

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202192888 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.03.23

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

(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

(86) PCT/US2020/034274

(87) WO 2020/242963 2020.12.03

(71) Заявитель:
ЭЛИ ЛИЛЛИ ЭНД КОМПАНИ (US)

(72) Изобретатель:

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

(74) Представитель:

Парамонова К.В., Угрюмов В.М.,
Христофоров А.А., Гизатуллин Ш.Ф.,
Гизатуллина Е.М., Костюшенкова
М.Ю., Строкова О.В. (RU)

(57) В настоящем 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.

A1

202192888

202192888

A1

СОЕДИНЕНИЯ И СПОСОБЫ НАЦЕЛИВАНИЯ НА ТАУ ЧЕЛОВЕКА

Настоящее изобретение относится к области медицины. Более конкретно, настоящее изобретение относится к соединениям, фармацевтическим композициям, 5 диагностическим средствам и способам, которые включают антитело или его фрагмент, направленные против тау человека. Ожидается, что соединения и способы согласно настоящему 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 10 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 аберрантном образовании и агрегации 15 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. 20 примерно 1 из 10) страдают БА, и еще 200 000 американцев моложе 65 лет страдают БА. Ассоциация болезни Альцгеймера также отмечает ожидаемое увеличение числа 25 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 30 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 35 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

5 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

10 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

15 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

20 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 фтортауципир и/или амивид.

Соответственно, в одном из вариантов реализации в настоящем изобретении предложены антитела и их фармацевтические композиции, направленные против тау

25 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

30 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

35 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 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, причем

5 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

10 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

15 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

20 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

25 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:

30 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 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, 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.

- 5 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.

- 10 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
15 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
20 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
25 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.

- 30 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)

- 5 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
10 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
15 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
20 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
30 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
35 настоящему раскрытию стадия 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.

5 В настоящем документе «антитело» представляет собой молекулу иммуноглобулина, содержащую 2 HC и 2 LC, связанные дисульфидными связями. Аминоконцевая часть каждой LC и HC содержит вариабельную 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 25 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, 30 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 35 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 человека 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 композицию, 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*, 22nd 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, внутрибрюшинным, 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/).

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 тераностики субъекта, выполняемым медицинским работником с использованием раскрытых в настоящем документе способов. Способы, описанные в настоящем документе, может, например, осуществлять индивидуум, 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-pT217 с 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 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.

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

5 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

10 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;

15 примеры подходящих комплексов простетических групп включают стрептавидин/биотин и авидин/биотин; примеры подходящих флуоресцентных материалов включают умбеллиферон, флуоресцеин, флуоресцеин изотиоцианат, родамин, дихлороназиниламин флуоресцеин (dichlorotnazinylamine fluorescein), дансилхлорид или фикоэритрин; пример люминесцентного материала включает люминол; примеры биолюминесцентных

20 материалов включают люциферазу, люциферин, рутений и экворин, и примеры подходящего радиоактивного материала включают ^{125}I , ^{131}I , ^{35}S или ^3H . 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

25 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

30 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

35 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 иммобилизовано. В некоторых вариантах реализации детектирующее антитело мечено обнаруживаемой меткой. В некоторых вариантах реализации захватывающее антитело иммобилизовано в «сэндвич»-иммуноанализе, и захватывающее или первое антитело специфично связывает эпитопную 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

5 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 гибридами, 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 гибридами (и/или субклонами), очищают в соответствии с обычными процедурами, такими как, например, аффинная хроматография (например, белок А или белок G-сефароза) или ионообменная хроматография, гидроксилапатитовая 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 А»), 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 млекопитающих. Например, клон может быть преобразован в химерное антитело IgG мыши, такое как приведенное в качестве примера химерное антитело против hTau-pT217 переменной области кролика, константной области IgG мыши («mAb B»), имеющее переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 6 и тяжелую цепь SEQ ID NO: 7 и переменную 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 синтетаза). 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 высоко консервативных сайтах 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 секретируется 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 связывающих 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 °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.

- 5 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 гибридной клетки (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pp.59-103 (Academic Press, 1986)). Гибридомы могут быть засеяны и выращены в подходящей
- 10 культуральной среде (предпочтительно содержащей одно или более веществ, ингибирующих выживание неслитых миеломных клеток). Затем определяют специфичность связывания моноклональных антител, продуцируемых гибридами, с помощью анализа связывания *in vitro* (например, иммунопреципитации, радиоиммуноанализа (РИА) или твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA))
- 15 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
- 20 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)).
- 25 Моноклональные антитела, секретируемые гибридами (и/или субклонами), могут быть очищены в соответствии с обычными процедурами, такими как, например, аффинная хроматография (например, белок А или белок G-сефароза) или ионообменная хроматография, гидроксилапатитовая хроматография, гель-электрофорез, диализ или тому подобное.
- 30 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
- 35 легкую цепь SEQ ID NO: 18. Определяющие комплементарность участки (CDR) или

вариабельные 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.

5

Кинетика связывания и аффинность

Анализ интерферометрии биослоя (BLI), измеренный 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), 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} , $M^{-1}s^{-1}$ ед.) и скорости диссоциации (k_{off} , s^{-1} ед.). Константа равновесной диссоциации (K_D) рассчитывается из соотношения $K_D = k_{off}/k_{on}$, и выражается в молярных единицах. Результаты представлены в таблице 1.

30

Таблица 1: Данные связывания BLI с рекомбинантным hTau-pT217.

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

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

5 **Специфичность связывания с hTau-pT217**

Специфичность представленных в качестве примеров антител согласно настоящему изобретению, которые специфично связывают hTau-pT217 (mAb A и mAb B), 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 A и mAb B, 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 таблице 2.

20 **Таблица 2: Данные BLI по связыванию mAb A и mAb B с рекомбинантным hTau с pT217 и без него.**

Пример антитела	фосфорилированный треонин (нМ ед)	нефосфорилированный треонин (нМ ед)
mAb A	4,4178	-0,0024
mAb B	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 A, либо mAb B используют в качестве захватывающего антитела и биотинилируют. Второе антитело SULFO-TAG, такое как mAb C (антитело согласно настоящему изобретению, которое специфично связывает изоформы тау человека, экспрессируемые в ЦНС), используют в качестве детектирующего антитела. Антитела конъюгируют с сульфo-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 5 мокром льду, кратковременно встряхивают, и плазму разбавляют 1:4 в буфере для образцов: для mAb A (фосфатно-солевой буфер (PBS), 0,5% бычий сывороточный альбумин (BSA), 0,5% Tween20, 5 mM EDTA, 5 mM EGTA); для mAb 2 50 mM HEPES, 300 mM NaCl, 5 mM EDTA, 5 mM EGTA, 1% Triton X-100, 1% MSD Blocker A, 2% PEG) с добавлением Гетерофильного блокирующего реагента 1 до концентрации 200 мкг/мл 10 (Scantibodies Inc, каталожный номер: 3KC533). 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 15 шейкере для планшето. 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 планшето с hTau-pT217, и инкубируют в течение 1 часа при комнатной температуре при 650 об/мин встряхивании на шейкере для планшето.

20 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 планшето. Затем планшеты трижды промывают 200 мкл промывочного буфера, и добавляют 25 мкл SULFO-меченного детектирующего антитела (mAb C) в концентрации 25 0,25 мкг/мл (разбавленного в MSD Diluent 35, плюс 2% PEG для mAb 2) для планшето с hTau-pT217, и инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре при 650 об/мин встряхивании на шейкере для планшето. Планшеты в последний раз промывают 200 мкл промывочного буфера и 150 мкл буфера для считывания 2X MSD Read Buffer T с 30 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 таблице 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-pT271 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 восемьдесят четыре участника прошли ^{18}F -Позитронно-эмиссионную томографию (ПЭТ) с фтортауципиром. Поглощение ^{18}F -Фтортауципира 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 CU как иммуноанализ hTau-pT217, так и иммуноанализ hTau-pT181 коррелируют с ^{18}F -Фтортауципир при I-II стадии по Braak; у пациентов с БА как иммуноанализ hTau-pT217, так и иммуноанализ hTau-pT181 коррелируют в областях на стадиях III-IV и V-VI по Брааку; у пациентов с MCI hTau-pT217 коррелирует с ^{18}F -Фтортауципир в областях I-II, на стадиях по Braak III-IV и V-VI, тогда как hTau-pT181 коррелирует только в области на стадии I-II по Braak. Важно отметить, что корреляции между региональными ^{18}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 ^{18}F -Фтортауципир во всех трех диагностических группах (CU, MCI и БА) и во всех областях (стадии по Braak 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 ^{18}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 ^{18}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 нейрологической визуализацией ^{18}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 $p = 0,49$ 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 $p = 0,41$, 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 $p = 0,70$, 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 таблице 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

5 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

10 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

15 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 таблице 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.

5

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.

10 **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 таблице 6.

15

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 таблице 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 таблицах 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 1.

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.

- 5 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,
 10 имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6.
5. 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 с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 5, и HCVR, имеющей
 15 аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 3; и
 - b. LCVR, имеющей аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 8, и HCVR, имеющей
 20 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.
- 25 8. Антитело по любому из вариантов реализации 1-7, отличающееся тем, что указанное антитело содержит легкую kappa-цепь.
9. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело по любому из вариантов реализации 1-8 и один или более фармацевтически приемлемых носителей, разбавителей или вспомогательных веществ.
- 30 10. Антитело, которое специфично связывает изоформы tau человека, экспрессируемые в ЦНС.
11. Антитело по варианту реализации 10, отличающееся тем, что указанное антитело связывает эпитопную область tau человека, содержащую глутамин по остатку 124 и аланин по остатку 125 SEQ ID NO: 1.

12. 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,

5 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 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,

15 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 переменную область легкой цепи (LCVR), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и переменную область тяжелой цепи (HCVR), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19.

15. Антитело по вариантам реализации 12 или 13, содержащее переменную область легкой цепи (LCVR), имеющую аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологией с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 17, и переменную 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.
- 5 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
- 10 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.
- 15 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
- 20 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.
- 25 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.
- 30 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
- 35 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
5 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.
- 10 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.
- 15 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,
20 при этом указанное второе антитело связывается с эпитопной 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
25 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
30 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

5 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
10 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
15 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
20 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
25 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
30 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
35 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 TDAGLKESPLQTP TEDGSE
 20 EPGSETSDAKSTPTAEDVTAPLVDEGAPGKQAAAQPHTEIPEGTTAEEAGIGDTPSLEDE
 AAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGADGKTKIATPRGAAPPGQKQGQANATRIPAK
 TPPAPKTPPSSGEPPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSRSRTPSLPTPPTREP KKVAVVRTPPKSP
 SSAKSRLQTAPVMPDLKNVSKSIGSTENLKHQPGGGKVQIINKKLDLSNVQSKCGSKD
 NIKHVPGGGSVQIVYKPV DLSKVTSKCGSLGNIHHKPGGGQVEVKSEKLD FKDRVQSKI
 25 GSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTFRENAKAKTDHGAEIVYKSPVVS GDTSPRHLSNV SST
 GSIDMV D SPQLATLADEV SASLAKQGL

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

30 QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGLSPSWYGVHWVRQAPGKGLEWIGVLRAGSHTYY
 AGWAKGRFAISKSTTTVALKITSPTTEDTAIYFCGSVGRGIWGPGLTVTVSLGQPKAPSV
 FPLAPCCGDTSPSTVTLGCLVKGYLPEPVTVTWNSGTLTNGVVRTFPSVRQSSGLYSLSSV
 VSVTSSSQPVTCNV AHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPPELLGGPSVFIFPPKPKDTLMI
 SRTPEVTCVVVDVSQDDPEVQFTWYINNEQVRTARPLREQQFNSTIRVVSTLPIAHQD
 35 WLRGKEFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPKVYTMGPPREELSSRSVSLTCMINGF
 YPSDISVEWEKNGKAEDNYKTTPAVLDS DGSYFLYSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHE
 ALHNHYTQKSISRSPGK

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

QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGLSPSWYGVHWVRQAPGKGLEWIGVLRAGSHTYY
AGWAKGRFAISKSTTTVALKITSPTTEDTAIYFCGSVGRGIWGPGLTVTVSL

5

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

AQVLTQTASPVSATVGGTVTINCQASLAVYNNNNYLAWYQQKPGQPPKRLIYLASSLSSG
VSSHFKGSGSGTQFTLTISDVQADDAATYFCQGSYDCTIADCVAFGGGTEVVVKGDPVA
10 PTVLIFPPAADQVATGTVTIVCVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTTGIENSKTPQNSADNT
YNLSSTLTLTSTQYNHKEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC

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

15 AQVLTQTASPVSATVGGTVTINCQASLAVYNNNNYLAWYQQKPGQPPKRLIYLASSLSSG
VSSHFKGSGSGTQFTLTISDVQADDAATYFCQGSYDCTIADCVAFGGGTEVVVK

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

20 QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGLSPSWYGVHWVRQAPGKGLEWIGVLRAGSHTYY
AGWAKGRFAISKSTTTVALKITSPTTEDTAIYFCGSVGRGIWGPGLTVTVSL

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

25 QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGLSPSWYGVHWVRQAPGKGLEWIGVLRAGSHTYY
AGWAKGRFAISKSTTTVALKITSPTTEDTAIYFCGSVGRGIWGPGLTVTVSLAKTTPPSV
YPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS
VTVPSSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVL
TITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQ
30 DWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMIT
DFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLVQKSNWEAGNTFTCSVL
HEGLHNHHTTEKSLSHSPGK

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

35 AQVLTQTASPVSATVGGTVTINCQASLAVYNNNNYLAWYQQKPGQPPKRLIYLASSLSSG
VSSHFKGSGSGTQFTLTISDVQADDAATYFCQGSYDCTIADCVAFGGGTEVVVK

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

40

AQVLTQTASPVSATVGGTVTINCQASLAVYNNNYLAWYQQKPGQPPKRLIYLASSLSSG
 VSSHFKGSGSGTQFTLTISDVQADDAATYFCQGSYDCTIADCVAFGGGTEVVVKRADA
 APTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDS
 TYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRECE

5

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

GLSPSWYGVH

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

10 VLRAGSHTYYAGWAKG

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

VGRGI

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

QASLAVYNNNYLA

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

LASSLSS

20

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

LASSLSS

SEQ ID NO: 16 (HC приведенного в качестве примера антитела, связывающего

25 тау человека, экспрессируемый только в ЦНС)

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSPYYWSWIRQPPDKGLEWIGEINWSGDTN
 YNPSLKSRTVISLDTSKNQFSLNLSSVTAADTAVYYCARSFDRWGQGTLVTVSSASTKG
 PSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFI
 30 FPPKIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFWNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRV
 VSALPIQHWDMSGKEFKCKVNNKDLPAIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKK
 QVTLCMVTDFTMPEDYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWV
 ERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK

35 **SEQ ID NO: 17** (HCVR приведенного в качестве примера антитела,
 связывающего тау человека, экспрессируемый только в ЦНС)

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSPYYWSWIRQPPDKGLEWIGEINWSGDTN
 YNPSLKSRTVISLDTSKNQFSLNLSSVTAADTAVYYCARSFDRWGQGTLVTVSS

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

5 EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVRSNYFAWYQQKPGQAPRLLIYGVSRRAFGIP
DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGASLITFGQGTRLEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTL
TLISKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

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

10 EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVRSNYFAWYQQKPGQAPRLLIYGVSRRAFGIP
DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGASLITFGQGTRLEIK

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

15 AVYGGSFSPYYWS

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

20 EINWSGDTN

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

ARSFDR

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

RASQSVRSNYFA

30 **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)

35 QQYGASLIT

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

RTPSLPTPPTR

где Т у остатка 7 фосфорилирован

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

AEPRQEFVMEHDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKESPLQT
 5 PTEDGSEEPGSETSDAKSTPTAEDVTAPLVDEGAPGKQAAAQPHTEIPE
 GTTAAEEAGIGDTPSLEDEAAGHVVTQEPESGKVVQEGFLREPGPP
 GLSHQLMSGMPGAPLLPEGPREATRQP SGTGPEDTEGGRHAPELLKHQ
 LLGDLHQEGPPLKGAGGKE RPGSKEEVDEDRDVDESSPQ DSPPSKASPA
 QDGRPPQTAAREATSIPGFPAEGAIPLPVDFLSKVSTEIPASEPDGPSVG
 10 RAKGQDAPLEFTFHVEITPNVQKEQAHSEEH LGRAAFPGAPGEGPEARQP
 SLGEDTKEAD LPEPSEKQPAAPRGKPVSRVPQLKARMVS KSKDGTGSDD
 KKAKTSTRSSAKTLKNRPCLSPKHPTPGSSDPLIQSSPAVCPEPPSSPKYVSSVT SRTG
 SSGAKEMKLKGADGKTKIAT PRGAAPPGQKQGQANATRIPAKTPP
 APKTPPSSGEPPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSRSRTP SLPTPPTREP
 15 KKVAVVRTPPKSPSSAKSRLQTAPVPMPLKKNVSKIGSTENLKHQPGGG
 KVQIINKKLDLSNVQSKCGSKDNIKHVPGGGSVQIVYKPVDSLKVTSKC
 GSLGNIHHKPG GGQVEVKSEKLDKDRVQSKIGSLDNITHVPGGG NKKIETHKLTFR
 ENAKAKTDHGAEIVYKSPVVS GDT
 SPRHLSNVSSSTGSIDMVDSPQLATLADEV SASLAKQGL
 20

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-
 5 pT217”); и
 обнаружения связывания указанного антитела с hTau-pT217.

2. Способ по п. 1, дополнительно включающий стадию количественного определения
 hTau-pT217 в образце пациента.
 10

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:
 15 приведения образца пациента в контакт с антителом, которое специфично
 связывает hTau-p217; и
 обнаружения связывания между антителом и hTau-pT217 в образце пациента.

4. Способ по п. 3, дополнительно включающий стадию диагностики пациента как одного
 20 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.
 25

5. Способ по п. 3, дополнительно включающий стадию диагностики пациента как
 страдающего нейродегенеративным заболеванием, при этом нейродегенеративное
 заболевание представляет собой таупатию.

- 30 6. 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).

7. Способ по любому из пп. 5-6, дополнительно включающий стадию введения пациенту
 35 терапевтически эффективного количества антитела против тау человека.

8. Способ по любому из пп. 1-7, отличающийся тем, что образец пациента представляет собой один из образца крови, плазмы, сыворотки или спинномозговой жидкости (CSF).
- 5 9. Способ по любому из пп. 1 и 8, дополнительно включающий стадию приведения образца пациента в контакт со вторым антителом, причем указанное второе антитело связывается с эпитопной областью hTau-pT217, которая не перекрывается с антителом.
- 10 10. Способ по п. 9, отличающийся тем, что указанное второе антитело специфично связывает изоформы тау человека, экспрессируемые в ЦНС.
- 11 11. Способ по п. 10, отличающийся тем, что указанное второе антитело связывает эпитопную область тау человека, содержащую глутамин по остатку 124 и аланин по остатку 125 SEQ ID NO: 1.
- 15 12. Способ по любому из пп. 9-11, 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.
- 20 13. Способ по любому из пп. 1-12, 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
- 35

- 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
- 5 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.
- 10
14. Способ по п. 13, 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;
- 15 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
- 20 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.

Фиг. 1. Кривая ROC для hTau-pT217 у AD, CU-A+ и CU-A-группы субъектов

