pT217 и hTau-p181. Сто семьдесят четыре участника прошли  $^{18}\text{F}$ -Позитронно-эмиссионную томографию (ПЭТ) с флортауципиром. Поглощение  $^{18}\text{F}$ -Флортауципира количественно определяли в заранее определенных областях, связанных с патологией тау при БА, включая стадии I-II, III-IV и V-VI по Braak, а также в нижней височной

извилине.

У пациентов с СУ как иммуноанализ hTau-pT217, так и иммуноанализ hTau-pT181 коррелируют с <sup>18</sup>F-Фтортауципир при I-II стадиях по Браак; у пациентов с БА как иммуноанализ hTau-pT217, так и иммуноанализ hTau-pT181 коррелируют в областях на стадиях III-IV и V-VI по Браак; у пациентов с МСІ hTau-pT217 коррелирует с <sup>18</sup>F-Фтортауципир в областях I-II, на стадиях по Браак III-IV и V-VI, тогда как hTau-pT181 коррелирует только в области на стадии I-II по Браак. Важно отметить, что корреляции между региональными <sup>18</sup>F-Фтортауципир и hTau-pT217 иммуноанализами показывает статистически значимое улучшение ( $p < 0,001-0,016$ ) по сравнению с корреляцией между иммуноанализом на hTau-pT181 и <sup>18</sup>F-Фтортауципир во всех трех диагностических группах (СУ, МСІ и БА) и во всех областях (стадии по Браак I-II, III-IV и V-VI).

Коэффициенты корреляции иммуноанализа hTau-pT217 показывают постоянно более высокие, статистически значимые (все  $p < 0,001$ ) значения по сравнению с иммуноанализом hTau-pT181 для <sup>18</sup>F-Фтортауципир во всех областях: hTau-pT217 (0,698-0,752) по сравнению с hTau-pT181 (0,572-0,706). Кроме того, иммуноанализ hTau-pT217 доказывает статистически значимый ( $p < 0,001$ ) более точный прогностический фактор патологического статуса <sup>18</sup>F-Фтортауципира во всех областях (hTau-pT217: AUC 0,890-0,929; иммуноанализ hTau-pT181: AUC 0,859-0,904). Кроме того, иммуноанализ hTau-pT217 демонстрирует статистически значимое ( $p = 0,026$ ) улучшение результатов по сравнению с иммуноанализом hTau-pT181 в различении БА от нейродегенеративного заболевания, не связанного с БА (hTau-pT217: AUC 0,943; hTau-pT181: AUC 0,914). Эти результаты показывают, что иммуноанализ hTau-pT217 коррелирует с неврологической визуализацией <sup>18</sup>F-Фтортауципира и позволяет дифференцировать БА от других неврологических расстройств и стадий, а также показывает значительное улучшение по сравнению с иммуноанализом на hTau-pT181.

Иммуноанализ hTau-pT217 связан с Tau PET SUVr

В литературе показано, что тау ПЭТ SUVr связан с патологией тау. Иммуноанализ hTau-pT217, как раскрыто в настоящем документе, коррелирует с Tau PET SUVr в исследовании, в котором измеряют hTau-pT217 в плазме, сыворотке и CSF пациентов с легкой степенью БА. Вкратце, 190 субъектам был выполнен иммуноанализ hTau-pT217 в плазме на исходном уровне. Из этих 190 субъектов 185 пациентам были выполнены тесты Tau PET SUVr. Данные анализировали с использованием критерия Спирмена, и значимая корреляция наблюдается с критерием спирмена  $\rho = 0,49$  и нескорректированным значением  $p < 0,001$ . Кроме того, у 187 субъектов hTau-pT217 был определен в сыворотке на исходном уровне. Из этих 187 субъектов для 182 были выполнены анализы Tau PET SUVr. Данные анализировали с использованием критерия Спирмена, и значимая корреляция наблюдается с критерием спирмена  $\rho = 0,41$ , нескорректированное значение  $p < 0,001$ . Кроме того, у 86 субъектов hTau-pT217 был определен в CSF на исходном уровне. Из 86 субъектов для 29 были выполнены анализы Tau PET SUVr. Данные анализировали с использованием критерия Спирмена, и значимая корреляция наблюдается с критерием спирмена  $\rho = 0,70$ , нескорректированное значение  $p < 0,001$ . Результаты подтверждают использование уровней pTau217, измеренных в CSF, плазме или сыворотке, для выявления патологии тау.

Иммуноанализ hTau-pT217 связан с умеренным когнитивным статусом БА

Средние значения hTau-pT217 в плазме, сыворотке и CSF субъектов с легкой степенью БА рассчитывают согласно иммуноанализу, как описано выше. Результаты каждой матрицы представлены в табл. 4.

Таблица 4

Средние значения hTau-pT217 в плазме, сыворотке и CSF субъектов с легкой степенью БА

Жидкость	Среднее	СКО	N
Плазма	14,2	6,2	190
Сыворотка	13,4	6,2	187
CSF	684,9	531,1	86

Иммуноанализ hTau-pT217, как раскрыто в настоящем документе, связан с когнитивным статусом пациентов с легкой степенью БА (на основе краткого обследования психического состояния, MMSE) и изменением от исходного уровня по сравнению с плацебо для MMSE. hTau-pT217 оценивают с помощью иммуноанализа в плазме, сыворотке и CSF пациентов с легкой степенью БА. Вкратце, для каждой из матриц (плазма, сыворотка и CSF), субъектов, имеющих измерения hTau-pT217 (как описано в настоящем документе) и оценку MMSE на исходном уровне, а также изменения от оценок исходного уровня, оценивают на предмет значимости с помощью критерия Спирмена. Иммуноанализ hTau-pT217 показывает статистически значимую связь как с когнитивным статусом, так и с изменением от исходного уровня в плазме и сыворотке (количество образцов CSF слишком мало для статистической значимости, но данные показали такую связь, что с увеличением количества образцов, таких как оцениваемые образцы сыворотки и плазмы, ожидается, что CSF будет иметь статистически значимые связи для MMSE и изменений MMSE от исходного уровня). Результаты представлены в табл. 5.

Таблица 5

Оценки иммуноанализа hTau-pT217 в плазме, сыворотке и CSF с MMSE и изменением MMSE от исходных значений у субъектов с легкой степенью БА

Переменная (X)	Переменная (Y)	Спирмен ρ	Вероятность> ρ	N
Исходный балл MMSE	Log10 CSF* pTau217	-0,16	1,71E-01	78
Изменение MMSE по сравнению с исходным уровнем (только плацебо)	Log10 CSF* pTau217	-0,25	1,48E-01	35
Исходный балл MMSE	Log10 Плазма pTau217	-0,19	9,41E-03	187
Изменение MMSE от исходного уровня (только плацебо)	Log10 Плазма pTau217	-0,43	3,27E-05	89
Исходный балл MMSE	Log10 Сыворотка pTau217	-0,17	2,17E-02	184
Изменение MMSE от исходного уровня (только плацебо)	Log10 Сыворотка pTau217	-0,32	3,11E-03	86

\* не считается статистически значимым вследствие небольшого размера выборки образцов пациентов, оцениваемых на предмет изменения MMSE от исходного уровня.

Эти результаты демонстрируют перекрестную связь hTau-pT217 с показателем когнитивных функций, MMSE, и демонстрируют полезность hTau-pT217 для определения риска снижения когнитивных функций в будущем.

Иммуноанализ hTau-pT217 связан с амилоидным статусом

Иммуноанализ hTau-pT217, описанный в настоящем документе, связан с амилоидным статусом. Вкратце, образцы плазмы от четырех различных групп пациентов с известной БА и амилоидным статусом (на основе нейрологической визуализации ПЭТ) оценивают на наличие связи с hTau-pT217: (i) здоровый пожилой амилоид-положительный человек (CU-A+); (ii) здоровый пожилой амилоид-отрицательный человек (CU-A-); (iii) пожилой амилоид-положительный человек с БА (AD-A+); и (iv) клинически здоровый молодой человек (CUY-A-). Образцы из каждой группы анализировали с помощью иммуноанализа hTau-pT217, как описано в настоящем документе. Результаты приведены в табл. 6.

Таблица 6

hTau-pT217, связанный с БА и амилоидным статусом

Группа	Среднее	СКО	N
Болезнь Альцгеймера - амилоид-положительный	11,4	6,9	14
Клинически здоровые пожилые люди - амилоид-положительные	6,7	1,9	14
Клинически здоровые пожилые люди - амилоид-отрицательные	3,6	1,4	16
Клинически здоровые молодые люди - амилоид-отрицательные	3,6	1,3	10

Оценка иммуноанализа hTau-pT217 для идентификации амилоид-положительных субъектов определяется путем оценки результатов, представленных в таблице 6 для отдельных групп, с использованием t-критерия Стьюдента. Результаты представлены в табл. 7.

Таблица 7

t-критерий Стьюдента средней разницы hTau-pT217 в плазме, связанной с БА и амилоидным статусом

Уровень 1	Уровень 2	Разница	Std Err Dif	p-значение
Болезнь Альцгеймера - амилоид-положительный	Клинически здоровые пожилые люди - амилоид-отрицательные	7,8	1,4	4,60E-06
Болезнь Альцгеймера - амилоид-положительный	Клинически здоровые молодые люди - амилоид-отрицательные	7,8	1,6	4,67E-05
Болезнь Альцгеймера - амилоид-положительный	Клинически здоровые пожилые люди - амилоид-положительные	4,7	1,4	1,05E-02
Клинически здоровые пожилые люди - амилоид-положительные	Клинически здоровые пожилые люди - амилоид-отрицательные	3,2	1,4	1,17E-01

Как показано в табл. 6 и 7, среднее значение для группы AD-A+ составляет 11,4 пг/мл и в три раза выше, чем для группы CU-A-, соответствующей по возрасту, на уровне 3,6, что приводит к нескорректированному значению  $p$  4,60E-06. Анализ кривых соотношений правильного и ложного обнаружения сигналов (ROC) также используется для оценки чувствительности и специфичности для hTau-pT217 при идентификации амилоид-положительных субъектов. Площадь под кривой ROC составляет 0,94, как показано на фигуре.

Приведенные в настоящем документе данные демонстрируют, что анализы hTau-pT217 согласно настоящему раскрытию способны идентифицировать амилоид-положительных субъектов; служат диагностическим средством для БА и определения когнитивного статуса субъектов по отношению к БА; выявляют субъектов с риском БА и/или на самых ранних стадиях БА; и служат диагностикой прогрессирования БА. Данные также демонстрируют, что анализы hTau-pT217 согласно настоящему раскрытию коррелируют с нейрологической визуализацией, являются функциональными в матрицах сыворотки, плазмы и CSF и превосходят известный анализ hTau-pT181.

Примеры вариантов реализации настоящего раскрытия:

1. Антитело, которое специфично связывает тау человека, фосфорилированный по треонину по остатку 217 SEQ ID NO: 1 ("hTau-pT217").

2. Антитело, содержащее переменную область легкой цепи (LCVR) и переменную область тяжелой цепи (HCVR), причем LCVR содержит определяющие комплементарности участки (CDR) LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и HCVR содержит CDR HCDR1, HCDR2 и HCDR3,

при этом LCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13; LCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14; LCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15; HCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10; HCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11, и HCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12.

3. Антитело, содержащее переменную область легкой цепи (LCVR) и переменную область тяжелой цепи (HCVR), причем LCVR содержит определяющие комплементарности участки (CDR) LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и HCVR содержит CDR HCDR1, HCDR2 и HCDR3,

при этом LCDR1 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 13; LCDR2 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 14; LCDR3 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 15; HCDR1 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 10; HCDR2 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 11, и HCDR3 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 12.

4. Антитело по вариантам реализации 2 или 3, содержащее переменную область легкой цепи (LCVR) и переменную область тяжелой цепи (HCVR), выбранные из:

a. LCVR, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, и HCVR, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3; и

b. LCVR, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, и HCVR, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6.

5. Антитело по вариантам реализации 2 или 3, содержащее переменную область легкой цепи

(LCVR) и вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), выбранные из:

а. LCVR, имеющей аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 5, и HCVR, имеющей аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 3; и

б. LCVR, имеющей аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 8, и HCVR, имеющей аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 6:

6. Антитело по любому из вариантов реализации 1-5, отличающееся тем, что указанное антитело является гуманизированным.

7. Антитело по любому из вариантов реализации 1-6, отличающееся тем, что указанное антитело содержит тяжелую цепь IgG4.

8. Антитело по любому из вариантов реализации 1-7, отличающееся тем, что указанное антитело содержит легкую каппа-цепь.

9. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело по любому из вариантов реализации 1-8 и один или более фармацевтически приемлемых носителей, разбавителей или вспомогательных веществ.

10. Антитело, которое специфично связывает изоформы тау человека, экспрессируемые в ЦНС.

11. Антитело по варианту реализации 10, отличающееся тем, что указанное антитело связывает эпитопную область тау человека, содержащую глутамин по остатку 124 и аланин по остатку 125 SEQ ID NO: 1.

12. Антитело, содержащее вариабельную область легкой цепи (LCVR) и вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), причем LCVR содержит определяющие комплементарность участки (CDR) LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и HCVR содержит CDR HCDR1, HCDR2 и HCDR3,

при этом LCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23; LCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24, LCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25, HCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20, HCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21, и HCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22.

13. Антитело, содержащее вариабельную область легкой цепи (LCVR) и вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), причем LCVR содержит определяющие комплементарность участки (CDR) LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и HCVR содержит CDR HCDR1, HCDR2 и HCDR3,

при этом LCDR1 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 23, LCDR2 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 24, LCDR3 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 25, HCDR1 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 20, HCDR2 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 21, и HCDR3 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 22.

14. Антитело по вариантам реализации 12 или 13, содержащее вариабельную область легкой цепи (LCVR), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19.

15. Антитело по вариантам реализации 12 или 13, содержащее вариабельную область легкой цепи (LCVR), имеющую аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 17, и вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), имеющую аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 19.

16. Антитело по любому из вариантов реализации 10-15, отличающееся тем, что указанное антитело является гуманизированным.

17. Антитело по любому из вариантов реализации 10-16, отличающееся тем, что указанное антитело содержит тяжелую цепь IgG4.

18. Антитело по любому из вариантов реализации 10-17, отличающееся тем, что указанное антитело содержит легкую каппа-цепь.

19. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело по любому из вариантов реализации 10-18 и один или более фармацевтически приемлемых носителей, разбавителей или вспомогательных веществ.

20. Способ лечения нейродегенеративного заболевания, содержащий введение пациенту, который в этом нуждается, эффективного количества антитела или его фармацевтической композиции, по любому из вариантов реализации 1-19.

21. Способ по варианту реализации 20, отличающийся тем, что указанное нейродегенеративное заболевание представляет собой таупатию.

22. Способ по варианту реализации 21, отличающийся тем, что таупатия представляет собой одно из БА, PSP и FTD.



23. Антитело или его фармацевтическая композиция по любому из вариантов реализации 1-19 для применения в терапии.

24. Антитело или его фармацевтическая композиция по любому из вариантов реализации 1-19 для применения для лечения нейродегенеративного заболевания.

25. Антитело или его фармацевтическая композиция по варианту реализации 24, причем указанное нейродегенеративное заболевание представляет собой таупатию.

26. Антитело или его фармацевтическая композиция по варианту реализации 25, причем указанная таупатия выбрана из группы, состоящей из БА, PSP и FTD.

27. Антитело или его фармацевтическая композиция по любому из вариантов реализации 1-19 для применения для получения лекарственного средства для лечения нейродегенеративного заболевания.

28. Антитело или его фармацевтическая композиция по варианту реализации 27, причем указанное нейродегенеративное заболевание представляет собой таупатию.

29. Антитело или его фармацевтическая композиция по варианту реализации 28, причем указанная таупатия выбрана из группы, состоящей из БА, PSP и FTD.

30. Способ обнаружения hTau-pT217 в образце пациента, включающий следующие стадии: приведение образца пациента в контакт с антителом любого из вариантов реализации 1-8; и обнаружение сигнала, обеспечиваемого указанной стадией приведения в контакт.

31. Способ количественного определения hTau-pT217 в образце пациента, включающий следующие стадии:

приведение образца пациента в контакт с антителом любого из вариантов реализации 1-8; и обнаружение сигнала, обеспечиваемого указанной стадией приведения в контакт.

32. Способ по варианту реализации 31, дополнительно содержащий стадии приведения контрольного стандарта в контакт с антителом и обнаружения сигнала, обеспечиваемого указанной стадией приведения в контакт с контрольным стандартом.

33. Способ количественного определения hTau-pT217 в образце пациента, включающий следующие стадии: приведение образца пациента в контакт с антителом по вариантам реализации 1-8; приведение образца пациента в контакт со вторым антителом, причем второе антитело представляет собой антитело согласно вариантам реализации 10-18, и одно из антитела и второго антитела содержит обнаруживаемую метку; обнаружение сигнала, обеспечиваемого обнаруживаемой меткой при образовании комплекса, содержащего антитело, второе антитело и hTau-pT217; приведение контрольного стандарта в контакт с антителом; приведение контрольного стандарта в контакт со вторым антителом, одним из антитела и второго антитела, содержащего обнаруживаемую метку; и обнаружение сигнала, обеспечиваемого обнаруживаемой меткой при образовании комплекса, включающего антитело, второе антитело и контрольный стандарт.

34. Способ диагностики пациента как одного или более из: (i) страдающего нейродегенеративным заболеванием; (ii) подверженного риску нейродегенеративного заболевания; (iii) нуждающегося в лечении нейродегенеративного заболевания; или (iv) нуждающегося в неврологической визуализации, содержащей стадии: приведение образца пациента в контакт с антителом любого из вариантов реализации 1-8; и обнаружение связывания между антителом и hTau-pT217 в образце пациента.

35. Способ по варианту реализации 34, дополнительно включающий стадию диагностики пациента как одного из: (i) страдающего нейродегенеративным заболеванием; (ii) подверженного риску нейродегенеративного заболевания; (iii) нуждающегося в лечении нейродегенеративного заболевания; или (iv) нуждающегося в неврологической визуализации, если уровень hTau-pT217, обнаруживаемый в образце пациента, превышает референсный уровень.

36. Способ диагностики и лечения нейродегенеративного заболевания у пациента, при этом указанный способ включает стадии: приведение образца пациента в контакт с антителом по любому из вариантов реализации 1-8; обнаружение связывания между антителом и hTau-pT217 в образце пациента; диагностика пациента с нейродегенеративным заболеванием; и введение терапевтически эффективного количества антитела против тау человека пациенту, которому проведена диагностика.

37. Способ по варианту реализации 36, согласно которому указанная стадия диагностики включает диагностику пациента как страдающего нейродегенеративным заболеванием, когда присутствие hTau-pT217 в образце пациента превышает референсный уровень.

38. Способ по любому из вариантов реализации 31-37, дополнительно содержащий стадию количественного определения hTau-pT217 в образце пациента.

39. Способ по варианту реализации 38, отличающийся тем, что указанная стадия количественного определения hTau-pT217 содержит количественное определение hTau-pT217 в образце пациента относительно референсного стандарта.

40. Способ по любому из вариантов реализации 30-39, отличающийся тем, что образец пациента представляет собой образец крови, плазмы, сыворотки или спинномозговой жидкости (CSF).

41. Способ по любому из вариантов реализации 30-32 и 34-40, дополнительно включающий стадию приведения образца пациента в контакт со вторым антителом, при этом указанное второе антитело связывается с эпителиальной областью hTau-pT217, которая не перекрывается с антителом.

42. Способ по варианту реализации 41, отличающийся тем, что одно из указанного антитела или второго антитела содержит обнаруживаемую метку, и указанная стадия обнаружения содержит обнаружение сигнала, обеспечиваемого обнаруживаемой меткой, при образовании комплекса, включающего антитело, второе антитело и hTau-pT217.

43. Способ по любому из вариантов реализации 41-42, отличающийся тем, что одно из указанного антитела и второго антитела иммобилизовано на субстрате.

44. Способ по любому из вариантов реализации 30-43, отличающийся тем, что указанные стадии приведения образца пациента в контакт с указанным антителом и приведения образца пациента в контакт со вторым антителом происходят одновременно.

45. Способ по любому из вариантов реализации 32 и 41-44, отличающийся тем, что второе антитело содержит переменную область легкой цепи (LCVR) и переменную область тяжелой цепи (HCVR), причем LCVR содержит определяющие комплементарность участки (CDR) LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и HCVR содержит CDR HCDR1, HCDR2 и HCDR3,

причем LCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23; LCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24, LCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25, и причем HCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20, HCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21, и HCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22.

46. Способ по любому из вариантов реализации 33 и 41-44, отличающийся тем, что второе антитело содержит переменную область легкой цепи (LCVR) и переменную область тяжелой цепи (HCVR), причем LCVR содержит определяющие комплементарность участки (CDR) LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и HCVR содержит CDR HCDR1, HCDR2 и HCDR3,

причем LCDR1 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 23, LCDR2 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 24, LCDR3 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 25, HCDR1 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 20, HCDR2 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 21, и HCDR3 имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 22.

47. Способ по любому из вариантов реализации 46-47, отличающийся тем, что второе антитело содержит переменную область легкой цепи (LCVR) и переменную область тяжелой цепи (HCVR), причем LCVR имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и HCVR имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17.

48. Способ по любому из вариантов реализации 46-47, отличающийся тем, что второе антитело содержит переменную область легкой цепи (LCVR) и переменную область тяжелой цепи (HCVR),

причем указанная LCVR имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 19, и HCVR имеет аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 17.

49. Способ образования комплекса между первым антителом, вторым антителом и тау человека, экспрессируемым в ЦНС и фосфорилированным по треонину по остатку 217 SEQ ID NO: 1, при этом указанный способ включает: приведение образца пациента в контакт с первым антителом, при этом первое антитело представляет собой антитело по одному из вариантов реализации 1-8; и приведение образца пациента в контакт со вторым антителом, при этом второе антитело представляет собой антитело по одному из вариантов реализации 10-18.

50. Анализ для обнаружения тау человека, экспрессированного в ЦНС и фосфорилированного по треонину по остатку 217 SEQ ID NO: 1, отличающийся тем, что указанный анализ включает: антитело по одному из вариантов реализации 1-8; и антитело по одному из вариантов реализации 10-18.

51. Анализ по варианту реализации 50, отличающийся тем, что одно из антител содержит обнаруживаемую метку.

## Перечень последовательностей

**SEQ ID NO: 1 (hTau-pT217)**

MAEPRQEFVEMEDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGD TDAGLKESPLQPTEDGSE  
 EPGSETSDAKSTPTAEDVTAPLVDEGAPGKQAAAQPHTIPEGTTAEEAGIGDTPSLEDE  
 AAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKAKAGADGKTKIATPRGAAPPQKQANATRIPAK  
 TPPAPKTPPSSGEPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSRSRTPSLPTPTREP KKVAVVRTPPKSP  
 SSAKSRLQTA PVPMPDLKNVSKIGSTENLKHQPGGGKVQIINKKLDLSNVQSKCGSKD  
 NIKHVPGGGSVQIVYKPVDSLKVT SKCGSLGNIHHKPGGGQVEVKSEKLDKDRVQSKI  
 GSLDNITHVPGGGNKKIETHKLT FRENAKAKTDHGAEIVYKSPVVS GDTSPRHLSNV SST  
 GSIDMVDSPLATLADEV SASLAKQGL

**SEQ ID NO: 2 (НС приведенного в качестве примера антитела кролика против hTau-pT217)**

QSVEESGGR LVTPGTPLTLTCTV SGLSPSWYGVHWVRQAPGKGLEWIGVLRAGSHTYY  
 AGWAKGRFAISKSTTTVALKITSPTTEDTAIYFCGSVGRGIWGPGLTVTVSLGQPKAPSV  
 FPLAPCCGDTSSIVTLGCLVKGYLPEPVTVTWNSGTLN GVRTFPSVRQSSGLYSLSSV  
 VSVTSSSQPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPPELLGGPSVFIFPPKPKDTLMI  
 SRTPVETCVVVVDVSQDDPEVQFTWYINNEQVRTAR PPLREQQFNSTIRVVSTLPIAHQD  
 WLRGKEFKCKVHNKALPAIEKTISKARGQPLEPKVYTMGPPREELSSRSVSLTCMINGF  
 YPSDISVEWEKNGKAEDNYKTTPAVLDS DGSYFLYSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHE  
 ALHNHYTQKSISRSPGK

**SEQ ID NO: 3 (HCVR приведенного в качестве примера антитела кролика против hTau-pT217)**

QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGLSPSWYGVHWVRQAPGKGLEWIGVLRAGSHTYY  
AGWAKGRFAISKSTTTVALKITSPTTEDTAIYFCGSVGRGIWGPGLVTVSL

**SEQ ID NO: 4 (LC приведенного в качестве примера антитела кролика против hTau-pT217)**

AQVLTQTASPVSATVGGTVTINCQASLAVYNNNNYLAWYQQKPGQPPKRLIYLASSLSSG  
VSSHFKGSGSGTQFTLTISDVQADDAATYFCQGSYDCIADCVAFGGGTEVVVKGDPVA  
PTVLIFFPAAADQVATGTVTIVCVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTGTIENSKTPQNSADNT  
YNLSSLTTLTSTQYNHKEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC

**SEQ ID NO: 5 (LCVR приведенного в качестве примера антитела кролика против hTau-pT217)**

AQVLTQTASPVSATVGGTVTINCQASLAVYNNNNYLAWYQQKPGQPPKRLIYLASSLSSG  
VSSHFKGSGSGTQFTLTISDVQADDAATYFCQGSYDCIADCVAFGGGTEVVVK

**SEQ ID NO: 6 (HCVR приведенного в качестве примера химерного антитела против hTau-pT217)**

QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGLSPSWYGVHWVRQAPGKGLEWIGVLRAGSHTYY  
AGWAKGRFAISKSTTTVALKITSPTTEDTAIYFCGSVGRGIWGPGLVTVSL

**SEQ ID NO: 7 (HC приведенного в качестве примера химерного антитела против hTau-pT217)**

QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGLSPSWYGVHWVRQAPGKGLEWIGVLRAGSHTYY  
AGWAKGRFAISKSTTTVALKITSPTTEDTAIYFCGSVGRGIWGPGLVTVSLAKTTPPSV  
YPLAPGSAQAQNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS  
VTVPSSTWPSETVTCNV AHPASSTKV DKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVL  
TITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQ  
DWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTIKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMIT  
DFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLVNPKSNWEAGNTFTCSVL  
HEGLHNHHTKSLSHSPGK

**SEQ ID NO: 8 (LCVR приведенного в качестве примера химерного антитела против hTau-pT217)**

AQVLTQTASPVSATVGGTVTINCQASLAVYNNNNYLAWYQQKPGQPPKRLIYLASSLSSG  
VSSHFKGSGSGTQFTLTISDVQADDAATYFCQGSYDCIADCVAFGGGTEVVVK

**SEQ ID NO: 9 (LC приведенного в качестве примера химерного антитела против hTau-pT217)**

AQVLTQTASPVSATVGGTVTINCQASLAVYNNNYLAWYQQKPGQPPKRLIYLASSLSSG  
 VSSHFKGSGSGTQFTLTISDVQADDAATYFCQGSYDCIADCVAFGGGTEVVVKRADA  
 APTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSEKQNGVLNSWTDQDSKDS  
 TYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNREK

**SEQ ID NO: 10** (приведенная в качестве примера HCDR1)

GLSPSWYGVH

**SEQ ID NO: 11** (приведенная в качестве примера HCDR2)

VLRAGSHTYYAGWAKG

**SEQ ID NO: 12** (приведенная в качестве примера HCDR3)

VGRGI

**SEQ ID NO: 13** (приведенная в качестве примера LCDR1)

QASLAVYNNNYLA

**SEQ ID NO: 14** (приведенная в качестве примера LCDR2)

LASSLSS

**SEQ ID NO: 15** (приведенная в качестве примера LCDR3)

LASSLSS

**SEQ ID NO: 16** (HC приведенного в качестве примера антитела, связывающего тау человека, экспрессируемый только в ЦНС)

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCVYGGSFSPYYWSWIRQPPDKGLEWIGEINWSGDTN  
 YNPSLKSRVTISLDTSKNQFSLNLSVTAADTAVYYCARSFDRWGQGLVTVSSASTKG  
 PSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL  
 SSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFI  
 FPKIKDVLMIKSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTLRV  
 VSALPIQHQQDWMGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAQVYVLPPEEEMTKK  
 QVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGYSYFMYSKLRVEKKNWV  
 ERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK

**SEQ ID NO: 17** (HCVR приведенного в качестве примера антитела,

связывающего тау человека, экспрессируемый только в ЦНС)

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCVYGGSFSPYYWSWIRQPPDKGLEWIGEINWSGDTN  
 YNPSLKSRVTISLDTSKNQFSLNLSVTAADTAVYYCARSFDRWGQGLVTVSS

**SEQ ID NO: 18** (LC приведенного в качестве примера антитела, связывающего тау человека, экспрессируемый только в ЦНС)

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVRSNYFAWYQQKPGQAPRLLIYGVSRRAFGIP  
DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGASLITFGQGTRLEIKRTVAAPSVFIFPPS  
DEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTL  
TLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

**SEQ ID NO: 19** (LCVR приведенного в качестве примера антитела, связывающего тау человека, экспрессируемый только в ЦНС)

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVRSNYFAWYQQKPGQAPRLLIYGVSRRAFGIP  
DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGASLITFGQGTRLEIK

**SEQ ID NO: 20** (HCDR1 приведенного в качестве примера антитела, связывающего тау человека, экспрессируемый только в ЦНС)

AVYGGSFSPYYWS

**SEQ ID NO: 21** (HCDR2 приведенного в качестве примера антитела, связывающего тау человека, экспрессируемый только в ЦНС)

EINWSGDTN

**SEQ ID NO: 22** (HCDR3 приведенного в качестве примера антитела, связывающего тау человека, экспрессируемый только в ЦНС)

ARSFDR

**SEQ ID NO: 23** (LCDR1 приведенного в качестве примера антитела, связывающего тау человека, экспрессируемый только в ЦНС)

RASQSVRSNYFA

**SEQ ID NO: 24** (LCDR2 приведенного в качестве примера антитела, связывающего тау человека, экспрессируемый только в ЦНС)

YGVSRRAF

**SEQ ID NO: 25** (LCDR3 приведенного в качестве примера антитела, связывающего тау человека, экспрессируемый только в ЦНС)

QQYGASLIT

**SEQ ID NO: 26** (приведенный в качестве примера пептид для иммунизации)

RTPSLTPPTR

где Т у остатка 7 фосфорилирован

**SEQ ID NO: 27** (приведенный в качестве примера пептид для иммунизации)

AEPRQEFVEMDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKESPLQT  
PTEDGSEEPGSETSDAKSTPTAEDVTAPLVDEGAPGKQAAAQPHEIPE  
GTAAEEAGIGDTPSLEDEAAGHVTFQEPESGKVVQEGFLREPGPP  
GLSHQLMSGMPGAPLLPEGPREATRQP SGTGPEDEGGRHAPELLKHQ  
LLGDLHQEGPPLKGAGGKE RPGSKEEVEDDRDVESSPQ DSPPSKASPA  
QDGRPPQTAAREATSIPGFPAEGAIPLPVDFLSKVSTEIPASEPDGPSVG  
RAKQDAPLEFTFHVEITPNVQKEQAHSEEHLGRAAFPGAPGEGPEARGP  
SLGEDTKEAD LPEPSEKQPAAPRGKPVSRVPQLKARMVS KSKDGTGSDD  
KKAKTSTRSSAKTLKNRCLSPKHPTPGSSDPLIQPSSPAVCEPPSPKYVSSVT SRTG  
SSGAKEMKLGADGKTKIAT PRGAAPPQKQGANATRIPAKTPP  
APKTPPSSGEPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSRSRTP SLTPPTREP  
KKVAVVRTPPKSPSSAKSRLQTAPVMPDLKNVKSKIGSTENLKHQPGGG  
KVQIINKKLDLSNVQSKCGSKDNIKHVPGGGSVQIVYKPVDSLKVTSKC  
GSLGNIHHKPG GGQVEVKSEKLDKDRVQSKIGSLDNITHVPGGG NKKIETHKLTFR  
ENAKAKTDHGAEIVYKSPVVSVDGDT  
SPRHLSNVSSSTGSIDMVDSPQLATLADEVASLAKQGL

## ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

- <110> ЭЛИ ЛИЛЛИ ЭНД КОМПАНИ
- <120> СОЕДИНЕНИЯ И СПОСОБЫ НАЦЕЛИВАНИЯ НА ТАУ ЧЕЛОВЕКА
- <130> X22196\_WO
- <150> 62/855,331
- <151> 2019-05-31
- <160> 27
- <170> PatentIn версия 3.5
- <210> 1
- <211> 441
- <212> БЕЛОК
- <213> Искусственная последовательность
- <220>
- <223> Синтетическая последовательность
- <400> 1

Met Ala Glu Pro Arg Gln Glu Phe Glu Val Met Glu Asp His Ala Gly  
1 5 10 15

Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His  
20 25 30

Gln Asp Gln Glu Gly Asp Thr Asp Ala Gly Leu Lys Glu Ser Pro Leu  
35 40 45

Gln Thr Pro Thr Glu Asp Gly Ser Glu Glu Pro Gly Ser Glu Thr Ser  
50 55 60

Asp Ala Lys Ser Thr Pro Thr Ala Glu Asp Val Thr Ala Pro Leu Val  
65 70 75 80

Asp Glu Gly Ala Pro Gly Lys Gln Ala Ala Ala Gln Pro His Thr Glu  
85 90 95

Ile Pro Glu Gly Thr Thr Ala Glu Glu Ala Gly Ile Gly Asp Thr Pro  
100 105 110

Ser Leu Glu Asp Glu Ala Ala Gly His Val Thr Gln Ala Arg Met Val  
115 120 125

Ser Lys Ser Lys Asp Gly Thr Gly Ser Asp Asp Lys Lys Ala Lys Gly  
130 135 140

Ala Asp Gly Lys Thr Lys Ile Ala Thr Pro Arg Gly Ala Ala Pro Pro  
145 150 155 160

Gly Gln Lys Gly Gln Ala Asn Ala Thr Arg Ile Pro Ala Lys Thr Pro  
165 170 175

Pro Ala Pro Lys Thr Pro Pro Ser Ser Gly Glu Pro Pro Lys Ser Gly  
180 185 190

Asp Arg Ser Gly Tyr Ser Ser Pro Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser  
195 200 205

Arg Ser Arg Thr Pro Ser Leu Pro Thr Pro Pro Thr Arg Glu Pro Lys  
210 215 220

Lys Val Ala Val Val Arg Thr Pro Pro Lys Ser Pro Ser Ser Ala Lys  
225 230 235 240

Ser Arg Leu Gln Thr Ala Pro Val Pro Met Pro Asp Leu Lys Asn Val  
245 250 255

Lys Ser Lys Ile Gly Ser Thr Glu Asn Leu Lys His Gln Pro Gly Gly  
260 265 270

Gly Lys Val Gln Ile Ile Asn Lys Lys Leu Asp Leu Ser Asn Val Gln  
275 280 285

Ser Lys Cys Gly Ser Lys Asp Asn Ile Lys His Val Pro Gly Gly Gly  
290 295 300

Ser Val Gln Ile Val Tyr Lys Pro Val Asp Leu Ser Lys Val Thr Ser  
305 310 315 320

Lys Cys Gly Ser Leu Gly Asn Ile His His Lys Pro Gly Gly Gly Gln  
325 330 335

Val Glu Val Lys Ser Glu Lys Leu Asp Phe Lys Asp Arg Val Gln Ser  
340 345 350

Lys Ile Gly Ser Leu Asp Asn Ile Thr His Val Pro Gly Gly Gly Asn  
355 360 365

Lys Lys Ile Glu Thr His Lys Leu Thr Phe Arg Glu Asn Ala Lys Ala  
370 375 380



Lys Thr Asp His Gly Ala Glu Ile Val Tyr Lys Ser Pro Val Val Ser  
385 390 395 400

Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu Ser Asn Val Ser Ser Thr Gly Ser  
405 410 415

Ile Asp Met Val Asp Ser Pro Gln Leu Ala Thr Leu Ala Asp Glu Val  
420 425 430

Ser Ala Ser Leu Ala Lys Gln Gly Leu  
435 440

<210> 2

<211> 433

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 2

Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro  
1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Leu Ser Pro Ser Trp Tyr Gly  
20 25 30

Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly  
35 40 45

Val Leu Arg Ala Gly Ser His Thr Tyr Tyr Ala Gly Trp Ala Lys Gly  
50 55 60

Arg Phe Ala Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Ala Leu Lys Ile Thr  
65 70 75 80

Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Phe Cys Gly Ser Val Gly  
85 90 95

Arg Gly Ile Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Leu Gly Gln  
100 105 110

Pro Lys Ala Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Cys Gly Asp Thr  
115 120 125

## 047294

Pro Ser Ser Thr Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Leu Pro  
 130 135 140

Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Thr Leu Thr Asn Gly Val  
 145 150 155 160

Arg Thr Phe Pro Ser Val Arg Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175

Ser Val Val Ser Val Thr Ser Ser Ser Gln Pro Val Thr Cys Asn Val  
 180 185 190

Ala His Pro Ala Thr Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Ala Pro Ser  
 195 200 205

Thr Cys Ser Lys Pro Thr Cys Pro Pro Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
 210 215 220

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
 225 230 235 240

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Asp Asp  
 245 250 255

Pro Glu Val Gln Phe Thr Trp Tyr Ile Asn Asn Glu Gln Val Arg Thr  
 260 265 270

Ala Arg Pro Pro Leu Arg Glu Gln Gln Phe Asn Ser Thr Ile Arg Val  
 275 280 285

Val Ser Thr Leu Pro Ile Ala His Gln Asp Trp Leu Arg Gly Lys Glu  
 290 295 300

Phe Lys Cys Lys Val His Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
 305 310 315 320

Thr Ile Ser Lys Ala Arg Gly Gln Pro Leu Glu Pro Lys Val Tyr Thr  
 325 330 335

Met Gly Pro Pro Arg Glu Glu Leu Ser Ser Arg Ser Val Ser Leu Thr  
 340 345 350

Cys Met Ile Asn Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ser Val Glu Trp Glu  
 355 360 365

## 047294

Lys Asn Gly Lys Ala Glu Asp Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Ala Val Leu  
 370 375 380

Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Ser Val Pro Thr  
 385 390 395 400

Ser Glu Trp Gln Arg Gly Asp Val Phe Thr Cys Ser Val Met His Glu  
 405 410 415

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Ile Ser Arg Ser Pro Gly  
 420 425 430

Lys

<210> 3  
 <211> 110  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая последовательность

<400> 3

Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro  
 1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Leu Ser Pro Ser Trp Tyr Gly  
 20 25 30

Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly  
 35 40 45

Val Leu Arg Ala Gly Ser His Thr Tyr Tyr Ala Gly Trp Ala Lys Gly  
 50 55 60

Arg Phe Ala Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Ala Leu Lys Ile Thr  
 65 70 75 80

Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Phe Cys Gly Ser Val Gly  
 85 90 95

Arg Gly Ile Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Leu  
 100 105 110

<210> 4  
 <211> 217

## 047294

<212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая последовательность

<400> 4

Ala Gln Val Leu Thr Gln Thr Ala Ser Pro Val Ser Ala Thr Val Gly  
 1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser Leu Ala Val Tyr Asn Asn  
 20 25 30

Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Arg  
 35 40 45

Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Ser Leu Ser Ser Gly Val Ser Ser His Phe  
 50 55 60

Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Val  
 65 70 75 80

Gln Ala Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gly Ser Tyr Asp Cys  
 85 90 95

Thr Ile Ala Asp Cys Val Ala Phe Gly Gly Thr Glu Val Val Val  
 100 105 110

Lys Gly Asp Pro Val Ala Pro Thr Val Leu Ile Phe Pro Pro Ala Ala  
 115 120 125

Asp Gln Val Ala Thr Gly Thr Val Thr Ile Val Cys Val Ala Asn Lys  
 130 135 140

Tyr Phe Pro Asp Val Thr Val Thr Trp Glu Val Asp Gly Thr Thr Gln  
 145 150 155 160

Thr Thr Gly Ile Glu Asn Ser Lys Thr Pro Gln Asn Ser Ala Asp Asn  
 165 170 175

Thr Tyr Asn Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Ser Thr Gln Tyr Asn  
 180 185 190

Ser His Lys Glu Tyr Thr Cys Lys Val Thr Gln Gly Thr Thr Ser Val  
 195 200 205

## 047294

Val Gln Ser Phe Asn Arg Gly Asp Cys  
 210 215

<210> 5  
 <211> 113  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая последовательность

<400> 5

Ala Gln Val Leu Thr Gln Thr Ala Ser Pro Val Ser Ala Thr Val Gly  
 1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser Leu Ala Val Tyr Asn Asn  
 20 25 30

Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Arg  
 35 40 45

Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Ser Leu Ser Ser Gly Val Ser Ser His Phe  
 50 55 60

Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Val  
 65 70 75 80

Gln Ala Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gly Ser Tyr Asp Cys  
 85 90 95

Thr Ile Ala Asp Cys Val Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val  
 100 105 110

Lys

<210> 6  
 <211> 110  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая последовательность

<400> 6

Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro  
 1 5 10 15

## 047294

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Leu Ser Pro Ser Trp Tyr Gly  
 20 25 30

Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly  
 35 40 45

Val Leu Arg Ala Gly Ser His Thr Tyr Tyr Ala Gly Trp Ala Lys Gly  
 50 55 60

Arg Phe Ala Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Ala Leu Lys Ile Thr  
 65 70 75 80

Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Phe Cys Gly Ser Val Gly  
 85 90 95

Arg Gly Ile Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Leu  
 100 105 110

<210> 7

<211> 434

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность

<400> 7

Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro  
 1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Leu Ser Pro Ser Trp Tyr Gly  
 20 25 30

Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly  
 35 40 45

Val Leu Arg Ala Gly Ser His Thr Tyr Tyr Ala Gly Trp Ala Lys Gly  
 50 55 60

Arg Phe Ala Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Ala Leu Lys Ile Thr  
 65 70 75 80

Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Phe Cys Gly Ser Val Gly  
 85 90 95

Arg Gly Ile Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Leu Ala Lys  
 100 105 110

Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln  
 115 120 125

Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro  
 130 135 140

Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val  
 145 150 155 160

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser  
 165 170 175

Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys  
 180 185 190

Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val  
 195 200 205

Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val  
 210 215 220

Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile  
 225 230 235 240

Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp  
 245 250 255

Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His  
 260 265 270

Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg  
 275 280 285

Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys  
 290 295 300

Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu  
 305 310 315 320

Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr  
 325 330 335

Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu  
 340 345 350

Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp  
 355 360 365

Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile  
 370 375 380

Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln  
 385 390 395 400

Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His  
 405 410 415

Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro  
 420 425 430

Gly Lys

<210> 8  
 <211> 113  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая последовательность

<400> 8

Ala Gln Val Leu Thr Gln Thr Ala Ser Pro Val Ser Ala Thr Val Gly  
 1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser Leu Ala Val Tyr Asn Asn  
 20 25 30

Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Arg  
 35 40 45

Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Ser Leu Ser Ser Gly Val Ser Ser His Phe  
 50 55 60

Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Val  
 65 70 75 80

Gln Ala Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gly Ser Tyr Asp Cys  
 85 90 95



## 047294

Thr Ile Ala Asp Cys Val Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val  
 100 105 110

Lys

<210> 9  
 <211> 220  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая последовательность

<400> 9

Ala Gln Val Leu Thr Gln Thr Ala Ser Pro Val Ser Ala Thr Val Gly  
 1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser Leu Ala Val Tyr Asn Asn  
 20 25 30

Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Arg  
 35 40 45

Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Ser Leu Ser Ser Gly Val Ser Ser His Phe  
 50 55 60

Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Val  
 65 70 75 80

Gln Ala Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gly Ser Tyr Asp Cys  
 85 90 95

Thr Ile Ala Asp Cys Val Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val  
 100 105 110

Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser  
 115 120 125

Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn  
 130 135 140

Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu  
 145 150 155 160

Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp  
 165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr  
 180 185 190

Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr  
 195 200 205

Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys  
 210 215 220

<210> 10  
 <211> 10  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая последовательность

<400> 10

Gly Leu Ser Pro Ser Trp Tyr Gly Val His  
 1 5 10

<210> 11  
 <211> 16  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая последовательность

<400> 11

Val Leu Arg Ala Gly Ser His Thr Tyr Tyr Ala Gly Trp Ala Lys Gly  
 1 5 10 15

<210> 12  
 <211> 5  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая последовательность

<400> 12

Val Gly Arg Gly Ile  
 1 5

<210> 13  
 <211> 13  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Синтетическая последовательность

&lt;400&gt; 13

Gln Ala Ser Leu Ala Val Tyr Asn Asn Asn Tyr Leu Ala  
 1 5 10

&lt;210&gt; 14

&lt;211&gt; 7

&lt;212&gt; БЕЛОК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Синтетическая последовательность

&lt;400&gt; 14

Leu Ala Ser Ser Leu Ser Ser  
 1 5

&lt;210&gt; 15

&lt;211&gt; 7

&lt;212&gt; БЕЛОК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Синтетическая последовательность

&lt;400&gt; 15

Leu Ala Ser Ser Leu Ser Ser  
 1 5

&lt;210&gt; 16

&lt;211&gt; 443

&lt;212&gt; БЕЛОК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Синтетическая последовательность

&lt;400&gt; 16

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu  
 1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Pro Tyr  
 20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Asp Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

## 047294

Gly Glu Ile Asn Trp Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
 50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Leu Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
 65 70 75 80

Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
 85 90 95

Arg Ser Phe Asp Arg Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 100 105 110

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
 115 120 125

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
 130 135 140

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 145 150 155 160

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 165 170 175

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr  
 180 185 190

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 195 200 205

Arg Val Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys  
 210 215 220

Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro  
 225 230 235 240

Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr  
 245 250 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser  
 260 265 270

Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His  
 275 280 285

## 047294

Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile  
 290 295 300

Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn  
 305 310 315 320

Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys  
 325 330 335

Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu  
 340 345 350

Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe  
 355 360 365

Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu  
 370 375 380

Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr  
 385 390 395 400

Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg  
 405 410 415

Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His  
 420 425 430

Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys  
 435 440

<210> 17

<211> 112

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность

<400> 17

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu  
 1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Pro Tyr  
 20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Asp Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

## 047294

Gly Glu Ile Asn Trp Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Leu Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
65 70 75 80

Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
85 90 95

Arg Ser Phe Asp Arg Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
100 105 110

<210> 18

<211> 215

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность

<400> 18

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Asn  
20 25 30

Tyr Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
35 40 45

Ile Tyr Gly Val Ser Arg Arg Ala Phe Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ala Ser Leu  
85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala  
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser  
115 120 125

## 047294

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu  
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser  
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu  
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val  
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys  
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210 215

<210> 19

<211> 108

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность

<400> 19

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Asn  
20 25 30

Tyr Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
35 40 45

Ile Tyr Gly Val Ser Arg Arg Ala Phe Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ala Ser Leu  
85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys  
100 105

<210> 20  
 <211> 13  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая последовательность

<400> 20

Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Pro Tyr Tyr Trp Ser  
 1 5 10

<210> 21  
 <211> 9  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая последовательность

<400> 21

Glu Ile Asn Trp Ser Gly Asp Thr Asn  
 1 5

<210> 22  
 <211> 6  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая последовательность

<400> 22

Ala Arg Ser Phe Asp Arg  
 1 5

<210> 23  
 <211> 12  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая последовательность

<400> 23

Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Asn Tyr Phe Ala  
 1 5 10

<210> 24  
 <211> 8



<212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая последовательность

<400> 24

Tyr Gly Val Ser Arg Arg Ala Phe  
 1 5

<210> 25  
 <211> 9  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая последовательность

<400> 25

Gln Gln Tyr Gly Ala Ser Leu Ile Thr  
 1 5

<210> 26  
 <211> 11  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая последовательность

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (7)..(7)  
 <223> где T по остатку 7 фосфорилирован

<400> 26

Arg Thr Pro Ser Leu Pro Thr Pro Pro Thr Arg  
 1 5 10

<210> 27  
 <211> 757  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая последовательность

<400> 27

Ala Glu Pro Arg Gln Glu Phe Glu Val Met Glu Asp His Ala Gly Thr  
 1 5 10 15

047294

Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His Gln  
 20 25 30  
 Asp Gln Glu Gly Asp Thr Asp Ala Gly Leu Lys Glu Ser Pro Leu Gln  
 35 40 45  
 Thr Pro Thr Glu Asp Gly Ser Glu Glu Pro Gly Ser Glu Thr Ser Asp  
 50 55 60  
 Ala Lys Ser Thr Pro Thr Ala Glu Asp Val Thr Ala Pro Leu Val Asp  
 65 70 75 80  
 Glu Gly Ala Pro Gly Lys Gln Ala Ala Ala Gln Pro His Thr Glu Ile  
 85 90 95  
 Pro Glu Gly Thr Thr Ala Glu Glu Ala Gly Ile Gly Asp Thr Pro Ser  
 100 105 110  
 Leu Glu Asp Glu Ala Ala Gly His Val Thr Gln Glu Pro Glu Ser Gly  
 115 120 125  
 Lys Val Val Gln Glu Gly Phe Leu Arg Glu Pro Gly Pro Pro Gly Leu  
 130 135 140  
 Ser His Gln Leu Met Ser Gly Met Pro Gly Ala Pro Leu Leu Pro Glu  
 145 150 155 160  
 Gly Pro Arg Glu Ala Thr Arg Gln Pro Ser Gly Thr Gly Pro Glu Asp  
 165 170 175  
 Thr Glu Gly Gly Arg His Ala Pro Glu Leu Leu Lys His Gln Leu Leu  
 180 185 190  
 Gly Asp Leu His Gln Glu Gly Pro Pro Leu Lys Gly Ala Gly Gly Lys  
 195 200 205  
 Glu Arg Pro Gly Ser Lys Glu Glu Val Asp Glu Asp Arg Asp Val Asp  
 210 215 220  
 Glu Ser Ser Pro Gln Asp Ser Pro Pro Ser Lys Ala Ser Pro Ala Gln  
 225 230 235 240  
 Asp Gly Arg Pro Pro Gln Thr Ala Ala Arg Glu Ala Thr Ser Ile Pro  
 245 250 255

## 047294

Gly Phe Pro Ala Glu Gly Ala Ile Pro Leu Pro Val Asp Phe Leu Ser  
 260 265 270

Lys Val Ser Thr Glu Ile Pro Ala Ser Glu Pro Asp Gly Pro Ser Val  
 275 280 285

Gly Arg Ala Lys Gly Gln Asp Ala Pro Leu Glu Phe Thr Phe His Val  
 290 295 300

Glu Ile Thr Pro Asn Val Gln Lys Glu Gln Ala His Ser Glu Glu His  
 305 310 315 320

Leu Gly Arg Ala Ala Phe Pro Gly Ala Pro Gly Glu Gly Pro Glu Ala  
 325 330 335

Arg Gly Pro Ser Leu Gly Glu Asp Thr Lys Glu Ala Asp Leu Pro Glu  
 340 345 350

Pro Ser Glu Lys Gln Pro Ala Ala Ala Pro Arg Gly Lys Pro Val Ser  
 355 360 365

Arg Val Pro Gln Leu Lys Ala Arg Met Val Ser Lys Ser Lys Asp Gly  
 370 375 380

Thr Gly Ser Asp Asp Lys Lys Ala Lys Thr Ser Thr Arg Ser Ser Ala  
 385 390 395 400

Lys Thr Leu Lys Asn Arg Pro Cys Leu Ser Pro Lys His Pro Thr Pro  
 405 410 415

Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ile Gln Pro Ser Ser Pro Ala Val Cys Pro  
 420 425 430

Glu Pro Pro Ser Ser Pro Lys Tyr Val Ser Ser Val Thr Ser Arg Thr  
 435 440 445

Gly Ser Ser Gly Ala Lys Glu Met Lys Leu Lys Gly Ala Asp Gly Lys  
 450 455 460

Thr Lys Ile Ala Thr Pro Arg Gly Ala Ala Pro Pro Gly Gln Lys Gly  
 465 470 475 480

Gln Ala Asn Ala Thr Arg Ile Pro Ala Lys Thr Pro Pro Ala Pro Lys  
 485 490 495

047294

Thr Pro Pro Ser Ser Gly Glu Pro Pro Lys Ser Gly Asp Arg Ser Gly  
500 505 510

Tyr Ser Ser Pro Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser Arg Ser Arg Thr  
515 520 525

Pro Ser Leu Pro Thr Pro Pro Thr Arg Glu Pro Lys Lys Val Ala Val  
530 535 540

Val Arg Thr Pro Pro Lys Ser Pro Ser Ser Ala Lys Ser Arg Leu Gln  
545 550 555 560

Thr Ala Pro Val Pro Met Pro Asp Leu Lys Asn Val Lys Ser Lys Ile  
565 570 575

Gly Ser Thr Glu Asn Leu Lys His Gln Pro Gly Gly Gly Lys Val Gln  
580 585 590

Ile Ile Asn Lys Lys Leu Asp Leu Ser Asn Val Gln Ser Lys Cys Gly  
595 600 605

Ser Lys Asp Asn Ile Lys His Val Pro Gly Gly Gly Ser Val Gln Ile  
610 615 620

Val Tyr Lys Pro Val Asp Leu Ser Lys Val Thr Ser Lys Cys Gly Ser  
625 630 635 640

Leu Gly Asn Ile His His Lys Pro Gly Gly Gly Gln Val Glu Val Lys  
645 650 655

Ser Glu Lys Leu Asp Phe Lys Asp Arg Val Gln Ser Lys Ile Gly Ser  
660 665 670

Leu Asp Asn Ile Thr His Val Pro Gly Gly Gly Asn Lys Lys Ile Glu  
675 680 685

Thr His Lys Leu Thr Phe Arg Glu Asn Ala Lys Ala Lys Thr Asp His  
690 695 700

Gly Ala Glu Ile Val Tyr Lys Ser Pro Val Val Ser Gly Asp Thr Ser  
705 710 715 720

Pro Arg His Leu Ser Asn Val Ser Ser Thr Gly Ser Ile Asp Met Val  
725 730 735

Asp Ser Pro Gln Leu Ala Thr Leu Ala Asp Glu Val Ser Ala Ser Leu  
 740 745 750

Ala Lys Gln Gly Leu  
 755

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ обнаружения hTau-pT217 в образце пациента, включающий стадии:
  - приведения образца пациента в контакт с антителом, которое специфично связывает тау человека, фосфорилированный по треонину по остатку 217 SEQ ID NO: 1 ("hTau-pT217");
  - приведения образца пациента в контакт со вторым антителом, при этом указанное второе антитело связывается с эпитопной областью hTau-pT217, которая не перекрывается с антителом; и
  - обнаружения связывания указанного антитела с hTau-pT217, при этом второе антитело специфично связывает изоформы тау человека, экспрессируемые в ЦНС, и при этом второе антитело связывает эпитопную область тау человека, содержащую глутамин по остатку 124 и аланин по остатку 125 SEQ ID NO: 1.
2. Способ по п.1, дополнительно включающий стадию количественного определения hTau-pT217 в образце пациента.
3. Способ диагностики пациента как одного или более из: (i) страдающего нейродегенеративным заболеванием; (ii) подверженного риску нейродегенеративного заболевания; (iii) нуждающегося в лечении нейродегенеративного заболевания; или (iv) нуждающегося в неврологической визуализации, включающей стадии:
  - приведения образца пациента в контакт с антителом, которое специфично связывает hTau-p217;
  - приведения образца пациента в контакт со вторым антителом, при этом указанное второе антитело связывается с эпитопной областью hTau-pT217, которая не перекрывается с антителом;
  - обнаружения связывания между антителом и hTau-pT217 в образце пациента; и
  - диагностику пациента как одного из: (i) страдающего нейродегенеративным заболеванием; (ii) подверженного риску нейродегенеративного заболевания; (iii) нуждающегося в лечении нейродегенеративного заболевания; или (iv) нуждающегося в неврологической визуализации, если уровень hTau-pT217, обнаруживаемый в образце пациента, превышает референсный уровень, при этом второе антитело специфично связывает изоформы тау человека, экспрессируемые в ЦНС, и при этом второе антитело связывает эпитопную область тау человека, содержащую глутамин по остатку 124 и аланин по остатку 125 SEQ ID NO: 1.
4. Способ по п.3, дополнительно включающий стадию диагностики пациента как страдающего нейродегенеративным заболеванием, при этом нейродегенеративное заболевание представляет собой таупатию.
5. Способ по п.5, отличающийся тем, что указанная таупатия выбрана из группы, состоящей из болезни Альцгеймера (БА), прогрессирующего супрануклеарного паралича (PSP) и лобно-височной деменции (FTD).
6. Способ по любому из пп.1-6, отличающийся тем, что образец пациента представляет собой один из образца крови, плазмы, сыворотки или спинномозговой жидкости (CSF).
7. Способ по любому из пп.1-7, отличающийся тем, что одно из указанного антитела или второго антитела содержит обнаруживаемую метку, и указанная стадия обнаружения содержит обнаружение сигнала, обеспечиваемого обнаруживаемой меткой, при образовании комплекса, содержащего антитело, второе антитело и hTau-pT217.
8. Способ по любому из пп.1-8, отличающийся тем, что указанное антитело, которое специфично связывает hTau-pT217, содержит переменную область легкой цепи (LCVR) и переменную область тяжелой цепи (HCVR), причем LCVR содержит определяющие комплементарность участки (CDR) LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и HCVR содержит участки CDR HCDR1, HCDR2 и HCDR3, причем аминокислотные последовательности CDR выбраны из:
  - (a) LCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13; LCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14; LCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15; HCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10; HCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11; и HCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12; или
  - (b) LCDR1 имеет аминокислотную последовательность с, по меньшей мере, 95% гомологичностью

аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13, LCDR2 имеет аминокислотную последовательность с, по меньшей мере, 95% гомологичностью аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 14, LCDR3 имеет аминокислотную последовательность с, по меньшей мере, 95% гомологичностью аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 15, HCDR1 имеет аминокислотную последовательность с, по меньшей мере, 95% гомологичностью аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 10, HCDR2 имеет аминокислотную последовательность с, по меньшей мере, 95% гомологичностью аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 11, и HCDR3 имеет аминокислотную последовательность с, по меньшей мере, 95% гомологичностью аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12.

9. Способ по п.9, отличающийся тем, что LCVR и HCVR антитела выбраны из:

a. LCVR, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, и HCVR, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3;

b. LCVR, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, и HCVR, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6;

c. LCVR, имеющей аминокислотную последовательность с, по меньшей мере, 95% гомологичностью аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 5, и HCVR, имеющей аминокислотную последовательность с, по меньшей мере, 95% гомологичностью аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 3; и

d. LCVR, имеющей аминокислотную последовательность с, по меньшей мере, 95% гомологичностью аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 8, и HCVR, имеющей аминокислотную последовательность с, по меньшей мере, 95% гомологичностью аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 6.

10. Способ по п.6, отличающийся тем, что таупатия представляет собой болезнь Альцгеймера (БА).

11. Способ по п.7, отличающийся тем, что образец пациента представляет собой спинномозговую жидкость (CSF).

12. Способ по п.7, отличающийся тем, что образец пациента представляет собой плазму.

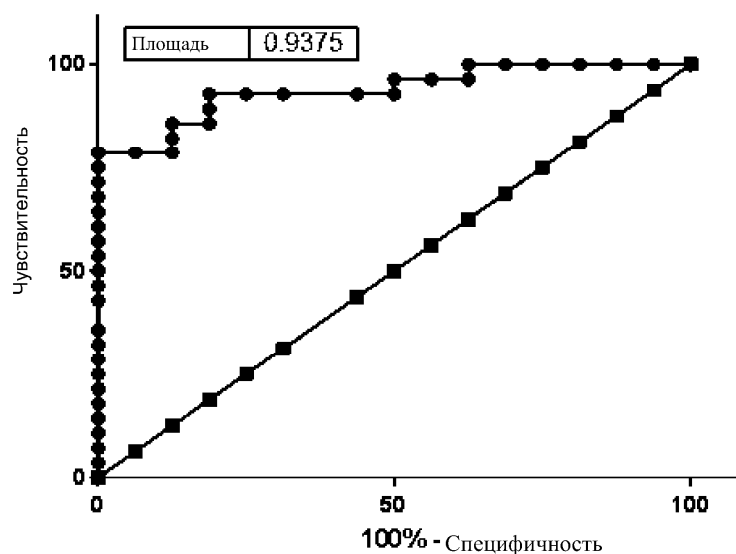
13. Способ по любому из пп.1-13, отличающийся тем, что одно из указанного антитела и второго антитела иммобилизовано на субстрате.

14. Способ по любому из пп.1-13, отличающийся тем, что указанные стадии приведения образца пациента в контакт с указанным антителом и приведения образца пациента в контакт со вторым антителом происходят одновременно.

15. Способ по п.8, отличающийся тем, что детектируемая метка представляет собой хемилюминесцентную или ферментативную метку.

16. Способ по п.3, дополнительно включающий стадию диагностики пациента как нуждающегося в нейрологической визуализации, причем нейрологическая визуализация представляет собой амивид или фтортауципир.

Кривая ROC для hTau-pT217 у AD, CU-A+ и CU-A-группы субъектов



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2