

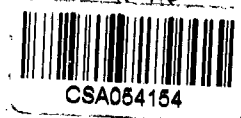


Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

Organización CSA Ltda

Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones



OK
RGT



PCT

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

09-127790

21. EXPEDIENTE No

54. TÍTULO

PREVENCION Y TRATAMIENTO DE ANGIOPATIA AMILOIDE
CEREBRAL

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

71. SOLICITANTE

JANSSEN ALZHEIMER IMMUNOTHERAPY y WYETH

DOMICILIO

COUNTRY CORK, REPUBLICA DE IRLANDA y MADISON, NEW JERSEY,
ESTADOS UNIDOS DE AMERICA, respectivamente

74. APODERADO

LUZ CLEMENCIA DE PAEZ
C.C. 35.456.344 de Usaquén

22. BOGOTÁ, D.C.,

1/2

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-127790- -00000-0000

Fecha: 2009-11-10 17:02:02 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 242

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCIÓN
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

SOLICITUD DE:

- 1

☒ Patente de Invención.
☒ Capítulo I.
- ☐ Patente de Modelo de Utilidad.
☐ Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: JANSSEN ALZHEIMER
IMMUNOTHERAPY y WYETH LLC.
sociedades constituidas y existentes bajo
las leyes de la República de Irlanda y el
Estado de Delaware, Estados Unidos de
América, respectivamente.

Dirección: Little Island Industrial Estate,
Little Island, Country Cork,
República de Irlanda

Y

Five Giralda Farms,
Madison, New Jersey 07940,
Estados Unidos de América

Domicilio: Country Cork,
República de Irlanda

Y

Madison,
New Jersey 07940,
Estados Unidos de América

Respectivamente

(Folio 50 y ss.)

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐
Cual _____
Número _____

3

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: LUZ CLEMENCIA DE PÁEZ
Dirección: Carrera 4ª. No. 72-35
Teléfono: 347 36 11
Fax: 211 86 50
E-mail: clientes@cavelier.com
Domicilio: Bogotá, Colombia.

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐
Cual _____
Número 35.456.344 T. P. 23.555

4

INVENTOR (ES)
(72)

1. Sally SCHROETER
1111 Notre Dame Avenue,
Belmont,
California 94002,
Estados Unidos de América

2. Kate Dora GAMES
503 Alameda de las Pulgas,
Belmont,
California 94002,
Estados Unidos de América

5

PCT (86)
Solicitud Internacional No. PCT/US2008/060926 Fecha: 18 de abril de 2006
Publicación Internacional No. WO 2008/131298 A3 Fecha: 30 de octubre de 2008

6

Título (54)
PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE ANGIOPATÍA AMILOIDE CEREBRAL

7

Clasificación Internacional (51) A61K 039/000

8	Prioridad SI ☒ NO ☐	(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
		US	18 de abril de 2007	60/925,228

9 **Comprobante de pago No.:** 09-80,212 y 09-80,214 **Fecha:** 26 de octubre de 2009
09-75,151 y 09-75,154 5 de octubre de 2009
09-80,210 26 de octubre de 2009

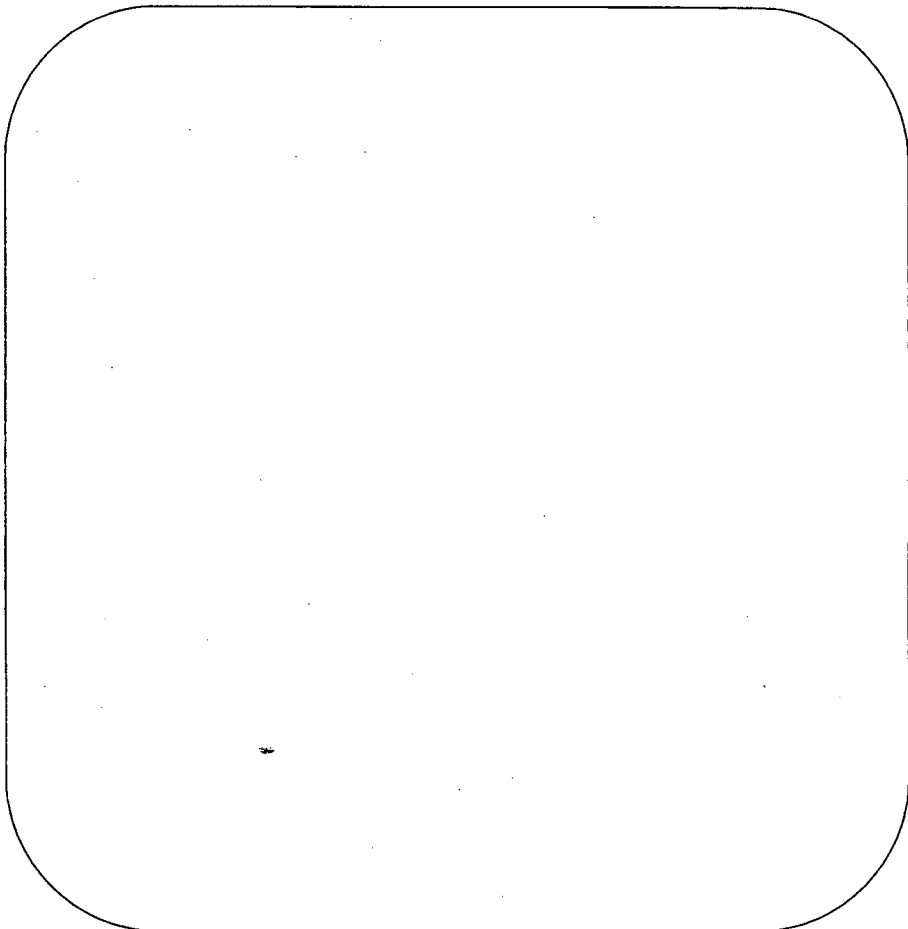
10 **Anexos:**

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 540.000.oo.
- ☒ Comprobante de pago por 91 reivindicaciones adicionales después de la decimoquinta reivindicación por \$2.275.000.oo.
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poderes, si fuere el caso de la Sociedad **WYETH**.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☐ Arte final 12x12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☒ Otros: VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS

3

11

FIGURA CARACTERÍSTICA



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: LUZ CLEMENCIA DE PÁEZ

FIRMA : Luz Clemencia de Páez
C.C. 35.456.344 de Usaquén T.P. 23.555

JGG

4

DOCUMENTOS ANEXOS

1. ☒ Publicación Internacional WO 2008/131298 A3

Descripción:

Páginas 69 en el idioma original

Páginas 112 en español

Reivindicaciones: Número (s) 106

Figuras: Número (s) 6

2. ☒ **Forma PCT/ISA/210.** Informe de Búsqueda Internacional.

3. ☒ Extracto de publicación.

**NO SE REALIZARON MODIFICACIONES EN LA
FASE INTERNACIONAL**

13665
534 A9

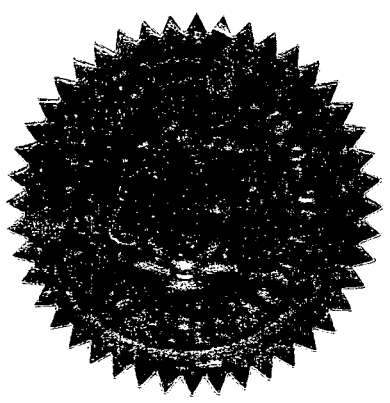
APOSTILLE

(CONVENTION DE LA HAYE DU 5 OCTOBRE 1961)

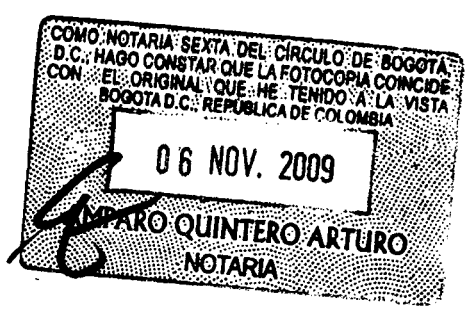
- 1. COUNTRY: UNITED STATES OF AMERICA
- 2. THIS PUBLIC DOCUMENT HAS BEEN SIGNED BY:
MICHELLE L KALBFELL
- 3. ACTING IN THE CAPACITY OF:
NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY
- 4. BEARS THE SEAL/STAMP OF:
MICHELLE L KALBFELL, NOTARY

CERTIFIED

- 5. AT TRENTON, NEW JERSEY
- 6. THE 27TH DAY OF SEPTEMBER 2005
- 7. BY: John E McCormac, CPA, NEW JERSEY TREASURER
- 8. NO. A239925
- 9. SEAL/STAMP:
- 10. SIGNATURE



John E McCormac



ABOGADOS
EDIFICIO SISKI
CARRERA 4a N° 72-35
BOGOTA, 8 - COLOMBIA

REPRESENTACION, RATIFICACION Y
PODER

REPRESENTATION, RATIFICATION AND
POWER- OF- ATTORNEY

Yo (nosotros), abajo firmado (s)/I (we), the undersigned

WYETH

domiciliado (s) en/of 5 Giralda Farms, Madison, NJ
07940

ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

por el presente ratificamos la Solicitud de patente No

084.045

presentada por Emilio Ferrero

como agente oficioso ante La Superintendencia de
Industria y Comercio

Bogota, Colombia

el 24 de Agosto de 2005

por el presente nombramos a EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 y GERMAN CAVELIER, tpa. 832, domiciliados en la Carrera 4a N° 72-35, Bogotá, Colombia, en obediencia a lo dispuesto en el párrafo 1o del Artículo 543 del Código de Comercio, el primero como principal y los demás como suplentes, en su orden, como mis (nuestros) representantes en todos los asuntos de propiedad industrial con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales. El primer representante suplente reemplazará al principal en caso de ausencia o impedimento temporal o definitivo de La misma regla se aplicará cuando el segundo representante suplente haya de reemplazar al primero, o el tercero al segundo. En tales casos, el representante principal, o el primero, o segundo suplente, en su caso, o ambos, declararán su intención de no ejercer la representación mediante declaración autenticada por Notario Público en Colombia, o por Notario u otro Funcionario Público, o Cónsul de Colombia, en el extranjero; y si se tratare de impedimento, con el certificado respectivo. Si alguno de los nombrados faltare definitivamente, el siguiente tomará su lugar. Cuando cesare la ausencia o impedimento del representante principal, o de su primero o segundo suplentes, en su caso, podrán ejercer la representación, en su orden, uno u otros según el caso, asumiéndola por el solo hecho de ejercerla, cesando en ese momento el ejercicio de la representación por el primero, segundo o tercer suplente en su caso.

Además, confiero (conferimos) poder a los abogados arriba nombrados, para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y contra la competencia desleal, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso- administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de patentes de invención, modelos de utilidad y diseños industriales; el registro de marcas de fábrica, colectivas, defensivas, de servicio, lemas comerciales, nombres

hereby ratify the Colombian Patent Application No.
05.084.045

filed without a Power of Attorney by Emilio Ferrero

before The Superintendence of Industry and
Commerce

in Bogotá, Colombia

on August 24, 2005

in due compliance with the terms of paragraph 1st. of article 543 of the Commercial Code, do hereby appoint EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 and GERMAN CAVELIER, tpa. 832, domiciled at Carrera 4a N° 72-35, Bogotá, Colombia, the first as principal and the others as alternates, in the order of their appointment, as our representatives for the above identified Patent Application. The first alternate shall replace the principal in case of his absence or of temporal or definitive impediment. The same rule will apply when the second alternate representative is to replace the first one, or when the third is to replace the first or second alternates in their turn, or both of them, second. In such cases, the principal representative, or the first or second alternates in their turn, or both of them, shall state their intention not to act as representatives through a declaration given before a Notary Public in Colombia, or before a Notary or another Public Official or a Colombian Consul abroad; and in case of impediment, the appropriate certificate shall suffice. If any of the appointees were to be definitely absent, the following alternate shall take his place. When the absence or impediment of the principal representative, or of the first or second alternate in their turn ceases, the representation can be taken again in the first or second alternate depending on the original that he holds to the view.

The exercise of the representation by the first, second or third alternates in their turn shall end at such time. In addition, we grant a Power of Attorney in the above named attorneys-at-law so that they may obtain protection of the above identified industrial property, for which I (we) authorize the said attorneys to represent me (us) before any authorities or persons, with or without jurisdiction, specially those administrative, administrative contentious and judicial, as well as before Arbitration Court, in all matters concerning the obtainment of a patent(s), utility model(s) and industrial design(s); its renewal, assignment, change of name or domicile, voluntary cancellation; the registration of licenses of use of the above rights; any opposition(s) thereto or observations, administrative or Court cancellation or nullity

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTÁ
D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA CONCIDE
CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTÁ, D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA

06 NOV 2009

PAOLO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

comerciales, enseñanzas, nombres de dominio, variedades vegetales y denominaciones de origen; su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos; b) Las acciones de competencia desleal, protección del consumidor, oposiciones u observaciones, cancelación administrativa y judicial, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias, la tutela, la protección de secretos industriales, y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso-administrativos relacionados con estos derechos; acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan. Y para que en todos los asuntos arriba determinados, puedan sustituir este mandato, transigir, conciliar, admitir los hechos del proceso, desistir, cancelar, recibir, renunciar, y ratificar los actos de agentes oficiosos.

actions brought against the above identified industrial property right. And that in all the above matters they may compromise, conciliate, admit the facts of the case, desist, cancel, receive, resign, and ratify acts done by representatives without a power of attorney.

The English language content of this Representation, Ratification and Power of Attorney is the controlling language in the case of any conflict.

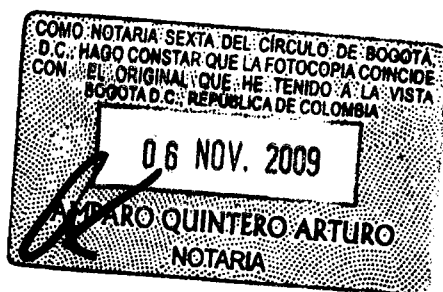
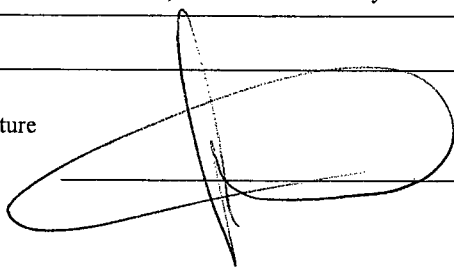
Dado y firmado hoy/Given and signed this

September 20, 2005

en/in Madison, New Jersey, United States of America

por/by Gale F. Matthews, Assistant Secretary

Firma/Signature



CERTIFICACIÓN NOTARIAL (SOCIEDAD)

A los 20 días del mes de Septiembre de 2005 compareció(eron) ante mí, Gale F. Matthews

Quien(es) conozco personalmente y que firma(n) este documento en representación de la Sociedad/compañía denominada WYETH

Certifico:

1. Que he visto los siguientes documentos: *
Actas de la Junta Directiva fechado 21 Abril 2005
2. Que dichos documentos prueban lo siguiente:
2.1. Que WYETH

es una Sociedad/Compañía legalmente constituida y existente de acuerdo con las leyes de Estado de Delaware, Estados Unidos de América

2.2. Que el domicilio de dicha Sociedad/Compañía es 5 Giralda Farms, Madison, N J 07940, Estados Unidos de America

2.4. Que el(los) Sr.(Sres.) Gale F. Matthews

está(n) autorizado(s) para otorgar el presente Poder. Ciudad Madison Estado New Jersey Hoy 20 Septiembre de 2005

NOTARIAL CERTIFICATION (CORPORATION)

On this 20th day of September 2005 appeared before me Gale F. Matthews

who(m) I know personally and who(m) signed this document as representative(s) of the Corporation/Company named WYETH

I certify:

1. That I have seen the following documents: *
Board of Director's minutes dated April 21, 2005.
2. That the above documents duly prove the following:
2.1. That WYETH

is a Corporation/Company legally constituted and in existence in accordance with the laws State of Delaware, United States Of America

2.2. That the principal office of said Corporation/Company is 5 Giralda Farms, Madison, N J 07940, United States Of America

2.4. That Mr.(Messrs.) Mrs. Gale F. Matthews

is(are) authorized to grant the present Power of Attorney City Madison State New Jersey This 20th day of September 2005

--- NOTARIO PÚBLICO O FUNCIONARIO AUTORIZADO --- NOTARY PUBLIC OR ATTESTING OFFICIAL ---

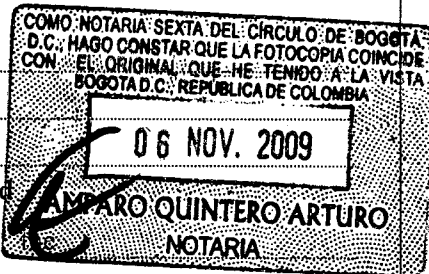
* Los documentos que certifican la existencia de la compañía deben identificarse con fecha y origen

* The documents that certify the existence of the company must be identified with date and origin

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: This public document
2. has been signed by:
3. acting in the capacity of:
4. bears the seal/stamp of:
5. at:
6. Certified:
7. by:
8. No.:
9. Seal/stamp
10. Signature



MICHELLE L. KALBFELL
NOTARY PUBLIC, State of New Jersey
No. 2108903
Qualified in Morris County
Commission Expires Oct. 25, 2005

1

TRADUCCIÓN OFICIAL No. 14.12/05 preparada por María Elvira Martelo, traductora oficial aprobada por el Ministerio de Justicia mediante Resolución No. 2879 de 1995 y reconocida por el Ministerio de Relaciones Exteriores.

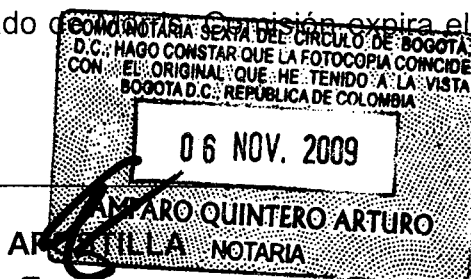
A continuación se traducen los sellos y legalizaciones de un documento escrito en inglés y español, por el cual **WYETH**, sociedad domiciliada en 5 Giralda Farms, Madison, NJ 07940, Estados Unidos de América, ratifica la solicitud de patente No. 05.084.045 presentada por Emilio Ferrero el 24 de agosto de 2005 y también otorga poder a **EMILIO FERRERO, GONZALO PERDOMO, LUZ CLEMENCIA DE PAEZ Y GERMAN CAVELIER**.

Dado y firmado el 20 septiembre de 2005
en Madison, New Jersey, Estados Unidos de América
Por Gale F. Matthews, Secretario Asistente
Firma: (Firma ilegible)

CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD) en inglés y español referente a la existencia legal de **WYETH** y de la capacidad legal de Gale F. Matthews para otorgar el documento anterior.

Dado en la ciudad de Madison, Estado de New Jersey, el 20 de septiembre de 2005.
Firma ilegible

(Sello notarial), MICHELLE L. KALBFELL, NOTARIO PÚBLICO, Estado de New Jersey.
No. 2108903, Calificada en el Condado de Bergen, Nueva Jersey, Comisión expira el 25 de octubre de 2005.



(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. PAÍS: ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA
2. ESTE DOCUMENTO PÚBLICO HA SIDO FIRMADO POR:
MICHELLE L. KALBFELL

10

3. ACTUANDO EN SU CAPACIDAD DE:

NOTARIO PÚBLICO DE NEW JERSEY

4. LLEVA EL SELLO/TIMBRE DE

MICHELLE L. KALBFELL, NOTARIO

CERTIFICADO

5. EN TRENTON, NEW JERSEY

6. EL 27 DE SEPTIEMBRE DE 2005

7. POR John E McCormac, CPC, TESORERO DE NEW JERSEY

8. No. A239925

9. SELLO: SELLO DEL (ILEGIBLE), ESTADO DE NEW JERSEY

10. FIRMA (FIRMA ILEGIBLE)

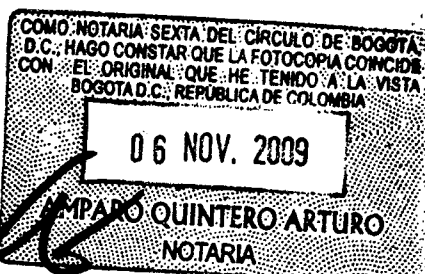
Es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en esta oficina para su confrontación.

COLO 13798-841-003-1

WPC 13798 - ID 26

DIC 20/05

Maria E. Martelo
TRADUCCION No.: 1412/05
MARIA ELVIRA MARTELO
Traductora e Interprete Oficial
Inglés - Español - Inglés
Res. No. 2879 Min. Justicia



NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2005 DEC 21 A 11:04

UCA
JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

351871
Nancy Danilo

CUYA FIRMA APARECE EN EL

DOCUMENTO DESEMPEÑA

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA
D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE
CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
06 NOV. 2009
PAMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE SANTAFE DE BOGOTA HAGO CONSTAR QUE LA FIRMA DE
[Firma]
COINCIDE CON LA FIRMA REGISTRADA POR
EL (ELLOS) EN ESTA NOTARIA
SANTAFE DE BOGOTA, 21 DIC 2005

NOTARIA SEXTA
PAOLO QUINTERO
BARRIAS
Notario Sexto Substituto

CAVELIER

ABOGADOS

WEB SITE: www.cavelier.com
E-MAIL: cavelier@cavelier.com

EDIFICIO SISKI
CARRERA 4 No. 72 - 35
BOGOTA 8, COLOMBIA

TELEFONO: (57) (1) 347-3611
TELEFAX: (57) (1) 217-9211 (57) (1) 310-4995

Señores

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

E. S. D.

Poderdante : **WYETH**

Poder conferido el : 20/09/2005

Yo, EMILIO FERRERO, obrando como apoderado principal del poderdante arriba mencionado, mediante el presente escrito sustituyo el poder a mi otorgado a la doctora LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, identificada con cédula de ciudadanía No. 35.456.344 y Tarjeta Profesional N°23.555, con todas las facultades que me fueron conferidas.

Hago la anterior sustitución conforme al artículo 66 del Código de Procedimiento Civil.

Señora Jefe,



EMILIO FERRERO

T.P.A. N° 31.929

C.C. N° 438.019 de Usaquén

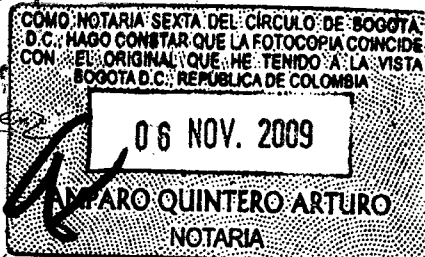
Acepto:



LUZ CLEMENCIA DE PAEZ

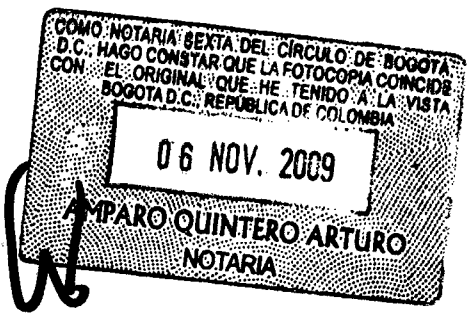
T.P.A. N° 23.555

C.C. No. 35.456.344 de Usaquén



NOTARIA SEXTA DE BOGOTA
RECONOCIMIENTO Y PRESENTACION PERSONAL
Bogotá, D.C. 05 NOV 2009
Ante mí AMPARO QUINTERO ARTURO,
NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE
BOGOTÁ, D.C.
Comparecedo(eron) *Emilio Fariña*
Williamson Luz Clemente
Jaime de Rueda
Quien(es) exhibi(eron) la(s) C.C.
438014 TP 31924
35456344 TP 23558
Y declaro(eron) que la(s) firme(s) que aparece(n)
en el presente documento es(son) la(s) suya(s) y
que el contenido del mismo es cierto.
En constancia se firma esta diligencia.

Emilio Fariña
Luz Clemente Góber



(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
30 October 2008 (30.10.2008)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2008/131298 A3

(51) International Patent Classification:

A61K 39/00 (2006.01) C07K 16/00 (2006.01)
G01N 33/53 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/US2008/060926

(22) International Filing Date: 18 April 2008 (18.04.2008)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:

60/925,228 18 April 2007 (18.04.2007) US

(71) Applicants (for all designated States except US): **ELAN PHARMA INTERNATIONAL LIMITED** [IE/IE]; Monksland, Athlone Country Westmeath (IE). **WYETH** [US/US]; Five Giralda Farms, Madison, New Jersey 07940 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **SCHROETER**, Sally [US/US]; 1111 Notre Dame Avenue, Belmont, California 94002 (US). **GAMES**, Kate Dora [US/US]; 503 Alameda de las Pulgas, Belmont, California 94002 (US).

(74) Agents: **CELLI**, Rosemarie L. et al.; Townsend And Townsend And Crew LLP, Two Embarcadero Center, Eighth Floor, San Francisco, California 94111-3834 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available):

AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available):

ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

- with international search report
- before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments

(88) Date of publication of the international search report:

18 December 2008

(54) Title: PREVENTION AND TREATMENT OF CEREBRAL AMYLOID ANGIOPATHY

(57) Abstract: The invention provides improved agents and methods for treatment of cerebral amyloid angiopathy (CAA) and methods to effect prophylaxis of CAA. The methods can treat CAA concurrently with Alzheimer's disease or separately. The methods can effect prophylaxis of CAA concurrently with Alzheimer's disease or separately. The methods involve administering antibody that is specific for the N-terminus of Aβ or an agent that can induce such an antibody.

WO 2008/131298 A3

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
30 October 2008 (30.10.2008)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2008/131298 A2

(51) International Patent Classification:
A61K 39/395 (2006.01) A61P 25/28 (2006.01)
C07K 16/18 (2006.01)

(74) Agents: CELLI, Rosemarie L. et al.; Townsend And
Townsend And Crew LLP, Two Embarcadero Center,
Eighth Floor, San Francisco, California 94111-3834 (US).

(21) International Application Number:
PCT/US2008/060926

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA,
CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE,
EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID,
IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC,
LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN,
MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH,
PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV,
SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN,
ZA, ZM, ZW.

(22) International Filing Date: 18 April 2008 (18.04.2008)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/925,228 18 April 2007 (18.04.2007) US

(71) Applicants (for all designated States except US): ELAN
PHARMA INTERNATIONAL LIMITED [IE/IE];
Monksland, Athlone Country Westmeath (IE). WYETH
[US/US]; Five Giralda Farms, Madison, New Jersey 07940
(US).

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL,
NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

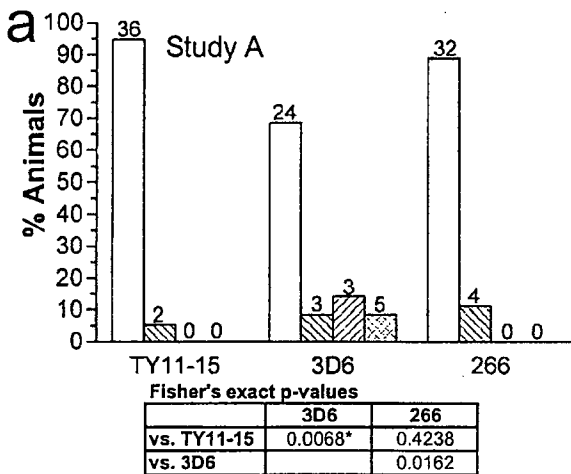
(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): SCHROETER,
Sally [US/US]; 1111 Notre Dame Avenue, Belmont, Cal-
ifornia 94002 (US). GAMES, Kate Dora [US/US]; 503
Alameda de las Pulgas, Belmont, California 94002 (US).

Published:

— without international search report and to be republished
upon receipt of that report

(54) Title: PREVENTION AND TREATMENT OF CEREBRAL AMYLOID ANGIOPATHY



(57) Abstract: The invention provides improved
agents and methods for treatment of cerebral amyloid
angiopathy (CAA) and methods to effect prophylaxis
of CAA. The methods can treat CAA concurrently
with Alzheimer's disease or separately. The methods
can effect prophylaxis of CAA concurrently with
Alzheimer's disease or separately. The methods
involve administering antibody that is specific for
the N-terminus of A β or an agent that can induce
such an antibody.

Figure 6

PREVENTION AND TREATMENT OF CEREBRAL AMYLOID ANGIOPATHY

CROSS-REFERENCE TO RELATED APPLICATIONS

[0001] None

BACKGROUND OF THE INVENTION

[0002] Over expression of mutant human amyloid precursor protein (APP) in various transgenic mice leads to several Alzheimer's disease (AD)-type lesions [for reviews see D. Games et al., *J Alzheimers Dis* 9, 133-49 (2006); J. Gotz et al., *Mol Psychiatry* 9, 664-83 (2004). These include the development of parenchymal amyloid-beta (A β) plaques, neuritic pathology, synaptic loss, and gliosis. A number of reports have shown that active (see D. Schenk et al., *Nature* 400, 173-7 (1999); D.L. Dickstein et al., *Faseb J* 20, 426-33 (2006)) and passive (see F. Bard et al., *Nat Med* 6, 916-9 (2000); M. Buttini et al., *J Neurosci* 25, 9096-101 (2005); D.M. Wilcock et al., *J Neuroinflammation* 1, 24 (2004)) A β immunotherapeutic approaches are effective in reducing or eliminating these pathologies in preclinical studies (see R.P. Brendza & D. M. Holzman, *Alzheimer Dis Assoc Disord* 20, 118-23 (2006); C.A. Lemere et al., *Rejuvenation Res* 9, 77-84 (2006)). In addition, many studies have shown improvement in various cognitive tests (see D.M. Wilcock et al, *supra*; C. Janus et al., *Nature* 408, 979-82 (2000); D. Morgan et al., *Nature* 408, 982-5 (2000)). These findings are supported by mounting correlative findings from both memory testing and neuropathological examination of brains of patients who were enrolled in clinical trials of A β immunotherapy (AN1792), see J.A. Nicoll et al., *Nat Med* 9, 448-52 (2003); I. Ferrer et al., *Brain Pathol* 14, 11-20 (2004); S. Gilman et al., *Neurology* 64, 1553-62 (2005).

[0003] Recently another common aspect of AD pathology, vascular A β (VA β), has been the subject of scrutiny in preclinical APP transgenic animal studies. In particular, it has been reported that passive immunization has been associated with an increase in VA β and microhemorrhage (see D.M. Wilcock et al, *supra*; M.M. Racke et al., *J Neurosci* 25, 629-36 (2005)). However, predictive clinical implications remain unclear, especially in light of favorable behavioral outcomes in some of these same studies (see D.M. Wilcock et al, *supra*), the lack of ultrastructural differences in vascular morphology of hemosiderin-positive vessels in untreated and treated transgenic mice (see

15

G.J. Burbach et al., *Neurobiol Aging* 28, 202-12 (2007)) and, notably, the lack of evidence for significant bleeding or stroke-related consequences in ongoing clinical trials. In addition, little is known about the degree to which VA β is ultimately affected by A β immunotherapeutic approaches; for example, whether outcome measures in chronic treatment paradigms might differ from more acute studies. For instance, it is unknown whether reported increases in VA β represent a transient phenomenon associated with A β clearance, while longer treatment might actually prevent or reverse vascular amyloid. Finally, VA β effects in transgenic mice may also vary according to the APP mutation employed, since the relative degree of A β 40 versus A β 42 production likely influences both the aggregation properties of A β as well as the binding efficiency of certain antibodies, particularly those with C-terminal epitopes.

BRIEF SUMMARY OF THE INVENTION

[0004] The invention provides methods of therapeutically treating CAA. The methods comprise administering to a patient having or suspected of having CAA an effective regime of an agent. In some methods the agent is an antibody that is specific for the N-terminus of A β and thereby treating the patient. Optionally, the agent is an antibody that binds within residues 1-5 of A β . Optionally, the antibody is a humanized, human, or chimeric antibody. Optionally, the humanized antibody is 3D6. Optionally, the 3D6 humanized antibody is bapineuzumab. Optionally, the humanized antibody is 12A11.

[0005] In some methods, the agent is a fragment of A β . Optionally, the fragment begins at residue 1 of A β and ends at one of residues 5-10 of A β . Optionally, the fragment is A β 1-7. Optionally, the A β fragment is administered with a pharmaceutically acceptable adjuvant. Optionally, the A β fragment is linked to a carrier that helps the fragment induce antibodies to the fragment. Optionally, the carrier is linked to the C-terminus of the A β fragment.

[0006] Some methods of the invention further comprise determining that a patient has CAA, wherein the determining step occurs before the administration step. In some methods, the determining step determines that a patient is suffering from a clinical symptom of CAA.

[0007] In some methods of therapeutically treating CAA the patient lacks plaques characteristic of Alzheimer's disease in the brain. Optionally, the patient lacks plaques characteristic of Alzheimer's disease in the brain and the patient lacks symptoms of

Alzheimer's disease. In some methods of therapeutically treating CAA, the patient has had a heart attack or stroke.

[0008] Optionally, the methods comprise administering a dosage of the antibody is between about 0.01 to about 5 mg/kg. Optionally, the methods comprise administering a dosage of the antibody between about 0.1 to about 5 mg/kg. Optionally, the methods comprise administering a dosage of about 0.5 mg/kg. Optionally, the methods comprise administering a dosage of about 1.5 mg/kg. Optionally, the methods comprise administering a dosage between about 0.5 to about 3 mg/kg. Optionally, the methods comprise administering a dosage between about 0.5 to about 1.5 mg/kg. Optionally, the methods comprise administering an antibody on multiple occasions. Optionally, the antibody is administered is weekly to quarterly. Optionally, the antibody is administered every 13 weeks. Optionally, the antibody is administered intravenously or subcutaneously.

[0009] Optionally, the antibody is administered in a regime sufficient to maintain an average serum concentration of the antibody in the patient in a range of 1-15 μ g antibody/ml serum and thereby treating the patient. Optionally, the average serum concentration is within a range of 1-10 μ g antibody/ml serum. Optionally, the average serum concentration is within a range of 1-5 μ g antibody/ml serum. Optionally, the average serum concentration is within a range of 2-4 μ g antibody/ml serum. Optionally, the antibody is administered in a regime sufficient to maintain average serum concentration of the antibody is maintained for at least one year. Optionally, the average serum concentration of the antibody is maintained for at least six months

[0010] In some methods where agent is an antibody, optionally, further comprise measuring the concentration of antibody in the serum and adjusting the regime if the measured concentration falls outside the range. In some methods where agent is an antibody, optionally, further comprise measuring the concentration of antibody in the serum and adjusting the regime if the measured concentration falls outside the range.

[0011] Optionally, the antibody is administered intravenously in a regime sufficient to maintain an average serum concentration of the antibody in the patient in a range of 1-15 μ g antibody/ml serum and thereby treating the patient. Optionally, a dose of 0.5-1.0 mg/kg is administered intravenously monthly. Optionally, a dose of 0.1-1.0 mg/kg is administered intravenously monthly.

17

[0012] Optionally, the antibody is administered subcutaneously. Optionally, the antibody is administered subcutaneously at a frequency between weekly and monthly. Optionally, the antibody is administered subcutaneously weekly or biweekly. Optionally, the antibody is administered subcutaneously at a dose of between about 0.01 to about 0.35 mg/kg. Optionally, the antibody is administered subcutaneously at a dose of between about 0.05 to about 0.25 mg/kg. Optionally, the antibody is administered subcutaneously at a dose of between about 0.015 to about 0.2 mg/kg weekly to biweekly. Optionally, the antibody is administered subcutaneously at a dose of between about 0.05 to about 0.15 mg/kg weekly to biweekly. Optionally, the antibody is administered subcutaneously at a dose of between about 0.05 to about 0.07 mg/kg weekly. Optionally, the antibody is administered subcutaneously at a dose of 0.06 mg/kg weekly. Optionally, the antibody is administered subcutaneously at a dose of between about 0.1 to about 0.15 mg/kg biweekly.

[0013] Optionally, the antibody is administered subcutaneously at a dose of between about 0.01 to about 0.6 mg/kg and a frequency of between weekly and monthly. Optionally, the antibody is administered subcutaneously at a dose of between about 0.05 to about 0.25 mg/kg. Optionally, the antibody is administered subcutaneously at a dose of between about 0.015 to about 0.2 mg/kg weekly to biweekly. Optionally, the antibody is administered subcutaneously at a dose of between about 0.05 to about 0.15 mg/kg weekly to biweekly. Optionally, the antibody is administered subcutaneously at a dose of between about 0.05 and about 0.07 mg/kg weekly. Optionally, the antibody is administered subcutaneously at a dose of 0.06 mg/kg weekly. Optionally, the antibody is administered subcutaneously at a dose of between about 0.1 to about 0.15 mg/kg biweekly. Optionally, the antibody is administered subcutaneously at a dose of between about 0.1 to about 0.3 mg/kg monthly. Optionally, the antibody is administered at a dose of 0.2 mg/kg monthly.

[0014] Some methods of the invention further comprise monitoring for changes in signs or symptoms of CAA responsive to the administering step. Some methods of the invention further comprise administering a second agent effective to treat CAA.

[0015] The invention provides methods of effecting prophylaxis against CAA. The methods comprise administering to a patient susceptible to CAA an effective regime of an agent. The agent is antibody that is specific for the N-terminus of A β or the agent induces such an antibody after administration to the patient and thereby effecting prophylaxis of the patient. The invention provides for the use of an agent, wherein the

agent is an antibody that is specific for the N-terminus of A β or induces such an antibody after administration to the patient, in the treatment or prophylaxis of Alzheimer's disease.

[0016] The invention provides methods of reducing vascular amyloid in a patient. The methods comprise administering an antibody that is specific for the N-terminus of A β in a treatment regime associated with efficacious vascular amyloid removal and reduced incidence of cerebral microhemorrhage. Some methods further comprise monitoring the patient for cerebral microhemorrhage by MRI. Some methods further comprise monitoring the patient for vascular amyloid removal by PET scan. Optionally, in some methods the treatment regime is a chronic treatment regime. Optionally, in some methods the treatment regime comprises an antibody dosage between 0.01 and 5 mg/kg body weight of the patient and administered weekly to quarterly. Optionally, in some methods the dosage of the antibody is 0.1 to 5 mg/kg. Optionally, in some methods the dosage is about 0.5 mg/kg. Optionally, in some methods the dosage is about 1.5 mg/kg. Optionally, in some methods the dosage is between about 0.5 to about 3 mg/kg. Optionally, in some methods the dosage is between about 0.5 to about 1.5 mg/kg. Optionally, in some methods the dosage is administered every 13 weeks. Optionally, in some methods the antibody is administered intravenously or subcutaneously. Optionally, the agent is an antibody that binds within residues 1-5 of A β . Optionally, the antibody is a humanized, human, or chimeric antibody. Optionally, the humanized antibody is 3D6. Optionally, the 3D6 humanized antibody is bapineuzumab. Optionally, the humanized antibody is 12A11.

[0017] The invention provides methods of treating Alzheimer's disease. The methods comprise administering an antibody that is specific for the N-terminus of A β at a dose that reduces or inhibits development of vascular amyloidogenic pathology, minimizes microhemorrhage, and or reduces or inhibits development of A β plaques. Optionally, in some methods the antibody binds within residues 1-5 of A β . Optionally, the antibody is a humanized, human, or chimeric antibody. Optionally, the humanized antibody is 3D6. Optionally, the 3D6 humanized antibody is bapineuzumab. Optionally, the humanized antibody is 12A11.

[0018] The invention provides methods of treating Alzheimer's disease that comprise administering an antibody that is specific for the N-terminus of A β at a dose that reduces or inhibits development of vascular amyloidogenic pathology, minimizes microhemorrhage, and or reduces or inhibits development of neuritic pathology. Optionally, in some methods the antibody binds within residues 1-5 of A β . Optionally,

the antibody is a humanized, human, or chimeric antibody. Optionally, the humanized antibody is 3D6. Optionally, the 3D6 humanized antibody is bapineuzumab. Optionally, the humanized antibody is 12A11.

[0019] The invention provides methods for treating Alzheimer's disease that comprise administering an antibody that is specific for the N-terminus of A β at a dose that reduces or inhibits vascular amyloidogenic pathology, minimizes microhemorrhage, and or improves patient's cognitive function. Optionally, in some methods the antibody binds within residues 1-5 of A β . Optionally, the antibody is a humanized, human, or chimeric antibody. Optionally, the humanized antibody is 3D6. Optionally, the 3D6 humanized antibody is bapineuzumab. Optionally, the humanized antibody is 12A11.

[0020] Optionally, some methods of treating Alzheimer's disease the reduction or inhibition of vascular amyloidogenic pathology is a prevention of accumulation of vascular A β or clearance of vascular A β .

[0021] The invention further provides diagnostic kits suitable for use in the above methods. Such a kit comprises an antibody that specifically binds to an epitope with residues 1-10 of A β . Some kits bear a label describing use of the antibody for in vivo diagnosis or monitoring of Alzheimer's disease

[0022] The invention further provides kits for treatment of CAA suitable for use in the above methods. Such a kit comprises a glass vial containing a formulation. Some kits of the invention comprise a glass vial containing a formulation comprising about 0.5 to 3 mg/kg of a humanized anti-A β antibody. Some kits of the invention comprise a glass vial containing a formulation comprising: i. between about 10 mg to about 250 mg of a humanized anti-A β antibody, ii. about 4% mannitol or about 150 mM NaCl, iii. about 5 mM to about 10 mM histidine, and iv. about 10 mM methionine. Some kits contain instructions to monitor a patient to whom the formulation is administered for CAA. Optionally, the instructions comprise: i. monitoring the patient for cerebral microhemorrhage by MRI, or ii. monitoring the patient for vascular amyloid removal by PET scan.

[0023] The invention further provides kits for treatment of Alzheimer's disease suitable for use in the above methods. Such a comprises a glass vial containing a formulation comprising: i. between about 10 mg to about 250 mg of a humanized anti-A β antibody, ii. about 4% mannitol or about 150 mM NaCl, iii. about 5 mM to about 10 mM histidine, and iv. about 10 mM methionine. Some kits contain instructions to monitor a

patient to whom the formulation is administered for Alzheimer's disease. Optionally, the instructions comprise: i. monitoring the patient for cerebral microhemorrhage by MRI, or ii. monitoring the patient for vascular amyloid removal by PET scan.

[0024] The invention further provides kits for treatment of CAA and Alzheimer's disease suitable for use in the above methods. Such a kit comprises a glass vial containing a formulation comprising: i. between about 10 mg to about 250 mg of a humanized anti-A β antibody, ii. about 4% mannitol or about 150 mM NaCl, iii. about 5 mM to about 10 mM histidine, and iv. about 10 mM methionine. Some kits contain instructions to monitor a patient to whom the formulation is administered for CAA and Alzheimer's disease. Optionally, the instructions comprise: i. monitoring the patient for cerebral microhemorrhage by MRI, or ii. monitoring the patient for vascular amyloid removal by PET scan.

[0025] Optionally, the antibody is administered at a dose of between about 0.05 to about 0.5 mg/kg. Optionally, the antibody is administered at a dose of between about 1 to about 40 mg and a frequency of between weekly and monthly. Optionally, the antibody is administered at a dose of between about 5 to about 25 mg and a frequency of between weekly and monthly. Optionally, the antibody is administered at a dose of between about 2.5 to about 15 mg and a frequency of between weekly and monthly.

[0026] Optionally, the antibody is administered at a dose of between about 1 to about 12 mg weekly to biweekly. Optionally, the antibody is administered at a dose of between about 2.5 to about 10 mg weekly to biweekly. Optionally, the antibody is administered at a dose of between about 2.5 to about 5 mg weekly. Optionally, the antibody is administered at a dose of between about 4 to about 5 mg weekly. Optionally, the antibody is administered at a dose of between about 7 to about 10 mg biweekly.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

[0027] **Figure 1a** shows thioflavin S staining, and **Figure 1b** shows 3D6 immunolabeling of A β in brain midline vessels of 18-month-old PDAPP mice. **Figure 1c** shows human AD tissue, and **Figure 1d** shows leptomeningeal and superficial parenchymal vessels in the PDAPP mouse with VA β immunolabeled by 3D6. Scale bars = 100 μ m.

[0028] **Figure 2a** shows untreated 12-month-old mouse brain, **Figure 2b** shows control-treated mouse brain, **Figure 2c** shows 3 mg/kg 3D6-treated mouse brain, and **Figure 2d** shows 3 mg/kg 266-treated mouse brain with 3D6 immunolabeling of VA β in

midline vessels. Scale bar = 50 μ m. Graph shows the percentage of animals in each group with none-little VA β (white bars) and moderate VA β (cross-hatched bars).

[0029] **Figure 3a** shows control-treated brain, **Figure 3b** shows 0.1 mg/kg 3D6-treated brain, **Figure 3c** shows 0.3 mg/kg 3D6-treated brain, and **Figure 3d** shows 3 mg/kg 3D6-treated brain with 3D6 immunolabeling of VA β in leptomeningeal vessels. Brackets and arrows, VA β , Scale bars = 100 μ m. Graph shows the percentage of animals in each group with none-little VA β (white bars) and moderate VA β (cross-hatched bars).

[0030] **Figure 4a** shows 3D6 immunolabeling of rounded masses and bands of intact VA β encompassing an unaffected leptomeningeal vessel in a 0.1 mg/kg 3D6-treated mouse. **Figure 4b** shows 3D6 immunolabeling of patchy, eroded VA β during partial clearance in a 0.1 mg/kg 3D6-treated mouse. Scale bar = 50 μ m.

[0031] Figures 5a and 5b show partial clearance or prevention of VA β at lower doses of 3D6 with no evidence of microhemorrhage in most animals. **Figure 5c** shows complete clearance or prevention of VA β at 3 mg/kg 3D6 with no evidence of microhemorrhage in most animals. **Figures 5d and 5e** show microhemorrhage at sites of partial clearance at lower doses of 3D6. **Figure 5f** shows microhemorrhage at sites of complete clearance at 3 mg/kg 3D6. Arrows, macrophages. Scale bar = 100 μ m.

[0032] **Figure 6a** shows hemosiderin ratings of control and treatment groups in Study A. **Figure 6b** shows hemosiderin ratings of control and treatment groups in Study B.

DEFINITIONS

[0033] The term "substantial identity" means that two peptide sequences, when optimally aligned, such as by the programs GAP or BESTFIT using default gap weights, share at least 65 percent sequence identity, preferably at least 80 or 90 percent sequence identity, more preferably at least 95 percent sequence identity or more (*e.g.*, 99 percent sequence identity or higher). Preferably, residue positions which are not identical differ by conservative amino acid substitutions.

[0034] For sequence comparison, typically one sequence acts as a reference sequence, to which test sequences are compared. When using a sequence comparison algorithm, test and reference sequences are input into a computer, subsequence coordinates are designated, if necessary, and sequence algorithm program parameters are

designated. The sequence comparison algorithm then calculates the percent sequence identity for the test sequence(s) relative to the reference sequence, based on the designated program parameters.

[0035] Optimal alignment of sequences for comparison can be conducted, *e.g.*, by the local homology algorithm of Smith & Waterman, *Adv. Appl. Math.* 2:482 (1981), by the homology alignment algorithm of Needleman & Wunsch, *J. Mol. Biol.* 48:443 (1970), by the search for similarity method of Pearson & Lipman, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 85:2444 (1988), by computerized implementations of these algorithms (GAP, BESTFIT, FASTA, and TFASTA in the Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI), or by visual inspection (*see generally* Ausubel *et al.*, *supra*). One example of algorithm that is suitable for determining percent sequence identity and sequence similarity is the BLAST algorithm, which is described in Altschul *et al.*, *J. Mol. Biol.* 215:403-410 (1990). Software for performing BLAST analyses is publicly available through the National Center for Biotechnology Information (NCBI) website. Typically, default program parameters can be used to perform the sequence comparison, although customized parameters can also be used. For amino acid sequences, the BLASTP program uses as defaults a word length (W) of 3, an expectation (E) of 10, and the BLOSUM62 scoring matrix (*see* Henikoff & Henikoff, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 10915 (1989)).

[0036] For purposes of classifying amino acids substitutions as conservative or non-conservative, amino acids are grouped as follows: Group I (hydrophobic sidechains): norleucine, met, ala, val, leu, ile; Group II (neutral hydrophilic side chains): cys, ser, thr; Group III (acidic side chains): asp, glu; Group IV (basic side chains): asn, gln, his, lys, arg; Group V (residues influencing chain orientation): gly, pro; and Group VI (aromatic side chains): trp, tyr, phe. Conservative substitutions involve substitutions between amino acids in the same class. Non-conservative substitutions constitute exchanging a member of one of these classes for a member of another.

[0037] Therapeutic agents of the invention are typically substantially pure from undesired contaminants. This means that an agent is typically at least about 50% w/w (weight/weight) purity, as well as being substantially free from interfering proteins and contaminants. Sometimes the agents are at least about 80% w/w and, more preferably at least about 90 or about 95% w/w purity. However, using conventional protein

purification techniques, homogeneous peptides of at least about 99% w/w can be obtained.

[0038] The phrase that a molecule "specifically binds" or "specifically immunoreactive" to a target refers to a binding reaction which is determinative of the presence of the molecule in the presence of a heterogeneous population of other biologics. Thus, under designated immunoassay conditions, a specified molecule binds preferentially to a particular target and does not bind in a significant amount to other biologics present in the sample. Specific binding of an antibody to a target under such conditions requires the antibody be selected for its specificity to the target. A variety of immunoassay formats may be used to select antibodies specifically immunoreactive with a particular protein. For example, solid-phase ELISA immunoassays are routinely used to select monoclonal antibodies specifically immunoreactive with a protein. *See, e.g.,* Harlow and Lane (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Publications, New York, for a description of immunoassay formats and conditions that can be used to determine specific immunoreactivity. Specific binding between two entities means an affinity of at least 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 M^{-1} , or 10^{10} M^{-1} . Affinities greater than 10^8 M^{-1} are preferred.

[0039] The term "antibody" or "immunoglobulin" is used to include intact antibodies and binding fragments thereof. Typically, fragments compete with the intact antibody from which they were derived for specific binding to an antigen fragment including separate heavy chains, light chains Fab, Fab' F(ab')₂, Fabc, and Fv. Fragments are produced by recombinant DNA techniques, or by enzymatic or chemical separation of intact immunoglobulins. The term "antibody" also includes one or more immunoglobulin chains that are chemically conjugated to, or expressed as, fusion proteins with other proteins. The term "antibody" also includes bispecific antibody. A bispecific or bifunctional antibody is an artificial hybrid antibody having two different heavy/light chain pairs and two different binding sites. Bispecific antibodies can be produced by a variety of methods including fusion of hybridomas or linking of Fab' fragments. *See, e.g.,* Songsivilai & Lachmann, *Clin. Exp. Immunol.* 79:315-321 (1990); Kostelny et al., *J. Immunol.* 148, 1547-1553 (1992).

[0040] APP⁶⁹⁵, APP⁷⁵¹, and APP⁷⁷⁰ refer, respectively, to the 695, 751, and 770 amino acid residue long polypeptides encoded by the human APP gene. *See* Kang et al.,

Nature 325, 773 (1987); Ponte et al., *Nature* 331, 525 (1988); and Kitaguchi et al., *Nature* 331, 530 (1988). Amino acids within the human amyloid precursor protein (APP) are assigned numbers according to the sequence of the APP770 isoform.

[0041] Terms such as A β 39, A β 40, A β 41, A β 42 and A β 43 refer to an A β peptide containing amino acid residues 1-39, 1-40, 1-41, 1-42 and 1-43. The sequences of these peptides and their relationship to the APP precursor are illustrated by Fig. 1 of Hardy et al., *TINS* 20, 155-158 (1997). For example, A β 42 has the sequence:

DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIAT

[0042] A β 41, A β 40 and A β 39 differ from A β 42 by the omission of Ala, Ala-Ile, and Ala-Ile-Val respectively from the C-terminal end. A β 43 differs from A β 42 by the presence of a Thr residue at the C-terminus.

[0043] An "antigen" is an entity to which an antibody specifically binds.

[0044] The term "epitope" or "antigenic determinant" refers to a site on an antigen to which B and/or T cells respond. B-cell epitopes can be formed both from contiguous amino acids or noncontiguous amino acids juxtaposed by tertiary folding of a protein. Epitopes formed from contiguous amino acids are typically retained on exposure to denaturing solvents whereas epitopes formed by tertiary folding are typically lost on treatment with denaturing solvents. An epitope typically includes at least 3, and more usually, at least 5 or 8-10 amino acids in a unique spatial conformation. Methods of determining spatial conformation of epitopes include, for example, x-ray crystallography and 2-dimensional nuclear magnetic resonance. See, e.g., *Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology*, Vol. 66, Glenn E. Morris, Ed. (1996). Antibodies that recognize the same epitope can be identified in a simple immunoassay showing the ability of one antibody to block the binding of another antibody to a target antigen. T-cells recognize continuous epitopes of about nine amino acids for CD8 cells or about 13-15 amino acids for CD4 cells. T cells that recognize the epitope can be identified by *in vitro* assays that measure antigen-dependent proliferation, as determined by ³H-thymidine incorporation by primed T cells in response to an epitope (Burke et al., *J. Inf. Dis.* 170, 1110-19 (1994)), by antigen-dependent killing (cytotoxic T lymphocyte assay, Tigges et al., *J. Immunol.* 156, 3901-3910) or by cytokine secretion.

25

[0045] The term "immunological" or "immune" response is the development of a humoral (antibody mediated) and/or a cellular (mediated by antigen-specific T cells or their secretion products) response directed against an amyloid peptide in a recipient patient. Such a response can be an active response induced by administration of immunogen or a passive response induced by administration of antibody or primed T-cells. A cellular immune response is elicited by the presentation of polypeptide epitopes in association with Class I or Class II MHC molecules to activate antigen-specific CD4⁺ T helper cells and/or CD8⁺ cytotoxic T cells. The response may also involve activation of monocytes, macrophages, NK cells, basophils, dendritic cells, astrocytes, microglia cells, eosinophils or other components of innate immunity. The presence of a cell-mediated immunological response can be determined by proliferation assays (CD4⁺ T cells) or CTL (cytotoxic T lymphocyte) assays (*see* Burke, *supra*; Tigges, *supra*). The relative contributions of humoral and cellular responses to the protective or therapeutic effect of an immunogen can be distinguished by separately isolating antibodies and T-cells from an immunized syngeneic animal and measuring protective or therapeutic effect in a second subject.

[0046] An "immunogenic agent" or "immunogen" is capable of inducing an immunological response against itself on administration to a mammal, optionally in conjunction with an adjuvant.

[0047] The term "all-D" refers to peptides having $\geq 75\%$, $\geq 80\%$, $\geq 85\%$, $\geq 90\%$, $\geq 95\%$, or 100% D-configuration amino acids.

[0048] The term "naked polynucleotide" refers to a polynucleotide not complexed with colloidal materials. Naked polynucleotides are sometimes cloned in a plasmid vector.

[0049] The term "adjuvant" refers to a compound that when administered in conjunction with an antigen augments the immune response to the antigen, but when administered alone does not generate an immune response to the antigen. Adjuvants can augment an immune response by several mechanisms including lymphocyte recruitment, stimulation of B and/or T cells, and stimulation of macrophages.

[0050] The term "effective dose" or "effective dosage" is defined as an amount sufficient to achieve or at least partially achieve the desired effect. The term

"therapeutically effective dose" is defined as an amount sufficient to cure or at least partially arrest the disease and its complications in a patient already suffering from the disease. Amounts effective for this use will depend upon the severity of the infection and the general state of the patient's own immune system.

[0051] Some variation of disclosed ranges and is permissible as for example due to errors in measurement. Such variation is designated by the term "about" in reference to ranges or doses.

[0052] The term "patient" includes human and other mammalian subjects that receive either prophylactic or therapeutic treatment.

[0053] Competition between antibodies is determined by an assay in which the immunoglobulin under test inhibits specific binding of a reference antibody to a common antigen, such as A β . Numerous types of competitive binding assays are known, for example: solid phase direct or indirect radioimmunoassay (RIA), solid phase direct or indirect enzyme immunoassay (EIA), sandwich competition assay (see Stahli et al., *Methods in Enzymology* 9:242-253 (1983)); solid phase direct biotin-avidin EIA (see Kirkland et al., *J. Immunol.* 137:3614-3619 (1986)); solid phase direct labeled assay, solid phase direct labeled sandwich assay (see Harlow and Lane, *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press (1988)); solid phase direct label RIA using I-125 label (see Morel et al., *Molec. Immunol.* 25(1):7-15 (1988)); solid phase direct biotin-avidin EIA (Cheung et al., *Virology* 176:546-552 (1990)); and direct labeled RIA (Moldenhauer et al., *Scand. J. Immunol.* 32:77-82 (1990)). Typically, such an assay involves the use of purified antigen bound to a solid surface or cells bearing either of these, an unlabelled test immunoglobulin and a labeled reference immunoglobulin. Competitive inhibition is measured by determining the amount of label bound to the solid surface or cells in the presence of the test immunoglobulin. Usually the test immunoglobulin is present in excess. Antibodies identified by competition assay (competing antibodies) include antibodies binding to the same epitope as the reference antibody and antibodies binding to an adjacent epitope sufficiently proximal to the epitope bound by the reference antibody for steric hindrance to occur. Usually, when a competing antibody is present in excess, it will inhibit specific binding of a reference antibody to a common antigen by at least 50 or 75%.

[0054] The term "symptom" or "clinical symptom" refers to a subjective evidence of a disease, such as altered gait, as perceived by the patient. A "sign" refers to objective evidence of a disease as observed by a physician.

[0055] Compositions or methods "comprising" one or more recited elements may include other elements not specifically recited.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

I. General

[0056] The invention provides methods of effecting prophylaxis and treatment of cerebral amyloid angiopathy (CAA), a disease characterized by presence of vascular deposits of A β peptide. These vascular deposits are distinct from the parenchymal deposits that are the hallmark of Alzheimer's disease. Most Alzheimer's patients are affected by at least mild CAA. However, CAA can also occur independent of symptoms and/or characteristic pathology of Alzheimer's disease. CAA is also associated with symptoms not generally associated with Alzheimer's disease, such as strokes. The invention provides methods of effecting prophylaxis or treating CAA whether it occurs alone or concurrently with Alzheimer's disease. In patients having concurrent Alzheimer's disease and CAA, the methods can treat both diseases simultaneously. In patients having neither disease, the methods can effect prophylaxis against both diseases. In patients having CAA but not Alzheimer's disease, the methods can treat CAA and effect prophylaxis of Alzheimer's disease. The methods involve active or passive immunotherapy. In passive immunotherapy, an antibody binding to an epitope within residues 1-10 of A β is administered. In active immunotherapy, an agent is administered, such as an A β fragment that can induce such an antibody. Although an understanding of mechanism is not essential for practice of the invention, it is believed that the antibodies bind to vascular deposits of A β and thereby promotes clearing of the deposits.

II. Agents

[0057] The present methods employ an agent that either is an antibody to the N-terminus of A β (passive administration) or is capable of inducing such an antibody on administration to a patient. Such agents have been previously described in the scientific and patent literature in connection with immunotherapy of Alzheimer's disease (see WO 98/25386 and WO 00/72880).

A. Active Immunotherapy

[0058] A β , also known as β -amyloid peptide, or A4 peptide (see US 4,666,829; Glenner & Wong, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 120, 1131 (1984)), is a peptide of 39-43 amino acids, which is the principal component of characteristic plaques of Alzheimer's disease. A β is generated by processing of a larger protein APP by two enzymes, termed β and γ secretases (see Hardy, *TINS* 20, 154 (1997)). Known mutations in APP associated with Alzheimer's disease occur proximate to the site of β or γ secretase, or within A β . For example, position 717 is proximate to the site of γ -secretase cleavage of APP in its processing to A β , and positions 670/671 are proximate to the site of β -secretase cleavage. It is believed that the mutations cause AD by interacting with the cleavage reactions by which A β is formed so as to increase the amount of the 42/43 amino acid form of A β generated.

[0059] A β has the unusual property that it can fix and activate both classic and alternate complement cascades. In particular, it binds to C1q and ultimately to C3bi. This association facilitates binding to macrophages leading to activation of B cells. In addition, C3bi breaks down further and then binds to CR2 on B cells in a T cell dependent manner leading to a 10,000 fold increase in activation of these cells. This mechanism causes A β to generate an immune response in excess of that of other antigens.

[0060] Preferred agents for active administration are fragments beginning at residue 1 of A β and ending between one of residues 5-10. Such fragments when linked to an appropriate carrier are capable of inducing antibodies that specifically bind to the N-terminus of A β . Such fragments are lacking naturally occurring self T-cell epitopes that have been associated with undesired side effects in clinical trials of intact A β . Preferred immunogenic fragments include A β 1-5, 1-6, and 1-7, 1-10, 3-7, 1-3, and 1-4. The

designation A β 1-5 for example, indicates a fragment including residues 1-5 of A β and lacking other residues of A β .

[0061] A β -derived diffusible ligands (ADDLs), ADDL-surrogates, ADDL-binding molecules can also be used for active immunotherapy. See e.g., WO 2004/031400, incorporated by reference in its entirety for all purposes.

[0062] Optionally, fragments of A β are conjugated to carrier to help induce antibodies to the fragment. Some agents for inducing an immune response contain the appropriate epitope for inducing an immune response against amyloid but are too small to be immunogenic. In this situation, a peptide immunogen can be linked to a suitable carrier molecule to form a conjugate which helps elicit an immune response. Suitable carriers include serum albumins, keyhole limpet hemocyanin, immunoglobulin molecules, thyroglobulin, ovalbumin, tetanus toxoid, or a toxoid from other pathogenic bacteria, such as diphtheria (for example, CRM197), *E. coli*, cholera, or *H. pylori*, or an attenuated toxin derivative. T cell epitopes are also suitable carrier molecules. Some conjugates can be formed by linking agents of the invention to an immunostimulatory polymer molecule (e.g., tripalmitoyl-S-glycerine cysteine (Pam₃Cys), mannan (a manose polymer), or glucan (a beta 1→2 polymer)), cytokines (e.g., IL-1, IL-1 alpha and beta peptides, IL-2, gamma-INF, IL-10, GM-CSF), and chemokines (e.g., MIP1 alpha and beta, and RANTES). Immunogenic agents can also be linked to peptides that enhance transport across tissues, as described in O'Mahony, WO 97/17613 and WO 97/17614. Immunogens may be linked to the carries with or with out spacer amino acids (e.g., gly-gly).

[0063] Some conjugates can be formed by linking agents of the invention to at least one T cell epitope. Some T cell epitopes are promiscuous while other T cell epitopes are universal. Promiscuous T cell epitopes are capable of enhancing the induction of T cell immunity in a wide variety of subjects displaying various HLA types. In contrast to promiscuous T cell epitopes, universal T cell epitopes are capable of enhancing the induction of T cell immunity in a large percentage, e.g., at least 75%, of subjects displaying various HLA molecules encoded by different HLA-DR alleles.

[0064] A large number of naturally occurring T-cell epitopes exist, such as, tetanus toxoid (e.g., the P2 and P30 epitopes), hepatitis B surface antigen, pertussis, toxoid, measles virus F protein, *Chlamydia trachomatis* major outer membrane protein,

diphtheria toxoid, *Plasmodium falciparum* circumsporozoite T, *Plasmodium falciparum* CS antigen, *Schistosoma mansoni* triose phosphate isomerase, *Escherichia coli* TraT, and influenza virus hemagglutinin (HA). The immunogenic peptides of the invention can also be conjugated to the T-cell epitopes described in Sinigaglia F. et al., *Nature*, 336:778-780 (1988); Chicz R.M. et al., *J. Exp. Med.*, 178:27-47 (1993); Hammer J. et al., *Cell* 74:197-203 (1993); Falk K. et al., *Immunogenetics*, 39:230-242 (1994); WO 98/23635; and, Southwood S. et al. *J. Immunology*, 160:3363-3373 (1998) (each of which is incorporated herein by reference for all purposes). Further examples include:

Influenza hemagglutinin: HA₃₀₇₋₃₁₉

Malaria CS: T3 epitope EKKIAKMEKASSVFNV

Hepatitis B surface antigen: HBsAg₁₉₋₂₈ FLLTRILTI

Heat shock protein 65: hsp65₁₅₃₋₁₇₁ DQSIGDLIAEAMDKVGNEG

Bacille Calmette-Guerin: QVHFQPLPPAVVKL

Tetanus toxoid: TT₈₃₀₋₈₄₄ QYIKANSKFIGITEL

Tetanus toxoid: TT₉₄₇₋₉₆₇ FNNFTVSFWLRVPKVSASHLE

HIV gp120 T1: KQIINMWQEVGKAMYA

[0065] Some examples of conjugates include:

AN90549 (Aβ1-7-Tetanus toxoid 830-844 in a MAP4 configuration):

DAEFRHD-QYIKANSKFIGITEL

AN90550 (Aβ 1-7-Tetanus toxoid 947-967 in a MAP4 configuration):

DAEFRHD-FNNFTVSFWLRVPKVSASHLE

AN90542 (Aβ 1-7-Tetanus toxoid 830-844 + 947-967 in a linear configuration):

DAEFRHD-QYIKANSKFIGITELFNNFTVSFWLRVPKVSASHLE

[0066] PADRE peptide (all in linear configurations), wherein X is preferably cyclohexylalanine, tyrosine or phenylalanine, with cyclohexylalanine being most preferred:

AN90562 (PADRE-Aβ1-7):

AKXVAAWTLAAA-DAEFRHD

AN90543 (3 PADRE-Aβ1-7):

DAEFRHD-DAEFRHD-DAEFRHD-AKXVAAWTLKAAA

[0067] Other examples of fusion proteins (immunogenic epitope of Aβ bolded) include:

AKXVAAWTLKAAA-DAEFRHD-DAEFRHD-DAEFRHD

DAEFRHD-AKXVAAWTLKAAA

DAEFRHD-ISQAVHAAHAEINEAGR

FRHDSGY-ISQAVHAAHAEINEAGR

EFRHDSG-ISQAVHAAHAEINEAGR

PKYVKQNTLKLAT-DAEFRHD-DAEFRHD-DAEFRHD

DAEFRHD-PKYVKQNTLKLAT-DAEFRHD

DAEFRHD-DAEFRHD-DAEFRHD-PKYVKQNTLKLAT

DAEFRHD-DAEFRHD-PKYVKQNTLKLAT

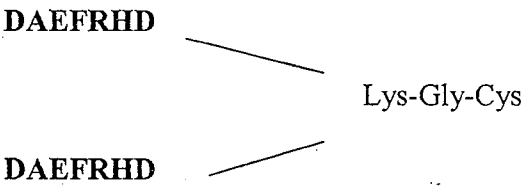
DAEFRHD-PKYVKQNTLKLAT-EKKIAKMEKASSVFNV-QYIKANSKFIGITEL-FNNFTVSFWLRVPKVSASHLE-DAEFRHD

DAEFRHD-DAEFRHD-DAEFRHD-QYIKANSKFIGITELNFTVSFWLRVPKVSASHLE

DAEFRHD-QYIKANSKFIGITELCFNNFTVSFWLRVPKVSASHLE

DAEFRHD-QYIKANSKFIGITELCFNNFTVSFWLRVPKVSASHLE-DAEFRHD

DAEFRHD-QYIKANSKFIGITEL on a 2 branched resin.



[0068] Fragments of A β such as A β 1-6 are conjugated to carriers, such as virus-like-particles (VLPs) and subunits of VLPs, to help induce antibodies to the fragment. See e.g., WO 2004/016282 and US 20040141984, each of which is incorporated by reference in its entirety for all purposes.

B. Passive Immunotherapy

[0069] Passive immunotherapy is effected using an antibody that is specific for the N-terminus A β . An "N-terminal epitope", is an epitope or antigenic determinant located within or including the N-terminus of the A β peptide. Exemplary N-terminal epitopes include residues within amino acids 1-10 or 1-12 of A β , preferably from residues 1-3, 1-4, 1-5, 1-6, 1-7, 2-6, 2-7, 3-6, or 3-7 of A β . Other exemplary N-terminal epitopes start at residues 1-3 and end at residues 7-11 of A β . Additional exemplary N-terminal epitopes include residues 2-4, 2-5, 2-6, 2-7 or 2-8 of A β , residues 3-5, 3-6, 3-7, 3-8 or 3-9 of A β , or residues 4-7, 4-8, 4-9 or 4-10 of A β .

[0070] When an antibody is said to bind to an epitope within specified residues, such as A β 3-7, what is meant is that the antibody specifically binds to a polypeptide containing the specified residues (i.e., A β 3-7 in this an example). Such an antibody does not necessarily contact every residue within A β 3-7. Nor does every single amino acid substitution or deletion within A β 3-7 necessarily significantly affect binding affinity. In various embodiments, an A β antibody is end-specific. As used herein, the term "end-specific" refers to an antibody that specifically binds to the N-terminal or C-terminal residues of an A β peptide but that does not recognize the same residues when present in a longer A β species comprising the residues or in APP. Preferred antibodies have human IgG1 isotype.

[0071] Preferred anti A β antibodies for passive immunotherapy include a humanized anti-A β antibody, for example, a humanized 3D6 antibody, a humanized 12B4 antibody, or a humanized 12A11 antibody.

[0072] Antibodies for passive immunotherapy may be provided by a variety of techniques including those described in US 20040038304, US 20070020685, US 20060257396, US 20060160184, US 20060134098, US 20050255552, US 20050008625, US 20040132066, US 20040038317, US 20030198971, and US 20030157579 all of which are incorporated by reference in their entirety herein for all purposes.

Antibodies

i. General Characteristics of Immunoglobulins

[0073] The basic antibody structural unit is known to comprise a tetramer of subunits. Each tetramer is composed of two identical pairs of polypeptide chains, each pair having one "light" (about 25 kDa) and one "heavy" chain (about 50-70 kDa). The amino-terminal portion of each chain includes a variable region of about 100 to 110 or more amino acids primarily responsible for antigen recognition. The carboxy-terminal portion of each chain defines a constant region primarily responsible for effector function.

[0074] Light chains are classified as either kappa or lambda. Heavy chains are classified as gamma, mu, alpha, delta, or epsilon, and define the antibody's isotype as IgG, IgM, IgA, IgD and IgE, respectively. Within light and heavy chains, the variable and constant regions are joined by a "J" region of about 12 or more amino acids, with the heavy chain also including a "D" region of about 10 more amino acids. (*See generally, Fundamental Immunology*, Ch. 7 (W. Paul, ed., Raven Press, N.Y., 2nd ed. 1989), incorporated by reference in its entirety for all purposes).

[0075] The variable regions of each light/heavy chain pair form the antibody binding site. Thus, an intact antibody has two binding sites. Except in bifunctional or bispecific antibodies, the two binding sites are the same. The chains all exhibit the same general structure of relatively conserved framework regions (FR) joined by three hypervariable regions, also called complementarity determining regions or CDRs. The CDRs from the two chains of each pair are aligned by the framework regions, enabling binding to a specific epitope. From N-terminal to C-terminal, both light and heavy chains comprise the domains FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 and FR4. The assignment of amino acids to each domain is in accordance with the definitions of Kabat, *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1987 and 1991); Chothia & Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987); or Chothia *et al.*, *Nature* 342:878-883 (1989).

ii. Production of Nonhuman Antibodies

[0076] The production of non-human monoclonal antibodies, e.g., murine, guinea pig, primate, rabbit or rat, can be accomplished by, for example, immunizing the animal with A β . A longer polypeptide comprising A β or an immunogenic fragment of A β or

anti-idiotypic antibodies to an antibody to A β can also be used. See Harlow & Lane, *Antibodies, A Laboratory Manual* (CSHP NY, 1988) (incorporated by reference for all purposes). Such an immunogen can be obtained from a natural source, by peptide synthesis, or by recombinant expression. Optionally, the immunogen can be administered fused or otherwise complexed with a carrier protein, as described below. Optionally, the immunogen can be administered with an adjuvant. Several types of adjuvant can be used as described below. Complete Freund's adjuvant followed by incomplete adjuvant is preferred for immunization of laboratory animals. Rabbits or guinea pigs are typically used for making polyclonal antibodies. Mice are typically used for making monoclonal antibodies. Antibodies are screened for specific binding to A β . Optionally, antibodies are further screened for binding to a specific region of A β . The latter screening can be accomplished by determining binding of an antibody to a collection of deletion mutants of an A β peptide and determining which deletion mutants bind to the antibody. Binding can be assessed, for example, by Western blot or ELISA. The smallest fragment to show specific binding to the antibody defines the epitope of the antibody. Alternatively, epitope specificity can be determined by a competition assay in which a test and reference antibody compete for binding to A β . If the test and reference antibodies compete, then they bind to the same epitope or epitopes sufficiently proximal that binding of one antibody interferes with binding of the other. The preferred isotype for such antibodies is mouse isotype IgG2a or equivalent isotype in other species. Mouse isotype IgG2a is the equivalent of human isotype IgG1.

iii. Chimeric and Humanized Antibodies

[0077] Chimeric and humanized antibodies have the same or similar binding specificity and affinity as a mouse or other nonhuman antibody that provides the starting material for construction of a chimeric or humanized antibody. Chimeric antibodies are antibodies whose light and heavy chain genes have been constructed, typically by genetic engineering, from immunoglobulin gene segments belonging to different species. For example, the variable (V) segments of the genes from a mouse monoclonal antibody may be joined to human constant (C) segments, such as IgG1 and IgG4. Human isotype IgG1 is preferred. In some methods, the isotype of the antibody is human IgG1. IgM antibodies can also be used in some methods. A typical chimeric antibody is thus a hybrid protein consisting of the V or antigen-binding domain from a mouse antibody and the C or effector domain from a human antibody.

35

[0078] Humanized antibodies have variable region framework residues substantially from a human antibody (termed an acceptor antibody) and complementarity determining regions substantially from a mouse-antibody, (referred to as the donor immunoglobulin). *See, Queen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989), WO 90/07861, US 5,693,762, US 5,693,761, US 5,585,089, US 5,530,101, and Winter, US 5,225,539 (each of which is incorporated by reference in its entirety for all purposes). The constant region(s), if present, are also substantially or entirely from a human immunoglobulin. The human variable domains are usually chosen from human antibodies whose framework sequences exhibit a high degree of sequence identity with the murine variable region domains from which the CDRs were derived. The heavy and light chain variable region framework residues can be derived from the same or different human antibody sequences. The human antibody sequences can be the sequences of naturally occurring human antibodies or can be consensus sequences of several human antibodies. *See Carter et al., WO 92/22653.* Certain amino acids from the human variable region framework residues are selected for substitution based on their possible influence on CDR conformation and/or binding to antigen. Investigation of such possible influences is by modeling, examination of the characteristics of the amino acids at particular locations, or empirical observation of the effects of substitution or mutagenesis of particular amino acids.

[0079] For example, when an amino acid differs between a murine variable region framework residue and a selected human variable region framework residue, the human framework amino acid should usually be substituted by the equivalent framework amino acid from the mouse antibody when it is reasonably expected that the amino acid:

- (1) noncovalently binds antigen directly,
- (2) is adjacent to a CDR region,
- (3) otherwise interacts with a CDR region (e.g. is within about 6 Å of a CDR region),
or
- (4) participates in the VL-VH interface.

[0080] Other candidates for substitution are acceptor human framework amino acids that are unusual for a human immunoglobulin at that position. These amino acids can be substituted with amino acids from the equivalent position of the mouse donor

antibody or from the equivalent positions of more typical human immunoglobulins. Other candidates for substitution are acceptor human framework amino acids that are unusual for a human immunoglobulin at that position. The variable region frameworks of humanized immunoglobulins usually show at least 85% sequence identity to a human variable region framework sequence or consensus of such sequences.

iv. Human Antibodies

[0081] Human antibodies against A β are provided by a variety of techniques described below. Some human antibodies are selected by competitive binding experiments, or otherwise, to have the same epitope specificity as a particular mouse antibody, such as one of the mouse monoclonals described in Example XI. Human antibodies can also be screened for a particular epitope specificity by using only a fragment of A β as the immunogen, and/or by screening antibodies against a collection of deletion mutants of A β . Human antibodies preferably have isotype specificity human IgG1.

(1) Trioma Methodology

[0082] The basic approach and an exemplary cell fusion partner, SPAZ-4, for use in this approach have been described by Oestberg et al., *Hybridoma* 2:361-367 (1983); Oestberg, US Patent No. 4,634,664; and Engleman et al., US Patent 4,634,666 (each of which is incorporated by reference in its entirety for all purposes). The antibody-producing cell lines obtained by this method are called triomas, because they are descended from three cells—two human and one mouse. Initially, a mouse myeloma line is fused with a human B-lymphocyte to obtain a non-antibody-producing xenogeneic hybrid cell, such as the SPAZ-4 cell line described by Oestberg, supra. The xenogeneic cell is then fused with an immunized human B-lymphocyte to obtain an antibody-producing trioma cell line. Triomas have been found to produce antibody more stably than ordinary hybridomas made from human cells.

[0083] The immunized B-lymphocytes are obtained from the blood, spleen, lymph nodes or bone marrow of a human donor. If antibodies against a specific antigen or epitope are desired, it is preferable to use that antigen or epitope thereof for immunization. Immunization can be either in vivo or in vitro. For in vivo immunization, B cells are typically isolated from a human immunized with A β , a fragment thereof, larger polypeptide containing A β or fragment, or an anti-idiotypic antibody to an antibody

to A β . In some methods, B cells are isolated from the same patient who is ultimately to be administered antibody therapy. For in vitro immunization, B-lymphocytes are typically exposed to antigen for a period of 7-14 days in a media such as RPMI-1640 (*see* Engleman, *supra*) supplemented with 10% human plasma.

[0084] The immunized B-lymphocytes are fused to a xenogeneic hybrid cell such as SPAZ-4 by well-known methods. For example, the cells are treated with 40-50% polyethylene glycol of MW 1000-4000, at about 37 degrees C, for about 5-10 min. Cells are separated from the fusion mixture and propagated in media selective for the desired hybrids (*e.g.*, HAT or AH). Clones secreting antibodies having the required binding specificity are identified by assaying the trioma culture medium for the ability to bind to A β or a fragment thereof. Triomas producing human antibodies having the desired specificity are subcloned by the limiting dilution technique and grown in vitro in culture medium. The trioma cell lines obtained are then tested for the ability to bind A β or a fragment thereof.

[0085] Although triomas are genetically stable they do not produce antibodies at very high levels. Expression levels can be increased by cloning antibody genes from the trioma into one or more expression vectors, and transforming the vector into standard mammalian, bacterial or yeast cell lines.

(2) Transgenic Non-Human Mammals

[0086] Human antibodies against A β can also be produced from non-human transgenic mammals having transgenes encoding at least a segment of the human immunoglobulin locus. Usually, the endogenous immunoglobulin locus of such transgenic mammals is functionally inactivated. Preferably, the segment of the human immunoglobulin locus includes unrearranged sequences of heavy and light chain components. Both inactivation of endogenous immunoglobulin genes and introduction of exogenous immunoglobulin genes can be achieved by targeted homologous recombination, or by introduction of YAC chromosomes. The transgenic mammals resulting from this process are capable of functionally rearranging the immunoglobulin component sequences, and expressing a repertoire of antibodies of various isotypes encoded by human immunoglobulin genes, without expressing endogenous immunoglobulin genes. The production and properties of mammals having these properties are described in detail by, *e.g.*, Lonberg et al., WO93/1222, US 5,877,397, US

5,874,299, US 5,814,318, US 5,789,650, US 5,770,429, US 5,661,016, US 5,633,425, US 5,625,126, US 5,569,825, US 5,545,806, *Nature* 148, 1547-1553 (1994), *Nature Biotechnology* 14, 826 (1996), Kucherlapati, WO 91/10741 (each of which is incorporated by reference in its entirety for all purposes). Transgenic mice are particularly suitable. Anti-A β antibodies are obtained by immunizing a transgenic nonhuman mammal, such as described by Lonberg or Kucherlapati, *supra*, with A β or a fragment thereof. Monoclonal antibodies are prepared by, *e.g.*, fusing B-cells from such mammals to suitable myeloma cell lines using conventional Kohler-Milstein technology. Human polyclonal antibodies can also be provided in the form of serum from humans immunized with an immunogenic agent. Optionally, such polyclonal antibodies can be concentrated by affinity purification using A β or other amyloid peptide as an affinity reagent.

(3) Phage Display Methods

[0087] A further approach for obtaining human anti-A β antibodies is to screen a DNA library from human B cells according to the general protocol outlined by Huse et al., *Science* 246:1275-1281 (1989). As described for trioma methodology, such B cells can be obtained from a human immunized with A β fragments, longer polypeptides containing A β or fragments, or anti-idiotypic antibodies. Optionally, such B cells are obtained from a patient who is ultimately to receive antibody treatment. Antibodies binding to A β or a fragment thereof are selected. Sequences encoding such antibodies (or binding fragments) are then cloned and amplified. The protocol described by Huse is rendered more efficient in combination with phage-display technology. *See, e.g.*, Dower et al., WO 91/17271 and McCafferty *et al.*, WO 92/01047, US 5,877,218, US 5,871,907, US 5,858,657, US 5,837,242, US 5,733,743 and US 5,565,332 (each of which is incorporated by reference in its entirety for all purposes). In these methods, libraries of phage are produced in which members display different antibodies on their outer surfaces. Antibodies are usually displayed as Fv or Fab fragments. Phage displaying antibodies with a desired specificity are selected by affinity enrichment to an A β peptide or fragment thereof.

[0088] In a variation of the phage-display method, human antibodies having the binding specificity of a selected murine antibody can be produced. *See* Winter, WO 92/20791. In this method, either the heavy or light chain variable region of the selected murine antibody is used as a starting material. If, for example, a light chain variable

region is selected as the starting material, a phage library is constructed in which members display the same light chain variable region (*i.e.*, the murine starting material) and a different heavy chain variable region. The heavy chain variable regions are obtained from a library of rearranged human heavy chain variable regions. A phage showing strong specific binding for A β (*e.g.*, at least 10^8 and preferably at least 10^9 M⁻¹) is selected. The human heavy chain variable region from this phage then serves as a starting material for constructing a further phage library. In this library, each phage displays the same heavy chain variable region (*i.e.*, the region identified from the first display library) and a different light chain variable region. The light chain variable regions are obtained from a library of rearranged human variable light chain regions. Again, phage showing strong specific binding for A β are selected. These phage display the variable regions of completely human anti-A β antibodies. These antibodies usually have the same or similar epitope specificity as the murine starting material.

(4) NANOBODY Methods

[0089] Antibodies against A β can also be produced via the NanobodyTM methods (Ablynx N.V.). Nanobodies are antibody-derived therapeutic proteins that contain the properties of naturally-occurring heavy chain antibodies. Nanobodies can function as a single, relatively small, functional antigen-binding structural unit, domain or protein. The NanobodyTM technology was originally developed following the discovery that camelidae (camels and llamas) possess fully functional antibodies that lack light chains. These heavy-chain antibodies contain a single variable domain (VHH) and two constant domains (CH2 and CH3). VHH is used to distinguish them from the heavy chain variable domains that are present in conventional 4-chain antibodies (which are referred to as "VH domains"). The cloned and isolated VHH domain is a stable polypeptide harboring the full antigen-binding capacity of the original heavy-chain antibody. VHH domains and nanobodies can also be engineered into multivalent and multispecific formats.

Nanobodies with an amino acid sequence that corresponds to the amino acid sequence of a naturally occurring VHH domain can be humanized, *i.e.*, by replacing one or more amino acid residues in the amino acid sequence of the naturally occurring VHH sequence (and in particular in the framework sequences) by one or more of the amino acid residues that occur at the corresponding position(s) in a VH domain from a conventional 4-chain antibody from a human being. For details, see e.g., US 20050130266, US 20040253638,

WO/2006/040153, US 20050214857, WO/2006/079372, or WO/2006/122825, each of which is incorporated herein by reference for all purposes.

v. Selection of Constant Region

[0090] The heavy and light chain variable regions of chimeric, humanized, or human antibodies can be linked to at least a portion of a human constant region. The choice of constant region depends, in part, whether antibody-dependent complement and/or cellular mediated toxicity is desired. For example, isotopes IgG1 and IgG3 have complement activity and isotopes IgG2 and IgG4 do not. Choice of isotype can also affect passage of antibody into the brain. Human isotype IgG1 is preferred. Light chain constant regions can be lambda or kappa. Antibodies can be expressed as tetramers containing two light and two heavy chains, as separate heavy chains, light chains, as Fab, Fab' F(ab')₂, and Fv, or as single chain antibodies in which heavy and light chain variable domains are linked through a spacer.

vi. Expression of Recombinant Antibodies

[0091] Chimeric, humanized and human antibodies are typically produced by recombinant expression. Recombinant polynucleotide constructs typically include an expression control sequence operably linked to the coding sequences of antibody chains, including naturally associated or heterologous promoter regions. Preferably, the expression control sequences are eukaryotic promoter systems in vectors capable of transforming or transfecting eukaryotic host cells. Once the vector has been incorporated into the appropriate host, the host is maintained under conditions suitable for high-level expression of the nucleotide sequences, and the collection and purification of the crossreacting antibodies.

[0092] These expression vectors are typically replicable in the host organisms either as episomes or as an integral part of the host chromosomal DNA. Commonly, expression vectors contain selection markers, *e.g.*, ampicillin-resistance or hygromycin-resistance, to permit detection of those cells transformed with the desired DNA sequences.

[0093] *E. coli* is one prokaryotic host particularly useful for cloning the DNA sequences of the present invention. Microbes, such as yeast, are also useful for expression. *Saccharomyces* is a preferred yeast host, with suitable vectors having

expression control sequences, an origin of replication, termination sequences and the like as desired. Typical promoters include 3-phosphoglycerate kinase and other glycolytic enzymes. Inducible yeast promoters include, among others, promoters from alcohol dehydrogenase, isocytochrome C, and enzymes responsible for maltose and galactose utilization.

[0094] Mammalian cells are a preferred host for expressing nucleotide segments encoding immunoglobulins or fragments thereof. See Winnacker, *From Genes to Clones*, (VCH Publishers, NY, 1987). A number of suitable host cell lines capable of secreting intact heterologous proteins have been developed in the art, and include CHO cell lines, various COS cell lines, HeLa cells, L cells, human embryonic kidney cell, and myeloma cell lines. Preferably, the cells are nonhuman. Expression vectors for these cells can include expression control sequences, such as an origin of replication, a promoter, an enhancer (Queen et al., *Immunol. Rev.* 89:49 (1986)), and necessary processing information sites, such as ribosome binding sites, RNA splice sites, polyadenylation sites, and transcriptional terminator sequences. Preferred expression control sequences are promoters derived from endogenous genes, cytomegalovirus, SV40, adenovirus, bovine papillomavirus, and the like. See Co et al., *J. Immunol.* 148:1149 (1992).

[0095] Alternatively, antibody coding sequences can be incorporated in transgenes for introduction into the genome of a transgenic animal and subsequent expression in the milk of the transgenic animal (see, e.g., US 5,741,957, US 5,304,489, US 5,849,992). Suitable transgenes include coding sequences for light and/or heavy chains in operable linkage with a promoter and enhancer from a mammary gland specific gene, such as casein or beta lactoglobulin.

[0096] The vectors containing the DNA segments of interest can be transferred into the host cell by well-known methods, depending on the type of cellular host. For example, calcium chloride transfection is commonly utilized for prokaryotic cells, whereas calcium phosphate treatment, electroporation, lipofection, biolistics or viral-based transfection can be used for other cellular hosts. Other methods used to transform mammalian cells include the use of polybrene, protoplast fusion, liposomes, electroporation, and microinjection (see generally, Sambrook et al., *supra*). For production of transgenic animals, transgenes can be microinjected into fertilized oocytes,

or can be incorporated into the genome of embryonic stem cells, and the nuclei of such cells transferred into enucleated oocytes.

[0097] Once expressed, antibodies can be purified according to standard procedures of the art, including HPLC purification, column chromatography, gel electrophoresis and the like (*see generally*, Scopes, *Protein Purification* (Springer-Verlag, NY, 1982)).

[0098] 3D6 or a chimeric or humanized form thereof is a preferred antibody (see U.S. Patent Publication No. 20030165496A1, U.S. Patent Publication No. 20040087777A1, International Patent Publication No. WO 02/46237A3 and International Patent Publication No. WO 04/080419A2). Description of 3D6 can also be found, for example, in International Patent Publication No. WO 02/088306A2 and International Patent Publication No. WO02/088307A2. Additional 3D6 antibodies are described in U.S. Patent Application No. 11/303,478 and International Application No. PCT/US05/45614. 3D6 is a monoclonal antibody (mAb) that specifically binds to an N-terminal epitope located in the human β -amyloid peptide, specifically, residues 1-5. A cell line producing the 3D6 monoclonal antibody (RB96 3D6.32.2.4) was deposited with the American Type Culture Collection (ATCC), Manassas, VA 20108, USA on April 8, 2003 under the terms of the Budapest Treaty and has deposit number PTA-5130.

[0099] Bapineuzumab means a humanized 3D6 antibody comprising a light chain having a mature variable region having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 1 and a heavy chain having a mature variable region having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 2 is shown below.

[0100] Humanized 3D6 Light Chain Variable Region

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro

Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser

Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys

Pro Gly Gln Ser Pro Gln Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr

Cys Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
Val Glu Ile Lys (SEQ ID NO:1)

[0101] Humanized 3D6 Heavy Chain Variable Region

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
Ser Asn Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
Glu Trp Val Ala Ser Ile Arg Ser Gly Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ser
Asp Asn Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
Tyr Tyr Cys Val Arg Tyr Asp His Tyr Ser Gly Ser Ser Asp Tyr Trp
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO:2)

[0102] Bapineuzumab is known as AAB-001.

[0103] A second version of humanized 3D6 antibody comprising a light chain
having a mature variable region having the amino acid sequence designated SEQ ID NO:
3 and a heavy chain having a mature variable region having the amino acid sequence
designated SEQ ID NO: 4 is shown below.

[0104] Humanized 3D6 Light Chain Variable Region

Tyr Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro
Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser
Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys
Pro Gly Gln Ser Pro Gln Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp
Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr
Cys Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
Val Glu Ile Lys (SEQ ID NO:3)

[0105] Humanized 3D6 Heavy Chain Variable Region

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
Ser Asn Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
Glu Trp Val Ala Ser Ile Arg Ser Gly Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ser
Asp Asn Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu
Tyr Tyr Cys Val Arg Tyr Asp His Tyr Ser Gly Ser Ser Asp Tyr Trp
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO:4)

[0106] A third version of humanized 3D6 antibody comprising a light chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 5 and a heavy chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 6 is described in US 2005/0090649 A1 published on April 28, 2005, which is incorporated herein by reference for all purposes.

[0107] Humanized 3D6 Light Chain

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
Thr His Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys (SEQ ID NO: 5)

[0108] Humanized 3D6 Heavy Chain

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
Ala Ser Ile Arg Ser Gly Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ser Asp Asn Val
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
Val Arg Tyr Asp His Tyr Ser Gly Ser Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Gln Pro Val Thr Val Ser Trp
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gln Leu Leu Gly Gly Pro
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 Lys (SEQ ID NO: 6)

[0109] 12A11 or a chimeric or humanized or nanobody form thereof is a preferred antibody. The 12A11 antibody or a variant thereof, is described in U.S. Patent Publication No. 20050118651, U.S. Patent Publication No. 20060198851, International Patent Publication No. WO 04/108895, and International Patent Publication No. WO 06/066089, all of which are incorporated by reference in their entirety herein for all purposes. 12A11 is a mAb that specifically binds to an N-terminal epitope located in the human β -amyloid peptide, specifically, residues 3-7. A cell line producing the 12A11 monoclonal antibody was deposited at the ATCC (American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209) on December 12, 2005 and has the ATCC accession number PTA-7271.

[0110] A first version of the humanized 12A11 antibody comprising a light chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 7 and a heavy chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 8 (version 1) is described in US 20050118651 A1 published on June 2, 2005, which is incorporated herein by reference for all purposes.

[0111] Humanized 12A11 Light Chain

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile
 Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu
 Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu
 Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

[0112] Humanized 12A11 Heavy Chain (version 1)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
Cys Ala Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro
Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala
Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO: 8)

[0113] A second version of the humanized 12A11 antibody comprising a light chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 7 and a heavy chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 9 (version 2) is described in US 20050118651 A1 published on June 2, 2005, which is incorporated herein by reference for all purposes.

[0114] Humanized 12A11 Light Chain

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile
Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu
Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu
Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO. 7)

[0115] Humanized 12A11 Heavy Chain (version 2)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro
Ser Leu Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala
Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID No: 9)

[0116] A third version of the humanized 12A11 antibody comprising a light chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 7 and a heavy chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 10 (version 2.1) is described in US 20050118651 A1 published on June 2, 2005, which is incorporated herein by reference for all purposes.

[0117] Humanized 12A11 Light Chain

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile
Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu
Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

[0118] Humanized 12A11 Heavy Chain (version 2.1)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro
Ser Leu Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala
Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO: 10)

[0119] A fourth version of the humanized 12A11 antibody comprising a light
chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 7 and a heavy chain
having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 11 (version 3) is described in
US 20050118651 A1 published on June 2, 2005, which is incorporated herein by
reference for all purposes.

[0120] Humanized 12A11 Light Chain

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile
Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu
Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu
Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

[0121] Humanized 12A11 Heavy Chain (version 3)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro
Ser Leu Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala
Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser (SEC ID NO: 11)

[0122] A fifth version of the humanized 12A11 antibody comprising a light chain
having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 7 and a heavy chain having the
amino acid sequence designated SEQ ID NO: 12 (version 4.1) is described in US

20050118651 A1 published on June 2, 2005, which is incorporated herein by reference for all purposes.

[0123] Humanized 12A11 Light Chain

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile
Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu
Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu
Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

[0124] Humanized 12A11 Heavy Chain (version 4.1)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro
Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala
Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO: 12)

[0125] A sixth version of the humanized 12A11 antibody comprising a light chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 7 and a heavy chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 13 (version 4.2) is described in US 20050118651 A1 published on June 2, 2005, which is incorporated herein by reference for all purposes.

[0126] Humanized 12A11 Light Chain

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile
Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu
Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu
Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

[0127] Humanized 12A11 Heavy Chain (version 4.2)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
Cys Ala Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro
Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala
Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO: 13)

[0128] An seventh version of the humanized 12A11 antibody comprising a light chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 7 and a heavy chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 14 (version 4.3) is described in US 20050118651 A1 published on June 2, 2005, which is incorporated herein by reference for all purposes.

[0129] Humanized 12A11 Light Chain

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile
Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu
Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu
Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

[0130] Humanized 12A11 Heavy Chain (version 4.3)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
Cys Ala Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro
Ser Leu Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala
Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO: 14)

[0131] A eighth version of the humanized 12A11 antibody comprising a light chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 7 and a heavy chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 15 (version 4.4) is described in US 20050118651 A1 published on June 2, 2005, which is incorporated herein by reference for all purposes.

[0132] Humanized 12A11 Light Chain

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile
Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu
Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu
Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

[0133] Humanized 12A11 Heavy Chain (version 4.4)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
Cys Ala Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro
Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala
Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO: 15)

[0134] A ninth version of the humanized 12A11 antibody comprising a light chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 7 and a heavy chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 16 (version 5.1) is described in US 20050118651 A1 published on June 2, 2005, which is incorporated herein by reference for all purposes.

[0135] Humanized 12A11 Light Chain

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile
Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu
Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu
Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID. NO: 7)

[0136] Humanized 12A11 Heavy Chain (version 5.1)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro
Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala
Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO: 16)

[0137] A tenth version of the humanized 12A11 antibody comprising a light chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 7 and a heavy chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 17 (version 5.2) is described in US 20050118651 A1 published on June 2, 2005, which is incorporated herein by reference for all purposes.

[0138] Humanized 12A11 Light Chain

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile
Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu
Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu
Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

[0139] Humanized 12A11 Heavy Chain (version 5.2)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro
Ser Leu Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala
Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO: 17)

[0140] An eleventh version of the humanized 12A11 antibody comprising a light chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 7 and a heavy chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 18 (version 5.3) is described in US 20050118651 A1 published on June 2, 2005, which is incorporated herein by reference for all purposes.

[0141] Humanized 12A11 Light Chain

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile
Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu
Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu
Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

[0142] Humanized 12A11 Heavy Chain (version 5.3)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro
Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala
Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Val (SEQ ID NO: 18)

[0143] A twelfth version of the humanized 12A11 antibody comprising a light chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 7 and a heavy chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 19 (version 5.4) is described in US 20050118651 A1 published on June 2, 2005, which is incorporated herein by reference for all purposes.

[0144] Humanized 12A11 Light Chain

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile
Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu
Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu
Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

[0145] Humanized 12A11 Heavy Chain (version 5.4)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
Cys Ala Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro
Ser Leu Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala
Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Val (SEQ ID NO: 19)

[0146] A thirteenth version of the humanized 12A11 antibody comprising a light chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 7 and a heavy chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 20 (version 5.5) is described in US 20050118651 A1 published on June 2, 2005, which is incorporated herein by reference for all purposes.

[0147] Humanized 12A11 Light Chain

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile
Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu
Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu
Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

[0148] Humanized 12A11 Heavy Chain (version 5.5)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
Cys Ala Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro
Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala
Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO: 20)

[0149] A fourteenth version of the humanized 12A11 antibody comprising a light chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 7 and a heavy chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 21 (version 5.6) is described in US 20050118651 A1 published on June 2, 2005, which is incorporated herein by reference for all purposes.

[0150] Humanized 12A11 Light Chain

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile
Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu
Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu
Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

[0151] Humanized 12A11 Heavy Chain (version 5.6)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
Cys Ala Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro
Ser Leu Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala
Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO: 21)

[0152] A fifteenth version of the humanized 12A11 antibody comprising a light chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 7 and a heavy chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 22 (version 6.1) is described in US 20050118651 A1 published on June 2, 2005, which is incorporated herein by reference for all purposes.

[0153] Humanized 12A11 Light Chain

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile
Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu
Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu
Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

[0154] Humanized 12A11 Heavy Chain (version 6.1)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro
Ser Leu Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala
Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO: 22)

[0155] A sixteenth version of the humanized 12A11 antibody comprising a light chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 7 and a heavy chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 23 (version 6.2) is described in US 20050118651 A1 published on June 2, 2005, which is incorporated herein by reference for all purposes.

[0156] Humanized 12A11 Light Chain

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile
Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu
Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu
Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

[0157] Humanized 12A11 Heavy Chain (version 6.2)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro
Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala
Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO: 23)

[0158] A seventeenth version of the humanized 12A11 antibody comprising a light chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 7 and a heavy chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 24 (version 6.3) is described in US 20050118651 A1 published on June 2, 2005, which is incorporated herein by reference for all purposes.

[0159] Humanized 12A11 Light Chain

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile
Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu
Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

[0160] Humanized 12A11 Heavy Chain (version 6.3)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro
Ser Leu Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala
Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO: 24)

[0161] A eighteenth version of the humanized 12A11 antibody comprising a light
chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 7 and a heavy chain
having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 25 (version 6.4) is described in
US 20050118651 A1 published on June 2, 2005, which is incorporated herein by
reference for all purposes.

[0162] Humanized 12A11 Light Chain

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile
Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu
Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu
Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

[0163] Humanized 12A11 Heavy Chain (version 6.4)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
Cys Ala Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro
Ser Leu Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala
Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO: 25)

[0164] A nineteenth version of the humanized 12A11 antibody comprising a light
chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 7 and a heavy chain
having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 26 (version 7) is described in

Sf

US 20050118651 A1 published on June 2, 2005, which is incorporated herein by reference for all purposes.

[0165] Humanized 12A11 Light Chain

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile
Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu
Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu
Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

[0166] Humanized 12A11 Heavy Chain (version 7)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser Gly Met Ser Val Gly Trp Val Arg Gln Ala
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro
Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala
Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO: 26)

[0167] A twentieth version of the humanized 12A11 antibody comprising a light chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 7 and a heavy chain having the amino acid sequence designated SEQ ID NO: 27 (version 8) is described in US 20050118651 A1 published on June 2, 2005, which is incorporated herein by reference for all purposes.

[0168] Humanized 12A11 Light Chain

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile
Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu
Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu
Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

[0169] Humanized 12A11 Heavy Chain (version 8)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
Cys Ala Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro
Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala
Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO: 8)

Any of the antibodies described above can be produced with different isotypes or mutant isotypes to control the extent of binding to different Fc receptors. Antibodies lacking an Fc region (e.g., Fab fragments) lack binding to Fc receptors. Selection of isotype also affects binding to Fc receptors. The respective affinities of various human IgG isotypes for the three Fcγ receptors, FcRI, FcRII, and FcRIII, have been determined (see Ravetch & Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9, 457 (1991)). FcRI is a high affinity receptor that binds to IgGs in monomeric form, and the latter two are low affinity receptors that bind IgGs only in multimeric form. In general, both IgG1 and IgG3 have significant binding activity to all three receptors, IgG4 to FcRI, and IgG2 to only one type of FcRII called IIa_{LR} (see Parren et al., *J. Immunol.* 148, 695 (1992)). Therefore, human isotype IgG1 is usually selected for stronger binding to Fcγ receptors is desired, and IgG2 is usually selected for weaker binding.

[0170] Mutations on adjacent or close sites in the hinge link region (e.g., replacing residues 234, 235, 236 and/or 237 with another residue) in all of the isotypes reduce affinity for Fcγ receptors, particularly FcγRI receptor. Optionally, positions 234, 236 and/or 237 are substituted with alanine and position 235 with glutamine. (See, e.g., US 5,624,821) Position 236 is missing in the human IgG2 isotype. Exemplary segments of amino acids for positions 234, 235 and 237 for human IgG2 are ala ala gly, val ala ala, ala ala ala, val glu ala, and ala glu ala. A preferred combination of mutants is L234A, L235A, and G237A for human isotype IgG1. A particular preferred antibody is bapineuzumab having human isotype IgG and these three mutations of the Fc region. Other substitutions that decrease binding to Fc gamma receptors are an E233P mutation (particularly in mouse IgG1) and D265A.

[0171] Amino acids in the constant region are numbered by alignment with the human antibody EU (see Cunningham et al., *J. Biol. Chem.*, 9, 3161 (1970)). That is, the heavy and light chains of an antibody are aligned with the heavy and light chains of EU to maximize amino acid sequence identity and each amino acid in the antibody is assigned the same number as the corresponding amino acid in EU. The EU numbering system is conventional (see generally, Kabat et al, *Sequences of Protein of Immunological Interest*, NIH Publication No. 91-3242, US Department of Health and Human Services (1991)).

29

[0172] The affinity of an antibody for complement component Clq can be altered by mutating at least one of the amino acid residues 318, 320, and 322 of the heavy chain has been changed to a residue having a different side chain. Other suitable alterations for altering, e.g., reducing or abolishing specific Clq-binding to an antibody include changing any one of residues 318 (Glu), 320 (Lys) and 322 (Lys), to Ala. Clq binding activity can be abolished by replacing any one of the three specified residues with a residue having an inappropriate functionality on its side chain. It is not necessary to replace the ionic residues only with Ala to abolish Clq binding. It is also possible to use other alkyl-substituted non-ionic residues, such as Gly, Ile, Leu, or Val, or such aromatic non-polar residues as Phe, Tyr, Trp and Pro in place of any one of the three residues in order to abolish Clq binding. In addition, it is also possible to use such polar non-ionic residues as Ser, Thr, Cys, and Met in place of residues 320 and 322, but not 318, to abolish Clq binding activity. Replacement of the 318 (Glu) residue by a polar residue may modify but not abolish Clq binding activity. Replacing residue 297 (Asn) with Ala results in removal of lytic activity while only slightly reducing (about three fold weaker) affinity for Clq. This alteration destroys the glycosylation site and the presence of carbohydrate that is required for complement activation. Any other substitution at this site also destroy the glycosylation site.

III. PATIENTS AMENABLE TO (CAA) TREATMENT REGIMES

[0173] Cerebral amyloid angiopathy is also known as congophilic angiopathy or cerebrovascular amyloidosis. It is a disease of small blood vessels in the brain in which deposits of amyloid protein in the vessel walls may lead to stroke, brain hemorrhage, white matter ischemia or dementia. Amyloid protein resembles a starch and is deposited in tissues during the course of certain chronic diseases.

[0174] CAA may affect patients over age 45, but is most common in patients over age 65, and becomes more common with increasing age. Men and women are equally affected. In some cases, CAA is sporadic but it may also be inherited as an autosomal dominant condition (a form of inheritance in which only one copy of a gene coding for a disease need be present for that disease to be expressed; if either parent has the disease, a child has a 50% chance of inheriting the disease). CAA is responsible for 5-20% of brain hemorrhage, and up to 30% of lobar hemorrhages localized to one lobe of the brain. CAA may be found during an autopsy in over one-third of persons over age 60, even

though they may not have had brain hemorrhage, stroke, or other manifestations of the disease during life. In Alzheimer's disease, CAA is more common than in the general population, and may occur in more than 80% of Alzheimer's patients over age 60.

[0175] The cause of amyloid deposits in blood vessels in the brain in sporadic CAA is not known. In hereditary CAA, genetic defects, typically on chromosome 21, allow accumulation of amyloid, a protein made up of units called beta-pleated sheet fibrils. The fibrils tend to clump together, so that the amyloid cannot be dissolved and builds up in the brain blood vessel walls. One form of amyloid fibril subunit proteins is the amyloid beta protein.

[0176] Amyloid deposits may destroy endothelial or smooth muscle cells, or both endothelial or smooth muscle cells, or cause inflammation in the blood vessel wall and may also cause the blood vessel to break more easily. Bleeding into the brain may also occur as tiny blood vessels carrying amyloid deposits become heavier and more brittle, and are therefore more likely to burst with minor trauma or with fluctuating blood pressure. Aneurysms, or ballooning of the blood vessel wall, may develop, and may also rupture as the stretched wall becomes thinner and is under more pressure.

[0177] The most common form of CAA is the sporadic form associated with aging. This type of CAA usually causes lobar hemorrhage, which may recur in different lobes of the brain. The frontal lobe (behind the forehead) and parietal lobe (behind the frontal lobe) are most often affected; the temporal lobe (near the temple) and occipital lobe (at the back of the brain) are affected less often; and the cerebellum (under the occipital lobe) is rarely affected. Approximately 10-50% of hemorrhages in sporadic CAA involve more than one lobe.

[0178] Symptoms of lobar hemorrhage in CAA include sudden onset of headache, neurologic symptoms such as weakness, sensory loss, visual changes, or speech problems, depending on which lobe is involved; and decreased level of consciousness (a patient who is difficult to arouse), nausea, and vomiting. Sporadic CAA may be associated with symptoms unrelated to lobar hemorrhage. Petechial hemorrhages (tiny hemorrhages involving many small vessels) may produce recurrent, brief neurologic symptoms secondary to seizures or decreased blood flow, or may produce rapidly progressive dementia (loss of memory and other brain functions) that worsens in distinct

steps rather than gradually. Over 40% of patients with hemorrhage secondary to CAA also have dementia.

[0179] Genetic factors play a role in certain types of CAA and in diseases associated with CAA:

- Dutch type of hereditary cerebral hemorrhage with amyloidosis (build up of amyloid protein in blood vessels): autosomal dominant, with a genetic mutation involving the amyloid precursor protein. Onset is at age 40-60 with headaches, brain hemorrhage often in the parietal lobe, strokes, and dementia. More than half of patients die from their first hemorrhage. Patients with the Dutch type of CAA may produce an abnormal anticoagulant, or blood thinner, which makes hemorrhage more likely.
- Flemish type of hereditary cerebral hemorrhage with amyloidosis: autosomal dominant, with a mutation involving the amyloid precursor protein. Symptoms include brain hemorrhage or dementia.
- Familial Alzheimer's disease: autosomal dominant, comprising 5-10% of all Alzheimer's disease cases (a brain disease in which death of nerve cells leads to progressive dementia).
- Down Syndrome: caused by trisomy 21 (three rather than two copies of chromosome 21), causing excess amyloid precursor protein gene. Children with Down syndrome are mentally handicapped and may have heart problems.
- Icelandic type of hereditary cerebral hemorrhage with amyloidosis: autosomal dominant, with mutation in the gene coding for cystatin C. Symptoms often begin at age 30-40 with multiple brain hemorrhages, dementia, paralysis (weakness), and death in 10-20 years. Headache occurs in more than half of patients, and seizures occur in one-quarter. Unlike most other forms of CAA, most hemorrhages involve the basal ganglia deep within the brain. (Basal ganglia are islands of tissues in the cerebellum part of the brain.)
- Familial oculo-leptomeningeal amyloidosis: autosomal dominant with unknown gene defect(s), described in Japanese, Italian, and North American families. Symptoms can include dementia, ataxia (problems with coordination), spasticity (limb stiffness), strokes, seizures, peripheral neuropathy (disease affecting the

nerves supplying the limbs), migraine, spinal cord problems, blindness, and deafness. Brain hemorrhage is rare as the amyloid protein is deposited in blood vessels in the eye and meninges (brain coverings), but not in the brain itself. In Italian families with the disease, patients may be affected as early as 20-30 years of age.

- British type of familial amyloidosis: autosomal dominant with unknown gene defect(s), associated with progressive dementia, spasticity, and ataxia. Brain stem, spinal cord, and cerebellum all exhibit amyloid deposits, but hemorrhage typically does not occur.

[0180] In some methods, a patient has CAA and is free of symptoms of Alzheimer's or other disease amenable to treatment by antibodies to A β or agents capable of inducing the same. In other methods, the patient has concurrent CAA and Alzheimer's or other disease amenable to treatment by antibodies to A β or agents capable of inducing the same. In other methods, a patient is free of CAA and Alzheimer's disease and any other disease amenable to treatment by antibodies to A β or agents capable of inducing the same.

[0181] In asymptomatic patients, treatment can begin at any age (*e.g.*, 10, 20, or 30). Usually, however, it is not necessary to begin treatment until a patient reaches 40, 50, 60, or 70. Treatment typically entails multiple dosages over a period of time. Treatment can be monitored by assaying antibody, or activated T-cell or B-cell responses to the therapeutic agent (*antibody to A β* , or a fragment thereof) over time. If the response falls, a booster dosage is indicated.

[0182] Optionally, presence or absence of symptoms, signs or risk factors of a disease is determined before beginning treatment.

IV. DIAGNOSIS AND MONITORING OF CAA PATIENTS

[0183] As in most neurologic diseases, diagnosis is made most often from the patient's history, with careful inquiry into family history and the patient's onset and pattern of symptoms, as well as neurologic examination. Brain computed tomography scan (CT) or magnetic resonance imaging (MRI) may identify lobar hemorrhage, stroke, or petechial hemorrhages, and are important in excluding arteriovenous malformation, brain tumor, or other causes of hemorrhage. Angiography (x-ray study of the interior of

blood vessels and the heart) is not helpful in diagnosis of CAA, but may be needed to exclude aneurysm. Brain biopsy (surgical removal of a small piece of brain tissue) may show characteristic amyloid deposits. If diagnosis is uncertain, biopsy may be needed to rule out conditions which are potentially treatable. Lumbar puncture to examine cerebrospinal fluid proteins may show characteristic abnormalities.

[0184] CAA with hemorrhage must be distinguished from other types of brain hemorrhage. In CAA, hemorrhage typically occurs in the lobar region, often ruptures into the subarachnoid space between the brain and its coverings, and occurs at night. In hemorrhage related to high blood pressure, hemorrhage is usually deeper within the brain, ruptures into the ventricles or cavities deep inside the brain, and occurs during daytime activities. Other causes of brain hemorrhage are arteriovenous malformations, trauma, aneurysms, bleeding into a brain tumor, vasculitis (inflammation of blood vessels), or bleeding disorders. Patients can be monitored for cerebral microhemorrhage by MRI and/or for vascular amyloid removal by positron emission tomography (PET) scan.

[0185] Patients amenable to treatment include individuals at risk of a CAA but not showing symptoms, as well as patients presently showing symptoms.

V. TREATMENT REGIMES

[0186] In prophylactic applications, pharmaceutical compositions or medicaments are administered to a patient susceptible to, or otherwise at risk of a CAA in regime comprising an amount and frequency of administration of the composition or medicament sufficient to eliminate or reduce the risk, lessen the severity, or delay the outset of the disease, including physiological, biochemical, histologic and/or behavioral symptoms of the disease, its complications and intermediate pathological phenotypes presenting during development of the disease. In therapeutic applications, compositions or medicaments are administered to a patient suspected of, or already suffering from such a disease in a regime comprising an amount and frequency of administration of the composition sufficient to cure, or at least partially arrest, the symptoms of the disease (physiological, biochemical, histologic and/or behavioral), including its complications and intermediate pathological phenotypes in development of the disease. An amount adequate to accomplish therapeutic or prophylactic treatment is defined as a therapeutically- or prophylactically-effective dose. A combination of amount and dosage frequency adequate to accomplish therapeutic or prophylactic treatment is defined as a

therapeutically or prophylactically-effective regime. In both prophylactic and therapeutic regimes, agents are usually administered in several dosages until a sufficient immune response has been achieved. Typically, the immune response is monitored and repeated dosages are given if the immune response starts to wane.

[0187] Effective doses of the compositions of the present invention, for the treatment of the above described conditions vary depending upon many different factors, including means of administration, target site, physiological state of the patient, whether the patient is human or an animal, other medications administered, and whether treatment is prophylactic or therapeutic. Usually, the patient is a human but nonhuman mammals including transgenic mammals can also be treated. Treatment dosages need to be titrated to optimize safety and efficacy. The amount of immunogen depends on whether adjuvant is also administered, with higher dosages being required in the absence of adjuvant. The amount of an immunogen for administration sometimes varies from 1-500 μg per patient and more usually from 5-500 μg per injection for human administration. Typically about 10, 20, 50 or 100 μg is used for each human injection. The mass of immunogen also depends on the mass ratio of immunogenic epitope within the immunogen to the mass of immunogen as a whole. Typically, 10^{-3} to 10^{-5} micromoles of immunogenic epitope are used for microgram of immunogen. The timing of injections can vary significantly from once a day, to once a year, to once a decade. On any given day that a dosage of immunogen is given, the dosage is greater than 1 μg /patient and usually greater than 10 μg /patient if adjuvant is also administered, and greater than 10 μg /patient and usually greater than 100 μg /patient in the absence of adjuvant. A typical regimen consists of an immunization followed by booster injections at time intervals, such as 6 week intervals. Another regimen consists of an immunization followed by booster injections 1, 2 and 12 months later. Another regimen entails an injection every two months for life. Alternatively, booster injections can be on an irregular basis as indicated by monitoring of immune response.

[0188] For passive immunization with an antibody, the dosage regime is usually 0.01 to 5 mg/kg, of the host body weight. In particular, the dosage ranges from about 0.5 to less than 5 mg/kg, and more usually 0.5 to 3 mg/kg, of the host body weight. For example dosages can be less than 5 mg/kg body weight or 1.5 mg/kg body weight or within the range of 0.5 to 1.5 mg/kg, preferably at least 1.5 mg/kg. Subjects can be

65

administered such doses daily, on alternative days, weekly or according to any other schedule determined by empirical analysis. An exemplary treatment entails administration in multiple dosages over a prolonged period, for example, of at least six months. Additional exemplary treatment regimes entail administration once per every two weeks or once a month or once every 3 to 6 months.

[0189] Exemplary passive dosage schedules include 1.5-3 mg/kg or 1.5 mg/kg every thirteen weeks. Agents of the invention are usually administered on multiple occasions. Intervals between single dosages can be weekly, monthly, every thirteen weeks, or yearly. Intervals can also be irregular as indicated by measuring blood levels of antibody to A β in the patient.

[0190] In some methods, dosage is adjusted to achieve a plasma antibody concentration of 1-1000 μ g/ml and in some methods 25-300 μ g/ml. Alternatively, antibody can be administered as a sustained release formulation, in which case less frequent administration is required. Dosage and frequency vary depending on the half-life of the antibody in the patient. In general, human antibodies show the longest half-life, followed by humanized antibodies, chimeric antibodies, and nonhuman antibodies.

[0191] Preferred regimes for administering antibodies specific for the N-terminus of A β achieve an average serum concentration of administered antibody of 1-15 μ g/ml in a patient. The serum concentration can be determined by actual measurement or predicted from standard pharmacokinetics (e.g., WinNonline Version 4.0.1 (Pharsight Corporation, Cary, USA)) based on the amount of antibody administered, frequency of administration, route of administration and antibody half-life. The average antibody concentration in the serum is preferably within a range of 1-10, 1-5 or 2-4 μ g/ml.

[0192] For intravenous administration, doses of 0.1 to 5 mg/kg of antibody administered between monthly and quarterly (every 13 weeks are preferred). For quarterly administration, the dose is preferably in a range of 0.5-3, 0.5-2 or 0.5-1.5 mg/kg. Preferred doses of antibody for monthly intravenous administration occur in the range of 0.1-1.0 mg/kg antibody or preferably 0.5-1.0 mg/kg antibody.

[0193] For more frequent dosing, e.g., from weekly to monthly dosing, subcutaneous administration is preferred. The doses used for subcutaneous dosing are usually in the range of 0.1 to 0.6 mg/kg or 0.01-0.35 mg/kg, preferably, 0.05-0.25 mg/kg. For weekly or biweekly dosing, the dose is preferably in the range of 0.015-0.2 mg/kg, or

0.05-0.15 mg/kg. For weekly dosing, the dose is preferably 0.05 to 0.07 mg/kg, e.g., 0.06 mg/kg. For biweekly dosing, the dose is preferably 0.1 to 0.15 mg/kg. For monthly dosing, the dose is preferably 0.1 to 0.3 mg/kg or 2 mg/kg. Monthly dosing includes dosing by the calendar month or lunar month (i.e., every four weeks).

[0194] The treatment regime is usually continued so that the average serum concentrations of antibody described above are maintained for at least six months or a year, and sometimes for life. The serum concentration can be measured at any time during treatment and the dose and/or frequency of administration increased if the average concentration falls beneath a target range or the dose and/or frequency decreased if the average concentration falls above a target range.

[0195] Although determining optimal plasma concentrations of antibody is useful in determining a dosage regime or optimizing dosage in an individual patient, in practice once an effective dosage regime in terms of mg/kg or mg and frequency of administration has been determined, the same dosage regime can be used on many other patients without the need for detailed calculation or measurement of patient titers. Thus, any of the above mentioned dosages and treatment regimes can be used irrespective whether a titer is measured or predicted in a particular patient. For example, one suitable regime is intravenous administration at monthly intervals with a dose in range of 0.1-1.0 mg/kg antibody or preferably 0.5-1.0 mg/kg antibody. For subcutaneous dosing the dose used is usually in the range of 0.01-0.6 mg/kg or 0.01-0.35 mg/kg, preferably, 0.05-0.25 mg/kg. For weekly or biweekly dosing, the dose is preferably in the range of 0.015-0.2 mg/kg, or 0.05-0.15 mg/kg. For weekly dosing, the dose is preferably 0.05 to 0.07 mg/kg, e.g., 0.06 mg/kg. For biweekly dosing, the dose is preferably 0.1 to 0.15 mg/kg. For monthly dosing, the dose is preferably 0.1 to 0.3 mg/kg or 2 mg/kg.

[0196] Here as elsewhere in the application, dosages expressed in mg/kg can be converted to absolute mass dosages by multiplying by the mass of a typical patient (e.g., 70 or 75 kg) typically rounding to a whole number. Expressed in terms of absolute mass, antibodies are usually administered at a dose of 1-40 mg at a frequency of between weekly and monthly. Preferred ranges are 5-25 mg or 2.5-15 mg at a frequency of weekly to monthly. For weekly to biweekly administration, the dose is often 1-12 mg or 2.5 to 10 mg. For weekly administration, the dose is often 2.5 to 5 mg or 4-5 mg. For biweekly administration, the dose can be 7-10 mg. The mass of antibody packaged for administration in unit doses is usually round to whole number, such as 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 75 or 100 mg.

[0197] The dosage and frequency of administration can vary depending on whether the treatment is prophylactic or therapeutic. In prophylactic applications, compositions containing the present antibodies or a cocktail thereof are administered to a patient not already in the disease state to enhance the patient's resistance. Such an amount is defined to be a "prophylactic effective dose." In this use, the precise amounts again depend upon the patient's state of health and general immunity, but generally range from 0.1 to 25 mg per dose, especially 0.5 to 2.5 mg per dose. A relatively low dosage is administered at relatively infrequent intervals over a long period of time. Some patients continue to receive treatment for the rest of their lives.

[0198] In therapeutic applications, a relatively high dosage (*e.g.*, from about 10 to 250 mg of antibody per dose, with dosages of from 5 to 25 mg being more commonly used) at relatively short intervals is sometimes required until progression of the disease is reduced or terminated, and preferably until the patient shows partial or complete amelioration of symptoms of disease. Thereafter, the patient can be administered a prophylactic regime.

[0199] Agents of the invention can optionally be administered in combination with other agents that are at least partly effective in treatment of amyloidogenic disease. In the case of CAA, in which amyloid deposits occur in the brain vasculature, agents of the invention can also be administered in conjunction with other agents that increase passage of the agents of the invention across the blood-brain barrier.

[0200] Doses for nucleic acids encoding immunogens range from about 10 ng to 1 g, 100 ng to 100 mg, 1 µg to 10 mg, or 30-300 µg DNA per patient. Doses for infectious viral vectors vary from 10-100, or more, virions per dose.

[0201] Agents for inducing an immune response can be administered by parenteral, topical, intravenous, oral, subcutaneous, intraarterial, intracranial, intrathecal, intraperitoneal, intranasal or intramuscular means for prophylactic and/or therapeutic treatment. The most typical route of administration of an immunogenic agent is subcutaneous although other routes can be equally effective. The next most common route is intramuscular injection. This type of injection is most typically performed in the arm or leg muscles. In some methods, agents are injected directly into a particular tissue where deposits have accumulated, for example intracranial injection. Intramuscular injection or intravenous infusion are preferred for administration of antibody. In some

methods, particular therapeutic antibodies are injected directly into the cranium. In some methods, antibodies are administered as a sustained release composition or device, such as a MedipadTM device.

[0202] As noted above, agents inducing an immunogenic response against A β respectively can be administered in combination. The agents can be combined in a single preparation or kit for simultaneous, sequential or separate use. The agents can occupy separate vials in the preparation or kit or can be combined in a single vial. These agents of the invention can optionally be administered in combination with other agents that are at least partly effective in treatment of CAA. The glycosaminoglycan-mimetic CEREBRILL (Neurochem) is currently in clinical trials for treatment of CAA. Most patients with CAA should be counseled to avoid agents that "thin the blood" or interfere with blood clotting. The medicine with the strongest effect on blood clotting (and thus the riskiest for CAA patients) is warfarin (also known by its trade name "Coumadin"). Other medicines that have weaker effects on the blood are aspirin, ticlopidine ("Ticlid"), clopidogrel ("Plavix"), and most of the anti-inflammatory medications such as ibuprofen. Also it is usually prudent to monitor the blood pressure after a patient recovers from a bleeding stroke and maintain it in the normal range. Seizures, or recurrent neurologic symptoms thought to be seizures, should be treated with anti-epileptic drugs, although Depakote (sodium valproate) should be avoided because of its antiplatelet effect. Anti-epileptic drugs are sometimes given to patients with large lobar hemorrhage in an attempt to prevent seizures, although the benefit of this is unclear. Surgery may be needed to remove brain hemorrhage. CAA may be rarely associated with cerebral vasculitis, or inflammation of the blood vessel walls. In these cases treatment with steroids or immune system suppressants may be helpful.

[0203] Immunogenic agents of the invention, such as peptides, are sometimes administered in combination with an adjuvant. A variety of adjuvants can be used in combination with a peptide to elicit an immune response. Preferred adjuvants augment the intrinsic response to an immunogen without causing conformational changes in the immunogen that affect the qualitative form of the response. Preferred adjuvants include aluminum hydroxide and aluminum phosphate, 3 De-O-acylated monophosphoryl lipid A (MPLTM) (see GB 2220211 (RIBI ImmunoChem Research Inc., Hamilton, Montana, now part of Corixa). StimulonTM QS-21 is a triterpene glycoside or saponin isolated from the bark of the Quillaja Saponaria Molina tree found in South America (see Kensil et al.,

Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach (eds. Powell & Newman, Plenum Press, NY, 1995); US Patent No. 5,057,540, Aquila BioPharmaceuticals, Framingham, MA. Other adjuvants are oil in water emulsions (such as squalene or peanut oil), optionally in combination with immune stimulants, such as monophosphoryl lipid A (see Stoute et al., *N. Engl. J. Med.* 336, 86-91 (1997)), pluronic polymers, and killed mycobacteria. Another adjuvant is CpG (WO 98/40100). Alternatively, A β can be coupled to an adjuvant. However, such coupling should not substantially change the conformation of the immunogen as to affect the nature of the immune response thereto. Adjuvants can be administered as a component of a therapeutic composition with an active agent or can be administered separately, before, concurrently with, or after administration of the therapeutic agent.

[0204] A preferred class of adjuvants is aluminum salts (alum), such as alum hydroxide, alum phosphate, alum sulfate. Such adjuvants can be used with or without other specific immunostimulating agents such as MPL or 3-DMP, QS-21, polymeric or monomeric amino acids such as polyglutamic acid or polylysine. Another class of adjuvants is oil-in-water emulsion formulations. Such adjuvants can be used with or without other specific immunostimulating agents such as muramyl peptides (*e.g.*, N-acetylmuramyl-L-threonyl-D-isoglutamine (thr-MDP), N-acetyl-normuramyl-L-alanyl-D-isoglutamine (nor-MDP), N-acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-L-alanine-2-(1'-2'dipalmitoyl-sn-glycero-3-hydroxyphosphoryloxy)-ethylamine (MTP-PE), N-acetylglucosaminyl-N-acetylmuramyl-L-Al-D-isoglu-L-Ala-dipalmitoxy propylamide (DTP-DPP) theramideTM), or other bacterial cell wall components. Oil-in-water emulsions include (a) MF59 (WO 90/14837), containing 5% Squalene, 0.5% Tween 80, and 0.5% Span 85 (optionally containing various amounts of MTP-PE) formulated into submicron particles using a microfluidizer such as Model 110Y microfluidizer (Microfluidics, Newton MA), (b) SAF, containing 10% Squalene, 0.4% Tween 80, 5% pluronic-blocked polymer L121, and thr-MDP, either microfluidized into a submicron emulsion or vortexed to generate a larger particle size emulsion, and (c) RibiTM adjuvant system (RAS), (Ribi ImmunoChem, Hamilton, MT) containing 2% squalene, 0.2% Tween 80, and one or more bacterial cell wall components from the group consisting of monophosphoryllipid A (MPL), trehalose dimycolate (TDM), and cell wall skeleton (CWS), preferably MPL + CWS (DetoxTM).

10

[0205] Another class of preferred adjuvants is saponin adjuvants, such as Stimulon™ (QS-21, Aquila, Framingham, MA) or particles generated therefrom such as ISCOMs (immunostimulating complexes) and ISCOMATRIX. Other adjuvants include RC-529, GM-CSF and pharmaceutically acceptable grades of Incomplete Freund's Adjuvant (IFA) (sold under the trade name of Montanide). Other adjuvants include cytokines, such as interleukins (*e.g.*, IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-12, IL-13, and IL-15), macrophage colony stimulating factor (M-CSF), granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF), and tumor necrosis factor (TNF). Another class of adjuvants is glycolipid analogues including N-glycosylamides, N-glycosylureas and N-glycosylcarbamates, each of which is substituted in the sugar residue by an amino acid, as immuno-modulators or adjuvants (*see* US Pat. No. 4,855,283). Heat shock proteins, *e.g.*, HSP70 and HSP90, may also be used as adjuvants.

[0206] An adjuvant can be administered with an immunogen as a single composition, or can be administered before, concurrent with or after administration of the immunogen. Immunogen and adjuvant can be packaged and supplied in the same vial or can be packaged in separate vials and mixed before use. Immunogen and adjuvant are typically packaged with a label indicating the intended therapeutic application. If immunogen and adjuvant are packaged separately, the packaging typically includes instructions for mixing before use. The choice of an adjuvant and/or carrier depends on the stability of the immunogenic formulation containing the adjuvant, the route of administration, the dosing schedule, the efficacy of the adjuvant for the species being vaccinated, and, in humans, a pharmaceutically acceptable adjuvant is one that has been approved or is approvable for human administration by pertinent regulatory bodies. For example, Complete Freund's adjuvant is not suitable for human administration. Alum, MPL and QS-21 are preferred. Optionally, two or more different adjuvants can be used simultaneously. Preferred combinations include alum with MPL, alum with QS-21, MPL with QS-21, MPL or RC-529 with GM-CSF, and alum, QS-21 and MPL together. Also, Incomplete Freund's adjuvant can be used (Chang et al., *Advanced Drug Delivery Reviews* 32, 173-186 (1998)), optionally in combination with any of alum, QS-21, and MPL and all combinations thereof.

[0207] Agents of the invention are often administered as pharmaceutical compositions comprising an active therapeutic agent, *i.e.*, and a variety of other pharmaceutically acceptable components. *See Remington's Pharmaceutical Science* (15th

ed., Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 1980). The preferred form depends on the intended mode of administration and therapeutic application. The compositions can also include, depending on the formulation desired, pharmaceutically-acceptable, non-toxic carriers or diluents, which are defined as vehicles commonly used to formulate pharmaceutical compositions for animal or human administration. The diluent is selected so as not to affect the biological activity of the combination. Examples of such diluents are distilled water, physiological phosphate-buffered saline, Ringer's solutions, dextrose solution, and Hank's solution. In addition, the pharmaceutical composition or formulation may also include other carriers, adjuvants, or nontoxic, nontherapeutic, nonimmunogenic stabilizers and the like.

[0208] Pharmaceutical compositions can also include large, slowly metabolized macromolecules such as proteins, polysaccharides such as chitosan, polylactic acids, polyglycolic acids and copolymers (such as latex functionalized sepharose(TM), agarose, cellulose, and the like), polymeric amino acids, amino acid copolymers, and lipid aggregates (such as oil droplets or liposomes). Additionally, these carriers can function as immunostimulating agents (*i.e.*, adjuvants).

[0209] For parenteral administration, agents of the invention can be administered as injectable dosages of a solution or suspension of the substance in a physiologically acceptable diluent with a pharmaceutical carrier that can be a sterile liquid such as water oils, saline, glycerol, or ethanol. Additionally, auxiliary substances, such as wetting or emulsifying agents, surfactants, pH buffering substances and the like can be present in compositions. Other components of pharmaceutical compositions are those of petroleum, animal, vegetable, or synthetic origin, for example, peanut oil, soybean oil, and mineral oil. In general, glycols such as propylene glycol or polyethylene glycol are preferred liquid carriers, particularly for injectable solutions. Antibodies can be administered in the form of a depot injection or implant preparation which can be formulated in such a manner as to permit a sustained release of the active ingredient. An exemplary composition comprises monoclonal antibody at 5 mg/mL, formulated in aqueous buffer consisting of 50 mM L-histidine, 150 mM NaCl, adjusted to pH 6.0 with HCl. Compositions for parenteral administration are typically substantially sterile, substantially isotonic and manufactured under GMP conditions of the FDA or similar body. For example, compositions containing biologics are typically sterilized by filter sterilization. Compositions can be formulated for single dose administration.

12

[0210] Typically, compositions are prepared as injectables, either as liquid solutions or suspensions; solid forms suitable for solution in, or suspension in, liquid vehicles prior to injection can also be prepared. The preparation also can be emulsified or encapsulated in liposomes or micro particles such as polylactide, polyglycolide, or copolymer for enhanced adjuvant effect, as discussed above (*see* Langer, *Science* 249, 1527 (1990) and Hanes, *Advanced Drug Delivery Reviews* 28, 97-119 (1997)). The agents of this invention can be administered in the form of a depot injection or implant preparation, which can be formulated in such a manner as to permit a sustained or pulsatile release of the active ingredient.

[0211] Additional formulations suitable for other modes of administration include oral, intranasal, and pulmonary formulations, suppositories, and transdermal applications.

[0212] For suppositories, binders and carriers include, for example, polyalkylene glycols or triglycerides; such suppositories can be formed from mixtures containing the active ingredient in the range of 0.5% to 10%, preferably 1%-2%. Oral formulations include excipients, such as pharmaceutical grades of mannitol, lactose, starch, magnesium stearate, sodium saccharine, cellulose, and magnesium carbonate. These compositions take the form of solutions, suspensions, tablets, pills, capsules, sustained release formulations or powders and contain 10%-95% of active ingredient, preferably 25%-70%.

[0213] Topical application can result in transdermal or intradermal delivery. Topical administration can be facilitated by co-administration of the agent with cholera toxin or detoxified derivatives or subunits thereof or other similar bacterial toxins (*See* Glenn et al., *Nature* 391, 851 (1998)). Co-administration can be achieved by using the components as a mixture or as linked molecules obtained by chemical crosslinking or expression as a fusion protein.

[0214] Alternatively, transdermal delivery can be achieved using a skin patch or using transferosomes (Paul et al., *Eur. J. Immunol.* 25, 3521-24 (1995); Cevc et al., *Biochem. Biophys. Acta* 1368, 201-15 (1998)).

VI. KITS

[0215] The invention further provides therapeutic products. The products comprise a glass vial and instructions. The glass vial contains a formulation comprising about 10 mg to about 250 mg of a humanized anti A β antibody, about 4% mannitol or

about 150 mM NaCl, about 5 mM to about 10 mM histidine, and about 10 mM methionine. The instructions include monitoring the patient for cerebral microhemorrhage by MRI or monitoring the patient for vascular amyloid removal by PET scan.

EXAMPLES

EXAMPLE 1

MATERIALS AND METHODS

[0216] **Study Design.** The effects of chronic, passive immunization on established VA β in the PDAPP mouse were examined in two studies. Study A was designed to compare the efficacy of an N-terminal antibody (3D6, recognizing A β 1-5) with a mid-region antibody (266, recognizing A β 16-23) at a single dose. Study B was a 3D6 dose-response study. In both studies, 12-month-old, female, heterozygous PDAPP mice were divided into groups of 40; the groups were matched as closely as possible for age and transgenic parent. In a separate assessment, a group of 40 animals was sacrificed at t_0 to determine vascular amyloid levels at 12 months of age. As outlined in Table 1, mice in treatment groups were injected intraperitoneally with murine monoclonal antibodies 3D6 γ 2a (at 3 dose levels), 266 γ 1, or TY11-15 (as negative control). All treated animals received an initial loading dose of 250% of the planned weekly dose. Doses per animal were calculated based on the historical average weight of a PDAPP mouse in this age range, 50 grams. Animals were treated weekly for approximately 6 months (26 weeks). After termination of the in-life phase, VA β and microhemorrhage presence and extent were evaluated. All work was performed in accordance with Elan IACUC guidelines.

[0217] **Preparation of antibodies.** Preparation methods for antibodies 3D6 (recognizing A β 1-5), 266 (recognizing A β 16-23), and 12A11 (recognizing A β 3-7) have been described previously (see K. Johnson-Wood et al., *Proc Natl Acad Sci U S A* 94, 1550-5 (1997), P. Seubert et al., *Nature* 359, 325-7 (1992), F. Bard et al., *Proc Natl Acad Sci U S A* 100, 2023-8 (2003)). TY11/15 (IgG_{2a} isotype) served as the irrelevant control antibody. It recognizes an unknown human lymphocyte antigen and does not recognize mouse lymphocytes. Antibodies 3D6 and 12A11 were labeled with NHS-biotin as described previously (see P. Seubert et al., *Nature* 359, 325-7 (1992)).

14

[0218] **Brain tissue preparation for histochemistry.** Animals were deeply anesthetized with isoflurane and perfused with saline intracardially. One hemisphere from each brain was immersion-fixed for 48 hours in 4% paraformaldehyde at 4°C and sectioned coronally at 40 µm on a vibrating-blade microtome. The sections were stored in antifreeze solution (30% glycerol/30% ethylene glycol in 40 mM Na₂HPO₄, pH 7.4) at -20°C prior to immunostaining. Four to 6 sections, spanning the rostral hippocampal level at 240-µm intervals, were selected from each brain for analysis. Brains and sections in which the frontal cortex was damaged during the removal from the skull were excluded from analyses. Final numbers are indicated in the Results. Sections were stained and analyzed by investigators blinded to the treatment status.

[0219] **VAβ and microhemorrhage co-labeling histochemical procedure:** Aβ deposits were labeled with biotinylated antibodies 3D6 (3.0 µg/ml) or 12A11 (3.0 µg/ml) in 1% horse serum in PBS overnight at 4°C. The floating sections were then reacted with an avidin-biotinylated horseradish peroxidase complex and developed using 3,3'-diaminobenzidine. Sections were then mounted on slides and co-stained with a Perls iron reaction (see M.M. Racke et al., *supra*) modified by incubation at 37°C to intensify hemosiderin reaction product. The presence of hemosiderin is an indication of a past microhemorrhage event.

[0220] **VAβ analysis:** 3D6-immunoreactive blood vessels were assessed in each animal by classifying the animal to one of 2 categories reflecting the amount of VAβ: "none to little VAβ" (≤3 amyloid-positive vessels in any single section per animal) or "moderate VAβ" (>3 amyloid-positive vessels in any single section per animal). This classification method was developed by counting the number of all amyloid-containing vessels in the tissues from studies A and B and using a ROC curve to identify a cutoff that was the optimal one to balance the sensitivity and specificity. Vessels were counted if they contained any amount of amyloid, so both partially cleared vessels and uncleared vessels were counted. Pairwise comparisons using Fisher's Exact Test (FET) were performed to identify significant differences in VAβ. Within each study, the Hochberg method (see Y. Hochberg, *Biometrika* 75, 800-802 (1988)) was used to adjust for multiple pairwise comparisons.

[0221] **Microhemorrhage analysis:** Each animal was scored on a 0-3 scale for presence, amount, location, and intensity of hemosiderin staining across the sections. A

75

score of "0" indicated very little or no staining, a "1" indicated small punctuate or weak staining in a few sections per animal, a "2" was assigned to contiguous accumulations with greater staining intensity in multiple sections, and "3" reflected the darkest observed staining in most of the sections, usually encompassing most of the surrounding affected vessel. These ratings were designed to reflect the range of hemosiderin-positive staining confined to the present preclinical animal study, and therefore do not represent or translate to ratings of clinical hemorrhagic disorders. Pair-wise comparisons using Fisher's exact test were performed to test for differences between treatment groups. Observations were also made regarding the morphological appearance of the immunolabeled amyloid and its spatial relationship with hemosiderin. Within each study, the Hochberg method (see Y. Hochberg, *supra*) was used to adjust for multiple pairwise comparisons.

RESULTS

[0222] **Vascular A β .** VA β was prominent in the leptomeninges and superficial parenchyma of untreated, 18-month-old PDAPP mice as revealed by thioflavin S staining (Figure 1a) for compact amyloid and by antibody 3D6 (Figure 1b), which recognizes both compact and diffuse amyloid in the PDAPP mouse and human AD (Figure 1c). VA β was largely confined to the meninges and immediately underlying superficial brain layers (Figure 1d). It was especially predominant in the cortex, particularly in midline vessels of the sagittal sinus, and similar distributions of VA β were revealed by thioflavin S (Figure 1) and antibody 3D6 (Figure 1b) in both mouse and human tissues (Figure 1c).

[0223] In the single dose comparison study of the N-terminal and mid-region antibodies (Study A), 3D6 at 3 mg/kg completely cleared or prevented VA β compared with either 266 or TY11-15 (Figure 2a-e); these differences were statistically significant (p-values <0.0001 for both comparisons). 3D6 treatment also lowered the parenchymal amyloid plaque burden by 98% (p<0.0001), while 266 produced no effect. VA β was present at moderate levels in 23% of 12-month-old mice before the start of treatment. FET p-values <0.025 are statistically significant using the Hochberg method of multiple comparisons.

[0224] In the 3D6 dose-response study (Study B, Figure 3a-d), VA β was again significantly cleared or prevented by 3D6 treatment at the 3.0 mg/kg 3D6 dose level compared to treatment with the TY11-15 control (p<0.001). There was also clearance or

prevention of VA β at the intermediate dose level (0.3 mg/kg) vs. control (p=0.016). There was no difference between the 0.1 mg/kg dose group and the TY11-15 control group (p=0.8037). FET p-values <0.025 are statistically significant, using the Hochberg method of multiple comparisons. Although the number of vessels was not significantly different, partial clearance of amyloid was observed from vessels in this group at the microscopic level (Figure 4a, b). While intact A β forms masses and bands that encompass an unaffected leptomeningeal vessel as shown in Figure 4a, VA β has a patchy, eroded appearance during partial clearance (Figure 4b). This morphology is not seen in untreated mice.

[0225] **Hemosiderin rating.** In order to distinguish the subtle differences among treatment groups, a hemosiderin rating scale was developed that reflects the range of staining densities found within this study. Hemosiderin staining, indicative of microhemorrhage, was limited and confined to the structural boundaries of the vasculature without spread into the surrounding parenchyma. Focal hemosiderin deposits were found in vessels of the leptomeninges of the cortex (Figure 5a-f) and the hippocampal thalamic interface, the sagittal sinus vessels at the medial cortex, a few parenchymal vessels at right angles and connected to the leptomeningeal vessels. Hemosiderin was usually concentrated within macrophage-like cells in these areas. The foci of hemosiderin were often associated with altered VA β morphology: instead of the characteristic distinct bands and scales of VA β deposition (e.g., Figure 4a), the amyloid had an unusual patchy, degraded appearance (e.g., Figure 4b) or was completely absent. These features were particularly notable in the leptomeningeal (Figure 5) and sagittal sinus vessels, which often displayed well-developed VA β morphology in the TY11-15 control groups and untreated mice (Figures 2 and 3).

[0226] Hemosiderin staining was predominantly absent or mild in all treatment groups, with the majority of animals across groups having scores of 0 or 1 (Figure 6). Scores in the 3D6 3 mg/kg treatment groups of both studies were significantly higher, indicating that these were more likely than the control to have hemosiderin scores greater than 0. In Study A, the distributions of hemosiderin scores were similar in the TY11-15 and 266 groups indicating that treatment with 266 antibody was not likely to increase hemosiderin scores. In Study B, the incidence of microhemorrhage was shown to be mitigated by dose. No significant differences were found between the TY11-15 control group and the 0.1 mg/kg 3D6 and 0.3 mg/kg 3D6 groups, indicating that the low and

intermediate doses were not likely to increase hemosiderin ratings beyond baseline levels. These differed from the 3.0 mg/kg group, which, again, significantly differed from controls. Compared to Study A, the higher hemosiderin scores in the 3.0 mg/kg group could be due to differences in antibody exposure levels over time and slightly higher baseline levels in the cohort as scores were slightly elevated in the control group.

[0227] **Association of VA β clearance and microhemorrhage.** Significant clearance or prevention of vascular amyloid was observed in the 0.3 mg/kg and 3.0 mg/kg groups in both studies. The majority of animals in these groups had hemosiderin scores of 0 or 1, indicating that most brains with reduced VA β had little or no evidence of microhemorrhage. Several examples of hemosiderin-negative vessels with unusually sparse VA β and an eroded appearance were found in all of the treatment groups (e.g., Figure 4b); these may be vessels in which amyloid was being cleared in the absence of microhemorrhage. When hemosiderin staining was seen in 0.1 mg/kg 3D6-treated animals (Figure 5d), it was typically accompanied a patchy, perivascular distribution of amyloid, possibly indicative of clearance in progress. These perivascular patches of amyloid occurred at sites of vessel-associated hemosiderin labeling within the cortical meninges, parenchyma, and the sagittal sinus vessels. Hemosiderin staining in the 0.3 mg/kg 3D6-treated animals also accompanied a patchy, perivascular distribution of amyloid (Figure 5e). The amyloid morphology was similar to that in the 0.1 mg/kg 3D6-treated animals, but amyloid was less abundant, and some hemosiderin-positive vessels were cleared of amyloid. Both complete and partial amyloid removal were observed at sites of vessel-associated hemosiderin staining, including the cortical meninges and parenchyma. In contrast, hemosiderin-positive vessels in the 3 mg/kg 3D6-treated animals were often completely devoid of amyloid (Figure 5f). This feature was never observed in untreated mice and likely illustrates a residual hemosiderin "footprint" that occurred in a subset of vessels with complete VA β removal. Another feature in these areas was the presence of cells that have phagocytosed hemosiderin (Figure 5f). These macrophage-like cells were not immunoreactive for A β and therefore appear to be a separate population from the microglia and macrophages that remove plaque-associated amyloid.

DISCUSSION

[0228] CAA has been identified as an independent risk factor for cognitive impairment and is associated with significant pathologies such as hemorrhage and ischemic damage (see S.M. Greenberg et al., *Stroke* 35, 2616-9 (2004)). In typical cases, progressive CAA leads to the destruction of smooth muscle cells in the meningeal and parenchymal vasculature, presumably leading to tonal impairment and compromise of both perfusion and perivascular clearance systems (see R. Christie et al., *Am J Pathol* 158, 1065-71 (2001), S.D. Preston et al., *Neuropathol Appl Neurobiol* 29, 106-17 (2003)).

We show here for the first time evidence of the near-complete clearance or prevention of VA β by an N-terminal-specific A β antibody (3D6) in a chronic immunotherapeutic treatment paradigm with peripherally administered antibody. Although an understanding of mechanism is not required for practice of the invention, the effect was likely dependent on the ability to robustly bind deposited amyloid, since a mid-region A β antibody (266), which binds deposited A β in vivo much less avidly, showed no evidence of clearing or preventing VA β . Although a growing body of evidence suggests that the formation and composition of vascular amyloid may differ from that of parenchymal plaques (see M.C. Herzog et al., *Nat Neurosci* 7, 954-60 (2004)), antibody 3D6 is competent to clear both forms and thus has a broad spectrum of amyloid-reducing activity.

[0229] Previous studies investigating the effects of A β immunotherapy and brain microvasculature in APP transgenic mice have reported an increased incidence of microhemorrhage. However, a clear cause-and-effect relationship between VA β and microhemorrhage has not been described. In this report we showed that the majority of deposited vascular amyloid was cleared without inducing microhemorrhage and augmented earlier observations by demonstrating that the incidence of microhemorrhage was associated with VA β removal. Moreover, the limited areas with microhemorrhages were focally restricted to the architectural boundaries of the vasculature that did not involve the parenchyma. These were associated with either partial or complete removal of VA β . Importantly, microhemorrhage could be significantly mitigated by modulating the antibody dose within ranges that still effectively cleared parenchymal amyloid plaques.

[0230] Racke and colleagues (see M.M. Racke et al., *supra*) reported the infrequent occurrence of microhemorrhage in PDAPP mice following a significantly

larger dose of 3D6 after a 6-week treatment period. Notably, the extent of the reported microhemorrhage was also larger than any observed incidence in the current study, in keeping with our findings of a positive correlation between antibody dose and microhemorrhage scores. Our observations agree with their findings regarding the inability of 266 to bind deposited amyloid or induce microhemorrhage and extend these findings to show that 266 is also not able to clear VA β .

[0231] In APP transgenic mice with very severe VA β pathology (APP23 mice) cerebral hemorrhage occurs spontaneously and, similarly to human patients, likely is a result of derangement and loss of smooth muscle cells and other destructive consequences of A β -related toxicity (see R. Christie et al., *supra*). Passive immunization of APP23 mice using an N-terminal region A β antibody initially exacerbated the incidence and extent of the baseline hemorrhage (see M. Pfeifer et al., *Science* 298, 1379 (2002)). However, subsequent ultrastructural studies could not find structural differences in the vasculature of treated and non-immunized control (see G.J. Burbach et al., *supra*). The conclusion was that immunotherapy did not lead to or exacerbate overt damage to the vascular wall, despite the severity of the baseline VA β pathology. The present study differs from the previous report by examining a model with little spontaneous microhemorrhage and in which A β and hemosiderin were co-labeled. We documented the co-localization of A β removal and microhemorrhage and found that focal microhemorrhage occurred only in a subset of vessels being cleared of amyloid. Since our quantitation method did not distinguish between partially cleared and intact VA β , the absolute degree of clearance was likely underestimated.

[0232] The relationship between clearance of parenchymal and vascular amyloid is not entirely understood. However, recent reports indicate a co-modulatory relationship likely exists between the two pathologies which may be further clarified in the context of plaque removal (see D.M. Wilcock et al, *supra*; M.C. Herzog et al., *supra*; J.A. Nicoll et al., *J Neuropathol Exp Neurol* 65, 1040-8 (2006)). For example, breeding mutant APP mice with heavy VA β to those with heavy parenchymal plaque loads actually decreases VA β , suggesting that plaques can provide a template for A β that would otherwise deposit onto the vasculature (see M.C. Herzog et al., *supra*). Conversely, Wilcock and colleagues (see D.M. Wilcock et al, *supra*) showed an increase in both VA β during the course of parenchymal plaque removal in a passive immunization paradigm, suggesting A β

displacement from parenchymal to vascular compartments may occur during the course of immunotherapy.

[0233] In the current study we demonstrate that VA β can be nearly completely cleared or prevented following passive immunization, which is accompanied by an increased incidence of microhemorrhage that could be diminished by antibody dosage. AD patients and APP transgenic mouse models of AD both show increased incidence of microhemorrhage associated with the progression of VA β . The microhemorrhage described here could potentially be explained by an increase in VA β during the period of clearance of parenchymal plaques as described by Wilcock (see D.M. Wilcock et al, *supra*), which in the present model would be expected to be transient, since VA β was ultimately cleared by the termination of the study. Alternatively, in the Wilcock study, a different mouse model and antibody was used, thus the VA β changes may reflect a fundamental mechanistic difference in regards to different antibody epitopes and animal models. In any event, it seems likely that the eventual cumulative incidence of microhemorrhage may actually be lower following 3D6 treatment, assuming that the removal of existing VA β and prevention of further deposition will have a prophylactic effect towards further microhemorrhage associated with progressive VA β . In other words, both treatment-related VA β and VA β -contingent microhemorrhage might be transient phenomena that would not persist after VA β is ultimately removed. Taken together, findings from preclinical models indicate that mechanisms associated with the formation and clearance of VA β warrant further study. Importantly, a recent study has shown that immunization with full length A β peptide in TG 2576 mice actually improves the integrity of the blood brain barrier (i.e. reduced the permeability of Evan's blue), suggesting that these multiple factors might in fact have a positive impact on the vasculature (see D.L. Dickstein et al., *supra*). It should be noted the immunization with the total A β peptide results in antibodies directed primarily to the N terminus similar to the epitope of 3D6.

[0234] About 80% of AD patients are affected by at least mild CAA, with clinically detrimental consequences of hemorrhage, white matter degeneration, ischemia and inflammation (see S.M. Greenberg et al., *supra*). The findings from our study provide evidence that A β immunotherapy can potentially reverse or prevent the progression of a significant vascular pathology for which there is currently no treatment and further extend the potential therapeutic benefits of anti-A β immunotherapy.

EXAMPLE 2**MATERIALS AND METHODS**

[0235] The effects of structural changes induced by amyloid on smooth muscle cells (SMC) and extracellular matrix (ECM) of PDAPP mouse vessels and the effects of passive immunization on SMC and ECM of PDAPP mouse vessels were examined.

[0236] Mice were immunized weekly for either 3 or 9 months with 1 or 3 mg/Kg of 3D6 antibody. High-resolution, quantitative immunohistochemical (IHC) analyses of vascular components (α -actin for SMC and collagen-IV for ECM) were performed on meningeal vessels from the sagittal sinus, where VA β deposition is prominent (~70% of vessels affected). Microhemorrhage events were monitored by hemosiderin detection or ferritin immunohistochemistry.

RESULTS

[0237] In the current study we demonstrate that changes in the vascular wall are invariably associated with VA β , and they included both degeneration (decreased thickness) and hyperplasia/hypertrophy (increased thickness) of SMC and ECM. These two contrasting findings were often observed in the same vessel and were not present in wild type animals or PDAPP vessels lacking amyloid. The extreme degrees of thickening and thinning of the SM resulted in a widely variable vascular phenotype in untreated PDAPP mice.

[0238] Passive immunotherapy restored the pattern of vascular SMC and ECM thicknesses and reduced the phenotypic variability in a dose- and time-dependent manner, with the high dose of 3D6 reaching control levels (wild type) at 9 months ($p>0.05$). Although the incidence of microhemorrhage increased in the 3-month group, it reduced to control levels after 9 months of treatment ($p>0.05$). Our results suggest that passive immunotherapy allows the recovery of meningeal vessels from amyloid-induced structural changes. Furthermore, the treatment-related increase in microhemorrhage appears to be a transient event that resolves during VA β clearance. Mechanisms of repair may be triggered by VA β removal, which ultimately lead to recovery from vascular dysfunction.

[0239] Although the foregoing invention has been described in detail for purposes of clarity of understanding, it will be obvious that certain modifications may be practiced

82

within the scope of the appended claims. All publications and patent documents cited herein, as well as text appearing in the figures, are hereby incorporated by reference in their entirety for all purposes to the same extent as if each were so individually denoted.

83

WHAT IS CLAIMED IS:

1. A method of treating CAA, comprising

administering to a patient having or suspected of having CAA an effective regime of an agent, wherein the agent is antibody that is specific for the N-terminus of A β or induces such an antibody after administration to the patient and thereby treating the patient.
2. The method of claim 1, wherein the agent is an antibody.
3. The method of claim 2, wherein the agent is an antibody that binds within residues 1-5 of A β .
4. The method of claim 2, wherein the antibody is a humanized, human, or chimeric antibody.
5. The method of claim 4, wherein the antibody is humanized 3D6 or humanized 12A11.
6. The method of claim 5, wherein the 3D6 humanized antibody is bapineuzumab.
7. The method of claim 1, wherein the agent is a fragment of A β .
8. The method of claim 7, wherein the fragment begins at residue 1 of A β and ends at one of residues 5-10 of A β .
9. The method of claim 7, wherein the fragment is A β 1-7.
10. The method of claim 7, wherein the fragment of A β is administered with a pharmaceutically acceptable adjuvant.
11. The method of claim 7, wherein the fragment of A β is linked to a carrier that helps the fragment induce antibodies to the fragment.
12. The method of claim 11, wherein the carrier is linked to the C-terminus of the fragment.

13. The method of claim 1, further comprising determining that a patient has CAA, wherein the determining step occurs before the administration step.
14. The method of claim 13, wherein the determining step determines that a patient is suffering from a clinical symptom of CAA.
15. The method of claim 1, wherein the patient lacks plaques characteristic of Alzheimer's disease in the brain.
16. The method of claim 14, wherein the patient lacks symptoms of Alzheimer's disease.
17. The method of claim 1, wherein the patient has had a heart attack or stroke.
18. The method of claim 1, wherein the dosage of the antibody is between about 0.01 to about 5 mg/kg.
19. The method of claim 1, wherein the dosage of the antibody is between about 0.1 to about 5 mg/kg.
20. The method of claim 18, wherein the dosage is about 0.5 mg/kg.
21. The method of claim 18, wherein the dosage is about 1.5 mg/kg.
22. The method of claim 18, wherein the dosage is between about 0.5 to about 3 mg/kg.
23. The method of claim 18, wherein the dosage is between about 0.5 to about 1.5 mg/kg.
24. The method of claim 18, wherein the dosage is administered on multiple occasions.
25. The method of claim 18, wherein the dosage is administered is weekly to quarterly.
26. The method of claim 18, wherein the dosage is administered every 13 weeks.

85

27. The method of claim 1, wherein the antibody is administered intravenously or subcutaneously.

28. The method of claim 1, further comprising monitoring for changes in signs or symptoms of CAA responsive to the administering step.

29. The method of claim 1, further comprising administering a second agent effective to treat CAA.

30. A method of effecting prophylaxis against CAA, comprising administering to a patient susceptible to CAA an effective regime of an agent, wherein the agent is an antibody that is specific for the N-terminus of A β or induces such an antibody after administration to the patient and thereby effecting prophylaxis of the patient.

31. Use of an agent, wherein the agent is an antibody that is specific for the N-terminus of A β or induces such an antibody after administration to the patient, in the treatment or prophylaxis of Alzheimer's disease.

32. A method of reducing vascular amyloid in a patient, comprising administering an antibody that is specific for the N-terminus of A β in a treatment regime associated with efficacious vascular amyloid removal and reduced incidence of cerebral microhemorrhage.

33. The method of claim 32, further comprising monitoring the patient for cerebral microhemorrhage by MRI.

34. The method of claim 32, further comprising monitoring the patient for vascular amyloid removal by PET scan.

35. The method of claim 32, wherein the treatment regime is a chronic treatment regime.

36. The method of claim 32, wherein the treatment regime comprises an antibody dosage between 0.01 and 5 mg/kg body weight of the patient and administered weekly to quarterly.

37. The method of claim 36, wherein the dosage of the antibody is 0.1 to 5 mg/kg.

38. The method of claim 36, wherein the dosage is about 0.5 mg/kg.

39. The method of claim 36, wherein the dosage is about 1.5 mg/kg.

40. The method of claim 36, wherein the dosage is between about 0.5 to about 3 mg/kg.

41. The method of claim 36, wherein the dosage is between about 0.5 to about 1.5 mg/kg.

42. The method of claim 36, wherein the dosage is administered every 13 weeks.

43. The method of claim 32, wherein the antibody is administered intravenously or subcutaneously.

44. The method of claim 32, wherein the antibody binds within residues 1-5 of A β .

45. The method of claim 32, wherein the antibody is a humanized, human, or chimeric antibody.

46. The method of claim 45, wherein the antibody is humanized 3D6 or humanized 12A11.

47. The method of claim 46, wherein the humanized antibody is bapineuzumab.

48. A method of treating Alzheimer's disease, comprising administering an antibody that is specific for the N-terminus of A β at a dose that reduces or inhibits development of vascular amyloidogenic pathology, minimizes microhemorrhage, and or reduces or inhibits development of A β plaques.

49. The method of claim 48, wherein the antibody binds within residues 1-5 of A β .
50. The method of claim 48, wherein the antibody is a humanized, human, or chimeric antibody.
51. The method of claim 50, wherein the antibody is humanized 3D6 or humanized 12A11.
52. The method of claim 51, wherein the humanized antibody is bapineuzumab.
53. A method of treating Alzheimer's disease, comprising administering an antibody that is specific for the N-terminus of A β at a dose that reduces or inhibits development of vascular amyloidogenic pathology, minimizes microhemorrhage, and or reduces or inhibits development of neuritic pathology.
54. The method of claim 53, wherein the antibody binds within residues 1-5 of A β .
55. The method of claim 53, wherein the antibody is a humanized, human, or chimeric antibody.
56. The method of claim 55, wherein the antibody is humanized 3D6 or humanized 12A11.
57. The method of claim 56, wherein the humanized antibody is bapineuzumab.
58. A method of treating Alzheimer's disease, comprising administering an antibody that is specific for the N-terminus of A β at a dose that reduces or inhibits vascular amyloidogenic pathology, minimizes microhemorrhage, and or improves patient's cognitive function.
59. The method of claim 58, wherein the antibody binds within residues 1-5 of A β .

60. The method of claim 58, wherein the antibody is a humanized, human, or chimeric antibody.

61. The method of claim 60, wherein the antibody is humanized 3D6 or humanized 12A11.

62. The method of claim 61, wherein the humanized antibody is bapineuzumab.

63. The method of any of claims 48-62, wherein the reduction or inhibition of vascular amyloidogenic pathology is a prevention of accumulation of vascular A β or clearance of vascular A β .

64. A kit for treatment of CAA, comprising:

- a. a glass vial containing a formulation; and
- b. instructions to monitor a patient to whom the formulation is administered for CAA.

65. A kit for treatment of CAA, comprising:

- a. a glass vial containing a formulation comprising about 0.5 to 3 mg/kg of a humanized anti-A β antibody; and
- b. instructions to monitor a patient to whom the formulation is administered for CAA comprising:
 - i. monitoring the patient for cerebral microhemorrhage by MRI,
 - or
 - ii. monitoring the patient for vascular amyloid removal by PET scan.

66. A kit for treatment of CAA, comprising:

- a. a glass vial containing a formulation comprising:

- i. between about 10 mg to about 250 mg of a humanized anti-A β antibody,
 - ii. about 4% mannitol or about 150 mM NaCl,
 - iii. about 5 mM to about 10 mM histidine, and
 - iv. about 10 mM methionine; and
- b. instructions to monitor a patient to whom the formulation is administered for CAA comprising:
- i. monitoring the patient for cerebral microhemorrhage by MRI, or
 - ii. monitoring the patient for vascular amyloid removal by PET scan.

67. A kit for treatment of Alzheimer's disease, comprising:

- a. a glass vial containing a formulation comprising:
 - i. between about 10 mg to about 250 mg of a humanized anti-A β antibody,
 - ii. about 4% mannitol or about 150 mM NaCl,
 - iii. about 5 mM to about 10 mM histidine, and
 - iv. about 10 mM methionine; and
- b. instructions to monitor a patient to whom the formulation is administered for Alzheimer's disease comprising:
 - i. monitoring the patient for cerebral microhemorrhage by MRI, or
 - ii. monitoring the patient for vascular amyloid removal by PET scan.

68. A kit for treatment of CAA and Alzheimer's disease, comprising:
- a. a glass vial containing a formulation comprising:
 - i. between about 10 mg to about 250 mg of a humanized anti-A β antibody,
 - ii. about 4% mannitol or about 150 mM NaCl,
 - iii. about 5 mM to about 10 mM histidine, and
 - iv. about 10 mM methionine; and
 - b. instructions to monitor a patient to whom the formulation is administered for CAA and Alzheimer's disease comprising:
 - i. monitoring the patient for cerebral microhemorrhage by MRI,or
 - ii. monitoring the patient for vascular amyloid removal by PET scan.
69. The method of claim 2, wherein the antibody is administered in a regime sufficient to maintain an average serum concentration of the antibody in the patient in a range of 1-15 μ g antibody/ml serum and thereby treating the patient.
70. The method of claim 69, wherein the average serum concentration is within a range of 1-10 μ g antibody/ml serum.
71. The method of claim 70, wherein the average serum concentration is within a range of 1-5 μ g antibody/ml serum.
72. The method of claim 71, wherein the average serum concentration is within a range of 2-4 μ g antibody/ml serum.
73. The method of claim 69, wherein the antibody is administered intravenously.

92

74. The method of claim 73, wherein a dose of 0.5-1.0 mg/kg is administered monthly.
75. The method of claim 74, wherein a dose of 0.1-1.0 mg/kg is administered monthly.
76. The method of claim 2, wherein the antibody is administered subcutaneously.
77. The method of claim 76, wherein the antibody is administered at a frequency between weekly and monthly.
78. The method of claim 76, wherein the antibody is administered weekly or biweekly.
79. The method of claim 76, wherein the antibody is administered at a dose of between about 0.01 to about 0.35 mg/kg.
80. The method of claim 76, wherein the antibody is administered at a dose of between about 0.05 to about 0.25 mg/kg.
81. The method of claim 76, wherein the antibody is administered at a dose of between about 0.015 to about 0.2 mg/kg weekly to biweekly.
82. The method of claim 76, wherein the antibody is administered at a dose of between about 0.05 to about 0.15 mg/kg weekly to biweekly.
83. The method of claim 76, wherein the antibody is administered at a dose of between about 0.05 to about 0.07 mg/kg weekly.
84. The method of claim 76, wherein the antibody is administered at a dose of 0.06 mg/kg weekly.
85. The method of claim 76, wherein the antibody is administered at a dose of between about 0.1 to about 0.15 mg/kg biweekly.
86. The method of claim 2, wherein the average serum concentration of the antibody is maintained for at least six months.

87. The method of claim 2, wherein the average serum concentration of the antibody is maintained for at least one year.

88. The method of claim 2, further comprising measuring the concentration of antibody in the serum and adjusting the regime if the measured concentration falls outside the range.

89. The method of claim 2, wherein the antibody is administered subcutaneously at a dose of between about 0.01 to about 0.6 mg/kg and a frequency of between weekly and monthly.

90. The method of claim 2, wherein the antibody is administered at a dose of between about 0.05 to about 0.5 mg/kg.

91. The method of claim 89, wherein the antibody is administered at a dose of between about 0.05 to about 0.25 mg/kg.

92. The method of claim 89, wherein the antibody is administered at a dose of between about 0.015 to about 0.2 mg/kg weekly to biweekly.

93. The method of claim 89, wherein the antibody is administered at a dose of between about 0.05 to about 0.15 mg/kg weekly to biweekly.

94. The method of claim 89, wherein the antibody is administered at a dose of between about 0.05 and about 0.07 mg/kg weekly.

95. The method of claim 89, wherein the antibody is administered at a dose of 0.06 mg/kg weekly.

96. The method of claim 89, wherein the antibody is administered at a dose of between about 0.1 to about 0.15 mg/kg biweekly.

97. The method of claim 89, wherein the antibody is administered at a dose of between about 0.1 to about 0.3 mg/kg monthly.

98. The method of claim 89, wherein the antibody is administered at a dose of 0.2 mg/kg monthly.

93

99. The method of claim 2, wherein the antibody is administered at a dose of between about 1 to about 40 mg and a frequency of between weekly and monthly.

100. The method of claim 99, wherein the antibody is administered at a dose of between about 5 to about 25 mg.

101. The method of claim 99, wherein the antibody is administered at a dose of between about 2.5 to about 15 mg.

102. The method of claim 99, wherein the antibody is administered at a dose of between about 1 to about 12 mg weekly to biweekly.

103. The method of claim 99, wherein the antibody is administered at a dose of between about 2.5 to about 10 mg weekly to biweekly.

104. The method of claim 99, wherein the antibody is administered at a dose of between about 2.5 to about 5 mg weekly.

105. The method of claim 99, wherein the antibody is administered at a dose of between about 4 to about 5 mg weekly.

106. The method of claim 98, wherein the antibody is administered at a dose of between about 7 to about 10 mg biweekly.

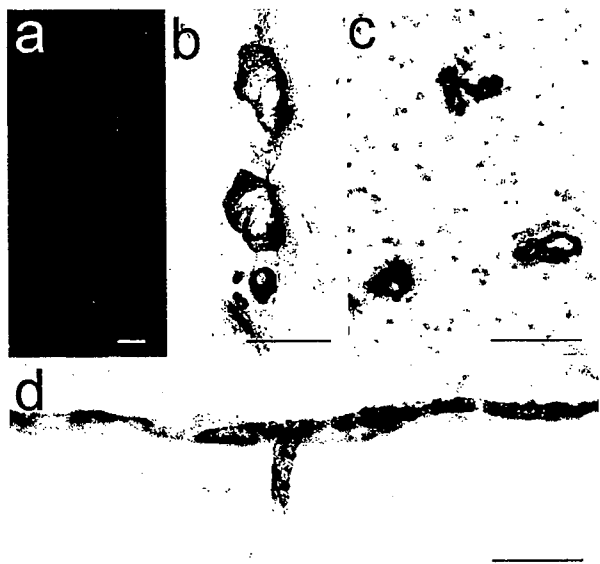


Figure 1

2/6

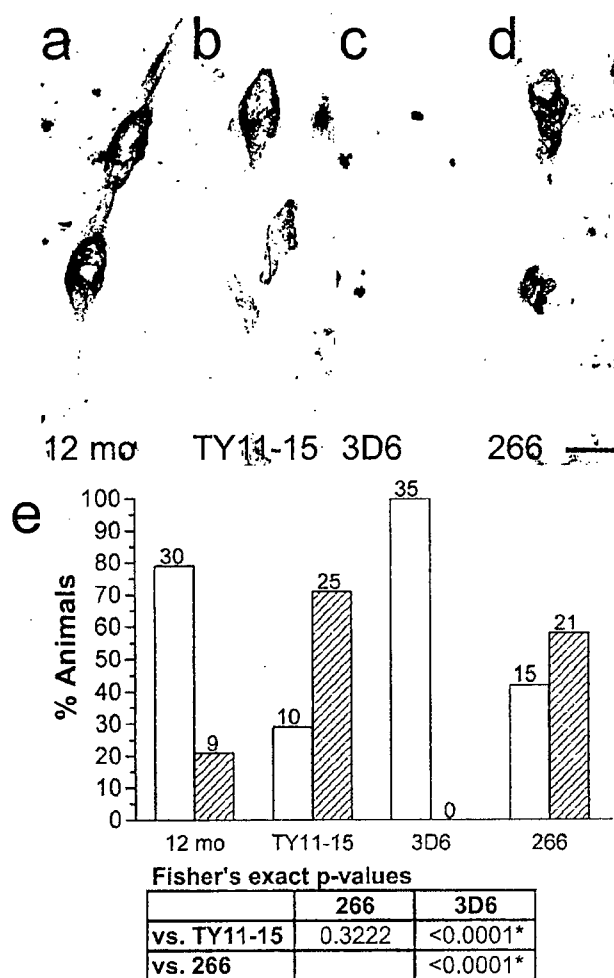


Figure 2

3/6

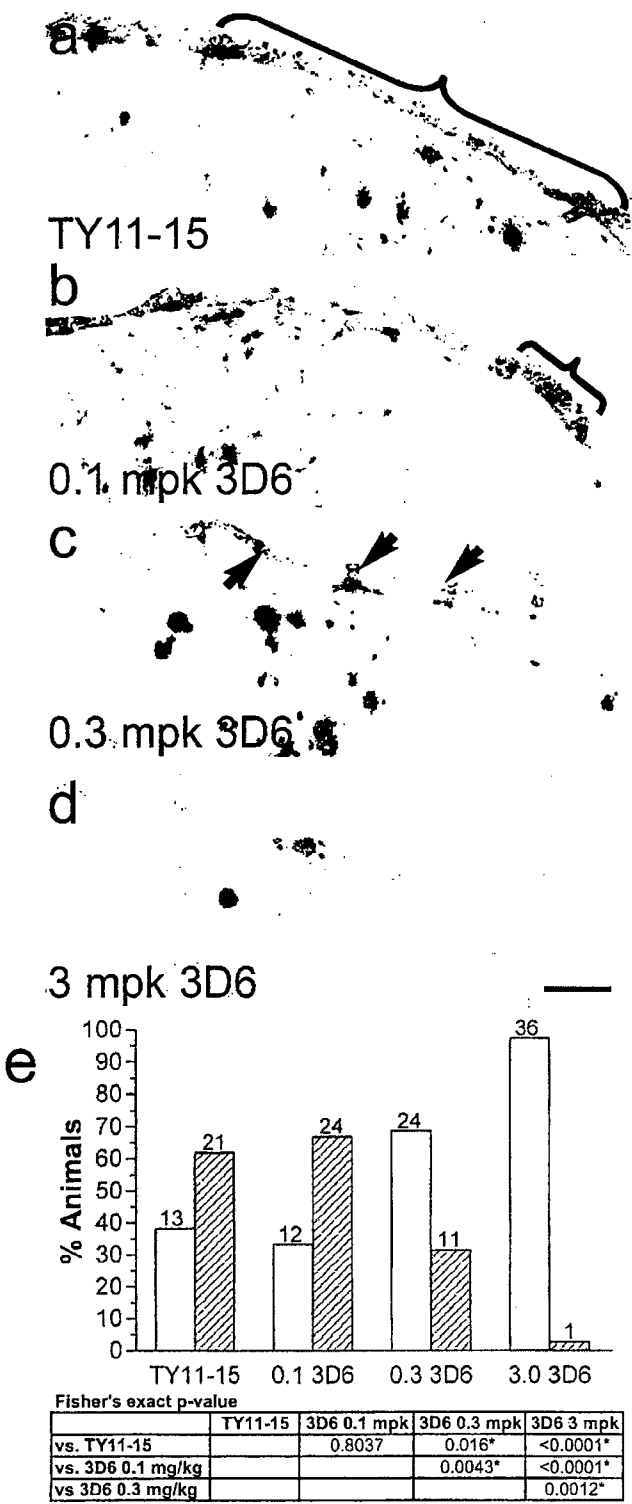


Figure 3

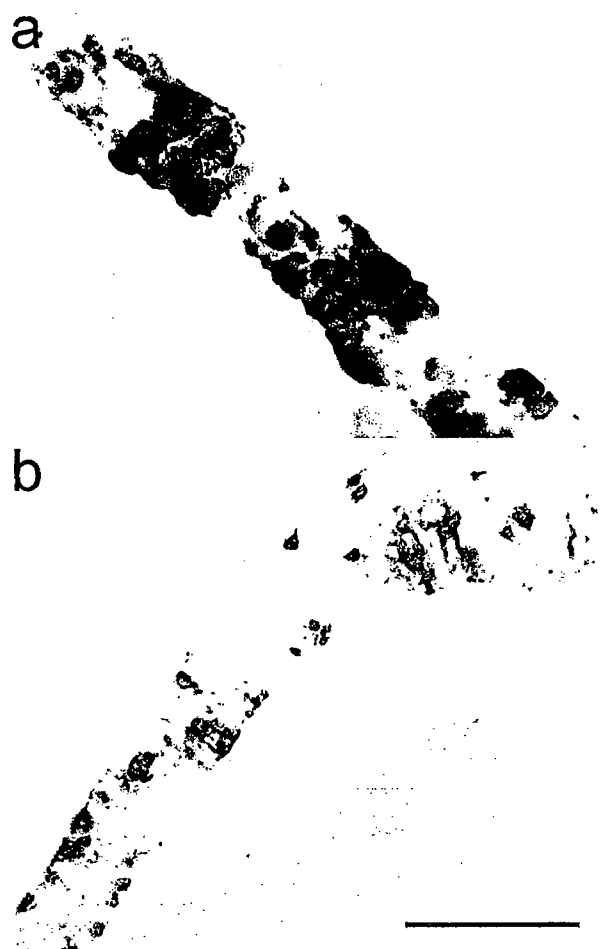


Figure 4

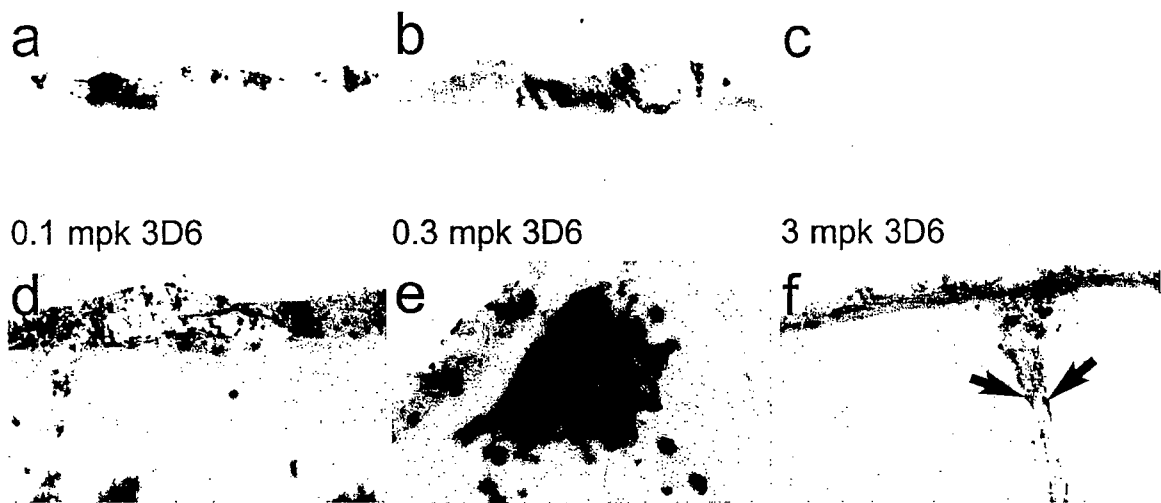


Figure 5

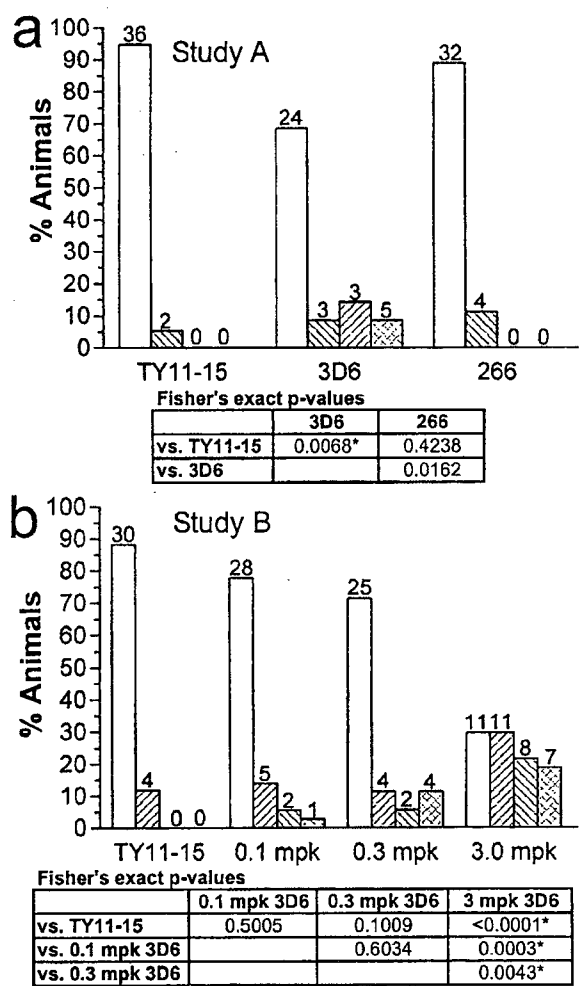


Figure 6

PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE ANGIOPATÍA AMILOIDE CEREBRAL

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La sobreexpresión de proteína precursora de amiloide humana mutante (APP) en varios ratones transgénicos conduce a
5 varias lesiones tipo enfermedad de Alzheimer (AD) [para revisiones véase D. Games et al., *J. Alzheimers Dis* 9, (2006); J. Gotz et al., *Mol. Psychiatry* 9, 664-83 (2004). Estas incluyen el desarrollo de placas amiloide-beta (A β) parenquimales, patología neurítica, pérdida sináptica y
10 gliosis. Un número de reportes han demostrado que los procedimientos inmunoterapéuticos A β activos (véase D. Schenk et al., *Nature* 400, 173-7 (1999); D. L. Dickstein et al., *Faseb J* 20, 426-33 (2006)) y pasivos (véase F. bard et al., *Nat Med* 6, 916-9 (2000); M. Buttini et al., *J. Neurosci* 25, 9096-101
15 (2005); D. M. Wilcock et al., *J. Neuroinflammation* 1, 24 (2004)) son efectivos para reducir o eliminar estas patologías en estudios preclínicos (véase R. P. Brendza y D. M. Holzman, *Alzheimer Dis Assoc Disord* 20, 118-23 (2006); C. A. Lemere et al., *Rejuvenation Res* 9, 77-84 (2006)). Además, muchos estudios
20 han mostrado mejoras en varias pruebas cognoscitivas (véase D. M. Wilcock et al., *supra*; C. Janus et al., *Nature* 408, 979-82 (2000); D. Morgan et al., *Nature* 408, 982-5 (2000)). Estos hallazgos son apoyados por el montaje de hallazgos correlativos tanto de pruebas de memoria como de examen neuropatológico de
25 cerebros de pacientes que han sido enrolados en pruebas clínicas de inmunoterapia de A β (AN1792), véase J. A. Nicoll et al., *Nat Med* 9, 448-52 (2003); I. Ferrer et al., *Brain Pathol* 14, 11-20 (2004); S. Gilman et al., *Neurology* 64, 1553-62 (2005).

30 Recientemente, otro aspecto común de patología AD, A β vascular (VA β), ha sido la materia de escrutinio en estudios de

animales transgénicos APP preclínicos. En particular, se ha reportado que la inmunización pasiva ha sido asociada con un incremento en VA β y microhemorragia (véase D. M. Wilcock et al., *supra*; M. M. Racke et al., *J. Neurosci* 25, 629-36 (2005)).

5 Sin embargo, implicaciones clínicas predictivas siguen siendo confusas, especialmente a la luz de resultados conductuales favorables en algunos de estos mismos estudios (véase D. M. Wilcock et al., *supra*), la carencia de diferencias ultraestructurales en morfología vascular de los vasos

10 hemosiderina-positivos en ratones transgénicos sin tratar y tratados (véase G. J. Burbach et al., *Neurobiol. Aging* 28, 202-12 (2007)) y notablemente, la carencia de evidencias por sangrado significativo o consecuencias relacionadas con accidentes cerebrovasculares en estudios clínicos en marcha.

15 Además, se sabe poco acerca del grado al cual VA β es finalmente aceptado por procedimientos inmunoterapéuticos A β ; por ejemplo, si las medidas resultantes en paradigmas de tratamiento cónicos podrían diferir de estudios más agudos. Por ejemplo, no se sabe si los incrementos reportados en VA β representan un fenómeno

20 transitorio asociado con el despeje de A β , en tanto que el tratamiento más largo podría realmente impedir o invertir amiloide vascular. Finalmente, los efectos de VA β en ratones transgénicos. Pueden variar de acuerdo con la mutación de APP empleada, puesto que el grado relativo de A β 40 a partir de A β 42

25 probablemente influencia tanto las propiedades de agregación de A β también como la eficiencia del enlace de ciertos anticuerpos, particularmente aquellos con epítomos C-terminales.

30

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La invención proporciona métodos para tratar

terapéuticamente CAA. Los métodos comprenden administrar a un paciente que tiene o se sospecha que tiene CAA, un régimen efectivo de un agente. En algunos métodos, el agente es un anticuerpo que es específico para el término N de A β y mediante esto, tratar al paciente. Opcionalmente, el agente es un anticuerpo que se enlaza dentro de los residuos 1-5 de A β . Opcionalmente, el anticuerpo es un anticuerpo humanizado, humano o quimérico. Opcionalmente, el anticuerpo humanizado es 3D6. Opcionalmente, el anticuerpo humanizado 3D6 es batineuzumab. Opcionalmente, el anticuerpo humanizado es 12A11.

En algunos métodos, el agente es un fragmento de A β . Opcionalmente, el fragmento comienza en el residuo 1 de A β y termina en uno de los residuos 5-10 de A β . Opcionalmente, el fragmento es A β 1-7. Opcionalmente, el fragmento A β es administrado con un adyuvante aceptable farmacéuticamente. Opcionalmente, el fragmento A β es enlazado a un portador que ayuda al fragmento a inducir anticuerpos al fragmento. Opcionalmente, el portador es enlazado al término C del fragmento A β .

Algunos métodos de la invención comprenden además determinar que un paciente tiene CAA, en donde la etapa de determinación ocurre antes de la etapa de rehabilitación. En algunos métodos, la etapa de determinación determina que un paciente está sufriendo de un síntoma clínico de CAA.

En algunos métodos, el tratamiento terapéuticamente de CAA del paciente carece de placas características de la enfermedad de Alzheimer en el cerebro. Opcionalmente, el paciente carece de placas características de la enfermedad de Alzheimer en el cerebro y el paciente carece de síntomas de enfermedad de Alzheimer. En algunos métodos para tratar terapéuticamente CAA, el paciente ha tenido un ataque al

corazón o accidente cerebrovascular.

Opcionalmente, los métodos comprenden administrar una dosificación del anticuerpo de entre aproximadamente 0.01 a aproximadamente 5 mg/Kg. Opcionalmente, los métodos comprenden
5 administrar una dosificación del anticuerpo de entre aproximadamente 0.1 a aproximadamente 5 mg/Kg. Opcionalmente, los métodos comprenden administrar una dosificación de aproximadamente 0.5 mg/Kg. Opcionalmente, los métodos comprenden administrar una dosificación de aproximadamente 1.5
10 mg/Kg. Opcionalmente, los métodos comprenden administrar una dosificación de entre aproximadamente 0.5 a aproximadamente 3 mg/Kg. Opcionalmente, los métodos comprenden administrar una dosificación de entre aproximadamente 0.5 a aproximadamente 1.5 mg/Kg. Opcionalmente, los métodos comprenden administrar un
15 anticuerpo en múltiples ocasiones. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado semanal a trimestralmente. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado cada 13 semanas. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado intravenosa o subcutáneamente.

Opcionalmente, el anticuerpo es administrado en un
20 régimen suficiente para mantener una concentración en el suero promedio del anticuerpo en el paciente en un intervalo de 1-15 microgramos de anticuerpo/ml de suero y mediante esto tratar un paciente. Opcionalmente, la concentración promedio en el suero está dentro de un intervalo de 1-10 microgramos de
25 anticuerpo/ml de suero. Opcionalmente, la concentración promedio del suero está dentro del intervalo de 1-5 microgramos de anticuerpo/ml de suero. Opcionalmente, la concentración promedio del suero está dentro del intervalo de 2-4 microgramos de anticuerpo/ml de suero. Opcionalmente, el anticuerpo es
30 administrado en un régimen suficiente para mantener una concentración promedio en el suero del anticuerpo que es

mantenida por al menos un año. Opcionalmente, la concentración promedio en el suero del anticuerpo es mantenida por al menos 6 meses.

En algunos métodos, en donde el agente es un anticuerpo, opcionalmente, comprende además medir la concentración del anticuerpo en el suero y ajustar el régimen si la concentración medida cae fuera del intervalo. En algunos métodos, en donde el agente es un anticuerpo, opcionalmente, comprende además medir la concentración del anticuerpo en el suero y ajustar el régimen si la concentración medida cae dentro del intervalo.

Opcionalmente, el anticuerpo es administrado intravenosamente en un régimen suficiente para mantener una concentración promedio en el suero del anticuerpo en el paciente en un intervalo de 1-15 microgramos de anticuerpo/ml de suero y mediante esto tratar al paciente. Opcionalmente, se administra intravenosamente una dosis de 0.5-1.0 mg/Kg mensualmente. Opcionalmente, se administra intravenosamente una dosis de 0.1-1.0 mg/Kg mensualmente.

Opcionalmente, el anticuerpo es administrado subcutáneamente. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado subcutáneamente a una frecuencia entre semanal y mensualmente. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado subcutáneamente semanal o bisemanalmente. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado subcutáneamente a una dosis de entre aproximadamente 0.01 a aproximadamente 0.35 mg/Kg. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado subcutáneamente a una dosis de entre aproximadamente 0.05 a aproximadamente 0.25 mg/Kg. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado subcutáneamente a una dosis de entre aproximadamente 0.015 a aproximadamente 0.2 mg/Kg semanal a bisemanalmente.

Opcionalmente, el anticuerpo es administrado subcutáneamente a una dosis de entre aproximadamente 0.05 a aproximadamente 0.15 mg/Kg semanal a bisemanalmente. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado subcutáneamente a una dosis de entre aproximadamente 0.05 a aproximadamente 0.07 mg/Kg semanalmente. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado subcutáneamente a una dosis de 0.06 mg/Kg semanalmente. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado subcutáneamente a una dosis de entre aproximadamente 0.1 a aproximadamente 0.15 mg/Kg bisemanalmente.

Opcionalmente, el anticuerpo es administrado subcutáneamente a una dosis de entre aproximadamente 0.01 a aproximadamente 0.6 mg/Kg y una frecuencia semanal y mensualmente. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado subcutáneamente a una dosis de entre aproximadamente 0.05 a aproximadamente 0.25 mg/Kg. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado subcutáneamente a una dosis de entre aproximadamente 0.015 a aproximadamente 0.2 mg/Kg semanal a bisemanalmente. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado subcutáneamente a una dosis de entre aproximadamente 0.05 a aproximadamente 0.15 mg/Kg semanal a bisemanalmente. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado subcutáneamente a una dosis de entre aproximadamente 0.05 a aproximadamente 0.07 mg/Kg semanalmente. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado subcutáneamente a una dosis de 0.06 mg/Kg semanalmente. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado subcutáneamente a una dosis de entre aproximadamente 0.05 y aproximadamente 0.7 mg/Kg semanalmente. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado subcutáneamente a una dosis de entre aproximadamente 0.1 a aproximadamente 0.7 mg/Kg bisemanalmente, Opcionalmente, el anticuerpo es administrado subcutáneamente a

una dosis de entre aproximadamente 0.1 a aproximadamente 0.3 mg/Kg mensualmente. Opcionalmente, el anticuerpo ha sido administrado a una dosis de 0.2 mg/Kg mensualmente.

Algunos métodos de la invención comprenden además
5 monitorear cambios en signos o señales o síntomas de CAA responsables a la etapa de administración. Algunos métodos de la invención comprenden además administrar un segundo agente efectivo para tratar CAA.

La invención proporciona métodos para efectuar
10 profilaxis contra CAA. Los métodos comprenden administrar a un paciente susceptible a CAA un régimen efectivo de un agente. El agente es anticuerpo que es específico para el término N de A β o el agente induce tal anticuerpo después de su administración al paciente y efectúa mediante esto profilaxis del paciente. La
15 invención proporciona el uso de un agente, en donde el agente es un anticuerpo que es específico para el término N de A β o induce tal anticuerpo después de la administración al paciente, en el tratamiento o profilaxis de enfermedad de Alzheimer.

La invención proporciona métodos para reducir
20 amiloide vascular en un paciente. Los métodos comprenden administrar un anticuerpo que es específico para el término N de A β en un régimen de tratamiento asociado con la remoción de amiloide vascular eficaz e incidencia reducida de microhemorragia cerebral. Algunos métodos comprenden además el
25 monitoreo del paciente en cuanto a microhemorragia cerebral mediante MRI. Algunos métodos comprenden además el monitoreo del paciente en cuanto a remoción amiloide vascular mediante barrido de PET. Opcionalmente, en algunos métodos, el régimen de tratamiento es un régimen de tratamiento crónico.
30 Opcionalmente, en algunos métodos, el régimen de tratamiento comprende una dosificación de anticuerpo de entre 0.01 y 5

mg/Kg de peso corporal del paciente y administrado semanal a cada 3 meses. Opcionalmente, en algunos métodos, la dosificación del anticuerpo es de 0.1 a 5 mg/Kg. Opcionalmente, en algunos métodos, la dosificación es de aproximadamente 0.5 mg/Kg. Opcionalmente, en algunos métodos, la dosificación es de aproximadamente 1.5 mg/Kg. Opcionalmente, en algunos métodos, la dosificación es de entre aproximadamente 0.5 a aproximadamente 3 mg/Kg. Opcionalmente, en algunos métodos, la dosificación es de entre aproximadamente 0.5 a aproximadamente 1.5 mg/Kg. Opcionalmente, en algunos métodos, la dosificación es administrada cada 13 semanas. Opcionalmente, en algunos métodos, el anticuerpo es administrado intravenosa o subcutáneamente. Opcionalmente, el agente es un anticuerpo que se enlaza dentro de las regiones 1-5 de A β . Opcionalmente, el anticuerpo es un anticuerpo humanizado, humano o quimérico. Opcionalmente, el anticuerpo humanizado es 3D6. Opcionalmente, el anticuerpo humanizado 3D6 es bapineuzumab. Opcionalmente, el anticuerpo humanizado es 12A11.

La invención proporciona métodos para el tratamiento de enfermedad de Alzheimer. Los métodos comprenden administrar un anticuerpo que es específico para el término N de A β a una dosis que reduce o inhibe el desarrollo de patología amiloidogénica vascular, minimiza la microhemorragia y/o reduce o inhibe el desarrollo de placas A β . Opcionalmente, en algunos métodos el anticuerpo se enlaza dentro de los residuos 1-5 de A β . Opcionalmente, el anticuerpo es un anticuerpo humanizado, humano o quimérico. Opcionalmente, el anticuerpo humanizado es 3D6. Opcionalmente, el anticuerpo humanizado 3D6 es bapineuzumab. Opcionalmente, el anticuerpo humanizado es 12A11.

La invención proporciona métodos para el tratamiento de enfermedad de Alzheimer que comprenden administrar un

anticuerpo que es específico para el término N de A β a una dosis que reduce o inhibe el desarrollo de patología amiloidogénica vascular, minimiza la microhemorragia y/o reduceo inhibe el desarrollo de patología neurítica.

5 Opcionalmente, en algunos métodos, el anticuerpo se enlaza dentro de los residuos 1-5 de A β . Opcionalmente, el anticuerpo es un anticuerpo humanizado, humano o quimérico. Opcionalmente, el anticuerpo humanizado es 3D6. Opcionalmente, el anticuerpo humanizado 3D6 es bapineuzumab. Opcionalmente, el anticuerpo
10 humanizado es 12A11.

La invención proporciona métodos para el tratamiento de enfermedad de Alzheimer que comprenden administrar un anticuerpo que es específico para el término N de A β a una dosis que reduce o inhibe la patología amiloidogénica vascular,
15 minimiza la microhemorragia y/o mejora la función cognoscitiva del paciente. Opcionalmente, en algunos métodos, el anticuerpo se enlaza dentro de los residuos 1-5 de A β . Opcionalmente, el anticuerpo es un anticuerpo humanizado, humano o quimérico. Opcionalmente, el anticuerpo es humanizado es 3D6.
20 Opcionalmente, el anticuerpo humanizado 3D6 es bapineuzumab. Opcionalmente, el anticuerpo humanizado es 12A11.

Opcionalmente, algunos métodos para el tratamiento de enfermedad de Alzheimer, la reducción o inhibición de patología amiloidogénica vascular es una prevención de acumulación de A β
25 vascular o despeje de A β vascular.

La invención proporciona además kits de diagnóstico apropiados para uso en los métodos anteriores. Tal kit comprende un anticuerpo que se enlaza específicamente a un epítipo con residuos 1-10 de A β . Algunos kits llevan una
30 etiqueta que describe el uso del anticuerpo para diagnosis in vivo o monitoreo de enfermedad de Alzheimer.

La invención proporciona además kits para el tratamiento de CAA apropiado para uso en los métodos anteriores. Tal kit comprende un frasco de vidrio que contiene una formulación. Algunos kits de la invención comprenden un
5 frasco de vidrio que contiene una formulación que comprende aproximadamente 0.5 a 3 mg/Kg de un anticuerpo anti-A β humanizado. Algunos kits de la invención comprenden un frasco de vidrio que contiene una formulación que comprende: i. entre aproximadamente 10 mg a aproximadamente 250 mg de un anticuerpo
10 anti-A β humanizado, ii. Aproximadamente 4% de manitol a aproximadamente NaCl 150 mM, iii. Aproximadamente 5 mM a aproximadamente 10 mM de histidina e iv, aproximadamente 10 mM de metionina. Algunos kits contienen instrucciones para monitorear un paciente a quien la formulación es administrada
15 por CAA. Opcionalmente, las instrucciones comprenden: i. monitoreo del paciente en cuanto a microhemorragia cerebral mediante MRI o ii. monitoreo del paciente en cuanto a remoción de amiloide vascular mediante barrido de PET.

La invención proporciona además kits para el
20 tratamiento de enfermedad de Alzheimer apropiados para uso en los métodos anteriores. Tales comprenden un frasco de vidrio que contiene una formulación que comprende: i. entre aproximadamente 10 mg a aproximadamente 250 mg de un anticuerpo anti-A β humanizado, ii. aproximadamente 4% de manitol o
25 aproximadamente NaCl 150 mM, iii. aproximadamente 5 mM a aproximadamente 10 mM de histidina e iv. aproximadamente 10 mM de metionina. Algunos kits contienen instrucciones para monitorear un paciente a quien la formulación es administrada por enfermedad de Alzheimer. Opcionalmente, las instrucciones
30 comprenden: i. monitoreo del paciente en cuanto a microhemorragia cerebral mediante MRI o ii. monitoreo del

paciente en cuanto a remoción amiloide vascular removido mediante barrido de PET.

La invención proporciona además kits para el tratamiento de CAA y enfermedad de Alzheimer apropiados para uso en los métodos anteriores. Tal kit comprende un frasco de vidrio que contiene una formulación que comprende: i. entre aproximadamente 10 mg a aproximadamente 250 mg de un anticuerpo anti-A β humanizado, ii. aproximadamente 4% de manitol o aproximadamente NaCl 150 mM, iii. aproximadamente 5mM a aproximadamente 10 mM de histidina y iv. Aproximadamente 10 mM de metionina. Algunos kits contienen instrucciones para monitorear al paciente a quien la formulación es administrada por CAA y enfermedad de Alzheimer. Opcionalmente, las instrucciones comprenden: i. monitorear un paciente en cuanto a microhemorragia cerebral mediante MRI o ii. monitorear al paciente en cuanto a remoción amiloide vascular mediante barrido de PET.

Opcionalmente, el anticuerpo es administrado a una dosis de entre aproximadamente 0.05 a aproximadamente 0.5 mg/Kg. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado a una dosis de entre aproximadamente 1 a aproximadamente 40 mg y una frecuencia de entre semanal y mensualmente. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado a una dosis de entre aproximadamente 5 a aproximadamente 25 mg y una frecuencia de entre semanal y mensualmente. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado a una dosis de entre aproximadamente 2.5 a aproximadamente 15 mg y una frecuencia de entre semanal y mensualmente. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado a una dosis de entre aproximadamente 1 a aproximadamente 12 mg semanal a bisemanalmente. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado a una dosis de entre aproximadamente 2.5 a aproximadamente 10 mg

JLL

semanal a bisemanalmente. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado a una dosis de entre aproximadamente a 2.5 a aproximadamente 5 mg semanalmente. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado a una dosis de entre aproximadamente 4 a aproximadamente 5 mg semanalmente. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado a una dosis de entre aproximadamente 15 a aproximadamente 10 mg bisemanalmente.

10

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1a muestra el teñido de tioflavina S y la Figura 1b muestra la inmunomarcación por 3D6 de A β en vasos de línea media cerebral de ratones PDAPP de 18 meses de edad. La Figura 1c muestra tejido de AD humano y la Figura 1d muestra los vasos leptomeningeales y parenquimales superficiales en el ratón PDAPP con VA β inmunomarcado por 3D6. Las barras de escala = 100 μ m.

La Figura 2a muestra el cerebro de ratón de 12 meses de edad sin tratar, la Figura 2b muestra el cerebro de ratón tratado como control, la Figura 2c muestra el cerebro de ratón tratado por 3D6 3 mg/Kg y la Figura 2d muestra el cerebro de ratón tratado con 3 mg/Kg de 22 con 3D6 inmunomarcación de VA β en vasos de línea media. Barra de escala = 50 μ m. La gráfica muestra el porcentaje de animales en cada grupo con ninguno- poco VA β (barras blancas) y VA β moderado (barras radiadas).

La Figura 3a muestra el cerebro tratado por control, la Figura 3b muestra el cerebro tratado con 0.1 mg/Kg de 3D6, la Figura 3c muestra el cerebro tratado con 0.3 mg/Kg de 3D6 y la Figura 3d muestra el cerebro tratado con 3 mg/Kg de 3D6 con inmunomarcación de 3D6 de VA β en vasos leptomeningeales. Corchetes y flechas, VA β , barras de escala = 100 μ m. La gráfica

muestra el porcentaje de animales en cada grupo con ninguno o poco VA β (barras blancas) y VA β moderado (rayas punteadas).

La Figura 4a muestra la inmunomarcación por 3D6 de masas redondas y bandas de VA β exactas que abarcan un vaso leptomeningeal sin afectar en un ratón tratado con 0.1 mg/Kg de 3D6. La Figura 4b muestra la inmunomarcación del 3D6 de VA β erosionado durante el despeje parcial en un ratón tratado con 0.1 mg/Kg de 3D6. Barra de escala = 50 μ m.

Las Figuras 5a y 5b muestran el despeje parcial o prevención de VA β a dosis más bajas de 3D6 sin ninguna evidencia de microhemorragia en la mayoría de los animales. La Figura 5c muestra el despeje completo o prevención de VA β a 3 mg/Kg de 3D6 sin evidencia de microhemorragia en la mayoría de los animales. Las Figuras 5d y 5e muestran microhemorragias en sitios de limpieza parcial a bajas dosis de 3D6. La Figura 5f muestra microhemorragias en sitios de limpieza completa de 3 mg/Kg. Flechas, macrófagos. Escala de barra = 100 μ m.

La Figura 6a muestra clasificaciones de hemosiderina de control y grupos de tratamiento en el Estudio A. la Figura 6b muestra las clasificaciones de hemosiderina de grupos de control y tratamiento en el Estudio B.

DEFINICIONES

El término "identidad sustancial" significa que dos secuencias de péptidos, cuando son alineadas óptimamente, tal como por los programas GAP o BESTFIT utilizando pesos de espacio predeterminados, comparten por lo menos 65 por ciento de identidad de secuencia, preferiblemente por lo menos 80 o 90 por ciento de identidad de secuencia, más preferiblemente por lo menos 95 por ciento de identidad de secuencia o más (por ejemplo, 99 por ciento de identidad de secuencia o más alta).

Preferiblemente, las posiciones de residuo que no son idénticas difieren por sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Para la comparación de secuencia, comúnmente una
5 secuencia actúa como una secuencia de referencia, a la cual las
secuencias de prueba son comparadas. Cuando se usa un algoritmo
de comparación de secuencias, las secuencias de prueba y de
referencia son introducidas a una computadora, se designan
coordenadas de subsecuencia, si es necesario y se designan
10 parámetros en el programa de algoritmo de secuencias. Luego, el
algoritmo de comparación de secuencias calcula el por ciento de
identidad de secuencias para la(s) secuencia(s) de prueba en
relación con la secuencia de referencia, en base a los
parámetros de programa designados.

15 La alineación óptima de secuencias para comparación
se puede llevar a cabo, por ejemplo, mediante el algoritmo de
homología local de Smith y Waterman, *Adv. Appl. Marth.* 2: 482
(1981), mediante el algoritmo de alineación por homología de
Needleman y Wunsch, *J. Mol. Biol.* 48: 443 (1970), mediante el
20 método de búsqueda de similaridad de Pearson y Lipman, *Proc.*
Natl. Acad. Sci., EUA 85: 2444 (1988), mediante las
implementaciones computarizadas de estos algoritmos (GAP,
BESTFIT, FASTA y TFASTA en el Paquete de Elementos de
Programación de Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group,
25 575 Science Dr., Madison, WI) o mediante inspección visual
(véase en general Ausubel et al., *supra*). Un ejemplo de un
algoritmo que es apropiado para determinar el por ciento de
identidad de secuencia y similaridad de secuencia es el
algoritmo BLAST, que es descrito en Altschul et al., *J. Mol.*
30 *Biol.* 215: 403-410 (1990). Elementos de programación (software)
para efectuar análisis de BLAST están disponibles públicamente

a través del sitio web del Centro Nacional para Información de Biotecnología (NCBI). Comúnmente, se pueden usar parámetros de programa predeterminados para efectuar la comparación de secuencia, aunque parámetros sobre diseño pueden también ser
5 usados. Para secuencias de aminoácidos, el programa BLASTP utiliza como predeterminados una longitud de palabra (W) de 3, una esperanza (E) de 10 y la matriz de puntuación BLOSUM62 (véase Henikoff y Henikoff, *Proc. Natl. Acad. Sci., EUA* 89, 10915 (1989)).

10 Por propósitos de clasificar sustituciones de aminoácidos como conservadoras o no conservadoras, los aminoácidos son agrupados como sigue: Grupo I (cadenas laterales hidrofóbicas): norleucina, met, ala, val, leu, ile; Grupo II (cadenas laterales hidrofílicas neutras): cys, ser,
15 thr; Grupo III (cadenas laterales ácidas): asp, glu; Grupo IV (cadenas laterales básicas): asn, gin, his, lys, arg; Grupo V (residuos que influyen la orientación de cadena): gly, pro; y Grupo VI (cadenas laterales aromáticas): trp, tyr, phe. Las sustituciones conservadoras involucran sustituciones entre
20 aminoácidos de la misma clase. Las sustituciones no conservadoras constituyen intercambio de un miembro de una de estas clases por un miembro de otra.

Los agentes terapéuticos de la invención están sustancialmente puros de contaminantes indeseables. Esto
25 significa que un agente es comúnmente por lo menos alrededor de 50% peso (peso/peso) de pureza, también como sustancialmente libre de proteínas interferentes y contaminantes. Algunas veces, los agentes son por lo menos aproximadamente 80% en peso/peso y más preferiblemente por lo menos aproximadamente
30 90% o aproximadamente 95% en peso de pureza. Sin embargo, utilizando técnicas de purificación de proteína convencionales,

se pueden obtener péptidos homogéneos de por lo menos aproximadamente 99% en peso/peso.

La frase de que una molécula se "enlaza específicamente" o "específicamente inmunoreactiva" a un
5 objetivo se refiere a una reacción de enlace que es determinante de la presencia de la molécula en presencia de una población heterogénea de otros componentes biológicos. Así, bajo condiciones de inmunoanálisis designadas, una molécula especificada se enlaza preferiblemente a un objetivo particular
10 y no se enlaza en una cantidad significativa a otros componentes biológicos presente en la muestra. El enlace específico de un anticuerpo a un objetivo bajo tales condiciones requiere que el anticuerpo sea seleccionado para su especificidad al objetivo. Se pueden usar una variedad de
15 formatos de inmunoanálisis para seleccionar anticuerpos específicamente inmunoreactivos con una proteína particular. Por ejemplo, se usan sistemáticamente inmunoanálisis de ELISA en fase sólida para seleccionar anticuerpos monoclonales específicamente inmunoreactivos con una proteína. Véase, por
20 ejemplo, Harlow y Lane (1988) Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Publications, New York, para una descripción de formatos de inmunoanálisis y condiciones que pueden ser usadas para determinar inmunoreactividad específica. Enlace específico entre dos entidades significa una afinidad de por lo
25 menos 10⁶, 10⁷, 10⁸, 10⁹ M-1 ó 10¹⁰ M-1. Afinidades mayores de 10⁸ M-1 son preferidas.

El término "anticuerpo" o "inmunoglobulina" es usado para incluir anticuerpos intactos y fragmentos de enlace de los mismos. Comúnmente, los fragmentos compiten con el anticuerpo
30 intacto del cual fueron derivados por el enlace específico a un fragmento de antígeno en los que se incluye cadenas pesadas

separadas, cadenas ligeras Fab, Fab' F(ab')₂, Fabc y Fv. Los fragmentos son producidos mediante técnicas de ADN recombinantes o mediante separación enzimática o química de inmunoglobulinas intactas. El término "anticuerpo" también incluye una o más cadenas de inmunoglobulina que son conjugadas químicamente a, o expresadas como proteínas de fusión con otras proteínas. El término "anticuerpo" también incluye anticuerpo bis-específico. Un anticuerpo bis-específico o bifuncional es un anticuerpo híbrido artificial que tiene dos pares de cadenas pesadas/ligeras diferentes y dos sitios de enlace diferente. Los anticuerpos bisespecíficos pueden ser producidos mediante una variedad de métodos en los que se incluyen fusión de hibridomas o enlace de fragmentos de Fab'. Véase, por ejemplo, Songsivilai & Lachmann, Clin. Exp. Immunol. 79:315-321 (1990); Kostelny et al., J. Immunol. 148, 1547-1553 (1992).

APP695, APP751 y APP770 se refieren, respectivamente, a los polipéptidos de 695, 751 y 770 residuos de aminoácido de largo codificados por el gen de APP humano. Véase Kang et al., Nature 325, 773 (1987); Ponte et al., Nature 331, 525 (1988); y Kitaguchi et al., Nature 331, 530 (1988). Se asigna a los aminoácidos dentro de la proteína precursora de amiloide humana (APP) números de acuerdo con la secuencia de la isoforma de APP770.

Términos tales como A β 39, A β 40, A β 41, A β 42 y A β 43 se refieren a un polipéptido de A β que contiene residuos de aminoácidos 1-39, 1-40, 1-41, 1-42 y 1-43. Las secuencias de estos péptidos y su relación con el precursor de APP son ilustrados por la Figura 1 de Hardy et al., TINS 20, 155-158 (1997). Por ejemplo, A β 42 tiene la secuencia:

DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA

A β 41, A β 40 y A β 39 difieren de A β 42 por la omisión de

217

Ala, Ala-Ile y Ala-Ile-Val respectivamente del extremo C-terminal. A β 43 difiere de A β 42 por la presencia de un residuo de Thr en el término C.

Un "antígeno" es una entidad a la cual un anticuerpo
5 se enlaza específicamente.

El término "epítopo" o "determinante antigénico" se refiere a un sitio sobre un antígeno al cual las células B y/o células T responden. Los epítopos de célula B pueden ser formados tanto a partir de aminoácidos contiguos como
10 aminoácidos no contiguos yuxtapuestos mediante plegado terciario de una proteína. Los epítopos formados de aminoácidos contiguos son retenidos comúnmente en la exposición a solventes desnaturalizantes, mientras que los epítopos formados mediante plegado terciario se pierden comúnmente en el tratamiento con
15 solventes desnaturalizantes. Un epítopo incluye comúnmente por lo menos 3, y más usualmente, por lo menos 5 u 8-10 aminoácidos en una conformación espacial única. Métodos para determinar la conformación espacial de epítopos incluyen, por ejemplo, cristalografía de rayos X y resonancia magnética nuclear
20 bidimensional. Véase, por ejemplo, Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, Glenn E. Morris, Ed. (1996). Los anticuerpos que reconocen el mismo epítopo pueden ser identificados en un inmunoanálisis simple que muestra la habilidad de un anticuerpo para bloquear el enlace de otro
25 anticuerpo a un antígeno objetivo. Las células T reconocen epítopos continuos de aproximadamente nueve aminoácidos para células CD8 o aproximadamente 13-15 aminoácidos para células CD4. Las células T que reconocen el epítopo pueden ser identificadas mediante análisis in vitro que miden la
30 proliferación dependiente de antígeno, tal como se determina mediante incorporación de 3H-timidina mediante células T

cebadas en respuesta a un epítopo (Burke et al., J. Inf. Dis. 170, 1110-19 (1994)), mediante exterminio dependiente de antígeno (cytotoxic T lymphocyte assay, Tigges et al., J. Immunol. 156, 3901-3910) o mediante secreción de citocina.

5 El término respuesta "inmunológica" o respuesta "inmune" es el desarrollo de una respuesta humoral (moderada por anticuerpo) y/o una respuesta celular (moderada por células T antígeno-específicas o sus productos de secreción) dirigida contra un péptido amiloide en un paciente receptor. Tal
10 respuesta puede ser una respuesta activa inducida por la administración de inmunógeno o una respuesta pasiva inducida por la administración de anticuerpo o células T cebadas. Una respuesta inmune celular es producida por la presentación de epítopos de polipéptido en asociación moléculas MHC de clase I
15 o clase para activar células auxiliares T CD4+ antígeno-específicas y/o células T citotóxicas de CD8+. La respuesta puede también involucrar la activación de monocitos, macrófagos, células NK, basófilos, células dendríticas, astrocitos, células de microglia, eosinófilos u otros
20 componentes de inmunidad innata. La presencia de una respuesta inmunológica moderada por la célula puede ser determinada mediante análisis de proliferación (células T CD4+) o análisis de CTL (linfocito T citotóxico) (véase Burke, supra; Tigges, supra). Las contribuciones relativas de respuestas humorales y
25 celulares para efecto protector o terapéutico de un inmunógeno pueden ser distinguidas al aislar separadamente anticuerpos y células T de un animal singénico inmunizado y medir el efecto protector o terapéutico en un segundo sujeto.

Un "agente inmunógeno" o "inmunógeno" es capaz de
30 inducir una respuesta inmunológica contra sí mismo en la administración a un mamífero, opcionalmente en conjunción con

un adyuvante.

El término "completamente D" se refiere a péptidos que tienen $\geq 75\%$, $\geq 80\%$, $\geq 85\%$, $\geq 90\%$, $\geq 95\%$ o 100% de aminoácidos en configuración D.

5 El término "polinucleótido desnudo" se refiere a un polinucleótido no acompañado con materiales coloidales. Los polinucleótidos desnudos son algunas veces clonados en un vector de plásmido.

10 El término "adyuvante" se refiere a un compuesto que, cuando es administrado en conjunción con un antígeno aumenta la respuesta inmune al antígeno, pero cuando es administrado solo no genera una respuesta inmune al antígeno. Los adyuvantes pueden aumentar una respuesta inmune mediante varios mecanismos en los que se incluyen reclutamiento de linfocitos, 15 estimulación de células B y/o T y estimulación de macrófagos.

El término "dosis efectiva" o "dosificación efectiva" es definida como una cantidad suficiente para obtener u obtener por lo menos parcialmente el efecto deseado. El término "dosis terapéuticamente efectiva" es definida como una cantidad 20 suficiente para curar o por lo menos detener parcialmente la enfermedad y sus complicaciones en un paciente que ya sufre de la enfermedad. Cantidades efectivas para este uso dependerán de la severidad de la infección y el estado general del propio sistema inmune del paciente.

25 Alguna variación de los intervalos revelados es permisible como por ejemplo debido a errores en medición. Tal variación es designada por el término "aproximadamente" en referencia a los intervalos o dosis.

30 El término "paciente" incluye sujetos humanos y otros sujetos mamíferos que reciben ya sea tratamiento profiláctico o terapéutico.

La competencia entre anticuerpos es determinada por un análisis en el cual la inmunoglobulina bajo prueba inhibe el enlace específico de un anticuerpo de referencia a un antígeno común, tal como A β . Numerosos tipos de análisis de enlace competitivo son conocidos, por ejemplo: radioinmunoanálisis directo o indirecto en fase sólida (RIA), inmunoanálisis de enzima directo o indirecto en fase sólida (EIA), análisis de competencia de emparedado (véase Stahli et al., *Methods in Enzymology* 9:242-253 (1983)); EIA de biotina-avidina directo en fase sólida (véase Kirkland et al., *J. Immunol.* 137:3614-3619 (1986)); análisis marcado directo en fase sólida, análisis de emparedado marcado directo en fase sólida (véase Harlow and Lane, *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press (1988)); RIA de marcador directo en fase sólida utilizando el marcador I-125 (véase Morel et al., *Molec. Immunol.* 25(1):7-15 (1988)); EIA de biotina-avidina directo en fase sólida (Cheung et al., *Virology* 176:546-552 (1990)); y RIA marcado directo (Moldenhauer et al., *Scand. J. Immunol.* 32:77-82 (1990)). Comúnmente, tal análisis involucra el uso de antígeno purificado enlazado a una superficie sólida o células que llevan ya sea uno u otro de estos, una inmunoglobulina de prueba sin marcar y una inmunoglobulina de referencia marcada. La inhibición competitiva es medida al determinar la cantidad de marcador enlazado a la superficie sólida o células en presencia de la inmunoglobulina de prueba. Usualmente, la inmunoglobulina de prueba está presente en exceso. Los anticuerpos identificados mediante análisis de competencia (anticuerpos competentes) incluyen anticuerpos que se enlazan al mismo epítipo como el anticuerpo de referencia y anticuerpos que se enlazan a un epítipo adyacente suficientemente próximo al epítipo enlazado por el anticuerpo de referencia para que el

impedimento estérico se presente. Usualmente, cuando un anticuerpo competente está presente en exceso, inhibirá el enlace específico de un anticuerpo de referencia a un antígeno común por al menos 50 ó 75%.

5 El término "síntoma" o "síntoma clínico" se refiere a una evidencia subjetiva de una enfermedad, tal como marcha alterada, tal como es percibida por el paciente. Un "signo" se refiere a una evidencia objetiva de enfermedad tal como es observada por un médico.

10 Las composiciones o métodos "que comprenden" uno o más elementos citados pueden incluir otros elementos no citados específicamente.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

15 I. Generalidades

La invención proporciona métodos para efectuar profilaxis y tratamiento de angiopatía amiloide cerebral (CAA), una enfermedad caracterizada por la presencia de depósitos vasculares del péptido A β . Estos depósitos vasculares son
20 distintos de los depósitos parenquiales que son la marca distintiva de la enfermedad de Alzheimer. La mayoría de los pacientes con enfermedad de Alzheimer son afectados por al menos CAA moderado. Sin embargo, CAA puede también ocurrir independiente de los síntomas y/o patología característica de
25 la enfermedad de Alzheimer. CAA también está asociada con síntomas en general no asociados con la enfermedad de Alzheimer, tales como accidentes cerebrovasculares. La invención proporciona métodos para efectuar profilaxis o el tratamiento de CAA, ya sea que ocurra solo o concurrentemente
30 con la enfermedad de Alzheimer. En pacientes que tienen enfermedad de Alzheimer concurrente y CAA, los métodos pueden

tratar ambas enfermedades simultáneamente. En pacientes que no tienen ni una ni otra enfermedad, los métodos pueden efectuar profilaxis contra ambas enfermedades. En pacientes que tienen CAA pero no enfermedad de Alzheimer, los métodos pueden tratar CAA y efectuar profilaxis de la enfermedad de Alzheimer. Los métodos involucran inmunoterapia activa o pasiva. En inmunoterapia pasiva, un anticuerpo que se enlaza a un epítipo dentro de residuos 1-10 de A β es administrado. En inmunoterapia activa, se administra un agente, tal como un fragmento de A β que puede inducir tal anticuerpo. Aunque no es esencial un entendimiento del mecanismo para la práctica de la invención, se cree que los anticuerpos se enlazan a depósitos vasculares de A β y mediante esto promueven el despeje de los depósitos.

II. Agentes

Los métodos presentes emplean un agente que es ya sea un anticuerpo al término N de A β (administración pasiva) o es capaz de inducir tal anticuerpo en administración a un paciente. Tales agentes han sido descritos previamente en la literatura científica y de patentes en relación con inmunoterapia de la enfermedad de Alzheimer (véase WO 98/25386 y WO 00/72880).

A. Inmunoterapia Activa

A β , también conocido como péptido β -amiloide o péptido A4 (véase patente estadounidense 4,666,829; Glenner & Wong, Biochem. Biophys. Res. Commun. 120, 1131 (1984)), es un péptido de 39-43 aminoácidos, que es el componente principal de placas característica de la enfermedad de Alzheimer. A β es generado por el procesamiento de una proteína más grande APP mediante dos enzimas, denominadas β y γ secretasas (véase

Hardy, TINS 20, 154 (1997)). Mutaciones conocidas en APP asociadas con la enfermedad de Alzheimer ocurren próximas al sitio de β o γ secretasa, o dentro de $A\beta$. Por ejemplo, la posición 717 está próxima al sitio de escisión de γ -secretasa de APP en su procesamiento a $A\beta$ y las posiciones 670/671 están próximas al sitio de escisión de β -secretasa. Se cree que las mutaciones provocan AD al interactuar con las reacciones de escisión mediante las cuales se forma $A\beta$ para incrementar la cantidad de la forma de aminoácido 42/43 de $A\beta$ generado.

10 $A\beta$ tiene la propiedad inusual de que puede fijar y activar ambas cascadas de complemento tanto clásicas como alternas. En particular, se enlaza a CIq y finalmente a $C3bi$. Esta asociación facilita el enlace a macrófagos que conducen a la activación de células B. Además, $C3bi$ se rompe
15 descendientemente además y luego se enlaza a $CR2$ sobre células B de manera dependiente de célula T conduciendo a un incremento de 10,000 veces en la activación de estas células. Este mecanismo provoca que $A\beta$ genere una respuesta inmune en exceso de aquella de otros antígenos.

20 Agentes preferidos para administración activa son fragmentos que comienzan en el residuo 1 de $A\beta$ y terminan entre uno de los residuos 5-10. Tales fragmentos, cuando son enlazados a un portador apropiado son aptos de inducir anticuerpos que se enlazan específicamente al término N de $A\beta$.
25 Tales fragmentos son carentes de auto-epítomos de célula T que se presentan de manera estable en la naturaleza que han sido asociados con efectos secundarios indeseables en estudios clínicos de $A\beta$ intacto. Los fragmentos inmunógenos preferidos incluyen $A\beta_{1-5}$, 1-6 y 1-7, 1-10, 3-7, 1-3 y 1-4. La designación
30 $A\beta_{1-5}$ por ejemplo, indica un fragmento que incluye residuos 1-5 de $A\beta$ y que carece de otros residuos de $A\beta$.

Ligandos difundibles A β -derivados (ADDL), ADDL-subrogados, moléculas de enlace de ADDL pueden también ser usados para inmunoterapia activa. Véase, por ejemplo, WO 2004/031400, incorporado por referencia en su totalidad para
5 todos los propósitos.

Opcionalmente, fragmentos de A β son conjugados al portador para ayudar a inducir anticuerpos al fragmento. Algunos agentes para inducir una respuesta inmune contienen el epítipo apropiado para inducir una respuesta inmune contra
10 amiloide pero son demasiado pequeños para ser inmunógenos. En esta situación, un inmunógeno de péptido puede ser enlazado a una molécula portadora apropiada para frenar un conjugado que ayuda a producir una respuesta inmune. Los portadores apropiados incluyen albúminas de suero, hemocianina de lapa de
15 bocallave, moléculas de inmunoglobulina, tiroglobulina, ovalbumina, toxoide de tétanos o un toxoide de otra bacteria patógena, tal como difteria (por ejemplo, CRM 197), *E. coli*, cólera o *H. pylori* o un derivado de toxina atenuado. Los epítomos de célula T también son moléculas portadoras
20 apropiadas. Algunos conjugados pueden ser formados al enlazar agentes de la invención a una molécula de polímero inmunoestimulador (por ejemplo, tripalmitoil-S-glicerina cisteína (Pam3Cys), manana (un polímero de manosa) o glucana (un polímero beta 1 $\rightarrow$ 2)), citocinas (por ejemplo, péptidos IL-
25 I, IL-I alfa y beta, IL-2, gamma-INF, IL-10, GM-CSF) y quimiocinas (por ejemplo, MIP1 alfa y beta y RANTES). Los agentes inmunógenos pueden también ser enlazados a péptidos que mejoran el transporte a través de tejido, como se describe en O'Mahony, WO 97/17613 y WO 97/17614. Los inmunógenos pueden ser
30 enlazados a los portadores con o sin aminoácidos separadores (por ejemplo, gly-gly).

Algunos conjugados pueden ser formados al enlazar agentes de la invención a por lo menos un epítopo de célula T. Algunos epítomos de célula T son promiscuos en tanto que otros epítomos de célula T son universales. Los epítomos de célula T promiscuos son aptos de mejorar la inducción de inmunidad de célula T en una amplia variedad de sujetos que muestran varios tipos de HLA. En contraste a los epítomos de célula T promiscuos, los epítomos de célula T universales son capaces de mejorar la inducción de inmunidad de célula T en un porcentaje grande, por ejemplo por lo menos 75%, de sujetos que muestran varias moléculas de HLA codificadas por diferentes alelos de HLA-DR.

Existen un gran número de epítomos de célula T que se presentan de manera estable en la naturaleza, tales como toxoide de tetano (por ejemplo los epítomos P2 y P3), antígeno de superficie de hepatitis B, pertusis, toxoide, proteína F de virus de sarampión, proteína de membrana externa mayor de *Chlamydia trachomatis*, toxoide de difteria, circumsporozoito T de *Plasmodium falciparum*, antígeno CS de *Plasmodium falciparum*, triosa de fosfato isomerasa de *Schistosoma mansoni*, TraT de *Escherichia coli* y hemaglutinina de virus de influenza (HA). Los péptidos inmunógenos de la invención pueden también ser conjugados a los epítomos de célula T descritos en Sinigaglia F. et al., Nature, 336:778-780 (1988); Chicz R.M. et al., J. Exp. Med., 178:27-47 (1993); Hammer J. Et al., Cell 74:197- 203 (1993); FaIk K. et al., Immunogenetics, 39:230-242 (1994); WO 98/23635; y, Southwood S. et al. J. Immunology, 160:3363-3373 (1998) (cada una de las cuales es incorporada en la presente por referencia para todos los propósitos). Ejemplos adicionales incluyen:

Hemagglutinina de influenza: HA307-319

CS de Malaria: T3 epítipo EKKIAKMEKASSVFNV

Antígeno de superficie de hepatitis B: HBsAg19-28

FFLLTRILTI

5 Proteína 65 de choque térmico: hsp65153-171

DQSIGDLIAEAMDKVGNEG

Bacilo de Calmette-Guerin: QVHFQPLPPAVVKL

Toxoide de tétanos: TT830-844 QYIKANSKFIGITEL

Toxoide de tétanos: TT947-967 FNNFTVSFWLRVPKVSASHLE

10 VIH gp120 T1: KQIINMWQEVGKAMYA

Algunos ejemplos de conjugados incluyen:

AN90549 (toxoides de tétano Aβ1-7 830-844 en una configuración de MAP4):

DAEFRHD-QYIKANSKFIGITEL

15 AN90550 (toxoides de tétano Aβ 1-7 947-967 en una configuración de MAP4):

DAEFRHD-FNNFTVSFWLRVPKVSASHLE

AN90542 (toxoides de tétano Aβ 1-7 830-844 + 947-967 en una configuración lineal):

20 **DAEFRHD-QYIKANSKFIGITELFNNFTVSFWLRVPKVSASHLE**

El péptido PADRE (todos en configuraciones lineales), en donde X es preferiblemente ciclohexilalanina, tirosina o fenilalanina, con ciclohexilalanina que más preferida:

AN90562 (PADRE-Aβ1-7):

25 **AKXVAAWTLAAA-DAEFRHD**

AN90543 (3 PADRE-Aβ1-7):

DAEFRHD-DAEFRHD-DAEFRHD-AKXVAAWTLKAAA

Otros ejemplos de proteínas de fusión (epítipo inmunógeno de Aβ en negritas) incluyen:

30 **AKXVAAWTLKAAA-DAEFRHD-DAEFRHD-DAEFRHD**

DAEFRHD-AKXVAAWTLKAAA

DAEFRHD-ISQAVHAAHAEINEAGR
FRHDSGY-ISQAVHAAHAEINEAGR
EFRHDSG-ISQAVHAAHAEINEAGR
PKYVKQNTLKLAT-DAEFRHD-DAEFRHD-DAEFRHD
5 DAEFRHD-PKYVKQNTLKLAT-DAEFRHD
DAEFRHD-DAEFRHD-DAEFRHD-PKYVKQNTLKLAT
DAEFRHD-DAEFRHD-PKYVKQNTLKLAT
DAEFRHD-PKYVKQNTLKLAT-EKKIAKMEKASSVFNV-
QYIKANSKFIGITEL-FNNFTVSFWLRVPKVSASHLE-DAEFRHD
10 DAEFRHD-DAEFRHD-DAEFRHD-
QYIKANSKFIGITELNNFTVSFWLRVPKVSASHLE
DAEFRHD-QYIKANSKFIGITELCFNNFTVSFWLRVPKVSASHLE
DAEFRHD-QYIKANSKFIGITELCFNNFTVSFWLRVPKVSASHLE-DAEFRHD
DAEFRHD-QYIKANSKFIGITEL sobre una resina de 2 ramas.
15 DAEFRHD
Lys-Gly-Cys
DAEFRHD

Los fragmentos de Aβ tales como Aβ1-6 son conjugados a portadores, tales como partículas semejantes a virus (VLP) y subunidades de VLP, para ayudar a inducir anticuerpos al fragmento. Véase por ejemplo, WO 2004/016282 y US 20040141984, cada uno de los cuales es incorporado por referencia en su totalidad para todos los propósitos.

25 B. Inmunoterapia Pasiva

La inmunoterapia pasiva es efectuada utilizando un anticuerpo que es específico para el Aβ de término N. Un "epítipo N-terminal", es un epítipo o determinante antigénico ubicado dentro de o que incluye el término N del péptido Aβ.
30 Epítipos N-terminales ejemplares incluyen residuos dentro de los aminoácidos 1-10 ó 1-12 de Aβ, preferiblemente de residuos

1-3, 1-4, 1-5, 1-6, 1-7, 2-6, 2-7, 3-6 ó 3-7 de A β . Otros epítomos N-terminales ejemplares inician en los residuos 1-3 y terminan en los residuos 7-11 de A β . Epítomos N-terminales ejemplares adicionales incluyen residuos 2-4, 2-5, 2-6, 2-7 ó
5 2-8 de A β , residuos 3-5, 3-6, 3-7, 3-8 ó 3-9 de A β o residuos 4-7, 4-8, 4-9 ó 4-10 de A β .

Cuando se dice que un anticuerpo se enlaza a un epítomo dentro de residuos especificados, tales como A β 3-7, lo que se quiere decir es que el anticuerpo se enlaza
10 específicamente a un polipéptido que contiene los residuos especificados (esto es, A β 3-7 en este ejemplo). Tal anticuerpo no se pone en contacto necesariamente cada residuo dentro de A β 3-7. Ni cada sustitución o cancelación de aminoácido individual dentro de A β 3-7 significa necesariamente que afecta
15 la afinidad de enlace. En varias modalidades, un anticuerpo A β es extremo-específico. Como se usa en la presente, el término "extremo-específico" se refiere a un anticuerpo que se enlaza específicamente a los residuos N-terminal o C-terminal de un péptido de A β pero que no reconoce los mismos residuos cuando
20 está presente en una especie de A β más larga que comprende residuos o en APP. Los anticuerpos preferidos tienen el isotipo de IgG1 humano.

Los anticuerpos anti-A β preferidos para inmunoterapia pasiva incluyen un anticuerpo anti-A β humanizado, por ejemplo,
25 una anticuerpo 3D6 humanizado, un anticuerpo 12B4 humanizado o un anticuerpo 12A11 humanizado.

Anticuerpos para inmunoterapia pasiva puede ser provistos por una variedad de técnicas en las que se incluyen aquellas descritos en US 20040038304, US 20070020685, US
30 20060257396, US 20060160184, US 20060134098, US 20050255552, US 20050008625, US 20040132066, US 20040038317, US 20030198971 y

US 20030157579, todas las cuales son incorporadas por referencia en su totalidad en la presente para todos los propósitos.

5 Anticuerpos

i. Características Generales de de Inmunoglobulinas

La unidad estructural básica de anticuerpo se sabe que comprende un tetrámero de sub-unidades. Cada tetrámero está compuesto de dos pares idénticos de cadenas de polipéptido, cada par tiene una cadena "ligera" (aproximadamente 25 kDa) y una cadena "pesada" (de aproximadamente 50-70 kDa). La porción amino-terminal de cada cadena incluye una región variable de aproximadamente 100 a 110 o más aminoácidos responsables principalmente por el reconocimiento de antígeno. La porción carboxi-terminal de cada cadena define una región constante principalmente responsable por la función efectora.

Las cadenas ligeras son clasificadas como ya sea kappa o lambda. Las cadenas pesadas son clasificadas como gamma, mu, alfa, delta o epsilon y definen el isotipo de anticuerpo como IgG, IgM, IgA, IgD y IgE, respectivamente. Dentro de las cadenas ligera y pesada, las regiones variables y constantes son unidas por una región "J" de aproximadamente 12 o más aminoácidos, la cadena pesada también incluye una región "D" de aproximadamente 10 más aminoácidos. (Véase en general, Fundamental Immunology, Ch. 7 (W. Paul, ed., Raven Press, N.Y., 2a ed. 1989), incorporada por referencia en su totalidad para todos los propósitos).

Las regiones variables de cada par de cadena ligera/cadena forman el sitio de enlace de anticuerpo. Así, un anticuerpo intacto tiene dos sitios de enlace. Excepto en anticuerpos bi-funcionales o bis-específicos, los dos sitios de

enlace son los mismos. Todas las cadenas exhiben la misma estructural general de regiones de estructura relativamente conservadas (FR) unidas por tres regiones hipervariables, también llamadas regiones que determinan la complementareidad o CDR. Las CDR de las dos cadenas de cada par son alineadas por las regiones de estructura, permitiendo el enlace a un epítipo específico. De N-terminal a C-terminal, ambas cadenas ligeras y pesadas comprenden los dominios FR1, CDR11, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4. La asignación de aminoácidos a cada dominio es de acuerdo con las definiciones de Kabat, Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1987 and 1991); Chothia & Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987); o Chothia et al, Nature 342:878-883 (1989).

15 ii. Producción de Anticuerpos No Humanos

La producción de anticuerpos monoclonales no humanos, por ejemplo, murinos, de conejillos de indias, primates, conejo o rata, se puede llevar a cabo mediante por ejemplo, inmunización del animal con A β . Un polipéptido más largo que comprende A β o un fragmento inmunógeno de A β o anticuerpos anti-idiotípicos a un anticuerpo a A β puede también ser usado. Véase Harlow & Lane, Antibodies, A Laboratory Manual (CSHP NY, 1988) (incorporado por referencia para todos los propósitos). Tal inmunógeno puede ser obtenido de una fuente natural, mediante síntesis de péptido o mediante expresión recombinante. Opcionalmente, el inmunógeno puede ser administrado fusionado o acomplexado de otra manera con una proteína portadora, como se describe posteriormente en la presente. Opcionalmente, el inmunógeno puede ser administrado con un adyuvante. Se pueden usar varios tipos de adyuvantes como se describe posteriormente en la presente. El adyuvante de Freund completo seguido por

adyuvante incompleto es preferido para inmunización de animales de laboratorio. Conejos o conejillos de indias son usados comúnmente para elaborar anticuerpos policlonales. Se usan comúnmente ratones para elaborar anticuerpos monoclonales.

5 Los anticuerpos son seleccionados por el enlace específico a A β . Opcionalmente, los anticuerpos son seleccionados adicionalmente por enlace a una región específica de A β . La última selección se puede llevar a cabo al determinar el enlace de un anticuerpo a una recolección de mutantes de cancelación

10 de un péptido A β y determinar cuales mutantes de cancelación se enlazan al anticuerpo. El enlace puede ser determinado, por ejemplo, mediante Western blot o ELISA. El fragmento más pequeño para mostrar enlace específico al anticuerpo define el epítipo del anticuerpo. Alternativamente, la especificidad de

15 epítipo puede ser determinada mediante un análisis de competencia en el cual un anticuerpo de prueba y un anticuerpo de referencia compiten por el enlace a A β . Si los anticuerpos de prueba y de referencia compiten, entonces se enlazan al mismo epítipo o epítipos suficientemente próximos que el enlace

20 de un anticuerpo interfiere con el enlace de otro. El isotipo preferido para tales anticuerpos es el isotipo de ratón IgG2a o isotipo equivalente de otra especie. El isotipo de ratón IgG2a es el equivalente del isotipo humano IgG1.

25 iii. Anticuerpos Quiméricos y Anticuerpos Humanizados

Los anticuerpos quiméricos y humanizados tienen la misma o similar especificidad de enlace y afinidad como un ratón u otro anticuerpo no humano que proporciona el material de partida para la construcción de un anticuerpo quimérico o

30 humanizado. Los anticuerpos quiméricos son anticuerpos cuyos genes de cadena ligera y pesada han sido contruidos comúnmente

mediante diseño genético, a partir de segmentos genéticos de inmunoglobulina pertenecientes a especies diferentes. Por ejemplo, los segmentos variables (V) de los genes de un anticuerpo monoclonal de ratón pueden ser unidos a segmentos constantes humanos (C) tal como IgG1 y IgG4. El isotipo humano IgG1 es preferido. En algunos métodos, el isotipo del anticuerpo es IgG1 humano. Anticuerpos IgM pueden también ser usados en algunos métodos. Un anticuerpo quimérico típico es así una proteína híbrida que consiste del dominio de V o dominio de enlace de antígeno de un anticuerpo de ratón y el dominio C o dominio efector de un anticuerpo humano.

Los anticuerpos humanizados tienen residuos de estructura de región variable sustancialmente de un anticuerpo humano (denominado un anticuerpo aceptor) y regiones que determinan la complementareidad sustancialmente de un anticuerpo de ratón (denominado como la inmunoglobulina donadora). Véase, Queen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 10029-10033 (1989), WO 90/07861, US 5,693,762, US 5,693,761, US 5,585,089, US 5,530,101 y Winter, US 5,225,539 (cada una de las cuales es incorporada por referencia en su totalidad para todos los propósitos). La(s) región(es) constante(s), si está(n) presente(s), también son sustancial o completamente de una inmunoglobulina humana. Los dominios variables humanos son escogidos usualmente de anticuerpos humanos cuyas secuencias de estructura exhiben un alto grado de identidad de secuencia con los dominios de región variable murinos de los cuales las CDR fueron derivadas. Los residuos de estructura de región variable de cadena pesada o ligera pueden ser derivados de las mismas o diferentes secuencias de anticuerpos humanas. Las secuencias de anticuerpo humanas pueden ser las secuencias de anticuerpos humanos que se presentan de manera estable en la naturaleza o

pueden ser secuencias de consenso de varios anticuerpos humanos. Véase Carter et al., WO 92/22653. Ciertos aminoácidos de los residuos de estructura de región variable humana son seleccionados para sustitución en base a su posible influencia
5 sobre la conformación de CDR y/o enlace al antígeno. La investigación de tales influencias posibles es mediante modelado, examen de las características de los aminoácidos en sitios particulares u observación empírica de los efectos de sustitución o mutagénesis de aminoácidos particulares.

10 Por ejemplo, cuando un aminoácido difiere entre un residuo de estructura de región variable murina y un residuo de estructura de región variable humana seleccionada, el aminoácido de estructura humana usualmente debe ser sustituido por el aminoácido de estructura equivalente del anticuerpo de
15 ratón cuando se espera razonablemente que el aminoácido:

(1) se enlace no covalentemente al antígeno directamente,

(2) esté adyacente a una región de CDR,

(3) interactúa de otra manera con una región de CDR
20 (por ejemplo, está dentro de aproximadamente 6 Å de una región de CDR), o

(4) participa en la interfase de VL-VH.

Otros candidatos para sustitución son aminoácidos de estructura humanos aceptores que son inusuales para una
25 inmunoglobulina humana en aquella posición. Estos aminoácidos pueden ser sustituidos con aminoácidos de la posición equivalente del anticuerpo donador de ratón o de las posiciones equivalentes de inmunoglobulinas humanas más típicas. Otros candidatos para sustitución son aminoácidos de estructura
30 humanos aceptores que son inusuales para una inmunoglobulina humana en aquella posición. Las estructuras de región variable

de inmunoglobulinas humanizadas muestran usualmente por lo menos 85% de identidad de secuencia con una secuencia de estructura de región variable humana o consenso de tales secuencias.

5

iv. Anticuerpos Humanos

Se proporcionan anticuerpo humanos contra A β mediante una variedad de técnicas descritas posteriormente en la presente. Se seleccionan algunos anticuerpos humanos mediante experimentos de enlace competitivo o de otra manera, que tengan la misma especificidad de epítipo como un anticuerpo de ratón particular, tal como uno de los anticuerpos monoclonales de ratón descritos en el Ejemplo XI. También se pueden seleccionar anticuerpos humanos por una especificidad de epítipo particular al utilizar solamente un fragmento de A β como el inmunógeno y/o al seleccionar anticuerpos contra una colección de mutantes de cancelación de A β . Los anticuerpos humanos tienen preferiblemente IgG1 humana de especificidad de isotipo.

20 (1) Metodología de Trioma

El procedimiento básico y un socio de fusión celular ejemplar, SPAZ-4, para uso en este procedimiento han sido descritos por Oestberg et al., *Hybridoma* 2:361-367 (1983); Oestberg, patente estadounidense No. 4,634,664; y Engleman et al., patente estadounidense 4,634,666 (cada uno de las cuales es incorporada por referencia en su totalidad para todos los propósitos). Las líneas celulares que producen anticuerpo obtenidas mediante este método son llamadas triomas, debido a que descienden de tres células-dos humanas y una de ratón. Inicialmente, una línea de mieloma de ratón es fusionada con un linfocito B humanos para obtener una célula híbrida xenogénica

125

que no produce anticuerpo, tal como la línea celular SPAZ-4 descrita por Oestberg, supra. Luego, la célula xenogénica es fusionada con un linfocito B humano inmunizado para obtener una línea de célula trioma que produce anticuerpo. Se ha encontrado
5 que los triomas producen anticuerpo más establemente que los hibridomas ordinarios elaborados de células humanas.

Los linfocitos B inmunizados son obtenidos de la sangre, bazo, nodos linfáticos o médula ósea de un donador humano. Si se desean anticuerpos contra un antígeno o epítopo
10 específico, es preferible usar aquel antígeno o epítopo del mismo para la inmunización. La inmunización puede ser ya sea in vivo o in vitro. Para la inmunización in vivo, las células B son comúnmente aislados de un humano inmunizado con A, un fragmento del mismo, un polipéptido más grande que contiene A β
15 o fragmento o un anticuerpo anti-idiotípico a un anticuerpo A β . En algunos métodos, las células B son aisladas del mismo paciente a quien finalmente se les va a administrar la terapia de anticuerpo. Para la inmunización in vitro, los linfocitos B son expuestos comúnmente a anticuerpo por un período de 7-14
20 días en un medio tal como RPMI-1640 (véase Engleman, supra) complementado con plasma humano al 10%.

Los linfocitos B inmunizados son fusionados a una célula de hibridoma xenogénica tal como SPAZ-4 mediante métodos bien conocidos. Por ejemplo, las células son tratadas con 40-
25 50% de polietilenglicol de PM 1000-4000, a una temperatura de aproximadamente 37° C, por aproximadamente 5-10 minutos. Las células son separadas de la mezcla de fusión y propagadas en un medio selectivo para los híbridos deseados (por ejemplo, HAT o AH). Los clones que segregan anticuerpos que tienen la
30 especificidad de enlace requerida son identificados al analizar el medio de cultivo de trioma en cuanto a la habilidad para

enlazarse a A β o un fragmento del mismo. Los triomas que producen anticuerpos humanos que tienen la especificidad deseada son sub-clonados mediante la técnica de dilución limitante y cultivados in vitro en el medio de cultivo. Las
5 líneas celulares de trioma obtenidas son luego probadas por la habilidad para enlazarse a A β o un fragmento del mismo.

Aunque los triomas son genéticamente estables no producen anticuerpos a niveles muy altos. Los niveles de expresión pueden ser incrementados al clonar genes de
10 anticuerpo del trioma a uno más vectores de expresión y transformar el vector a líneas celulares mamíferas, bacterianas o de levadura estándar.

(2) Mamíferos No Humanos Transgénicos

15 Anticuerpos humanos contra A β pueden también ser producidos de mamíferos transgénicos no humanos que tienen transgenes que codifican por lo menos un segmento del sitio de inmunoglobulina humano. Usualmente, el sitio de inmunoglobulina endógeno de tales mamíferos transgénicos es desactivado
20 funcionalmente. Preferiblemente, el segmento del sitio de inmunoglobulina humano incluye secuencias sin arreglar de componentes de cadena pesada y ligera. Tanto la desactivación de genes de inmunoglobulina endógenos y la introducción de genes de inmunoglobulina exógenos se puede obtener mediante
25 recombinación homóloga apuntada o mediante introducción de cromosomas YAC. Los mamíferos transgénicos resultantes de ese proceso son capaces de rearreglar funcionalmente las secuencias de componentes de inmunoglobulina y expresar un repertorio de anticuerpos de varios isotipos codificados por genes de
30 inmunoglobulina humanos, sin expresar genes de inmunoglobulina endógenos. La producción y propiedades de mamíferos que tienen

estas propiedades son descritos en detalle por, por ejemplo, Lonberg et al., WO93/1222, US 5,877,397, US 5,874,299, US 5,814,318, US 5,789,650, US 5,770,429, US 5,661,016, US 5,633,425, US 5,625,126, US 5,569,825, US 5,545,806, Nature 148, 1547-1553 (1994), Nature Biotechnology 14, 826 (1996), Kucherlapati, WO 91/10741 (cada una de las cuales es incorporada por referencia en su totalidad para todos los propósitos). Los ratones transgénicos son particularmente apropiados. Se obtiene anticuerpos anti-A β al inmunizar un mamífero no humano transgénico, tal como se describe por Lonberg o Kucherlapati, supra, con A β o un fragmento del mismo. Los anticuerpos monoclonales son preparados mediante, por ejemplo, fusión de células B de tales mamíferos a líneas de célula de mieloma apropiadas utilizando tecnología de Kohler-Milstein convencional. También se pueden proveer anticuerpos policlonales humanos en forma de suero de humanos inmunizados con un agente inmunógeno. Opcionalmente, tales anticuerpos policlonales pueden ser concentrados mediante purificación de afinidad utilizando A β u otro péptido amiloide como un reactivo de afinidad.

(3) Métodos de Despliegue de Fago

Un procedimiento adicional para obtener anticuerpos anti-A β humanos es seleccionar una biblioteca de ADN de células B humanas de acuerdo con el protocolo general resumido por Huse et al., Science 246:1275-1281 (1989). Como se describe para la metodología de trioma, tales células B pueden ser obtenidas de un humano inmunizado con fragmentos A β , péptidos más largos que contienen A β o fragmentos o anticuerpos anti-idiotípicos. Opcionalmente, tales células B son obtenidas de un paciente que va finalmente a recibir el tratamiento de anticuerpo. Se

seleccionan anticuerpos que se enlazan a A β o un fragmento de los mismos. Luego, las secuencias que codifican tales anticuerpos (o fragmentos de enlace) son luego clonadas y amplificadas. El protocolo descrito por Huse se vuelve más
5 eficiente en combinación con la tecnología de despliegue de fago. Véase, por ejemplo, Dower et al., WO 91/17271 y McCafferty et al., WO 92/01047, US 5,877,218, US 5,871,907, US 5,858,657, US 5,837,242, US 5,733,743 y US 5,565,332 (cada una de las cuales es incorporada por referencia en su totalidad
10 para todos los propósitos). En estos métodos, se producen bibliotecas de fago en los cuales los miembros despliegan diferentes anticuerpos sobre sus superficies externas. Los anticuerpos son usualmente desplegados como fragmentos de Fv o Fab. Los anticuerpos que despliegan fago con una especificidad
15 deseada son seleccionados mediante enriquecimiento por afinidad a un péptido de A β o fragmento del mismo.

En una variación del método de despliegue de fago, se pueden producir anticuerpos humanos que tienen la especificidad de enlace de un anticuerpo murino seleccionado. Véase, Winter,
20 WO 92/20791. En este método, ya sea una u otra de la región variable de cadena pesada o cadena ligera del anticuerpo murino seleccionado es usada como material de partida. Si, por ejemplo, se selecciona una región variable de cadena ligera como el material de partida, se construye una biblioteca de
25 fago en la cual los miembros despliegan la misma región variable de cadena ligera (esto es, el material de partida murino) y una región variable de cadena pesada diferente. Las regiones variables de cadena pesada son obtenidas de una biblioteca de regiones variables de cadena pesada humanos
30 rearregladas. Un fago que muestra fuerte enlace específico por A β (por ejemplo, por lo menos 108 y preferiblemente por lo

menos 109 M-1) es seleccionado. La región variable de cadena pesada humana de este fago sirve luego como materia de partida para construir una biblioteca de fago adicional. En esta biblioteca, cada fago despliega la misma región variable de

5 cadena pesada (esto es, la región identificada de la primera biblioteca de despliegue) y una región variable de cadena ligera diferente. Las regiones variables de cadena ligera son obtenidas de una biblioteca de regiones de cadena ligera variables humanas rearmadas. Otra vez, los fagos que

10 muestran fuerte enlace específico por A β son seleccionados. Estos fagos despliegan las regiones variables de anticuerpos anti-A β completamente humanos. Estos anticuerpos tienen usualmente la misma especificidad de epítipo o especificidad de epítipo similar como el material de partida murino.

15

(4) Métodos de NANOCUERPO

También se pueden producir anticuerpos contra A β mediante los métodos de Nanobody™ (Ablynx N. V.). Los

20 nanocuerpos son proteínas terapéuticas derivadas de anticuerpo que contienen las propiedades de anticuerpos de cadena pesada que se presentan de manera estable en la naturaleza. Los nanocuerpos pueden funcionar como una sola unidad, dominio o proteína estructural de enlace de antígeno funcional

25 relativamente pequeña. La tecnología de Nanobody™ fue desarrollada originalmente enseguida del descubrimiento de que camelidae (camellos y llamas) poseen anticuerpos plenamente funcionales que carecen de cadenas ligeras. Estos anticuerpos de cadenas pesadas contienen un solo dominio variable (VHH) y

30 dos dominios constantes (CH2 y CH3). Se usa VHH para distinguirlo de los dominios variables de cadena pesada que

están presentes en anticuerpos de 4 cadenas convencionales (que son denominados como "dominios VH"). El dominio de VHH clonado y aislado es un polipéptido estable que alberga la capacidad de enlace de antígeno plena de anticuerpos de cadena pesada original. Los dominios de VHH y nanocuerpos pueden también ser diseñado a formatos multivalentes y multiespecíficos. Los nanocuerpos con una secuencia de aminoácidos que corresponde a la secuencia de aminoácidos de un dominio de VHH que se presenta de manera estable en la naturaleza pueden ser humanizados, esto es, al reemplazar uno o más residuos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de la secuencia de VHH que se presenta de manera estable en la naturaleza (y en particular en las secuencias de estructura) mediante uno o más de los residuos de aminoácidos que se presentan en la(s) posición(es) correspondiente(s) en un dominio de VH de un anticuerpo de 4 cadenas convencional de un ser humano. Para detalles, véase por ejemplo, US 20050130266, US 20040253638, WO/2006/040153, US 20050214857, WO/2006/079372 ó WO/2006/122825, cada una de las cuales es incorporada en la presente por referencia para todos los propósitos.

v. Selección de Región Constante

Las regiones variables de cadena pesada y ligera de anticuerpos quiméricos, humanizados o humanos pueden ser enlazadas a por lo menos una porción de una región constante humana. La elección de región constante depende, en parte, si se desea complemento dependiente de anticuerpo y/o toxicidad celular-moderada. Por ejemplo, los isotipos IgG1 e IgG3 tienen actividad de complemento y los isotipos IgG2 e IgG4 no. La elección del isotipo puede también afectar el paso del anticuerpo al cerebro. El isotipo humano IgG1 es preferido. Las

regiones constantes de cadena ligera pueden ser lambda o kappa. Los anticuerpos pueden ser expresados como tetrámeros que contienen dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas, como cadenas pesadas separadas, cadenas ligeras, como Fab, Fab' 5 F(ab')₂ y Fv o como anticuerpos de una sola cadena en los cuales los dominios variables de cadena pesada y cadena ligera están enlazados por medio de un separador.

vi. Expresión de Anticuerpos Recombinantes

10 Anticuerpos quiméricos, humanizados y humanos son producidos comúnmente mediante expresión recombinante. Los constructos de polinucleótidos recombinantes incluyen comúnmente una secuencia de control de expresión enlazada operativamente a la secuencia de codificación de cadenas de 15 anticuerpo, en los que se incluyen regiones de promotor asociada naturalmente o heterólogas. Preferiblemente, las secuencias de control de expresión son sistemas de promotor eucariónticos en vectores capaces de transformar o transfectar células huésped eucariónticas. Una vez que el vector ha sido 20 incorporado al huésped apropiado, el huésped es mantenido bajo condiciones apropiadas para la expresión de alto nivel de las secuencias de nucleótidos y la recolección y purificación de los anticuerpos que reaccionan de manera cruzada.

Estos vectores de expresión son comúnmente 25 replicables en los organismos huésped ya sea como episomas o como parte integral del ADN cromosomal del huésped. Comúnmente, los vectores de expresión contienen marcadores de selección, por ejemplo, resistentes a ampicilina o de resistencia a higromicina, para permitir la detección de aquellas células 30 transformadas con la secuencia de ADN deseadas.

E. coli es un huésped procarióntico particularmente

útil para clonar las secuencias de ADN de la presente invención. Los microbios, tales como levadura, son también útiles para expresión. Los *Saccharomyces* son huéspedes de levadura preferidos, con vectores apropiados que tienen
5 secuencias de control de expresión, un origen de replicación, secuencias de terminación y los semejantes como se desee. Los promotores típicos incluyen 3-fosfoglicerato cinasa y otras enzimas glicolíticas. Los promotores de levadura inducibles incluyen, entre otros, promotores de alcohol deshidrogenasa,
10 isocitocromo C y enzimas responsables por la utilización de maltosa y galactosa.

Las células mamíferas son un huésped preferido para expresar segmentos de nucleótidos que codifican inmunoglobulinas o fragmentos de las mismas. Véase Winnacker,
15 From Genes to Clones, (VCH Publishers, NY, 1987). Se han desarrollado en el arte un número de líneas de célula huésped apropiadas capaces de secretar proteínas heterólogas intactas e incluyen líneas celulares CHO, varias líneas cloruros de COS, células HeLa, células L, células de riñón embriónico humano y
20 líneas celulares de mieloma. Preferiblemente, las células son no humanas. Los vectores de expresión para estas células pueden incluir secuencias de control de expresión, tal como un origen de replicación, un promotor, un mejorador (Queen et al., Immunol. Rev. 89:49 (1986)) y sitios de información de
25 procesamiento necesarios, tales como sitios de enlace de ribozoma, sitios de empalme de ARN, sitios de poliadenilación y secuencias terminadoras transcripcionales. Las secuencias de control de expresión preferidas son promotores derivados de genes endógenos, citomegalovirus, SV40, adenovirus,
30 papilomavirus bovino y los semejantes. Véase Co et al., J. Immunol. 148:1149 (1992).

Alternativamente, secuencias de codificación de anticuerpo pueden ser incorporadas en transgenes para introducción al genoma de un animal transgénico y expresión subsecuente en la leche del animal transgénico (véase, por ejemplo, US 5,741,957, US 5,304,489, US 5,849,992). Transgenes apropiados incluyen secuencias de codificación para cadenas ligeras y/o pesadas en enlace operable con un promotor y mejorador para un gen específico de glándula mamaria, tal como caseína o beta lactoglobulina.

10 Los vectores que contienen los segmentos de ADN de interés pueden ser transferidos a la célula mediante métodos bien conocidos, dependiendo del tipo de huésped celular. Por ejemplo, se utiliza comúnmente transfección por cloruro de calcio para células procarióticas, mientras que el tratamiento
15 con fosfato de calcio, electroporación, lipofección, biolítica o transfección a base viral pueden ser usados para otros huéspedes celulares. Otros métodos usados para transformar células mamíferas incluyen el uso de polibreno, fusión de protoplasto, liposomas, electroporación y microinyección (véase
20 en general, Sambrook et al., supra). Para producción de animales transgénicos, los transgenes pueden ser microinyectados a oocitos fertilizados o pueden ser incorporados al genoma de célula de tallo embrionario y el núcleo de tales células transferidas a oocitos enucleados.

25 Una vez expresados, los anticuerpos pueden ser purificados de acuerdo con procedimientos estándar del arte, en los que se incluyen purificación de HPLC, cromatografía en columna, electroforesis de gel y los semejantes (véase en general, Scopes, Protein Purification (Springer-Verlag, NY,
30 1982)).

El 3D6 o una forma quimérica o humanizada del mismo

es un anticuerpo preferido (véase publicación de patente estadounidense No. 20030165496A1, publicación de patente estadounidense No. 20040087777A1, publicación de patente internacional No. WO 02/46237A3 y publicación de patente internacional No. WO 04/080419A2). La descripción de 3D6 también se puede encontrar, por ejemplo, en la publicación de patente internacional No. WO 02/088306A2 y publicación de patente internacional No. WO02/088307A2. Anticuerpos de 3D6 adicionales son descritos en la solicitud de patente estadounidense No. 11/303,478 y solicitud internacional No. PCT/US05/45614. El 3D6 es un anticuerpo monoclonal (mAb) que se enlaza específicamente a un epítipo N-terminal ubicado en el péptido β -amiloide humano, específicamente, residuos 1-5. Una línea celular que produce el anticuerpo monoclonal 3D6 (RB96 3D6.32.2.4) fue depositada con la American Type Culture Collection (ATCC), Manassas, VA 20108, Estados Unidos de América el 8 de abril de 2003 bajo los términos del Tratado de Budapest y tiene el número de depósito PTA-5130.

Bapineuzumab significa un anticuerpo 3D6 humanizado que comprende una cadena ligera que tiene una región variable madura que tiene la secuencia de aminoácidos designada SEQ ID NO: 1 y una cadena pesada que tiene una región variable madura que tiene la secuencia de aminoácidos designada como SEQ ID NO: 2 como se muestra a continuación.

25

Región Variable de Cadena Ligera 3D6 Humanizada

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro

Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser
Ser Gln Ser

30

Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu
Leu Gln Lys

Pro Gly Gln Ser Pro Gln Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser
Lys Leu Asp

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
Thr Asp Phe

5 Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly
Val Tyr Tyr

Cys Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gln
Gly Thr Lys

Val Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 1)

10

Región Variable de Cadena Pesada 3D6 Humanizada

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
Phe Thr Phe

15 Ser Asn Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
Lys Gly Leu

Glu Trp Val Ala Ser Ile Arg Ser Gly Gly Gly Arg Thr
Tyr Tyr Ser

Asp Asn Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn

20 Ser Lys Asn

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
Thr Ala Val

Tyr Tyr Cys Val Arg Tyr Asp His Tyr Ser Gly Ser Ser
Asp Tyr Trp

25 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO:
2)

El Bapineuzumab es conocido como AAB-001.

Una segunda versión del anticuerpo 3D6 humanizado que
comprende una cadena ligera que tiene una región variable
30 madura que tiene la secuencia de aminoácidos designada como SEQ
ID NO: 3 y una cadena pesada que tiene una región variable

madura que tiene la secuencia de aminoácidos designada como
SEQ ID NO: 4 es mostrada a continuación.

Región Variable de Cadena Ligera de 3D6 Humanizada

5 Tyr Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro
Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser
Ser Gln Ser
Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu
Leu Gln Lys
10 Pro Gly Gln Ser Pro Gln Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser
Lys Leu Asp
Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
Thr Asp Phe
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly
15 Val Tyr Tyr
Cys Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gln
Gly Thr Lys
Val Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 3)

20 Región Variable de Cadena Pesada 3D6 Humanizada

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
Phe Thr Phe
Ser Asn Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
25 Lys Gly Leu
Glu Trp Val Ala Ser Ile Arg Ser Gly Gly Gly Arg Thr
Tyr Tyr Ser
Asp Asn Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
Ala Lys Asn
30 Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
Thr Ala Leu

Tyr Tyr Cys Val Arg Tyr Asp His Tyr Ser Gly Ser Ser
Asp Tyr Trp

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO:
4)

5 Una tercera versión de anticuerpo 3D6 humanizado que
comprende una cadena ligera que tiene la secuencia de
aminoácidos designada como SEQ ID NO: 5 y una cadena pesada que
tiene la secuencia de aminoácidos designada como SEQ ID NO: 6
es descrita en US 2005/0090649 A1 publicado el 28 de abril de
10 2005, que es incorporado en la presente por referencia para
todos los propósitos.

Cadena Ligera de 3D6 Humanizada

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
15 Thr Leu Gly

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu
Leu Asp Ser

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro
Gly Gln Ser

20 Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser
Gly Val Pro

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
Leu Lys Ile

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys
25 Trp Gln Gly

Thr His Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val
Glu Ile Lys

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
Ser Asp Glu

30 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
Asn Asn Phe

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
Ala Leu Gln
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
Lys Asp Ser
5 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
Asp Tyr Glu
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
Leu Ser Ser
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys (SEQ ID
10 NO: 5)

Cadena Pesada de 3D6 Humanizada
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
15 Pro Gly Gly
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe
Ser Asn Tyr
Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
Glu Trp Val
20 Ala Ser Ile Arg Ser Gly Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ser
Asp Asn Val
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn
Ser Leu Tyr
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
25 Tyr Tyr Cys
Val Arg Tyr Asp His Tyr Ser Gly Ser Ser Asp Tyr Trp
Gly Gln Gly
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
Ser Val Phe
30 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
Ala Ala Leu

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Gln Pro Val Thr
Val Ser Trp
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
Ala Val Leu
5 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
Val Pro Ser
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
His Lys Pro
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
10 Cys Asp Lys
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gln Leu Leu
Gly Gly Pro
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
Met Ile Ser
15 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
His Glu Asp
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
Val His Asn
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
20 Tyr Arg Val
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
Gly Lys Glu
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
Ile Glu Lys
25 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
Val Tyr Thr
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
Ser Leu Thr
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
30 Glu Trp Glu
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

Pro Val Leu

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
Val Asp Lys

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
5 Met His Glu

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
Ser Pro Gly Lys (SEQ ID NO: 6)

12A11 o una forma quimérica o humanizada de
nanocuerpo del mismo es un anticuerpo preferido. El anticuerpo
10 12A11 o variante del mismo, es descrito en la publicación de
patente estadounidense No. 20050118651, publicación de patente
estadounidense No. 20060198851, publicación de patente
internacional No. WO 04/108895 y publicación de patente
internacional No. WO 06/066089, todas las cuales son
15 incorporadas por referencia en su totalidad en la presente para
todos los propósitos. 12A11 es un mAb que se enlaza
específicamente a un epítipo N-terminal ubicado en el péptido
β-amiloide, específicamente, residuos 3-7. Una línea celular
que produce el anticuerpo monoclonal 12A11 fue depositada en la
20 ATCC (American Type Culture Collection, 10801 University
Boulevard, Manassas, VA 20110-2209) el 12 de diciembre de 2005
y tiene el número de acceso de ATCC PTA-7271.

Una primera versión del anticuerpo 12A11 humanizado
que comprende una cadena ligera que tiene la secuencia de
25 aminoácidos designada como SEQ ID NO: 7 y una cadena pesada que
tiene la secuencia de aminoácidos designada como SEQ ID NO: 8
(versión 1) es descrito en US 20050118651 A1 publicado el 2 de
junio de 2005, que es incorporado en la presente por referencia
para todos los propósitos.

30

Cadena Ligera de 12A11 Humanizado

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
 Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile
 Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro
 Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
 5 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys
 Phe Gln Ser Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu
 Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

10 Cadena Pesada de 12A11 Humanizado (versión 1)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
 Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser

Cys Ala Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met
 Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala

15 Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp
 Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro

Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser
 Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

20 Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala

Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
 Val Ser Ser (SEQ ID NO: 8)

Una segunda versión del anticuerpo 12A11 humanizado
 que comprende una cadena ligera que tiene la secuencia de
 25 aminoácidos designada como SEQ ID NO: 7 y una cadena pesada que
 tiene la secuencia de aminoácidos designada como SEQ ID NO: 9
 (versión 2) es descrita en US 20050118651 A1 publicado el 2 de
 junio de 2005, que es incorporado en la presente por referencia
 para todos los propósitos.

Cadena Ligera de 12A11 Humanizado

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile
Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly
Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu
5 Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys
Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu
Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser
10 His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO. 7)

Cadena Pesada de 12A11 Humanizado (versión 2)
15 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser Gly Met
Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp
20 Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro
Ser Leu Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser
Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala
25 Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
Val Ser Ser (SEQ ID No: 9)

Una tercera versión del anticuerpo 12A11 humanizado
que comprende una cadena ligera que tiene la secuencia de
aminoácidos designada como SEQ ID NO: 7 y una cadena pesada que
30 tiene la secuencia de aminoácidos designada como SEQ ID NO: 10
(versión 2.1) es descrito en US 20050118651 A1 publicado el 2

de junio de 2005, que es incorporado en la presente por referencia para todos los propósitos.

Cadena Ligera de 12A11 Humanizado

5 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile

Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly
Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys
10 Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu

Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser
His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln

15 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

Cadena Pesada de 12A11 Humanizado (versión 2.1)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser

Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser Gly Met
20 Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp
Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro

Ser Leu Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser
Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met

25 Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala

Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
Val Ser Ser (SEQ ID NO: 10)

Una cuarta versión del anticuerpo 12A11 humanizado
30 que comprende una cadena ligera que tiene la secuencia de
aminoácidos designada como SEQ ID NO: 7 y una cadena pesada que

tiene la secuencia de aminoácidos designada como SEQ ID NO: 11 (versión 3) es descrita en US 20050118651 A1 publicado el 2 de junio de 2005, que es incorporada en la presente por referencia para todos los propósitos.

5

Cadena Ligera de 12A11 Humanizado

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile

Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly
10 Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val
Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu

15 Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser
His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln

Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

[0121] Cadena Pesada de 12A11 Humanizado (versión 3)

20 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser

Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser Gly Met
Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp
25 Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro

Ser Leu Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser
Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala

30 Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
Val Ser Ser (SEC ID NO: 11)

Una quinta versión del anticuerpo 12A11 humanizado que comprende una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos designada como SEQ ID NO: 7 y una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos designada como SEQ ID NO: 12 (versión 4.1) es descrita en US 200501 18651 A1 publicado el 2 de junio de 2005, que es incorporado en la presente por referencia para todos los propósitos.

Cadena Ligera de 12A11 Humanizado

10 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile
Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly
Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu
Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys
15 Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu
Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser
His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln
20 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO. 7)

Cadena Pesada de 12A11 Humanizado (versión 4.1)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser Gly Met
25 Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp
Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro
Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
30 Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala

Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
Val Ser Ser (SEQ ID NO: 12)

Una sexta versión del anticuerpo 12A11 humanizado que
comprende una cadena ligera que tiene la secuencia de
5 aminoácidos designada como SEQ ID NO: 7 y una cadena pesada que
tiene la secuencia de aminoácidos designada como SEQ ID NO: 13
(versión 4.2) es descrita en US 20050118651 A1 publicado el 2
de junio de 2005, que es incorporado en la presente por
referencia para todos los propósitos.

10

Cadena Ligera de 12A11 Humanizado

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile

Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly
15 Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys
Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu

20 Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser
His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln

Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

Cadena Pesada de 12A11 Humanizado (versión 4.2)

25 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser

Cys Ala Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met
Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala

30 Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp
Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro

Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser

Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala

Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
5 Val Ser Ser (SEQ ID NO: 13)

Una séptima versión del anticuerpo 12A11 humanizado
que comprende una cadena ligera que tiene la secuencia de
aminoácidos designada como SEQ ID NO: 7 y una cadena pesada que
tiene la secuencia de aminoácidos designada como SEQ ID NO: 14
10 (versión 4.3) es descrita en US 20050118651 A1 publicado el 2
de junio de 2005, que es incorporado en la presente por
referencia para todos los propósitos.

Cadena Ligera de 12A11 Humanizado

15 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile

Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly
Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys
20 Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu

Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser
His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln

25 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

Cadena Pesada de 12A11 Humanizado (versión 4.3)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser

Cys Ala Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met
30 Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp

Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro

Ser Leu Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
5 Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala

Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
Val Ser Ser (SEQ ID NO: 14)

Una octava versión del anticuerpo 12A11 humanizado
que comprende una cadena ligera que tiene la secuencia de
10 aminoácidos designada como SEQ ID NO: 7 y una cadena pesada que
tiene la secuencia de aminoácidos designada como SEQ ID NO: 15
(versión 4.4) es descrita en US 20050118651 A1 publicado el 2
de junio de 2005, que es incorporado en la presente por
referencia para todos los propósitos.

15 Cadena Ligera de 12A11 Humanizado

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile

Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly
Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu

20 Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys
Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu

Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser
25 His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln

Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

Cadena Pesada de 12A11 Humanizado (versión 4.4)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
30 Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser

Cys Ala Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met

Ser Val Gly Trp lie Arg Gln Ala

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp
Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro

Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser
5 Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala

Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
Val Ser Ser (SEQ ID NO: 15)

10 Una novena versión del anticuerpo 12A11 humanizado
que comprende una cadena ligera que tiene la secuencia de
aminoácidos designada como SEQ ID NO: 7 y una cadena pesada que
tiene la secuencia de aminoácidos designada como SEQ ID NO: 16
(versión 5.1) es descrita en US 200501 18651 A1 publicado el 2
15 de junio de 2005, que es incorporado en la presente por
referencia para todos los propósitos.

Cadena Ligera de 12A11 Humanizado

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
20 Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile

Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly
Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys
Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val

25 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu

Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser
His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln

Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID. NO: 7)

30

Cadena Pesada de 12A11 Humanizado (versión 5.1)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser

Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser Gly Met
Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala

5 Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp
Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro

Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
10 Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala

Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
Val Ser Ser (SEQ ID NO: 16)

Una décima versión del anticuerpo 12A11 humanizado
que comprende una cadena ligera que tiene la secuencia de
15 aminoácidos designada como SEQ ID NO: 7 y una cadena pesada que
tiene la secuencia de aminoácidos designada como SEQ ID NO: 17
(versión 5.2) es descrita en US 20050118651 A1 publicado el 2
de junio de 2005, que es incorporado en la presente por
referencia para todos los propósitos.

20

Cadena Ligera de 12A11 Humanizado

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile

Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly
25 Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys
Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu

30 Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser
His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln

Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

Cadena Pesada de 12A11 Humanizado (versión 5.2)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
 5 Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
 Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser Gly Met
 Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala
 Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp
 Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro
 10 Ser Leu Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser
 Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
 Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala
 Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
 15 Val Ser Ser (SEQ ID NO: 17)

Una undécima versión del anticuerpo 12A11 humanizado
 que comprende una cadena ligera que tiene la secuencia de
 aminoácidos designada como SEQ ID NO: 7 y una cadena pesada que
 tiene la secuencia de aminoácidos designada como SEQ ID NO: 18
 20 (versión 5.3) es descrita en US 20050118651 A1 publicado el 2
 de junio de 2005, que es incorporado en la presente por
 referencia para todos los propósitos.

Cadena Ligera de 12A11 Humanizado

25 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
 Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile
 Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly
 Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu
 Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys
 30 Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu

Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser
His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln

Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

5

Cadena Pesada de 12A11 Humanizado (versión 5.3)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser

Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser Gly Met
10 Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp
Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro

Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser
Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met

15 Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala

Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
Val Ser Ser Val (SEQ ID NO: 18)

Una decimosegunda versión del anticuerpo 12A11
20 humanizado que comprende una cadena ligera que tiene la
secuencia de aminoácidos designada como SEQ ID NO: 7 y una
cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos designada
como SEQ ID NO: 19 (versión 5.4) es descrita en US 20050118651
A1 publicado el 2 de junio de 2005, que es incorporado en la
25 presente por referencia para todos los propósitos.

Cadena Ligera de 12A11 Humanizado

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile

30 Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly
Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys
Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu

5 Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser
His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln

Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

Cadena Pesada de 12A11 Humanizado (versión 5.4)

10 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser

Cys Ala Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met
Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp
15 Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro

Ser Leu Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala

20 Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
Val Ser Ser Val (SEQ ID NO: 19)

Una decimotercera versión del anticuerpo 12A11
humanizado que comprende una cadena ligera que tiene la
secuencia de aminoácidos designada como SEQ ID NO: 7 y una
25 cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos designada
como SEQ ID NO: 20 (versión 5.5) es descrita en US 20050118651
A1 publicado el 2 de junio de 2005, que es incorporado en la
presente por referencia para todos los propósitos.

30 Cadena Ligera de 12A11 Humanizado

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile

Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly
Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys
5 Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu

Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser
His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln

10 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

Cadena Pesada de 12A11 Humanizado (versión 5.5)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser

15 Cys Ala Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met
Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp
Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro

Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser
20 Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala

Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
Val Ser Ser (SEQ ID NO: 20)

25 Una decimocuarta versión del anticuerpo 12A11
humanizado que comprende una cadena ligera que tiene la
secuencia de aminoácidos designada como SEQ ID NO: 7 y una
cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos designada
como SEQ ID NO: 21 (versión 5.6) es descrita en US 20050118651
30 A1 publicado el 2 de junio de 2005, que es incorporado en la
presente por referencia para todos los propósitos.

Cadena Ligera de 12A11 Humanizado

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile

5 Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly
Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys
Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
10 Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu

Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser
His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln

Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

15 Cadena Pesada de 12A11 Humanizado (versión 5.6)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser

Cys Ala Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met
Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala

20 Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp
Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro

Ser Leu Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser
Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
25 Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala

Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
Val Ser Ser (SEQ ID NO: 21)

Una decimoquinta versión del anticuerpo 12A11
humanizado que comprende una cadena ligera que tiene la
30 secuencia de aminoácidos designada como SEQ ID NO: 7 y una
cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos designada

como SEQ ID NO: 22 (versión 6.1) es descrita en US 20050118651 A1 publicado el 2 de junio de 2005, que es incorporado en la presente por referencia para todos los propósitos.

5 Cadena Ligera de 12A11 Humanizado

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile

Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly
Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu

10 Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys
Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu

Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser
15 His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln

Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

Cadena Pesada de 12A11 Humanizado (versión 6.1)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
20 Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser

Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser Gly Met
Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp
Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro

25 Ser Leu Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala

Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
30 Val Ser Ser (SEQ ID NO: 22)

Una decimosexta versión del anticuerpo 12A11

humanizado que comprende una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos designada como SEQ ID NO: 7 y una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos designada como SEQ ID NO: 23 (versión 6.2) es descrita en US 20050118651
 5 Al publicado el 2 de junio de 2005, que es incorporado en la presente por referencia para todos los propósitos.

Cadena Ligera de 12A11 Humanizado

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
 10 Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile
 Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly
 Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu
 Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys
 Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
 15 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
 Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu
 Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser
 His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

20

Cadena Pesada de 12A11 Humanizado (versión 6.2)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
 Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
 Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser Gly Met
 25 Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala
 Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp
 Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro
 Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser
 Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
 30 Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala

Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
Val Ser Ser (SEQ ID NO: 23)

Una decimoséptima versión del anticuerpo 12A11
humanizado que comprende una cadena ligera que tiene la
5 secuencia de aminoácidos designada como SEQ ID NO: 7 y una
cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos designada
como SEQ ID NO: 24 (versión 6.3) es descrita en US 20050118651
A1 publicado el 2 de junio de 2005, que es incorporado en la
presente por referencia para todos los propósitos.

10

Cadena Ligera de 12A11 Humanizado

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile

Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly
15 Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys
Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu

20 Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser
His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln

Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

Cadena Pesada de 12A11 Humanizado (versión 6.3)

25 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser

Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser Gly Met
Ser Val Gly Trp lie Arg Gln Ala

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp
30 Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro

Ser Leu Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala

Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
5 Val Ser Ser (SEQ ID NO: 24)

Una decimoctava versión del anticuerpo 12A11 humanizado que comprende una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos designada como SEQ ID NO: 7 y una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos designada como SEQ ID NO: 25 (versión 6.4) es descrita en US 20050118651 A1 publicado el 2 de junio de 2005, que es incorporado en la presente por referencia para todos los propósitos.

Cadena Ligera de 12A11 Humanizado

15 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile

Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly
Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys
20 Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu

Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser
His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln

25 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

Cadena Pesada de 12A11 Humanizado (versión 6.4)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser

30 Cys Ala Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met
Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala His Ile Trp Trp
Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro

Ser Leu Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser
Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met

5 Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala

Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
Val Ser Ser (SEQ ID NO: 25)

Una decimonovena versión del anticuerpo 12A11
10 humanizado que comprende una cadena ligera que tiene la
secuencia de aminoácidos designada como SEQ ID NO: 7 y una
cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos designada
como SEQ ID NO: 26 (versión 7) es descrita en US 20050118651 A1
publicado el 2 de junio de 2005, que es incorporado en la
15 presente por referencia para todos los propósitos.

Cadena Ligera de 12A11 Humanizado

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile

20 Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly
Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys
Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
25 Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu

Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser
His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln

Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

Cadena Pesada de 12A11 Humanizado (versión 7)

JF1

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser

Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser Gly Met
Ser Val Gly Trp Val Arg Gln Ala

5 Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp
Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro

Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
10 Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala

Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
Val Ser Ser (SEQ ID NO: 26)

Una vigésima versión del anticuerpo 12A11 humanizado
que comprende una cadena ligera que tiene la secuencia de
15 aminoácidos designada como SEQ ID NO: 7 y una cadena pesada que
tiene la secuencia de aminoácidos designada como SEQ ID NO: 27
(versión 8) es descrita en US 20050118651 A1 publicado el 2 de
junio de 2005, que es incorporado en la presente por referencia
para todos los propósitos.

20

Cadena Ligera de 12A11 Humanizado

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile

Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly
25 Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys
Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu

30 Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser
His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln

Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO: 7)

Cadena Pesada de 12A11 Humanizado (versión 8)

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
 5 Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
 Cys Ala Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met
 Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala
 Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp
 Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro
 10 Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser
 Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
 Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala
 Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
 15 Val Ser Ser (SEQ ID NO: 8)

Cualquiera de los anticuerpos descritos anteriormente
 pueden ser producidos con diferentes isotipos o isotipos
 mutantes para controlar la extensión de enlace a diferentes
 receptor de Fc. Los anticuerpos que carecen de una región de Fc
 20 (por ejemplo, fragmentos Fab) carecen de enlace a receptores de
 Fc. La selección de isotipo también afecta el enlace a los
 receptores de Fc. Las afinidades respectivas de los varios
 isotipos IgG humano para los tres receptores Fcγ, FcRI, FcRII y
 FcRIII, han sido determinadas (véase Ravetch & Kinet, Annu.
 25 Rev. Immunol. 9, 457 (1991)). FcRI es un receptor de alta
 afinidad que se enlaza a IgG en forma monomérica y los últimos
 dos son receptores de baja afinidad que se enlazan a IgG
 solamente en forma multimérica. En general, ambos IgG1 y IgG3
 tienen actividad de enlace significativa a todos los tres
 30 receptores, IgG4 a FcR1 y IgG2 a solamente un tipo de FcRII
 llamado IIaLR (véase Parren et al., J. Immunol. 148, 695

(1992). Por consiguiente, el isotipo humano IgG1 es usualmente seleccionado por enlace más fuerte a receptores de Fcγ es deseable y IgG2 es usualmente seleccionado para el enlace más débil.

5 Mutaciones sobre sitios adyacentes o sitios cercanos en la región de enlace de articulación (por ejemplo, reemplazando residuos 234, 235, 236 y/o 237 con otro residuo) en todos los isotipos reduce la afinidad por receptores Fcγ, particularmente el receptor FcγRI. Opcionalmente, las
10 posiciones 234, 236 y/o 237 son sustituidas con alanina y la posición 235 con glutamina. (Véase, por ejemplo, patente estadounidense 5,624,821). La posición 236 es faltante en el isotipo IgG2 humano. Segmentos ejemplares de aminoácidos para posiciones 234, 235 y 237 para IgG2 humano son ala ala gly, val
15 ala ala, ala ala ala, val glu ala y ala glu ala. Una combinación preferida de mutantes es L234A, L235A y G237A para el isotipo humano IgG1. Un anticuerpo preferido particular es bapineuzumab que tiene el isotipo humano IgG y estas tres mutaciones de la región Fc. Otras sustituciones que disminuyen
20 el hallazgo a receptores gamma Fc son una mutación E233P (particularmente en IgG1 de ratón) y D265A.

Los aminoácidos en la región constante son numerados por alineación con el anticuerpo humano EU (véase Cunningham et al., J. Biol. Chem., 9, 3161 (1970)). Esto es, las cadenas
25 pesadas y ligeras de un anticuerpo son alineadas con las cadenas pesadas y ligeras de EU para maximizar la identidad de secuencia de aminoácidos y se asigna a cada aminoácido en el anticuerpo el mismo número como el aminoácido correspondiente en EU. El sistema de numeración de EU es convencional (véase,
30 en general, Kabat et al., Sequences of Protein og Immunological Interest, NIH Publication No. 91-3242, US Departm of Health and

Human Services (1991)).

La afinidad de un anticuerpo por el componente de complemento Clq puede ser alterada mediante mutación de por lo menos uno de los residuos de aminoácido 318, 320 y 322 de la
5 cadena pesada ha sido cambiado a un residuo que tiene una diferente cadena lateral. Otras alteraciones apropiada para alterar, por ejemplo, reducir o abolir Clq-enlace específico a un anticuerpo incluyen cambiar cualquiera de los residuos 318 (Glu), 320 (Lys) y 322 (Lys), a Ala. La actividad de enlace de
10 Clq puede ser abolida al reemplazar cualquiera de los tres residuos especificados con un residuo que tiene una funcionalidad inapropiada sobre su cadena lateral. No es necesario reemplazar los residuos iónicos solamente con Ala para abolir el enlace de Clq. También es posible utilizar otros
15 residuos no iónicos alquilo-sustituídos, tales como Gly, Ile, Leu o Val o tales residuos no polares aromáticos Phe, Tyr, Trp y Pro en lugar de cualquiera de uno de los tres residuos con el fin de abolir el enlace de Clq. Además, también ser posible utilizar tales residuos no iónicos polares como Ser, Thr, Cys y
20 Met en lugar de residuos 320 y 322, pero no 318, para abolir la actividad de enlace de Clq. El reemplazo del residuo 318 (Glu) por un residuo polar puede modificar pero no abolir la actividad de enlace de Clq. El reemplazo del residuo 297 (Asn) con Ala da como resultado la remoción de actividad lítica, en
25 tanto que solo reduce ligeramente (aproximadamente tres veces más débil) la afinidad por Clq. Esta alteración destruye el sitio de glicosilación y la presencia de carbohidrato que es requerida para la activación del complemento. Cualquier otra
30 sustitución en este sitio también destruye el sitio de glicosilación.

III. PACIENTES SUSCEPTIBLES A REGÍMENES DE TRATAMIENTO (CAA)

La angiopatía amiloide cerebral es también conocida como angiopatía congofílica o amiloidosis cerebrovascular. Es una enfermedad de los vasos sanguíneos pequeños en el cerebro en los cuales depósitos de proteína amiloide en las paredes del vaso pueden conducir a accidente cerebrovascular, hemorragia cerebral, isquemia de materia blanca o demencia. La proteína amiloide se asemeja a un almidón y es depositada en los tejidos durante el curso de ciertas enfermedades crónicas.

CAA puede afectar a pacientes de más de 45, pero es más común en pacientes de más de 65 años y se vuelve más común con la edad incrementada. Los hombres y mujeres son afectados igualmente. En algunos casos, CAA es esporádica pero puede también ser heredada como una condición dominante autosomal (una forma de herencia en la cual solamente una copia de un gen que codifica por una enfermedad necesita estar presente para que aquella enfermedad sea expresada; si ya sea uno u otro del padre tiene la enfermedad, un niño tiene 50% de probabilidad de heredar la enfermedad). CAA es responsable por el 5-20% de hemorragia cerebral y hasta 30% de hemorragias globales localizadas a un lóbulo del cerebro. CAA puede ser encontrado durante una autopsia en un tercio de las personas de más de 60 años, aunque pueden no haber tenido hemorragia cerebral, acción cerebrovascular u otras manifestaciones de la enfermedad durante la vida. En la enfermedad de Alzheimer, CAA es más común que en la población general y se puede presentar en más del 80% de los pacientes con Alzheimer de más de 60 años.

La causa de depósitos amiloides en vasos sanguíneos en el cerebro en CAA esporádico no es conocida. El CAA hereditario, los defectos genéticos, comúnmente en el cromosoma 21, permiten la acumulación de amiloide, una proteína compuesta

de unidades llamadas fibrilos de hoja beta-plegadas. Los fibrilos se tienden a agrupar conjuntamente, de tal manera que el amiloide no puede ser disuelto y se acumula en las paredes del vaso sanguíneo del cerebro. Una forma de las proteínas de sub-unidad de fibrilo amiloide es la proteína beta amiloide.

Los depósitos amiloides pueden destruir las células endoteliales o células de músculo liso o tanto células endoteliales como células de músculo liso o provocar inflamación en la pared del vaso sanguíneo y pueden también provocar que el vaso sanguíneo se rompa más fácilmente. El sangrado al cerebro puede también ocurrir ya que los vasos sanguíneos pequeños que portan depósitos amiloides se vuelven más pesados y más quebradizos y son más probables por consiguiente que estallen con trauma menor o con la presión sanguínea fluctuante. Aneurismos o engrosamiento de la pared del vaso sanguíneo se pueden desarrollar y pueden también romperse a medida que la pared estirada se vuelve más delgada y está bajo más presión.

La forma más común de CAA es la forma esporádica asociada con el envejecimiento. Este tipo de CAA causa usualmente hemorragia lobar, que puede recurrir en diferentes lóbulos del cerebro. El lóbulo frontal (detrás de la frente) y lóbulo parietal (detrás del lóbulo frontal) son más frecuentemente afectados; el lóbulo temporal (cerca de la sien) y lóbulo occipital (en la parte posterior del cerebro) son afectados menos frecuentemente y el cerebelo (debajo del lóbulo occipital) es raramente afectado. Aproximadamente 10-50% de hemorragias en CAA esporádico involucran más de un lóbulo.

Los síntomas de hemorragia lobar en CAA incluyen inicio repentino de dolor de cabeza, síntomas neurológicos tales como debilidad, pérdida sensorial, cambios visuales o

problemas de habla, dependiendo de cual lóbulo está involucrado y nivel disminuido de conciencia (un paciente que es difícil de despertar), náusea y vómito. El CAA esporádico puede estar asociado con síntomas no relacionados con la hemorragia lobal. Las hemorragias petequiales (hemorragias pequeñas que involucran muchos vasos pequeños pueden producir síntomas neurológicos breves recurrentes secundarios a ataques o flujo sanguínea disminuido o pueden producir demencia rápidamente progresiva (pérdida de memoria y otras funciones cerebrales) que empeoran en etapas distintas en lugar de gradualmente. Más de 40% de pacientes con hemorragia secundaria a CAA también tienen demencia.

Los factores genéticos desempeñan un papel en ciertos tipos de CAA y en enfermedades asociadas con CAA:

• El tipo holandés de hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis (acumulación de proteína amiloide en vasos sanguíneos): dominante autosomal, con una mutación genética que involucra la proteína precursora amiloide. El inicio es a la edad de 40-60 con dolores de cabeza, hemorragia cerebral frecuentemente en el lóbulo parietal, accidentes cerebrovasculares y demencia. Más de la mitad de pacientes mueren de su primera hemorragia. Las pacientes con tipo holandés de CAA pueden producir un anticoagulante anormal o sangre más delgada, lo que hace a la hemorragia más probable.

• Tipo flemático de hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis: dominante autosomal, con una mutación que involucra la proteína precursora amiloide. Los síntomas incluyen hemorragia cerebral o demencia.

• Enfermedad de Alzheimer familiar: dominante autosomal, que comprende el 5-10% de todos los casos de enfermedad de Alzheimer (una enfermedad cerebral en el cual la

muerte de las células de nervios conduce a demencia progresiva).

• Síndrome de Down: provocado por trisomía 21 (tres en lugar de dos copias del cromosoma 21), provocando gen de proteína de precursor de amiloide en exceso. Los niños con Síndrome de Down están mentalmente afectados y pueden tener problemas del corazón.

• Tipo de Islandia de hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis: dominante autosomal, con mutación en el gen que codifica por cistatina C. Los síntomas frecuentemente comienzan a la edad de 30-40 con múltiples hemorragias cerebrales, demencia, parálisis (debilidad) y muerte a los 10-20 años. El dolor de cabeza ocurre en más de la mitad de los pacientes y los ataques ocurren en un cuarto de los pacientes. A diferencia de la mayoría de otras formas de CAA, la mayoría de las hemorragias involucran los ganglios basales profundos dentro del cerebro. (Los ganglios basales son islas de tejidos en la parte del cerebelo del cerebro).

• Amiloidosis oculo-leptomeningeal familiar: dominante autosomal con defecto(s) genético(s) desconocido(s), descritos en familias japonesas, italianas y estadounidenses. Los síntomas pueden incluir demencia, ataxia (problemas con coordinación), espasticidad (rigidez de la extremidad), accidentes cerebrovasculares, ataques, neuropatía periférica (enfermedad que afecta los nervios que alimentan las extremidades), migraña, problemas de médula espinal, ceguera y sordera. La hemorragia cerebral es rara ya que la proteína amiloide es depositada en vasos sanguíneos en el ojo y meninges (cubiertas del cerebro), pero no en el cerebro mismo. En las familias italianas con la enfermedad, los pacientes pueden ser afectados tan pronto como a los 20-30 años de edad.

- Tipo británico de amiloidosis familiar: autosomal dominante con defecto(s) genético(s) desconocido(s), asociado con demencia progresiva, espasticidad y ataxia. El tallo cerebral, médula espinal y cerebelo, todos exhiben depósitos amiloides, pero la hemorragia comúnmente no se presenta.

En algunos métodos, un paciente tiene CAA y está libre de síntomas de Alzheimer u otra enfermedad propensa al tratamiento por anticuerpos a A β o agentes aptos de inducir el mismo. En otros métodos, el paciente tiene CAA y Alzheimer concurrente u otra enfermedad propensa a tratamiento por anticuerpos a A β o agentes capaces de inducir los mismos. En otros métodos, un paciente está libre de CAA y enfermedad de Alzheimer y cualquier otra enfermedad propensa al tratamiento por anticuerpos a A β o agentes capaces de inducir las mismas.

En pacientes asintomáticos, el tratamiento puede comenzar a cualquier edad (por ejemplo, 10, 20 ó 30). Sin embargo, usualmente no es necesario comenzar el tratamiento hasta que un paciente llega a los 40, 50, 60 ó 70. El tratamiento abarca comúnmente múltiples dosis en un período de tiempo. El tratamiento puede ser monitoreado al analizar el anticuerpo o respuestas de célula T o célula B activadas al agente terapéutico (anticuerpo a A β o un fragmento del mismo) con el paso del tiempo. Si la respuesta cae, se indica una dosificación de refuerzo.

Opcionalmente, la presencia síntomas, signos o factores de riesgo de una enfermedad es determinada antes de comenzar el tratamiento.

IV. DIAGNOSIS Y MONITOREO DE PACIENTES DE CAA

Como en la mayoría de las enfermedades neurológicas, la diagnosis se hace más frecuentemente a partir de la historia

del paciente, con preguntas cuidadosas a la historia de familia y el principio del paciente y patrones de síntomas, también como examen neurológico. El barrido por tomografía computarizada del cerebro (CT) o impresión de resonancia magnética (MRI) pueden identificar hemorragia lobar, accidente cerebrovascular o hemorragias petequiales y son importantes para excluir malformación arteriovenosa, tumor de cerebro u otras de hemorragia. La angiografía (un estudio por rayos X del interior de vasos sanguíneos y el corazón) no es útil en la
10 diagnóstico de CAA, pero puede ser necesario para excluir aneurismo. La biopsia cerebral (remoción quirúrgica de una pieza pequeña de tejido de cerebro) puede mostrar depósitos amiloides característicos. Si la diagnosis es incierta, la biopsia puede ser necesaria para eliminar condiciones que son
15 potencialmente tratables. La punción lumbar para examinar proteínas de fluido cerebroespinal puede mostrar anormalidades características.

CAA con hemorragia debe ser distinguido de otros tipos de hemorragia del cerebro. En CAA, la hemorragia
20 comúnmente ocurre en la región lobar, frecuentemente rupturas al espacio subaracnoide entre el cerebro y sus cubiertas y ocurre en la noche. En la hemorragia relacionada con alta presión sanguínea, la hemorragia es usualmente más profunda dentro del cerebro, rupturas a los ventrículos o cavidades en
25 la profundidad al interior del cerebro y ocurre durante actividades del día. Otras causas de hemorragia del cerebro son malformaciones arteriovenosas, trauma, aneurismos, sangrado a un tumor de cerebro, vasculitis (inflamación de vasos sanguíneos) o alteraciones de sangrado. Los pacientes pueden
30 ser monitoreados por microhemorragia cerebral mediante MRI y/o por remoción amiloide vascular mediante barrido por tomografía

de emisión de positrones (PET).

Los pacientes propensos al tratamiento incluyen individuos en riesgo de CAA pero que no muestran síntomas, también como pacientes que presentan síntomas.

5

V. RÉGIMENES DE TRATAMIENTO

En aplicaciones profilácticas, se administran composiciones farmacéuticas o medicamentos a un paciente susceptible de o de otra manera en riesgo de CAA en un régimen
10 que comprende una cantidad y frecuencia de administración de la composición o medicamento suficiente para eliminar o reducir el riesgo, disminuir la severidad o retardar el inicio de la enfermedad, incluyendo síntomas fisiológicos, bioquímicos, histológicos y/o conductuales de la enfermedad, sus
15 complicaciones y fenotipos patológicos intermedios que se presentan durante el desarrollo de la enfermedad. En aplicaciones terapéuticas, se administran composiciones o medicamentos a un paciente que se sospecha de, o que ya sufre de tal enfermedad en un régimen que comprende una cantidad y
20 frecuencia de administración de la composición suficiente para curar o detener por lo menos parcialmente los síntomas de la enfermedad (fisiológicos, bioquímicos, histológicos y/o conductuales), incluyendo sus complicaciones y fenotipos patológicos intermedios en el desarrollo de la enfermedad. Una
25 cantidad apropiada para llevar a cabo el tratamiento terapéutico o profiláctico es definida como una dosis terapéutica o profilácticamente efectiva. Una combinación de cantidad y frecuencia de dosificación apropiada para llevar a cabo el tratamiento terapéutico o profiláctico es definida como
30 un régimen terapéutica o profilácticamente efectivo. En ambos regímenes profiláctico y terapéutico, los agentes son

administrados usualmente en varias dosis hasta que se ha obtenido una respuesta inmune suficiente. Comúnmente, la respuesta inmune es monitoreada y dosificaciones repetidas son dadas si la respuesta inmune comienza a disminuir.

5 Dosis efectivas de las composiciones de la presente invención, para el tratamiento de las condiciones descritas anteriormente, varían dependiendo de muchos factores diferentes, en los que se incluyen medios de administración, sitio objetivo, estado fisiológico del paciente, si el paciente
10 es humano o animal, otras medicaciones administradas y si el tratamiento es profiláctico o terapéutico. Usualmente, el paciente es un humano pero también se pueden tratar mamíferos no humanos en los que se incluyen mamíferos transgénicos. Las dosificaciones de tratamiento necesitan ser tituladas para
15 optimizar la seguridad y eficacia. La cantidad de inmunógeno depende de si el adyuvante es también administrado, se requieren dosis más altas en ausencia de adyuvante. La cantidad de un inmunógeno para administración algunas veces varía de 1-500 µg por paciente y más usualmente de 5-500 µg por inyección
20 para administración humana. Comúnmente, se usa alrededor de 10, 20, 50 ó 100 µg para cada inyección humana. La masa de inmunógeno también depende de la proporción de masa del epítipo inmunógeno dentro del inmunógeno a la masa del inmunógeno como un todo. Comúnmente, 10^{-3} a 10^{-5} micromoles de epítipo
25 inmunógeno son usados por microgramo de inmunógeno. La temporización de inyecciones puede variar significativamente de una vez al día, a una vez al año, a una vez cada década. En cualquier día dado que una dosificación de inmunógeno es dada, la dosificación es mayor de 1 µg/paciente y usualmente mayor de
30 10 µg/paciente si también se administra adyuvante y mayor de 10 µg/paciente y usualmente mayor de 100 µg/paciente en ausencia

de adyuvante. Un régimen típico consiste de una inmunización seguida por inyecciones de refuerzo al intervalo de tiempo, tales como intervalos de 6 semanas. Otro régimen consiste de una inmunización seguida por inyecciones de refuerzo 1, 2 y 12
5 meses más tarde. Otro régimen abarca una inyección cada dos meses de por vida. Alternativamente, inyecciones de refuerzo pueden estar en una base irregular como se indica por el monitoreo de la respuesta inmune.

Para la inmunización pasiva con un anticuerpo, el
10 régimen de dosificación es usualmente de 0.01 a 5 mg/Kg, del peso corporal del huésped. En particular, la dosificación fluctúa de aproximadamente 0.5 a menos de 5 mg/Kg, y más usualmente 0.5 a 3 mg/Kg del peso corporal del huésped. Por ejemplo, las dosificaciones pueden ser menores de 5 mg/Kg de
15 peso corporal o 1.5 mg/Kg de peso corporal o dentro del intervalo de 0.5 a 1.5 mg/Kg, preferiblemente por lo menos 1.5 mg/Kg. Los sujetos pueden ser administrados con tales dosis diariamente, o alternativamente días, semanalmente, o de acuerdo con otro horario determinado por análisis empírico. Un
20 tratamiento ejemplar abarca la administración en múltiples dosificaciones en un período prolongado, por ejemplo, por lo menos seis meses. Regímenes de tratamiento ejemplares adicionales abarcan la administración una vez al día por cada dos semanas o una vez al mes o una vez cada 3 a 6 meses.

25 Los horarios de dosificación pasivos ejemplares incluyen 1.5-3 mg/Kg o 1.5 mg/Kg cada trece semanas. Los agentes de la invención son usualmente administrados en múltiples ocasiones. Los intervalos entre dosificaciones individuales pueden ser semanal, mensualmente, cada trece
30 semanas o anualmente. Los intervalos pueden también ser irregulares, tal como se indica a medir los niveles sanguíneos

de anticuerpo a A β en el paciente.

En algunos métodos, la dosificación es ajustada para obtener una concentración de anticuerpo en el plasma de 1-1000 $\mu\text{g/ml}$ y en algunos métodos 25-300 $\mu\text{g/ml}$. Alternativamente, el anticuerpo puede ser administrado como una formulación de liberación sostenida, en cuyo caso se requiere administración menos frecuente. La dosificación y frecuencia varían dependiendo de la vida media del anticuerpo en el paciente. En general, los anticuerpos humanos muestran la vida media más larga, seguidos por anticuerpos humanizados, anticuerpos quiméricos y anticuerpos no humanos.

Los regímenes preferidos para administrar anticuerpos específicos para el término N de A β obtienen una concentración promedio en el suero de anticuerpo administrado de 1-15 $\mu\text{g/ml}$ en un paciente. La concentración en el suero puede ser determinada mediante medición real o predicha de farmacocinética estándar (por ejemplo, WinNonline Versión 4.0.1 (Pharsight Corporation, Cary, USA)) en base a la cantidad de anticuerpo administrado, frecuencia de administración, ruta de administración y vida media de anticuerpo. La concentración promedio de anticuerpo en el suero está preferiblemente en un intervalo de 1-10, 1-5 ó 2-4 $\mu\text{g/ml}$.

Para administración intravenosa, dosis de 0.1 a 5 mg/Kg de anticuerpo administrado entre mensual y trimestralmente (cada 13 semanas) son preferidas. Para la administración trimestral, la dosis está preferiblemente en un intervalo de 0.5-3, 0.5-2 ó 0.5-1.5 mg/Kg. Dosis preferidas de anticuerpo para administración intravenosa mensualmente ocurren en el intervalo de 0.1 - 1.0 mg/Kg de anticuerpo o preferiblemente 0.5-1.0 mg/Kg de anticuerpo.

Para dosificación más frecuente, por ejemplo, de

dosificación semanal a mensualmente, la administración subcutánea es preferida. Las dosis usadas para dosificación subcutánea están usualmente en el intervalo de 0.1 a 0.6 mg/Kg o 0.01-0.35 mg/Kg, Preferiblemente 0.05-0.25 mg/Kg. Para dosificación semanal o bi-semanalmente, la dosis está preferiblemente en el intervalo de 0.015-0.2 mg/Kg o 0.05-0.15 mg/Kg. Para dosificación semanalmente, la dosificación es preferiblemente 0.05 a 0.07 mg/Kg, por ejemplo 0.06 mg/Kg. Para dosificación bi-semanalmente, la dosis es preferiblemente 0.1 a 0.15 mg/Kg. Para dosificación mensualmente, la dosis es preferiblemente de 0.1 a 0.3 mg/Kg o 2 mg/Kg. La dosificación mensualmente incluye dosificación mediante el mes de calendario o mes lunar (esto es, cada cuatro semanas).

El régimen de tratamiento es usualmente proseguido, de tal manera que las concentraciones promedio en el suero de anticuerpo descritas anteriormente son mantenidas por al menos seis meses o un año o algunas veces de por vida. La concentración en el suero puede ser medida a cualquier tiempo durante el tratamiento y/o la dosis y/o la frecuencia de administración incrementada si la concentración promedio cae debajo de un intervalo objetivo o la dosis y/o frecuencia disminuida si la concentración promedio cae por encima de un intervalo objetivo.

Aunque la determinación de las concentraciones óptimas en el plasma de anticuerpo es útil para determinar un régimen de dosificación u optimización de la dosificación en un paciente individual, en la práctica una vez que un régimen de dosificación efectivo en términos de mg/Kg o mg y frecuencia de administración se ha determinado, el mismo régimen de dosificación puede ser usado en muchos otros pacientes sin la necesidad de cálculo detallado o medición detallada de títulos

186

de pacientes. Así, cualquiera de las dosificaciones y regímenes de tratamiento mencionados anteriormente pueden ser usados sin consideración de si un título es medido o predicho en un paciente particular. Por ejemplo, un régimen apropiado es

5 administración intravenosa a intervalos mensuales con una dosis en un intervalo de 0.1-1.0 mg/Kg de anticuerpo o preferiblemente 0.5-1.0 mg/Kg de anticuerpo. Para dosificación subcutánea la dosis usada está usualmente en el intervalo de 0.01-0.6 mg/Kg o 0.01-0.35 mg/Kg, Preferiblemente 0.05-0.25

10 mg/Kg. Para dosificación semanal o bi-semanalmente, la dosis está preferiblemente en el intervalo de 0.015-0.2 mg/Kg o 0.05-0.15 mg/Kg. Para la dosificación semanalmente, la dosis es preferiblemente de 0.05 a 0.07 mg/Kg, por ejemplo 0.06 mg/Kg. Para la dosificación bi-semanalmente, la dosis es

15 preferiblemente de 0.1 a 0.15 mg/Kg. Para la dosificación mensualmente, la dosis es preferiblemente de 0.1 a 0.3 mg/Kg o 2 mg/Kg.

Aquí, como en cualquier parte en la solicitud, las dosificaciones expresadas en mg/Kg pueden ser convertidas a

20 dosificaciones de masa absoluta al multiplicar por la masa de un paciente individual (por ejemplo, 70 ó 75 Kg) redondeando comúnmente a un número entero. Expresado en términos de masa absoluta, los anticuerpos son administrados usualmente a una dosis de 1-40 mg a una frecuencia de entre semanal y

25 mensualmente. Los intervalos preferidos son de 5-25 mg o 2.5-15 mg a una frecuencia de semanal a mensualmente. Para la administración semanal a bi-semanalmente, la dosificación es frecuentemente de 1-12 mg o 2.5 a 10 mg. Para la administración semanal, la dosis es frecuentemente de 2.5 a 5 mg o 4-5 mg.

30 Para la administración bi-semanalmente, la dosis puede ser de 7-10 mg. La masa de anticuerpo empacado para administración en

dosis unitarias es usualmente redondeada a un número entero, tal como 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 75 ó 100 mg.

La dosificación y frecuencia de administración pueden variar dependiendo de si el tratamiento es profiláctico o terapéutico. En aplicaciones profilácticas, composiciones que contienen los anticuerpos presentes o un cóctel de los mismos son administradas a un paciente que todavía no está en estado de enfermedad para mejorar la resistencia de paciente. Tal cantidad es definida como una "dosis profiláctica efectiva". En este uso, las cantidades precisas dependen otra vez del estado de salud del paciente e inmunidad general, pero fluctúan en general de 0.1 a 25 mg por dosis, especialmente 0.5 a 2.5 mg por dosis. Una dosificación relativamente baja es administrada a intervalos relativamente no frecuentes en un período de tiempo largo. Algunos pacientes continúan recibiendo el tratamiento por el resto de sus vidas.

En aplicaciones terapéuticas, una dosificación relativamente alta (por ejemplo, de aproximadamente 10 a 250 mg de anticuerpo por dosis, con dosificaciones de 5 a 25 mg que son usadas más comúnmente) a intervalos relativamente cortos es algunas veces requerida hasta que el avance de la enfermedad es reducido o terminado y preferiblemente hasta que el paciente muestra mejora parcial o completa de los síntomas de la enfermedad. Después de esto, el paciente puede ser administrado con un régimen profiláctico.

Los agentes de la invención pueden opcionalmente ser administrados en combinación con otros agentes que son efectivos por lo menos parcialmente en el tratamiento de enfermedad amiloidogénica. En el caso de CAA, en el cual los depósitos amiloides se presentan en la vasculatura cerebral, los agentes de la invención pueden también ser administrados en

conjunción con otros agentes que incrementan el paso de los agentes de la invención a través de la barrera de sangre-cerebro.

Las dosis para ácidos nucleicos que codifican
5 inmunógenos fluctúan de aproximadamente 10 ng a 1 g, 100 ng a 100 mg, 1 µg a 10 mg o 30-300 µg de ADN por paciente. Las dosis para vectores virales infecciosos varían de 10-100, o más, viriones por dosis.

Los agentes para inducir una respuesta inmune pueden
10 ser administrados mediante medios parenterales, tópicos, intravenosos, orales, subcutáneos, intraarterial, intracraneales, intratecales, intraperitoneales, intranasales o intramusculares para tratamiento profiláctico y/o terapéutico. La ruta de administración más típica de un agente inmunógeno es
15 subcutánea, aunque otras rutas pueden igualmente ser efectivas. La siguiente ruta más común es inyección intramuscular. Este tipo de inyección es efectuada más comúnmente en el brazo o músculos de la pierna. En algunos métodos, los agentes son inyectados directamente a un tejido particular en donde los
20 depósitos se han acumulado, por ejemplo inyección intracraneal. La inyección intramuscular o infusión intravenosa son preferidos para la administración del anticuerpo. En algunos métodos, anticuerpos terapéuticos particulares son inyectados directamente al cráneo. En algunas modalidades, los anticuerpos
25 son administrados como una composición o dispositivos de liberación sostenida, tal como un dispositivo Medipad™.

Como se indica anteriormente, los agentes que inducen una respuesta inmunógena contra Aβ respectivamente pueden ser administrados en combinación. Los agentes pueden ser combinados
30 en una sola preparación o kits para uso simultáneo, secuencial o separado. Los agentes pueden ocupar frascos separados en la

preparación o kit o pueden ser combinados en un solo frasco. Estos agentes de la invención pueden opcionalmente ser administrados en combinación con otros agentes que son por lo menos parcialmente efectivos en el tratamiento de CAA. El

5 mimético de glicosaminoglicana CEREBRILL (Neurochem) está actualmente en estudios clínicos para el tratamiento de CAA. La mayoría de los pacientes con CAA deben ser aconsejados que eviten agentes que "adelgazan la sangre" o interfieren con la coagulación de la sangre. La medicina con el efecto más fuerte

10 sobre la coagulación de sangre (y así el más riesgoso para pacientes de CAA) es warfarina (también conocido por su nombre comercial "Coumadin"). Otras medicinas que tienen efectos más débiles sobre la sangre son aspirina, ticlopidina ("Ticlid"), clopidogrel ("Plavix"), y la mayoría de las medicaciones

15 antiinflamatorias tales como ibuprofeno. También, es usualmente prudente monitorear la presión sanguínea después que un paciente se recupera de un accidente cerebrovascular de sangría y mantenerlo en el intervalo normal. Ataques o síntomas neurológicos recurrentes que se considera que son ataques,

20 deben ser tratados con fármacos anti-epilépticos, aunque Depakote (valproato de sodio) debe ser evitado debido a su efecto anti-plaquetas. Los fármacos anti-epilépticos son algunas veces dados a pacientes con hemorragia lobar grande en un intento por impedir ataques, aunque el beneficio de esto es

25 confuso. Puede ser necesaria cirugía para remover la hemorragia cerebral. El CAA puede estar raramente asociado con vasculitis cerebral o inflamación de las paredes del vaso sanguíneo. En estos casos el tratamiento con esteroides o supresores del sistema inmune puede ser útil.

30 Los agentes inmunogénicos de la invención, tales como péptidos, son algunas veces administrados en combinación con un

adyuvante. Una variedad de adyuvantes pueden ser usados en combinación con un péptido para producir una respuesta inmune. Los adyuvantes preferidos aumentan la respuesta intrínseca a un inmunógeno sin provocar cambios conformacionales en el

5 inmunógeno que afectan la forma cualitativa de la persona. Adyuvantes preferidos incluyen hidróxido de aluminio y fosfato de aluminio, un lípido de monofosforilo 3 De-O-acilado (MPL™) (véase GB 2220211 (RIBI ImmunoChem Research Inc., Hamilton, Montana, ahora parte de Corixa). Stimulon™ QS-21 es un

10 glicósido de triterpeno de saponina aislado de la corteza del árbol de Quillaja Saponaria Molina encontrado en Sud-america (véase Kensil et al., Kensil et al, Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach (eds. Powell & Newman, Plenum Press, NY, 1995); patente estadounidense No. 5,057,540, Aquila

15 BioPharmaceuticals, Framingham, MA. Otros adyuvantes son emulsiones aceite en agua (tal como escualeno o aceite de cacahuete), opcionalmente en combinación con estimulantes inmunes, tales como lípido A de monofosforilo (véase Stoute et al., N. Engl. J. Med. 336, 86-91 (1997)), polímeros plurónicos

20 y micobacterias exterminadas. Otro adyuvante es CpG (WO 98/40100). Alternativamente, A β puede ser acoplado a un adyuvante. Sin embargo, tal acoplamiento no debe cambiar sustancialmente la conformación del inmunógeno para afectar la naturaleza de la respuesta inmune al mismo. Adyuvantes pueden

25 ser administrados como un componente de una composición terapéutica con un agente activo o pueden ser administrados separadamente, antes, concurrentemente con, o después de la administración del agente terapéutico.

Una clase preferida de adyuvantes son las sales de

30 aluminio (alumbre) tales como hidróxido de alumbre, fosfato de alumbre, sulfato de alumbre. Tales adyuvantes pueden ser usados

con o sin otros agentes inmunoestimulantes específicos tales como MPL o 3-DMP, QS-21, aminoácidos poliméricos o monoméricos tales como ácido poliglutámico o polilisina. Otra clase de adyuvantes son formulaciones en emulsión de aceite en agua.

5 Tales adyuvantes pueden ser usados con o sin otros agentes inmunoestimulantes específicos tales como péptidos de muramilo (por ejemplo, N-acetilmuramil-L-treonil-D-isoglutamina) (thr-MDP), N-acetil-normuramil-L-alanil-D-isoglutamina (nor-MDP), N-acetilmuramil-L-alanil-D-isoglutaminil-L-alanin-2-(1'-

10 2'dipalmitoil-sn-glicero-3-hidroxifosforiloxi)-etilamina (MYP-PE), N-acetilglucsaminil-N-acetilmuranil-L-Al-D-isoglu-L-Ala-dipalmitoxipropilamida (DTP-DPP) teramida TM) u otros componentes de pared celular bacteriano. Las emulsiones de aceite en agua incluyen (a) MF59 (WO 90/14837), que contiene 5%

15 de Escualeno, 0.5% de Tween 80 y 0.5% de Span 85 (que contiene opcionalmente varias cantidades de MYP-PE) formulada en partículas submicroscópicas utilizando un microfluidizador tal como el microfluidizador Modelo 10Y (Microfluidics, Newton, MA), (b) SAF, que contiene 10% de Escualeno, 0.4% de Tween 80,

20 5% de polímero pluronic-bloqueado L121 y thr-MDP, ya sea microfluidizada a una emulsión microscópica o sometida a vórtice para generar una emulsión de tamaño de partícula más grande y (c) el sistema de adyuvante Ribi™ (RAS), (Tibi ImmunoChem, Hamilton, MT) que contiene 2% de escualeno, 0.2% de

25 Tween 80 y uno o más componentes de pared celular bacteriana del grupo que consiste de monofosforilípido A (MPL), dimicolato de trehalosa (TDM) y esqueleto de pared celular (CWS), preferiblemente MPL + CWS (Detox™).

Otra clase de adyuvantes preferidos consisten de

30 adyuvantes de saponina, tales como Stimulon™ (QS-21, Aquila, Framingham, MA) o partículas generadas de los mismos tales como

ISCOM (complejos inmunoestimulantes) e ISCOMATRIX. Otros adyuvantes incluyen RC-529, GM-CSF y grados aceptables farmacéuticamente de Adyuvante de Freund Incompleto (IFA) (vendido bajo el nombre comercial de Montanide). Otros

5 adyuvantes incluyen citoquinas, tales como interleucinas (por ejemplo, IL-1, IL-2, IL4, IL-6, IL-12, IL-13 e IL-15), factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF), factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF) y factor de necrosis de tumor (TNF). Otra clase de adyuvantes

10 consiste de análogos de glicolípido en los que se incluyen N-glicosilaminas, N-glicosilureas y N-glicosilcarbamatos, cada uno de los cuales está sustituido en el residuo de azúcar por un aminoácido, tales como inmuno-moduladores o adyuvantes (véase Patente Estadounidense No. 4,855,283). También se pueden

15 usar proteínas de choque térmico, por ejemplo, HSP70 y HSP90 como adyuvantes.

Un adyuvante puede ser administrado con un inmunógeno como una sola composición o puede ser administrado antes, congruentemente con o después de la administración del

20 inmunógeno. El inmunógeno y adyuvante pueden ser empacados y suministrados en el mismo frasco o pueden ser empacados en frascos separados y mezclados antes del uso. El inmunógeno y adyuvante son comúnmente empacados en una etiqueta que explica la aplicación terapéutica propuesta. Si el inmunógeno y

25 adyuvantes son empacados separadamente, el empaque incluye comúnmente instrucciones para la mezcla antes del uso. La elección de un adyuvante y/o portador depende de la estabilidad de la formulación inmunogénica que contiene el adyuvante, la ruta de administración, el horario de dosificación, la eficacia

30 del adyuvante para la especie que es vacunada y en humanos, un adyuvante aceptable farmacéuticamente es uno que ha sido

aprobado o que se puede aprobar para administración humana por entidades regulatorias pertinentes. Por ejemplo, el Adyuvante de Freund Completo no es apropiado para administración humana. Alumbre, MPL y QA-21 son preferidos. Opcionalmente, dos o más
5 adyuvantes diferentes pueden ser usados simultáneamente. Las combinaciones preferidas incluyen alumbre con MPL, alumbre con QS-21, MPL con QS-21, MPL o RC-529 con GM-CSF y alumbre, QS-21 y MPL conjuntamente. También, se puede usar Adyuvante de Freund Incompleto (Chang et al., *Advanced Drug Delivery Reviews* 32,
10 173-186 (1998)), opcionalmente en combinación con cualquiera de alumbre, QS-21 y MPL y todas las combinaciones de los mismos.

Los agentes de la invención son frecuentemente administrados como composiciones farmacéuticas que comprenden un agente terapéutico activo, esto es, y una variedad de otros
15 componentes aceptables farmacéuticamente. Véase *Remington's Pharmaceutical Science* (15ª edición, Mack Publishing Company, Easton, Pensilvania, 1980). La forma preferida depende del modo de administración propuesto y la aplicación terapéutica. Las composiciones pueden también incluir, dependiendo de la
20 formulación deseada, portadores o diluyentes aceptables farmacéuticamente no tóxicos que son definidos como vehículos usados comúnmente para formular composiciones farmacéuticas para administración animal o humana. El diluyente es seleccionado para no afectar la actividad biológica de la
25 combinación. Ejemplos de tales diluyentes son agua destilada, solución fisiológica salina de pH regulada de fosfato, soluciones de Ringer, solución de dextrosa y solución de Hank. Además, la composición o formulación farmacéutica puede también incluir otros portadores, adyuvantes, estabilizadores no
30 tóxicos, no terapéuticos, no inmunógenos y los semejantes.

Las composiciones farmacéuticas pueden también

incluir macromoléculas grandes metabolizadas lentamente tales como proteínas, polisacáridos tales como quitosana, ácidos polilácticos, ácidos poliglicólicos y copolímeros (tales como Sepharose™ látex-funcionalizada, agarosa, celulosa y los semejantes), aminoácidos poliméricos, copolímeros de aminoácidos y agregados de lípidos (tales como gotas de aceite o liposomas). Adicionalmente, estos portadores pueden funcionar como agentes inmunoestimulantes (esto es, adyuvantes).

Para administración parenteral, los agentes de la invención pueden ser administrados como dosificaciones inyectables de una solución o suspensión de la sustancia en un diluyente aceptable fisiológicamente con un portador farmacéutico que puede ser un líquido estéril tal como agua, aceite, solución salina, glicerol o etanol. Adicionalmente, sustancias auxiliares, tales como agentes humectantes o emulsificantes, surfactantes, sustancias reguladoras del pH y los semejantes pueden estar presentes en las composiciones. Otros componentes de las composiciones farmacéuticas son aquellos de origen de petróleo, animal, vegetal o sintético, por ejemplo, aceite de cacahuete, aceite de soya y aceite mineral. En general, los glicoles tales como propilenglicol o polietilenglicol son portadores líquidos preferidos, particularmente para soluciones inyectables. Los anticuerpos pueden ser administrados en forma de una inyección de depósito o preparación de implante que puede ser formulada de tal manera para permitir una liberación sostenida del ingrediente activo. Una composición ejemplar comprende el anticuerpo monoclonal a 5 mg/ml, formulado en una solución reguladora del pH acuosa que consiste de L-histidina 50 mM, NaCl 150 mM, ajustada a pH 6.0 con HCl. Las composiciones para administración parenteral son comúnmente estériles sustancialmente, sustancialmente

isotónicas y manufacturadas bajo condiciones de GMP de la FDA o institución similar. Por ejemplo, las composiciones que contienen biológicos son esterilizadas comúnmente mediante esterilización de filtro. Las composiciones pueden ser formuladas para administración de una sola dosis.

Comúnmente, las composiciones son preparadas como inyectables, ya sea como soluciones o suspensiones líquidas; formas sólidas apropiadas para solución en o suspensión en vehículos líquidos antes de la inyección pueden también ser preparadas. La preparación también puede ser emulsificada o encapsulada en liposomas o micropartículas tales como polilacturo, poliglicoluro o copolímero para un efecto adyuvante mejorado, como se discute anteriormente (véase Langer, *Science* 249, 1527 (1990) y Hanes, *Advanced Drug Delivery Reviews* 28, 97-119 (1997)). Los agentes de esta invención pueden ser administrados en forma de una inyección de depósito o preparación de implante, que puede ser formulada de tal manera para permitir la liberación sostenida o pulsátil del ingrediente activo.

Formulaciones adicionales apropiadas para otros modos de administración incluyen formulaciones orales, intranasales y pulmonares, supositorios y aplicaciones transdérmicas.

Para supositorios, los aglutinantes y portadores incluyen, por ejemplo, polialquilenglicoles o triglicéridos; tales supositorios pueden ser formados a partir de mezclas que contienen el ingrediente activo en el intervalo de 0.5% a 10%, preferiblemente 1%-2%. Las formulaciones orales incluyen excipientes, tales como grados farmacéuticos de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina de soya, celulosa y carbonato de magnesio. Estas composiciones toman la forma de soluciones, suspensiones, tabletas, píldoras,

cápsulas, formulaciones o polvos de liberación sostenida y contienen 10%-95% de ingrediente activo, preferiblemente 25%-70%.

La aplicación tópica puede dar como resultado administración transdérmica o intradérmica. La administración 5
tópica puede ser facilitada mediante la coadministración del agente con toxina del cólera o derivados destoxificados o subunidades de los mismos u otras toxinas bacterianas similares (véase Glenn et al., *Nature* 391, 851 (1988)). La 10
coadministración puede ser obtenida al utilizar los componentes como una mezcla o como moléculas enlazadas obtenidas mediante reticulación química o expresión como una proteína de fusión.

Alternativamente, la administración transdérmica puede ser obtenida utilizando un parche en la piel o utilizando 15
transferosomas (Paul et al., *Eur. J. Immunol.* 25, 3521-24 (1995); Cevc et al., *Biochem. Biophys. Acta* 1368, 201-15 (1998)).

VI. KITS

20 La invención proporciona además productos terapéuticos. Los productos comprenden un frasco de vidrio e instrucciones. El frasco de vidrio contiene una formulación que comprende aproximadamente 10 mg a aproximadamente 250 mg de un anticuerpo anti-A β humanizado, aproximadamente 4% de manitol o 25
aproximadamente NaCl 150 mM, histidina a aproximadamente 5 mM a aproximadamente 10 mM y metionina aproximadamente 10 mM. Las instrucciones incluyen el monitoreo del paciente en cuanto a microhemorragia cerebral mediante MRI o monitoreo del paciente en cuanto a remoción de amiloide vascular mediante barrido de 30
PET.

EJEMPLOS

EJEMPLO 1

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño del estudio. Los efectos de la inmunización crónica, pasiva sobre VA β establecido en el ratón PDAPP fueron examinados en dos estudios. El Estudio A fue diseñado para comparar la eficacia de un anticuerpo N-terminal (3D6, que reconoce A β 1-5) con un anticuerpo de región media (266, que reconoce A β 16-23) en una sola dosis. El Estudio B fue un estudio de dosis-respuesta de 3D6. En ambos estudios, ratones PDAPP heterócigos hembra de 12 meses de edad fueron divididos en grupos de 40; los grupos se hicieron coincidir tan estrechamente como sea posible en cuanto a edad y padre transgénico. En una determinación separada, un grupo de 40 animales fue sacrificado a t0 para determinar los niveles de amiloide vasculares a 12 meses de edad. Como se resume en la Tabla 1, los ratones de los grupos en tratamiento fueron inyectados intraperitonealmente con anticuerpos monoclonales murinos 3D6 γ 2a (a 3 niveles de dosis), 266 γ 1 o TY11-15 (como control negativo). Todos los animales tratados recibieron una dosis de carga inicial de 250% de la dosis planeada semanalmente. Las dosis por animal fueron calculadas en base al peso promedio histórico de un ratón de PDAPP en este intervalo de edad, 50 gramos. Los animales fueron tratados semanalmente por aproximadamente 6 meses (26 semanas). Después de la consumación de la fase en vida VA β y la presencia de extensión de microhemorragia fueron evaluados. Todo el trabajo fue efectuado de acuerdo con las directrices de Elan IACUC.

Preparación de anticuerpos. Los métodos de preparación para anticuerpos 3D6 (que reconocen A β 1-5), 266 (que reconocen A β 16-23) y 12A11 (que reconoce A β 3-7) han sido

descritos previamente (véase K. Johnson-Wood et al., *Proc. Acad. Natl. Sci. EUA* 94, 1550-5 (1997), P. Seubert et al., *Nature* 359, 325-7 (1992), F. Bard et al., *Proc. Natl. Acad. Sci., EUA* 100, 2023-8 (2003)). TY11/15 (isotipo IgG2a) sirvió
 5 como el anticuerpo de control irrelevante. Reconoce un antígeno de linfocito humano desconocido y no reconoce linfocitos de ratón. Los anticuerpos 3D6 y 12A11 fueron marcados con NHS-biotina como se describe previamente (véase P. Seubert et al., *Nature* 359, 325-7 (1992)).

10 **Preparación de tejido cerebral para histoquímica.** Los animales fueron anestesados profundamente con isoflurano y perfundidos con solución salina intracárdicamente. Un hemisferio de cada cerebro fue fijado por inmersión durante 48 horas en paraformaldehído al 4% a 4°C y seccionado coronalmente
 15 a 40 micras sobre un micrótopo de hoja vibrante. Las secciones fueron almacenadas en solución anticongelante (glicerol al 30%/etilenglicol al 30% en Na₂HPO₄ 40 mM, pH 7.4) a -20° C antes del inmunoteñido. Cuatro a seis secciones, que abarcan el nivel hipocampal rostral a intervalos de 240 micras fueron
 20 seleccionadas de cada cerebro para análisis. Cerebros y secciones en los cuales la corteza frontal está dañada durante la remoción del cráneo fueron excluidos del análisis. Los números finales son indicados en los Resultados. Las secciones fueron teñidas y analizadas por los investigadores apegados al
 25 estatus de tratamiento.

Procedimiento histoquímico de co-marcación VAβ y microhemorragia: Depósitos de Aβ fueron marcados con anticuerpos biotinilados 3D6 (3.0 µg/ml) o 12A11 (3.0 µg/ml) en
 en suero de caballo al 1% en PBS durante toda la noche a 4° C.
 30 las secciones flotantes se hicieron reaccionar con un complejo de peroxidasa de rábano avidina-biotinilado y revelada usando

3,3-diaminobencidina. Las secciones fueron luego montadas sobre portaobjetos y co-teñidas con una reacción de hierro de Perls (véase M. M. Racke et al., *supra*) modificadas por incubación a 37° C para intensificar el producto de reacción de hem siderina. La presencia de hem siderina es indicación de un evento de microhemorragia del pasado.

Análisis de VAß: Vasos sanguíneos 3D6-inmunorreactivos fueron determinados en cada animal al clasificar el animal a una de dos categorías que reflejan la cantidad de VAß: "nada para poco VAß" (≤ 3 vasos amiloide-positivos en cualquier sección individual por animal) o "VAß moderado" (> 3 vasos amiloide-positivos en cualquier sección individual por animal). Este método de clasificación fue desarrollado al contar el número de todos los vasos que contienen amiloides en los tejidos de los estudios A y B y utilizando una curva ROC para identificar un corte que fue el óptimo para equilibrar la sensibilidad y especificidad. Los vasos fueron contados si contenían cualquier cantidad de amiloide, de tal manera que ambos vasos parcialmente claros y vasos sin despejar fueron contados. Se efectuaron comparaciones de par en par utilizando la Prueba Exacta de Fisher (FET) para identificar diferencias significativas en VAß. Dentro de cada estudio, se usó el método de Hochberg (véase Y. Hochberg, *Biometrika* 75, 800-802 (1988)) para ajustar múltiples comparaciones de par en par.

Análisis de microhemorragias: Cada animal fue puntuado en una escala de 0-3 en cuanto a la presencia, cantidad, ubicación e intensidad de teñido de hem siderina a través de las secciones. Una puntuación de "0" indicaba muy poco o ningún teñido, un "1" indicaba pequeña puntuación o teñido débil en pocas secciones por animal, un "2" fue asignado

a acumulaciones contiguas con mayor intensidad de teñido en múltiples secciones y "3" reflejaba el teñido más oscuro observado en la mayoría de las secciones, que abarcan usualmente la mayoría de vasos afectados de los alrededores.

5 Estas puntuaciones fueron diseñadas para reflejar el intervalo de teñido de hemosiderina-positivo confinado al estudio preclínico presente del animal y por consiguiente, no representan o traducen a clasificaciones de alteraciones hemorrágicas clínicas. Se efectuaron comparaciones de par en

10 par utilizando la prueba exacta de Fisher para probar diferencias entre grupos de tratamiento. También se hicieron observaciones con respecto a la apariencia morfológica del aminoilide inmunomarcado y su relación espacial con hemosiderina. Dentro de cada estudio, se usó el método de

15 Hochberg (véase Y. Hochberg, *supra*) para ajustar múltiples comparaciones de par en par.

RESULTADOS

A β vascular. VA β fue prominente en los leptomeninges

20 y parénquima superficial de ratones PDAPP de 18 meses de edad sin tratar como se revela por el teñido de tioflavina S (Figura 1a) para el amiloide compacto y por el anticuerpo 3D6 (Figura 1b), que reconoce tanto el amiloide compacto como difuso en el ratón PDAPP y AD humano (Figura 1c). El VA β fue extensamente

25 confinado a los meninges e inmediatamente subyacente a las capas superficiales del cerebro (Figura 1d). Fue especialmente predominante en la corteza, particularmente en los vasos de línea media del seno sagital y distribuciones similares de VA β fueron reveladas mediante tioflavina S (Figura 1) y anticuerpo

30 3D6 (Figura 1b) tanto en tejidos de ratón como humanos (Figura 1c).

En el estudio comparativo de una sola dosis de los anticuerpos de región N-terminal y región media (Estudio A), el 3D6 a 3 mg/Kg despejó completamente o impidió el VA β en comparación ya sea con 266 o TY11-15 (Figuras 2a-e); estas 5 diferencias fueron estadísticamente significativas (valores $p < 0.0001$ para ambas comparaciones). El tratamiento de 3D6 también disminuyó la placa amiloide parenquimal cargada por 98% ($p < 0.0001$), en tanto que 266 no produjo ningún efecto. El VA β está presente a niveles moderados en 23% de ratones de 12 meses de 10 edad antes del inicio del tratamiento. Los valores de FET < 0.025 son estadísticamente significativos utilizando el método de Hochberg de múltiples comparaciones.

En el estudio de dosis-respuesta de 3D6 (Estudio B, Figuras 3a-d), VA β fue otra vez despejado significativamente o 15 impedido por el tratamiento de 3D6 al nivel de dosis de 3.0 mg/Kg de 3D6 en comparación con el tratamiento con el control de TY11-15 ($p < 0.001$). También hubo despeje o prevención de VA β al nivel de dosis intermedio (0.3 mg/Kg) contra el control ($p = 0.016$). No hubo diferencia entre el grupo de dosis de 0.1 20 mg/Kg y el grupo de control de TY11-15 ($p = 0.8037$). Los valores p de FET < 0.025 son estadísticamente significativos, utilizando el método de Hochberg de múltiples comparaciones. Aunque el número de vasos no fue significativamente diferente, se observó el despeje parcial de amiloides de los vasos en este 25 grupo a nivel microscópico (Figura 4a, b). En tanto que A β intacto forma masas y bandas que abarcan un vaso leptomenígeo sin afectar como se muestra en la Figura 4a, VA β tiene una apariencia parchada, erosionada durante el despeje parcial (Figura 4b). Esta morfología no es observada en los ratones sin 30 tratar.

Clasificación de hemosiderina. Con el fin de

distinguir las diferencias sutiles entre los grupos de tratamiento, se desarrolló una escala de clasificación de hemosiderina que refleja el intervalo de densidades de teñido encontradas en este estudio. El teñido de hemosiderina, 5 indicador de microhemorragia, fue limitado y confinado a las fronteras estructurales de la vasculatura sin esparcimiento al parénquima de los alrededores. Se encontraron depósitos de hemosiderina focales en vasos de los leptomeninges de la corteza (Figuras 5a-f) y la interface talámica hipocampal, los 10 vasos del seno sagital en la corteza media, unos pocos vasos parenquimales a ángulos rectos y unidos a los vasos leptomeningeales. La hemosiderina estuvo usualmente concentrada dentro de las células semejantes a macrófago en estas áreas. Los focos de hemosiderina fueron frecuentemente asociados con 15 la morfología de VA β alterada: en lugar de las bandas distintas características y escalas de deposición de VA β (por ejemplo, Figura 4a), el amiloide tenía una apariencia usualmente parchada, degradada (por ejemplo, Figura 4b) o estuvo completamente ausente. Estos elementos fueron particularmente 20 notables en los pasos leptomeningeales (Figura 5) y vasos de seno sagital, que frecuentemente mostraron morfología de VA β bien desarrollada en los grupos de control de TY11-15 y los ratones sin tratar (Figuras 2 y 3).

El teñido de hemosiderina estuvo predominantemente 25 ausente o moderado en todos los grupos de tratamiento, con la mayoría de animales a través de los grupos que tienen puntuaciones de 0 o 1 (Figura 6). Las puntuaciones de los grupos de tratamiento de 3 mg/Kg de 3D6 de ambos estudios fueron significativamente más altas, en el caso que estos 30 fueron más probables que el control para tener puntuaciones de hemosiderina mayores de cero. En el Estudio A, las

distribuciones de puntuaciones de hemosiderina fueron similares en los grupos de TY11-15 y 266, indicando que el tratamiento con el anticuerpo 266 no era probable incrementara las puntuaciones de hemosiderina. En el Estudio B, se mostró que la incidencia de microhemorragia era mitigada por la dosis. No se encontraron diferencias significativas entre el grupo de control TY11-15 y los grupos de 0.1 mg/Kg de 3D6 y 0.3 mg/Kg de 3D6, indicando que las dosis baja e intermedia no eran probable de incrementar las puntuaciones de hemosiderina más allá de los niveles de referencia. Estos difieren del grupo de 3.0 mg/Kg, que otra vez difirió significativamente de los controles. En comparación con el Estudio A, las puntuaciones de hemosiderina más altas en el grupo de 3.0 mg/Kg podrían ser debidas a diferencias en niveles de exposición a anticuerpos con el paso del tiempo y niveles de referencia ligeramente más altos en la cohorte ya que las puntuaciones fueron ligeramente elevadas en el grupo de control.

Asociación del despeje de VA β y microhemorragia. Se observó despeje significativo o prevención de amiloide vascular en los grupos de 0.3mg/Kg y 3.0mg/Kg en ambos estudios. La mayoría de los animales en estos grupos tenían puntuaciones de hemosiderina de 0 ó 1, indicando que la mayoría de los cerebros con VA β reducido tenían poca o ninguna evidencia de microhemorragia. Varios ejemplos de vasos hemosiderina - negativos con VA β y solamente escasos y una apariencia erosionada se encontraron en todos los grupos de tratamiento (por ejemplo Figura 4b); estos pueden ser vasos en los cuales el amiloide fue despejado en ausencia de microhemorragia. Cuando se observó teñido de hemosiderina en animales tratados con 0.1mg/Kg de 3D6 (figura 5d) estaba acompañado comúnmente con una distribución perivascular parchada de amiloide,

indicadora posiblemente de despeje en avance. Estos parches perivasculares de amiloide ocurrieron en sitios de marcación de hemosiderina vasos - asociada dentro de los meninges corticales, parénquima y los vasos de sinus sagital. El teñido de hemosiderina en los animales tratados con 0.3mg/Kg de 3D6 también acompañaba una distribución parchada, perivascular de amiloide (figura 5e). La morfología amiloide fue similar a aquella en los animales tratados con 0.1mg/Kg de 3D6, pero el amiloide fue menos abundante y algunos vasos hemosiderina - positivos fueron despejados de amiloide. Se observaron remoción de amiloide completa y parcial en sitios de teñido de hemosiderina vaso - asociados, incluyendo los meninges corticales y parénquima. En contraste, los vasos hemosiderina positivo en los animales tratados con 3mg/Kg de 3D6 estuvieron completamente desprovistos de amiloide (figura 5f) este aspecto nunca fue observado en ratones sin tratar y probablemente ilustra una "huella" de hemosiderina desigual que ocurrió en un subconjunto de vasos con completa remoción de VA β . Otro aspecto en estas áreas fue la presencia de células que tienen hemosiderina, con fagocitosis (figura 5f). Estas células semejantes a macrófago no fueron inmunorreactivas para A β y por lo consiguiente parecen ser una acumulación separada de la microglía y macrófagos que remueven el amiloide placa - asociado.

25

DISCUSIÓN

CAA ha sido identificado como un factor de riesgo independiente para el deterioro cognoscitivo y está asociado con patologías significativas tales como hemorragia y daños isquémicos (véase S.M. Greenberg et al., Stroke 35, 2646-9

30

(2004)). En casos típicos, CAA progresivo conduce a la destrucción de células de musculo liso en la vasculatura meningeal y parenquimal, conduciendo supuestamente al deterioro tonal y compromiso tanto a los sistemas de perfusión y despeje
5 perivascular (véase R. Christie et al., Am J Pathol 158, 1065-71 (2001), S.D. Preston et al., Neuropathol Appl Neurobiol 29, 106-17 (2003)).

Se muestra aquí por primera vez evidencia del despeje casi completo o prevención de VA β mediante un anticuerpo A β N-terminal específico (3D6) en un paradigma de tratamiento
10 inmunoterapéutico, crónico con anticuerpo administrado periféricamente. Aunque no se requiere un rendimiento de un mecanismo para la práctica de invención, el efecto fue probablemente dependiente de la habilidad para cegar
15 robustamente el amiloide depositado, puesto que un anticuerpo A β de revisión media (266), que se enlaza a A β depositado en vivo mucho menos ávidamente, no mostró evidencia de despeje o prevención de VA β . Aunque un cuerpo creciente de evidencia sugiere que la formación y composición de amiloide vascular
20 puede diferir de aquel de las placas parenquimales (véase M.C. Herzing et al., Nat Neurosci 7, 954-60 (2004)), el anticuerpo 3D6 es competente para despejar ambas formas y así tiene un amplio espectro de actividad reductora de amiloide.

Estudios previos que investigan los efectos de
25 inmunoterapia de VA β y microvasculaturas del cerebro en ratones transgénicos APP han reportado una incidencia incrementada de microhemorragia. Sin embargo, una relación de causa y efecto clara entre VA β y microhemorragia no se ha descrito. En este reporte, se demostró que la mayoría de amiloide vascular
30 depositado fue despejado sin inducir microhemorragia y aumentaron las observaciones anteriores al demostrar que la

incidencia de microhemorragia estaba asociada con la remoción de VA β . Además, las áreas indicadas con microhemorragias estuvieron focalmente restringidas a las fronteras arquitectónicas de la vasculatura que no involucran el parénquima. Estos estuvieron asociados ya sea con la remoción parcial o completa de VA β . Importantemente, la microhemorragia podría ser mitigada significativamente al modular la dosis de anticuerpo dentro de los intervalos que todavía despejaron efectivamente las placas amiloides parenquimales.

10 Racke y colegas (véase M.M. Racke et al., supra) reportaron la presencia no frecuente de microhemorragia en ratones que PDAPP enseguida de una dosis significativamente más grande de 3D6 después de un periodo de tratamiento de 6 semanas. Notablemente, la extensión de la microhemorragia reportada fue también más grande que cualquier incidencia observada en el estudio actual, manteniendo los hallazgos de una correlación positiva entre la dosis de anticuerpo y puntuaciones de microhemorragia. Nuestras observaciones están de acuerdo con sus hallazgos con respecto a la inhabilidad de 266 para enlazar amiloide depositado o inducir microhemorragia y prolongar esos hallazgos para mostrar que 266 es también no apto de despejar VA β .

En ratones transgénicos APP, con patología de VA β muy severa (ratones APP23) la hemorragia cerebral ocurrió espontáneamente y similarmente a pacientes humanos, probablemente es el resultado del desarreglo y prenda de células del músculo liso y otras consecuencias destructivas de toxicidad A β - relacionadas (véase R. Christie et al., supra). La inmunización pasiva de ratones APP23 utilizando un anticuerpo A β de región N-terminal exacerbó inicialmente la incidencia y extensión de la hemorragia de referencia (véase M.

Pfeifer et al., Science 298, 1379 (2002)). Sin embargo, estudios ultra estructurales subsecuentes no pudieron encontrar diferencias estructurales en la vasculatura de el control tratado y el control no inmunizado (véase G.J. Burbach et al., supra). La conclusión fue que la inmunoterapia no condujo a o exacerbó demasiado los daños a la pared vascular, a pesar de la severidad de la patología de VA β de referencia. El estudio presente difiere del reporte previo al examinar un modelo con poca microhemorragia espontánea y en el cual A β y hemosiderina fueron co-marcados. Se documentó la co-localización de la remoción de A β y microhemorragia y se encontró que la microhemorragia focal ocurría solamente en un subconjunto de vasos que están despejados de amiloide. Puesto que nuestro método de cuantificación no distinguió entre VA β parcialmente despejado e intacto, el grado absoluto de despeje fue probablemente subestimado.

La relación entre despejes de amiloide parenquimal y vascular no está completamente entendida. Sin embargo, reportes recientes indican que probablemente existe una relación co-moduladora entre las dos patologías que puede ser aplicada adicionalmente en el contexto de remoción de placa (véase D.M. Wilcock et al., supra; M.C. Herzing et al., supra; J.A. Nicoll et al., J Neuropathol Exp Neurol 65, 1040-8 (2006)). Por ejemplo, la cría de ratones APP mutantes con VA β pesados a aquellos con cargas de placa parenquimales pesadas disminuye realmente VA β , sugiriendo que las placas pueden proveer una plantilla para VA β que de otra manera se depositaría sobre la vasculatura (véase M.C. Herzig et al., supra). Inversamente, Wilcock y colegas (véase D.M. Wilcock et al, supra) mostraron un incremento tanto en VA β durante el curso de remoción de placa parenquimal en un paradigma de inmunización pasivo,

sugiriendo que el desplazamiento de A β de compartimentos parenquimales a vasculares puede ocurrir durante el curso de inmunoterapia.

En el estudio presente se demostró que el VA β puede
5 ser despejado casi completamente o impedido en seguida de la
inmunización pasiva, que es acompañada por una incidencia
incrementada de microhemorragia que podría ser disminuida por
la dosificación de anticuerpo. Los pacientes de AD y modelos de
ratón transgénicos APP de AD muestran ambos incidencia
10 incrementada de microhemorragias asociada con el avance de VA β .
La microhemorragia descrita en el presente podría
potencialmente ser explicada por un incremento en VA β durante
el periodo de despeje de placas parenquimales como se describe
por Wilcock (véase D.M. Wilcock et al, supra), que en el modelo
15 presente se esperaría que fuera transitorio, puesto que VA β fue
despejado finalmente por la terminación del estudio.
Alternativamente, en el estudio de Wilcock, se usó un modelo de
ratón y anticuerpo diferente, así los cambios de VA β pueden
reflejar una diferencia mecánica fundamental con respecto a
20 epítomos de anticuerpos diferentes y modelos de animales
diferentes. En cualquier caso, parece probable que la
incidencia acumulativa eventual de microhemorragia puede ser
realmente ser más baja en seguida de tratamiento de 3D6,
suponiendo que la remoción de VA β existente y prevención de
25 deposición adicional tendrá un efecto profiláctico hacia
microhemorragia adicional asociada con VA β progresiva. En otras
palabras, la microhemorragia VA β relacionada con el tratamiento
y la microhemorragia VA β - contingente podrían ser fenómenos
transitorios que no persistirían después de que VA β es
30 finalmente removido. Tomados conjuntamente, los hallazgos de
modelos preclínicos indican que los mecanismos asociados con la

OK
Ret

Organización y
Digitalización REALM

PATENTE

de

INVENCIÓN

09-127790

2/2

formación y despeje de VA β garantizan estudio adicional. Importantemente, un estudio reciente ha demostrado que la inmunización con el péptido de A β de plena longitud en ratones TG 2576 mejora realmente la integridad de la barrera de sangre - cerebro (esto es, redujo la permeabilidad de azul de Evans), sugiriendo que estos múltiples factores podrían en efecto tener un impacto positivo sobre la vasculatura (véase D.L. Dickstein et al., supra). Se debe notar que la inmunización con el péptido A β total da como resultado anticuerpos dirigidos principalmente a N similar al epítipo de 3D6.

Aproximadamente el 80% d pacientes AD son afectados por al menos CAA moderado, con consecuencias clínicamente perjudiciales de hemorragia, degeneración de materia blanca, isquemia e inflamación (véase S.M. Greenberg et al., supra). Los hallazgos de nuestro estudio proporcionan evidencia de que la inmunoterapia de que la A β puede invertir potencialmente o impedir el avance de una patología vascular significativa para la cual no hay actualmente ningún tratamiento y prolongar adicionalmente los beneficios terapéuticos potenciales de la inmunoterapia anti- A β .

EJEMPLO 2

MATERIALES Y MÉTODOS

Los efectos de cambios estructurales inducidos por amiloides sobre células de músculos liso (SMC) y la matriz extracelular (ECM) de vasos de ratones de PDAPP y los efectos de inmunización pasiva sobre SMC y ECM de vasos de ratones PDAPP fueron examinados.

Los ratones fueron inmunizados semanalmente ya sea por 3 o 9 meses con 1 ó 3mg/Kg de anticuerpo 3D6. Se efectuaron análisis inmunohistoquímicos (IHC) cuantitativos de alta

resolución de componentes vasculares (α - actina para SMC y colágeno-IV para ECM) en vasos meningeales del sinus sagital, endonde la deposición de VA β es prominente (~70% de vasos afectados). Los eventos de microhemorragia fueron monitoreados
5 mediante detección de hemosiderina o inmunohistoquímica de ferritina.

RESULTADOS

En el estudio presente se demuestra que los cambios
10 en la pared vascular están invariablemente asociados con VA β e incluyeron tanto degeneración (espesor disminuido) e hiperplasia/hipertrofia (espesor incrementado) de SMC y ECM. Estos dos hallazgos contrastantes fueron frecuentemente observados en el mismo vaso y no estuvieron presentes en
15 animales tipo silvestre o vasos de PDAPP que carecen de amiloide. Los grados extremos de engrosamiento y adelgazamiento del SM dio como resultado un fenotipo vascular ampliamente variable en ratones PDAPP sin tratar.

La inmunoterapia pasiva restauró el patrón de los
20 espesores de SMC y ECM vasculares y redujo la variabilidad fenotípica de manera dependiente de la dosis y el tiempo, con la dosis alta de 3D6 que alcanza niveles de control (tipo silvestre) a 9 meses ($p > 0.05$). Aunque la incidencia de microhemorragia se incrementó en el grupo de 3 meses, se redujo
25 a niveles de control después de nueve meses de tratamiento ($p > 0.05$). Nuestros resultados sugieren que la inmunoterapia pasiva permite la recuperación de vasos meningeales de cambios estructurales amiloide - inducidos. Además, el incremento relacionado con el tratamiento en microhemorragia parece ser un
30 evento transitorio pero se resuelve durante el despeje de VA β . Mecanismos de reparación pueden ser disparados por la remoción

de VAß, que finalmente conduce a la recuperación de disfunción muscular.

Aunque la invención anterior ha sido descrita en detalle por propósitos de claridad de entendimiento, será obvio
5 que ciertas modificaciones se pueden llevar a la práctica dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas. Todas las publicaciones y documentos de patentes citados en la presente, también como el texto que aparece en la figura, son incorporados en la presente por referencia en su totalidad para
10 todos los propósitos a la misma extensión como citada uno de ellos fuera denotado así individualmente.

REIVINDICACIONES

1. Un método para el tratamiento de CAA, caracterizado porque comprende:

5 administrar a un paciente que tiene o que se sospecha que tiene CAA, un régimen efectivo de un agente, en donde el agente es un anticuerpo que es específico para el término N de A β o induce el anticuerpo después de la administración al paciente y mediante esto tratar al paciente.

10 2. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el agente es un anticuerpo.

3. El método de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque el agente es un anticuerpo que se enlaza dentro de los residuos 1-5 A β .

15 4. El método de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque el anticuerpo es un anticuerpo humanizado humano o quimérico.

5. El método de conformidad con la reivindicación 4, caracterizado porque el anticuerpo es 3D6 humanizado o 12A11 humanizado.

20 6. El método de conformidad con la reivindicación 5, caracterizado porque el anticuerpo humanizado 3D6 es bapineuzumab.

7. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el agente es un fragmento de A β .

25 8. El método de conformidad con la reivindicación 7, caracterizado porque el fragmento comienza en el residuo 1 de A β y termina en uno de los residuos 5-10 de A β .

9. El método de conformidad con la reivindicación 7, caracterizado porque el fragmento es A β 1-7.

30 10. El método de conformidad con la reivindicación 7, caracterizado porque el fragmento de A β es administrado con un

adyuvante aceptable farmacéuticamente.

11. El método de conformidad con la reivindicación 7, caracterizado porque el fragmento de A β es enlazado a un portador que ayuda al fragmento a inducir anticuerpos al
5 fragmento.

12. El método de conformidad con la reivindicación 11, caracterizado porque el portador es enlazado al término C del fragmento.

13. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque comprende además determinar que un paciente tiene CAA, en donde la etapa de determinación ocurre antes de la etapa de administración.
10

14. El método de conformidad con la reivindicación 13, caracterizado porque la etapa de determinación determina que un paciente está sufriendo de un síntoma clínico de CAA.
15

15. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el paciente carece de placas características de enfermedad de Alzheimer en el cerebro.

16. El método de conformidad con la reivindicación 14, caracterizado porque el paciente carece de síntomas de enfermedad de Alzheimer.
20

17. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el paciente ha tenido un ataque al corazón o accidente cerebrovascular.

18. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque la dosificación del anticuerpo es de entre aproximadamente 0.01 a aproximadamente 5 mg/Kg.
25

19. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque la dosificación del anticuerpo es de entre aproximadamente 0.01 a aproximadamente 5 mg/Kg.
30

20. El método de conformidad con la reivindicación

18, caracterizado porque la dosificación del anticuerpo es de aproximadamente 0.5/kg.

21. El método de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque la dosificación del anticuerpo es de aproximadamente 1.5 mg/Kg.

22. El método de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque la dosificación es de entre aproximadamente 0.5 a aproximadamente 1.5 mg/Kg.

23. El método de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque la dosificación es de entre aproximadamente 0.5 a aproximadamente 1.5 mg/Kg.

24. El método de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque la dosificación es administrada en múltiples ocasiones.

25. El método de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque la dosificación es administrada semanalmente a trimestralmente.

26. El método de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque la dosificación es administrada cada trece semanas.

27. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el anticuerpo es administrado intravenosa o subcutáneamente.

28. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque comprende además monitorear cambios en signos o síntomas de CAA sensibles a la etapa de administración.

29. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque comprende además administrar un segundo agente efectivo para tratar CAA.

30. Un método para efectuar profilaxis contra CAA

caracterizado porque comprende:

administrar a un paciente susceptible a CAA un régimen efectivo de un agente, en donde el agente es un anticuerpo que es específico para el término de N de A β o induce tal anticuerpo después de la administración al paciente y mediante esto efectuar profilaxis del paciente.

31. El uso de un agente, caracterizado porque el agente es un anticuerpo que es específico para el término de N A β o induce tal anticuerpo después de la administración al paciente, en el tratamiento o profilaxis de enfermedad de Alzheimer.

32. Un método para reducir amiloide vascular en un paciente, caracterizado porque comprende:

administrar un anticuerpo que es específico para el término N de A β en un régimen de tratamiento asociado con la remoción eficaz de amiloide vascular e incidencia reducida de microhemorragia cerebral.

33. El método de conformidad con la reivindicación 32, caracterizado porque comprende además:

monitorear el paciente en cuanto microhemorragia cerebral mediante MRI.

34. El método de conformidad con la reivindicación 32, caracterizado porque comprende además:

monitorear al paciente en cuanto remoción amiloide vascular mediante barrido de PET.

35. El método de conformidad con la reivindicación 32, caracterizado porque el régimen de tratamiento es un régimen de tratamiento crónico.

36. El método de conformidad con la reivindicación 32, caracterizado porque el régimen de tratamiento comprende una dosificación de anticuerpo de entre 0.01 y 5 mg/Kg del peso

corporal del paciente y administrada semanal o trimestralmente.

37. El método de conformidad con la reivindicación 36, caracterizado porque la dosificación del anticuerpo es de 5 0.1 a 5 mg/Kg.

38. El método de conformidad con la reivindicación 36, caracterizado porque la dosificación es de aproximadamente 0.5 mg/Kg.

39. El método de conformidad con la reivindicación 10 36, caracterizado porque la dosificación es de aproximadamente 1.5 mg/Kg.

40. El método de conformidad con la reivindicación 36, caracterizado porque la dosificación es de entre aproximadamente 0.5 a aproximadamente 3 mg/Kg.

15 41. El método de conformidad con la reivindicación 36, caracterizado porque la dosificación es de entre aproximadamente 0.5 a aproximadamente 1.5 mg/Kg

42. El método de conformidad con la reivindicación 36, caracterizado porque la dosificación es administrada cada 20 trece semanas.

43. El método de conformidad con la reivindicación 32, caracterizado porque el anticuerpo es administrado intravenosa o subcutáneamente.

44. El método de conformidad con la reivindicación 25 32, caracterizado porque el anticuerpo se enlaza dentro de los residuos 1-5 de A β .

45. El método de conformidad con la reivindicación 32, caracterizado porque el anticuerpo es un anticuerpo humanizado, humano o quimérico.

30 46. El método de conformidad con la reivindicación 45, caracterizado porque el anticuerpo es 3D6 humanizado o

12A11.

47. El método de conformidad con la reivindicación 46, caracterizado porque el anticuerpo humanizado es bapineuzumab.

5 48. Un método para el tratamiento de enfermedad de Alzheimer, caracterizado porque comprende administrar un anticuerpo que es específico para el término de N de A β a una dosis que reduce o inhibe el desarrollo de patología amiloidogénica vascular, minimiza la microhemorragia y/o reduce
10 o inhibe el desarrollo de placas de A β .

49. El método de conformidad con la reivindicación 48 caracterizado porque el anticuerpo se enlaza dentro de los residuos 1-5 de A β .

50. El método de conformidad con la reivindicación
15 48, caracterizado porque el anticuerpo es un anticuerpo humanizado humano o quimérico.

51. El método de conformidad con la reivindicación 50, caracterizado porque el anticuerpo es 3D6 humanizado o 12A11 humanizado.

20 52. El método de conformidad con la reivindicación 51, caracterizado porque el anticuerpo humanizado es bapineuzumab.

53. Un método para el tratamiento de enfermedad de Alzheimer, caracterizado porque comprende administrar un
25 anticuerpo que es específico para el término de N de A β a una dosis que reduce o inhibe el desarrollo de patología amiloidogénica vascular, minimiza la microhemorragia y/o reduce o inhibe el desarrollo patología neurítica.

54. El método de conformidad con la reivindicación
30 53, caracterizado porque el anticuerpo se enlaza dentro de los residuos 1-5 de A β .

55. El método de conformidad con la reivindicación 53, caracterizado porque el anticuerpo es un anticuerpo humanizado humano o quimérico.

56. El método de conformidad con la reivindicación 55, caracterizado porque el anticuerpo es 3D6 humanizado o 12A11 humanizado.

57. El método de conformidad con la reivindicación 56, caracterizado porque el anticuerpo humanizado es bapineuzumab.

58. Un método para el tratamiento de enfermedad de Alzheimer, caracterizado porque comprende:

administrar un anticuerpo con el término A β a una dosis que inhibe la patología amiloidogénica vascular, minimiza la microhemorragia y/ mejora la función cognocitiva.

59. El método de conformidad con la reivindicación 48, caracterizado porque el anticuerpo es un anticuerpo humanizado, humano o quimérico.

60. El método de conformidad con la reivindicación 58, caracterizado porque el anticuerpo es un anticuerpo humanizado, humano o quimérico.

61. El método de conformidad con la reivindicación 60, caracterizado porque el anticuerpo es 3D6 humanizado o 12A11 humanizado.

62. El método de conformidad con la reivindicación 61, caracterizado porque el anticuerpo humanizado es bapineuzumab.

63. El método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 48-72, caracterizado porque la reducción o inhibición de patología amiloidogénica vascular es una prevención de acumulación de A β vascular o despeje de A β vascular.

64. Un kit de para el tratamiento de CAA
caracterizado porque comprende:

- a) un frasco de vidrio que contiene una formulación y
 - b) instrucciones para monitorear un paciente a quien
- 5 la formulación es administrada por CAA.

65. Un kit de para el tratamiento de CAA
caracterizado porque comprende:

- a) un frasco de vidrio que contiene una formulación
que comprende aproximadamente 0.5 a 3 mg/Kg de un anticuerpo
- 10 anti- A β humanizado e

- b) instrucciones para monitorear un paciente a quien
la formulación es administrada por CAA, que comprende

- i) monitorear al paciente en cuanto a microhemorragia
cerebral mediante MRI o
- 15 ii) monitorear al paciente en cuanto a remoción
amiloide vascular mediante barrido de PET.

66. Un kit de para el tratamiento de CAA
caracterizado porque comprende:

- a) un frasco de vidrio que contiene una formulación
- 20 que comprende:

- i) entre aproximadamente 10 mg a aproximadamente 250
mg de un anticuerpo anti-A β humanizado,

- ii) aproximadamente 4% de manitol o aproximadamente
NaCl 150 mM,

25 iii) aproximadamente 5 nM aproximadamente 10 nM de
histidina y

- iv) aproximadamente 10 nM de metionina y

- b) instrucciones para administrar un paciente por CAA
que comprende:

30 i) monitorear al paciente en cuanto a microhemorragia
cerebral mediante MRI o

ii) monitorear al paciente en cuanto a remoción amiloide vascular mediante barrido de PET.

67. Un kit para el tratamiento de enfermedad de Alzheimer, caracterizado porque comprende:

5 a) un frasco de vidrio que contiene una formulación que comprende:

 i) entre aproximadamente 10 mg a aproximadamente 250 mg de un anticuerpo anti- A β humanizado,

 ii) aproximadamente 4% de manitol o aproximadamente
10 NaCl 150 mM,

 iii) aproximadamente 5 nM aproximadamente 10 nM de histidina y

 iv) aproximadamente 10 nM de metionina e

 b) instrucciones para monitorear un paciente a quien
15 la formulación es administrada por enfermedad de Alzheimer que comprende:

 i) monitorear al paciente en cuanto a microhemorragia cerebral mediante MRI o

 ii) monitorear al paciente en cuanto a remoción
20 aminoide vascular mediante barrido de PET.

68. Un kit para el tratamiento de CAA y enfermedad de Alzheimer, caracterizado porque comprende:

 a) un frasco de vidrio que contiene una formulación que comprende:

25 i) entre aproximadamente 10 mg a aproximadamente 250 mg de un anticuerpo anti- A β humanizado,

 ii) aproximadamente 4% de manitol o aproximadamente NaCl 150 mM,

 iii) aproximadamente 5 nM aproximadamente 10 nM de
30 histidina y

 iv) aproximadamente 10 nM de metionina e

b). instrucciones para monitorear un paciente a quien la formulación es suministrada por CAA y enfermedad de Alzheimer, que comprende:

i) monitorear al paciente en cuanto a microhemorragia cerebral mediante MRI o

ii) monitorear al paciente en cuanto a remoción amiloide vascular mediante barrido de PET.

69. El método de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque el cuerpo es administrado en un régimen suficiente para mantener una concentración promedio en el suero del cuerpo del paciente en un intervalo de 1-15 microgramos de anticuerpo/ml de suero y tratar mediante esto el paciente.

70. El método de conformidad con la reivindicación 69, caracterizado porque la concentración promedio en el suero está dentro de un intervalo de 1-10 microgramos de anticuerpo/ml de suero.

71. El método de conformidad con la reivindicación 69, caracterizado porque la concentración promedio en el suero está dentro de un intervalo de 1-5 microgramos de anticuerpo/ml de suero.

72. El método de conformidad con la reivindicación 71, caracterizado porque la concentración promedio en el suero está dentro de un intervalo de 2-4 microgramos de anticuerpo/ml de suero.

73. El método de conformidad con la reivindicación 69, caracterizado porque el anticuerpo es administrado intravenosamente.

74. El método de conformidad con la reivindicación 73, caracterizado porque una dosis de 0.5-1.0 mg/Kg es administrada mensualmente.

75. El método de conformidad con la reivindicación

73, caracterizado porque una dosis de 0.1.0 mg/Kg es administrada mensualmente.

76. El método de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque el anticuerpo es administrado
5 subcutáneamente.

77. El método de conformidad con la reivindicación 73, caracterizado porque el anticuerpo es administrado a una frecuencia de entre semanal y mensualmente.

78. El método de conformidad con la reivindicación
10 76, caracterizado porque el anticuerpo es administrado semanal o bisemanalmente.

79. El método de conformidad con la reivindicación 76, caracterizado porque el anticuerpo es administrado a una dosis entre aproximadamente 0.01 a aproximadamente 0.35 mg/Kg.

15 80. El método de conformidad con la reivindicación 76, caracterizado porque el anticuerpo es administrado a una dosis de entre aproximadamente 0.05 a aproximadamente 0.25 mg/Kg.

81. El método de conformidad con la reivindicación
20 76, caracterizado porque el anticuerpo es administrado a una dosis de entre aproximadamente 0.015 a aproximadamente 0.2 mg/Kg semanal a bisemanalmente.

82. El método de conformidad con la reivindicación 76, caracterizado porque el anticuerpo es administrado a una
25 dosis de entre aproximadamente 0.05 a aproximadamente 0.15 mg/Kg semanal a bisemanalmente.

83. El método de conformidad con la reivindicación 76, caracterizado porque el anticuerpo es administrado a una dosis de entre aproximadamente 0.05 a aproximadamente 0.07
30 mg/Kg semanalmente.

84. El método de conformidad con la reivindicación

76, caracterizado porque el anticuerpo es administrado a una dosis de entre aproximadamente 0.06 mg/Kg semanalmente.

85. El método de conformidad con la reivindicación 76, caracterizado porque el anticuerpo es administrado a una
5 dosis de entre aproximadamente 0.01 a aproximadamente 0.15 mg/Kg bisemanalmente.

86. El método de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque la concentración promedio en el suero del cuerpo es mantenida por lo menos 6 meses.

10 87. El método de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque la concentración promedio en el suero del anticuerpo es mantenida por lo menos 1 año.

88. El método de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque comprende además medir la concentración en
15 el cuerpo del suero y ajustar el régimen si la concentración medida cae fuera del intervalo.

89. El método de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque el anticuerpo es administrado subcutáneamente a una dosis de entre aproximadamente 0.01 a
20 aproximadamente 0.6 mg/Kg y una frecuencia de entre semanal y mensual.

90. El método de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque el anticuerpo es administrado a una dosis de entre aproximadamente 0.05 a aproximadamente 0.015 mg/Kg.

25 91. El método de conformidad con la reivindicación 89, caracterizado porque el anticuerpo es administrado a una dosis de entre aproximadamente 0.05 a aproximadamente 0.025 mg/Kg.

92. El método de conformidad con la reivindicación
30 89, caracterizado porque el anticuerpo es administrado a una dosis de entre aproximadamente 0.015 a aproximadamente 0.2

mg/Kg semanal a bisemanalmente.

93. El método de conformidad con la reivindicación 89, caracterizado porque el anticuerpo es administrado a una dosis de entre aproximadamente 0.05 a aproximadamente 0.15 mg/Kg semanal a bisemanalmente.

94. El método de conformidad con la reivindicación 89, caracterizado porque el anticuerpo es administrado a una dosis de entre aproximadamente 0.05 a aproximadamente 0.07 mg/Kg semanal a bisemanalmente.

95. El método de conformidad con la reivindicación 89, caracterizado porque el anticuerpo es administrado a una dosis de entre aproximadamente 0.06 a aproximadamente 0.06 mg/Kg semanalmente.

96. El método de conformidad con la reivindicación 89, caracterizado porque el anticuerpo es administrado a una dosis de entre aproximadamente 0.015 mg/Kg bisemanalmente.

97. El método de conformidad con la reivindicación 89, caracterizado porque el anticuerpo es administrado a una dosis de entre aproximadamente 0.015 a aproximadamente 0.3 mg/Kg mensualmente.

98. El método de conformidad con la reivindicación 89, caracterizado porque el anticuerpo es administrado a una dosis de 0.02 mg/Kg mensualmente.

99. El método de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque el anticuerpo es administrado a una dosis de entre aproximadamente 1 a aproximadamente 40 mg y una frecuencia de entre semanal y mensualmente.

100. El método de conformidad con la reivindicación 99, caracterizado porque el anticuerpo es administrado a una dosis de entre aproximadamente 0.5 a aproximadamente 0.025 mg.

101. El método de conformidad con la reivindicación

JJS

99, caracterizado porque el anticuerpo es administrado a una dosis de entre aproximadamente 2.5 a aproximadamente 15 mg.

102. El método de conformidad con la reivindicación 99, caracterizado porque el anticuerpo es administrado a una
5 dosis de entre aproximadamente 1 a aproximadamente 2 mg semanal o bisemanalmente.

103. El método de conformidad con la reivindicación 99, caracterizado porque el anticuerpo es administrado a una
10 dosis de entre aproximadamente 2.5 a aproximadamente 10 mg semanal o bisemanalmente.

104. El método de conformidad con la reivindicación 99, caracterizado porque el anticuerpo es administrado a una
dosis de entre aproximadamente 2.5 a aproximadamente 5 mg
semanalmente.

15 105. El método de conformidad con la reivindicación 99, caracterizado porque el anticuerpo es administrado a una
dosis de entre aproximadamente 4 a aproximadamente 5 mg
semanalmente.

20 106. El método de conformidad con la reivindicación 98, caracterizado porque el anticuerpo es administrado a una
dosis de entre aproximadamente 7 a aproximadamente 10 mg
bisemanalmente.

RESUMEN DE LA INVENCION

La invención proporciona métodos y agentes mejorados para el tratamiento de angiopatía amiloide cerebral (CAA) y métodos para efectuar profilaxis de CAA. Los métodos pueden 5 tratar CAA concurrentemente de enfermedad de Alzheimer o separadamente. Los métodos pueden efectuar la profilaxis de CAA concurrentemente con enfermedad de Alzheimer o separadamente. Los métodos involucran administrar un anticuerpo que es específico para el término de N de A β o un agente que puede 10 inducir tal anticuerpo.

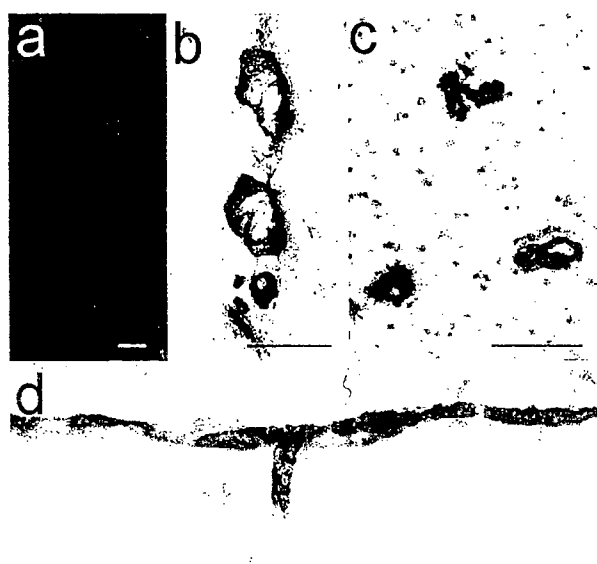


Fig 1



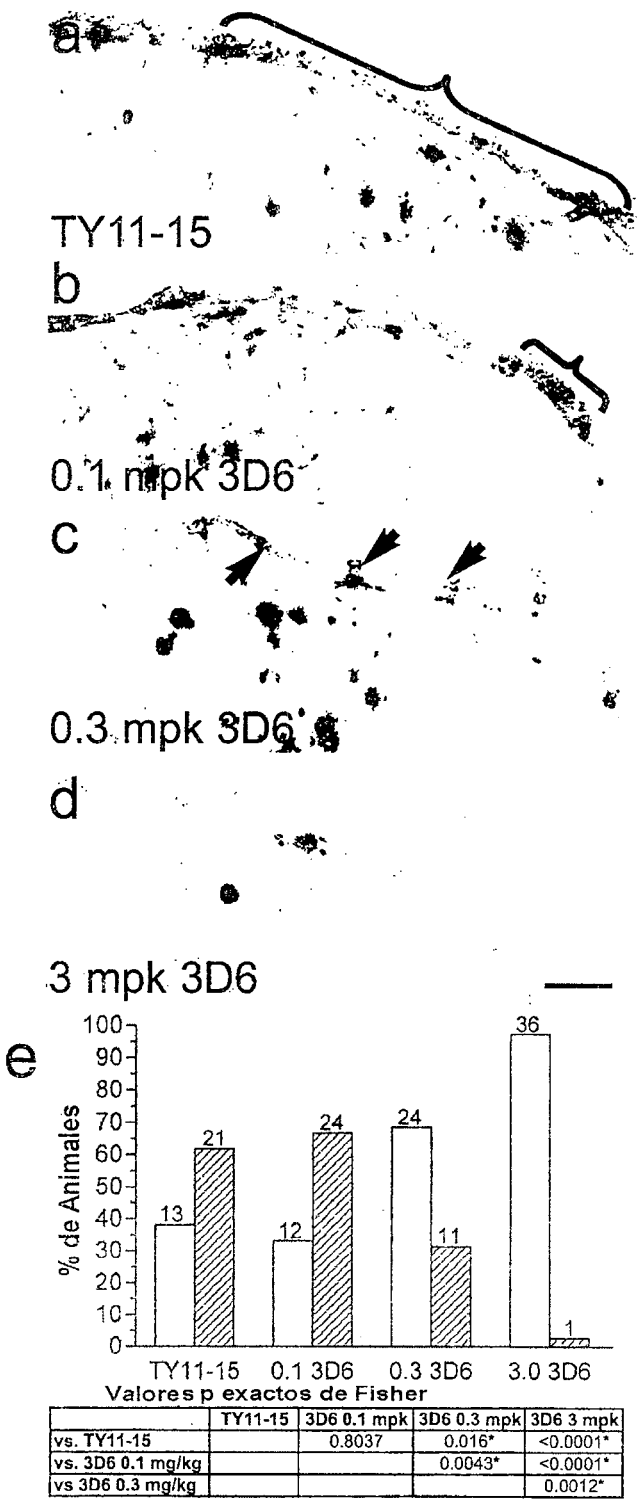


Fig 3

4/6

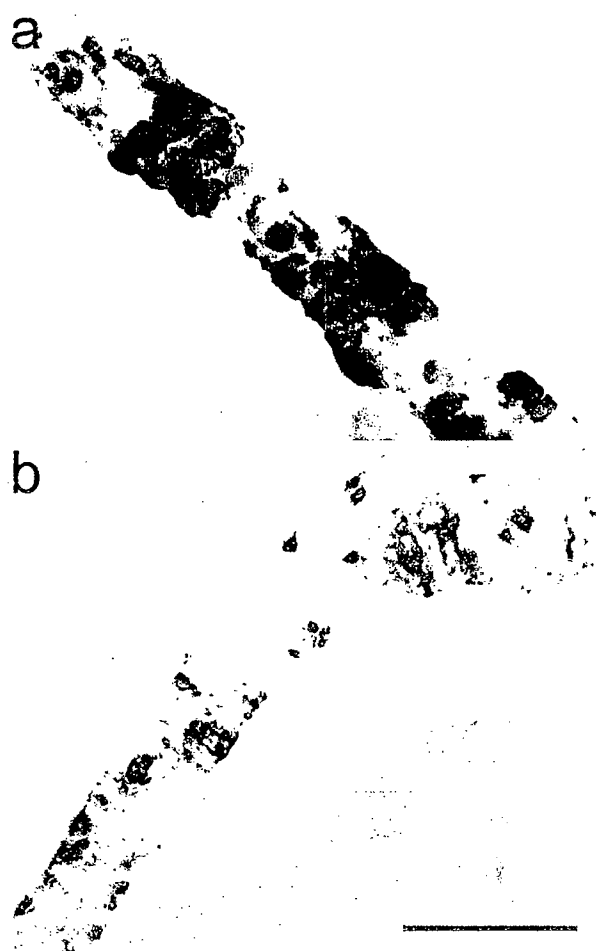


Fig 4

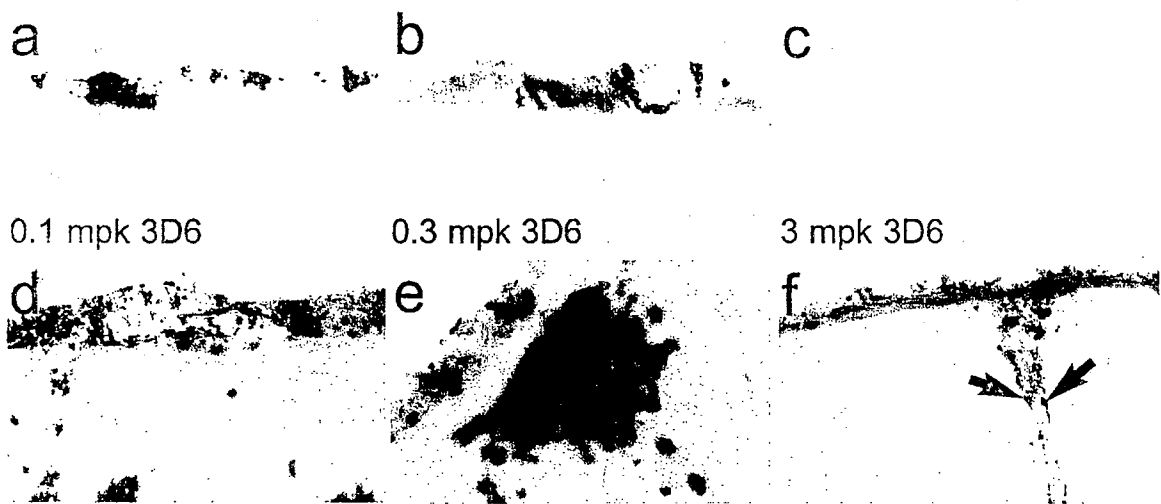


Fig 5

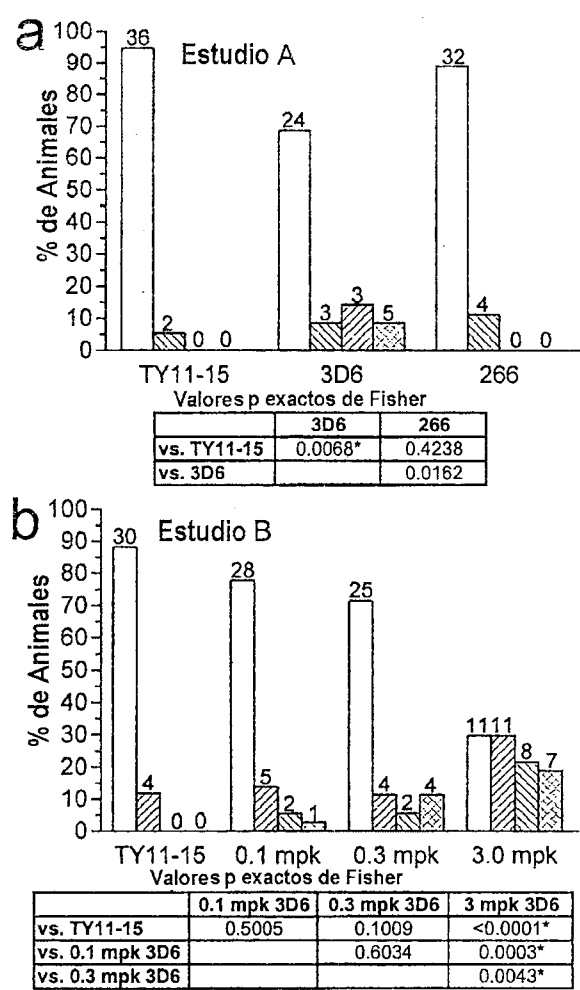


Figure 6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 08/60926

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 39/00; G01N 33/53; C07K 16/00 (2008.04) USPC - 530/388.1; 536/23.53 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC(8) - A61K 39/00; G01N 33/53; C07K 16/00 (2008.04) USPC - 530/388.1; 536/23.53 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PUBWEST, GOOGLE SCHOLAR: congophilic angiopathy, CEREBRAL AMYLOID ANGIOPATHY, caa, abeta, amyloid, 1-5, 1-6, 1-7, 1-8, 1-9, 1-10, N-terminus, bapineuzumab, 3D6, 12A11, antibody, microgram, stroke, infarction		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X --- Y	US 2002/0094335 A1 (Chalifour et al.) 18 Jul 2002 (18.07.2002); para [0019], [0022], [0026], [0027], [0037], [0068-0070], [0093], [0101], [0137], [0146], [0174]	1-4, 7-16, and 27-30 ----- 17-26 and 69-106
X	US 2007/0021454 A1 (Coburn et al.) 25 Jan 2007 (25.01.2007); para [0445], [0448]	1, 2, and 4-6
Y	US 6,787,637 B1 (Schenk) 7 Sep 2004 (07.09.2004) col 2, ln 21-51; col 3, ln 5-8; col 27, ln 4-19	18-26 and 69-106
Y	Frangione et al. Familial cerebral amyloid angiopathy related to stroke and dementia. Amyloid 2001, 8(Suppl 1): 36-42; abstract only	17
A	US 2005/0090648 A1 (Tsurushita et al.) 28 Apr 2005 (28.04.2005); para [0002]	1-6
A	US 2006/0057701 A1 (Rosenthal et al.) 16 Mar 2006 (16.03.2006); para [0009]-[0016] and [0078]-[0080]	1-6
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 02 Oct 2008 (02.10.2008)		Date of mailing of the international search report 09 OCT 2008
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 08/60926

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

- 1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
- 2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
- 3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

..... SEE EXTRA SHEET

- 1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
- 2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
- 3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
- 4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-30 and 69-106

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 08/60926

***** SUPPLEMENTAL PAGE *****

BOX NO III - Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I: claims 1-30 and 69-106, drawn to a method of treating cerebral amyloid angiopathy (CAA) or of affecting prophylaxis against CAA comprising: administration of an antibody specific for the N-terminus of Abeta or a fragment of Abeta that will induce such an antibody.

Group II: claims 31 and 48-63, drawn to the use of an antibody specific for the N-terminus of Abeta or a fragment of Abeta that will induce such an antibody for the treatment or prophylaxis of Alzheimer's disease; and methods of treating Alzheimer's disease comprising: administration of an antibody specific for the N-terminus of Abeta or a fragment of Abeta that will induce such an antibody.

Group III: claims 32-47, drawn to a method for reducing vascular amyloid by administration of an antibody specific for the N-terminus of Abeta.

Group IV: claim 64-68, drawn to a kit for treatment of cerebral amyloid angiopathy (CAA) comprising: a glass vial containing a formulation and a set of instructions.

The inventions listed as Groups I-IV do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because under PCT Rule 13.2 they lack the same or corresponding special technical feature.

The special technical feature of Groups I-IV is the use of either (1) an antibody which is specific for the N-terminal 7 amino acids of the A-beta peptide or (2) a fragment of the N-terminus of the A-beta peptide which induces such an antibody, for the treatment of diseases characterized by aberrant deposition of amyloid proteins (CAA, Alzheimer's, vascular amyloid), while Group IV has the special technical feature of a kit comprising a formulation to treat CAA. The special technical feature of Groups I-IV does not represent an improvement over the prior art of Rosenthal et al. (US 2006/0057701 A1) which teaches the use of antibodies specific for the N-terminus of A-beta for the treatment of diseases characterized by deposition of amyloid proteins (para [0009]-[0016] and [0078]-[0080]) or Schenk (US 6,787,637 B1) which teaches the use of antibodies specific for the N-terminal 7 amino acids of Abeta in treating diseases associated with amyloid deposits (col 2, ln 22-52). According to PCT Rule 13.2, unity of invention exists only when the same or corresponding special technical feature is shared by all claimed inventions.

In this case, the first named invention and first named species that will be searched without additional fees is Group I represented by claims 1-29 and 69-106.

(21) N° de solicitud:					(51) Int Cl: A61K 039/000	
22) Fecha de solicitud:					(71) Solicitante(s) JANSSEN ALZHEIMER IMMUNOTHERAPY y WYETH	
(30) Prioridad	(31) Prioridad	(32) Fecha	(33) País	(72) Inventor(es) SALLY SCHROETER KATE DORA GAMES		
	60/925,228	18/04/2007	US	(74) Apoderado: LUZ CLEMENCIA DE PÁEZ		
(85) Fecha limite inicio fase nacional: 18/11/2009					(87) Publicación internacional	
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT					Fecha: 30/10/2008	
Fecha de presentación de la solicitud: 18/04/2008					N° publicación: WO 2008/131298 A3	
No. de solicitud PCT/US2008/060926						
(54) Titulo: PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE ANGIOPATÍA AMILOIDE CEREBRAL						

Reivindicación(es):

1. Un método para el tratamiento de CAA, caracterizado porque comprende:

administrar a un paciente que tiene o que se sospecha que tiene CAA, un régimen efectivo de un agente, en donde el agente es un anticuerpo que es específico para el término N de Aβ o induce el anticuerpo después de la administración al paciente y mediante esto tratar al paciente.

2. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el agente es un anticuerpo.

3. El método de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque el agente es un anticuerpo que se enlaza dentro de los residuos 1-5 Aβ.

4. El método de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque el anticuerpo es un anticuerpo humanizado humano o quimérico.

5. El método de conformidad con la reivindicación 4, caracterizado porque el anticuerpo es 3D6 humanizado o 12A11 humanizado.

6. El método de conformidad con la reivindicación 5, caracterizado porque el anticuerpo humanizado 3D6 es bapineuzumab.

7. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el agente es un fragmento de Aβ.

8. El método de conformidad con la reivindicación 7, caracterizado porque el fragmento comienza en el residuo 1 de Aβ y termina en uno de los residuos 5.10 de Aβ.

9. El método de conformidad con la reivindicación 7, caracterizado porque el fragmento es Aβ 1-7.

10. El método de conformidad con la reivindicación 7, caracterizado porque el fragmento de Aβ es administrado con un adyuvante aceptable farmacéuticamente.

11. El método de conformidad con la reivindicación 7, caracterizado porque el fragmento de Aβ es enlazado a un portador que ayuda al fragmento a inducir anticuerpos al fragmento.

12. El método de conformidad con la reivindicación 11, caracterizado porque el portador es enlazado al término C del fragmento.

13. El método de conformidad con la

reivindicación 1, caracterizado porque comprende además determinar que un paciente tiene CAA, en donde la etapa de determinación ocurre antes de la etapa de administración.

14. El método de conformidad con la reivindicación 13, caracterizado porque la etapa de determinación determina que un paciente está sufriendo de un síntoma clínico de CAA.

15. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el paciente carece de placas características de enfermedad de Alzheimer en el cerebro.

16. El método de conformidad con la reivindicación 14, caracterizado porque el paciente carece de síntomas de enfermedad de Alzheimer.

17. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el paciente ha tenido un ataque al corazón o accidente cerebrovascular.

18. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque la dosificación del anticuerpo es de entre aproximadamente 0.01 a aproximadamente 5 mg/Kg.

19. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque la dosificación del anticuerpo es de entre aproximadamente 0.01 a aproximadamente 5 mg/Kg.

20. El método de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque la dosificación del anticuerpo es de aproximadamente 0.5/kg.

21. El método de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque la dosificación del anticuerpo es de aproximadamente 1.5 mg/Kg.

22. El método de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque la dosificación es de entre aproximadamente 0.5 a aproximadamente 1.5 mg/Kg.

23. El método de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque la dosificación es de entre aproximadamente 0.5 a aproximadamente 1.5 mg/Kg.

24. El método de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque la dosificación es administrada en múltiples ocasiones.

25. El método de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque la dosificación es administrada semanalmente a trimestralmente.

237

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176085

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 80,212
FECHA : OCTUBRE 26 DE 2009

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-127790-00000-0000

Fecha: 2009-11-10 17:02:02 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 242

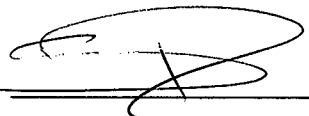
***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	130928151	26/10/2009	29,860,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
		*** REIVINDICACION UNITARIA ADICIONAL	25,000.00
		TOTAL :	\$ 25,000.00

SON: VEINTICINCO MIL PESOS

RESPONSABLE 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

COLO: 1303-841-001-0.

238

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 80,214
 FECHA : OCTUBRE 26 DE 2009

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-127791-00000-0000

Fecha: 2009-11-10 17:02 02 Dep. 2020 NUECREACIONE
 Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
 Act. 411 PRESENTACION Folios: 242

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PLO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	130928151	26/10/2009	29,860,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
		*** REIVINDICACION UNITARIA ADICIONAL	25,000.00
		TOTAL :	\$ 25,000.00

SON: VEINTICINCO MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

0010 17353-841-001-0.

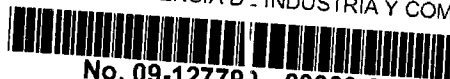
239

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 75,151
FECHA : OCTUBRE 5 DE 2009

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-127791-00000-0000

Fecha: 2009-11-10 17:02:02 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACIO J Folios: 242

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	130928173	05/10/2009	40,246,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
		87 SOL RENOVACION REGISTRO CON RECAR	805,000.00
		TOTAL :	\$ 805,000.00

SON: OCHOCIENTOS CINCO MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

010.17303-841-001-0

240

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 75,154
FECHA : OCTUBRE 5 DE 2009

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-127790-00000-0000

Fecha: 2009-11-10 17:02:02 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYI Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 242

***** CONSIGNACION *****

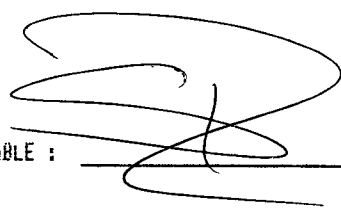
DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	130928173	05/10/2009	40,246,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I *** TASA ANUAL AÑOS 17 a 20 PARA MANT	872,000.00

TOTAL : \$ 872,000.00

SON: OCHOCIENTOS SETENTA Y DOS MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

020.17303-841-001-0.

242

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 80,210
FECHA : OCTUBRE 26 DE 2009

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-127790- -00000-0000

Fecha: 2009-11-10 17:02:07 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYI Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 242

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	130928151	26/10/2009	29,860,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I *** TASA ANUAL C.RECARGO A#OS 17 : 30	1,090,000.00

TOTAL : \$ 1,090,000.00

SON: UN MILLON NOVENTA MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

C010: 17303-841-001-0

**REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE
PCT**

PATENTE DE INVENCION ☒

MODELO DE UTILIDAD []

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente ☒
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☒
- ◆ Descripción de la invención ☒
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes ☒
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☒

COMPLETA ☒

INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

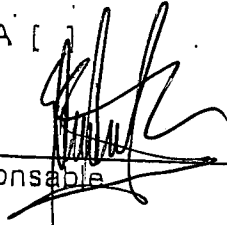
INCOMPLETA []

ESQUEMA DE TRAZADO []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

Firma Responsable 

Fecha

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-127790- -00000-0000

Fecha: 2009-11-10 17:02:02 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 242

Carretera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10

Conmutador: 3 82 08 40

Fax: 350 52 20

E-mail: info@sic.gov.co

www.sic.gov.co

Bogotá, D.C., Colombia



Bogotá,
2020

Doctor(a)
SUAREZ DE PAEZ LUZ CLEMENCIA
Apoderado(a) y/o Representante de
JANSSEN ALZHEIMER IMMUNOTHERAPY
WYETH

REFERENCIA	Radicación No.	9 127790
	Solicitud internacional	PCT/US2008/060926
	Fecha inicio fase nacional	18/11/2009
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	13376

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

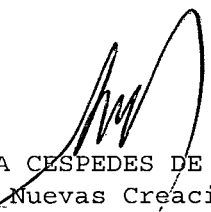
En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No.10 de 2001.

Continúa en la página siguiente...



Radicación No.: 9 127790


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Directora de Nuevas Creaciones (c)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de
fecha _____
adpa11 , 27 NOV. 2009